UNIVERSIDADE de SÃO PAULO

Instituto de Química

Departamento de Química Fundamental

**DESENVOLVIMENTO DE ELETRODOS DE PASTA
DE CARBONO MODIFICADOS COM FILMES DE
AZUL DA PRÚSSIA**

Dissertação de Mestrado

Viviane Midori Ivama

2003

0871
d

BIBLIOTECA
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo
20.385

UNIVERSIDADE de SÃO PAULO

Instituto de Química
Departamento de Química Fundamental

**DESENVOLVIMENTO DE ELETRODOS DE PASTA
DE CARBONO MODIFICADOS COM FILMES DE
AZUL DA PRÚSSIA**

Estudante: Viviane Midori Ivama

Orientadora: Prof^a Dr^a Silvia Helena Pires Serrano

DEDALUS - Acervo - CQ

30100005279

Ficha Catalográfica

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

Ivama, Viviane Midori
I93d Desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono
modificados com filmes de azul da prússia / Viviane
Midori Ivama. -- São Paulo, 2003.
119p.

Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da
Universidade de São Paulo. Departamento de Química
Fundamental.
Orientador: Serrano, Silvia Helena Pires

1. Eletroanálise : Química I. T. II. Serrano, Silvia
Helena Pires, orientador.

543.0871 CDD

“Desenvolvimento de Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com Filmes de Azul da Prússia”

VIVIANE MIDORI IVAMA

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.

Aprovado por:

Profa. Dra. SILVIA HELENA PIRES SERRANO
IQ – USP
(Orientadora e Presidente)

Prof. Dr. MAURO BERTOTTI
IQ – USP

Profa. Dra. MARIA VALNICE BOLDRIN ZANONI
IQ – USP – Araraquara

SÃO PAULO
24 DE FEVEREIRO 2003.

Ouvir estrelas

Olavo Bilac

“Ora (direis) ouvir estrelas! Certo perdeste o senso!” E eu vos direi, no entanto, que para ouvi-las, muitas vezes desperto e abro as janelas, pálido de espanto...

E conversamos toda a noite, enquanto a Via-Láctea, como um pálido aberto, cintila. E ao vir do sol, saudoso e sem pranto, ainda as procuro pelo céu deserto.

Direis agora: “Tresloucado amigo! Que conversas com elas? Que sentido tem o que dizem, quando estão contigo?”.

E eu vos direi: “Amai para entendê-las! Pois só quem ama pode ter ouvido capaz de ouvir e de entender estrelas”.

(Poesias, Via-Láctea, 1888).

Ao meu futuro marido Ricardo Shin Tachibana.

Agradecimentos

A meus pais e amigos, pelo carinho e apoio.

A Profa. Dra. Silvia Helena Pires Serrano, pela orientação, continuo incentivo e a amizade dentro e fora do laboratório.

Aos meus colegas do laboratório, pelo apoio e amizade.

As funcionárias Cristina e Lucia pela colaboração e amizade.

Ao CNPq pela concessão da Bolsa de Estudos, à FAPESP pelo apoio financeiro cedido para manutenção da infraestrutura do laboratório e à Pró-Reitoria de Pós-graduação pelo apoio na participação em congressos.

ABSTRACT

Prussian Blue carbon paste modified electrodes were prepared using cyclic voltammetry and deposition at one and two controlled potentials. The last method was the best and produced modified electrodes with higher sensitivity and stability during the catalytic reduction of hydrogen peroxide.

The composition of the modifying solution was $3.0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ FeCl}_3$, $2.0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ in pH 2.0 with HCl. The electrode system was immersed in the modifying solution and + 0.4 V was applied to the working electrode during two minutes. After, the potential was just reverted to - 0.4 V once more two minutes. The total process was repeated twice.

Further, to improve the stability of the Prussian Blue carbon paste modified electrodes (PB-CPME), they were cycled in a solution containing $1.0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ RhCl}_3$, $0.05 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ and $0.02 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$ in a $- 0.4 \leq E \leq 0.6 \text{ V}$ potential range at 60 mV s^{-1} (50 cycles). These electrodes, denominated of Rh-PBCPME, were dried at ambient temperature during 24 hours before use.

The Rh-PBCPME shows good stability during successive cycles, with anodic and cathodic peaks recorded at 0.30 V and 0.18 V being attributed to a redox process involving Prussian White / Prussian Blue couple. E_m , calculated as $(E_{p,a} + E_{p,c}/2)$, is 0.24 V. In potassium citrate/ citric acid buffer solution containing $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, pH 6.1, the peak currents changed linearly with the square of sweep velocity in the range $0.025 \text{ Vs}^{-1} \leq v \leq 0.400 \text{ Vs}^{-1}$ showing that the process is governed by ion diffusion from support electrolyte to the electrode surface (during the reduction step) or from the electrode to the solution (during the oxidation step) to ensure the electroneutrality rule.

The modifier surface excess was $4.3 \times 10^{-8} \text{ mol cm}^{-2}$, calculated using the anodic charge obtained from cyclic voltammograms, after subtraction of the background charge recorded with an unmodified carbon paste electrode in an electrolyte support solution ($1.0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ RhCl}_3$, $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ and $0.02 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$, $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$).

The supporting electrolyte used to detection of hydrogen peroxide was 10 mmol L^{-1} potassium citrate/ 2 mmol L^{-1} Citric acid buffer, pH 6.1 (ionic strength = 0.16 mol L^{-1}) containing $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$. The absence of this electrolyte or the presence of phosphate ions decreased the stability of the sensor.

Hydrogen peroxide was detected at 0.04V (vs $E_{\text{Ag}/\text{AgCl}, \text{KCl sat}}$) in $5.1 \times 10^{-5} - 8.6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ linear range with sensitivity of $(1.4 \pm 0.2) \text{ A mol}^{-1} \text{ L cm}^{-2}$ and detection limit of $(2.5 \pm 0.02) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. At this applied potential the contribution of oxygen reduction current was 8.0% in the presence of $1.0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$.

Analytical curves obtained during hydrogen peroxide detections along 5 days, each one of them representing an average of 6 consecutive amperometric analytical curves, carried out in the same day, showed a decrease of only 27% in the sensitivity of the modified electrodes. When was not using the electrode was kept in $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$.

At 0.04 V applied potential no interference was detected due to mediated or direct oxidation of uric acid. The interference of ascorbic acid was only significant to 0.060 V or higher applied potentials.

Resumo

Os eletrodos de pasta de carbono modificados com Azul da Prússia foram preparados usando a voltametria cíclica, deposição a um potencial controlado e a deposição a dois potenciais controlados. O último método foi melhor e produziu eletrodos modificados com alta sensibilidade e estabilidade durante a redução catalítica de peróxido de hidrogênio.

A composição da solução modificadora foi $3,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de FeCl_3 e $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em pH 2,0 com HCl. O sistema de eletrodos foi imerso na solução modificadora e $+ 0,4 \text{ V}$ foi aplicado no eletrodo de trabalho durante 2 minutos. Depois, o potencial foi revertido para $- 0,4 \text{ V}$ por mais 2 minutos. O processo total foi repetido mais duas vezes.

Além disso, para melhorar a estabilidade dos eletrodos de pasta de carbono modificados com Azul da Prússia (EPC-AP), estes foram ciclados em solução contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de RhCl_3 , $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl na faixa de potencial $- 0,4\text{V} \leq E_{\text{apl}} \leq 0,6\text{V}$ a 60 mV s^{-1} (50 ciclos). Estes eletrodos, denominados de EPC-AP-Rh, foram secos a temperatura ambiente por 24 horas antes de serem utilizados.

Os EPC-AP-Rh apresentaram boa estabilidade durante sucessivos ciclos, com os picos anódico e catódico, referentes a $0,30 \text{ V}$ e $0,18 \text{ V}$ inicialmente atribuídos para um processo redox envolvendo Branco da Prússia / Azul da Prússia. Cálculos com $(E_{\text{p,a}} + E_{\text{p,c}} / 2)$, é $0,24 \text{ V}$. Em solução tampão citrato de potássio / ácido cítrico contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl, pH 6,1, as correntes de picos variam linearmente com a velocidade de varredura $0,025 \text{ Vs}^{-1} \leq v \leq 0,400 \text{ V s}^{-1}$ mostrando que o processo é governado por difusão de íons do eletrólito suporte para a superfície do eletrodo (durante a etapa de redução) ou do eletrodo para a solução (durante a etapa de oxidação) para manter a eletroneutralidade.

O excesso superficial foi $4,3 \cdot 10^{-8} \text{ mol cm}^{-2}$, calculado usando a carga anódica obtida pelo voltamograma cíclico, depois da subtração do fundo de carga referente a um eletrodo não modificado de pasta de carbono em solução eletrólito

suporte ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de RhCl_3 , $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl , $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$).

O eletrólito suporte usado para detecção para determinação de peróxido de hidrogênio foi o tampão 10 mmol L^{-1} de citrato de potássio/ 2 mmol L^{-1} de ácido cítrico, pH 6,1 (força iônica = $0,16 \text{ mol L}^{-1}$) contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl . A ausência deste eletrólito ou a presença de íons fosfatos diminui a estabilidade deste sensor.

Peróxido de hidrogênio foi determinado a $0,04 \text{ V}$ (vs $E_{\text{Ag/AgCl, KCl sat}}$) na faixa linear de $5,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com sensibilidade média de $1,4 \pm 0,2 \text{ A mol}^{-1} \text{ L cm}^{-2}$ e limite de detecção de $(2,5 \pm 0,02) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Neste potencial aplicado a contribuição da corrente de redução do oxigênio foi de $8,0 \%$ na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 .

Curvas analíticas obtidas durante a determinação de peróxidos de hidrogênio ao longo de 5 dias, cada curva analítica representa uma média de 6 curvas amperométricas consecutivas, que desempenhou em cada dia, apresentando uma diminuição de somente 27% na sensibilidade do eletrodo modificado. Quando fora de uso o eletrodo foi armazenado em solução $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl .

A um potencial aplicado de $0,04 \text{ V}$ não foi detectada uma interferência do mediador ou oxidação direta do ácido úrico. A interferência de ácido ascórbico foi apenas significativa para potenciais iguais ou superiores a $0,060 \text{ V}$.

Sumário

I - INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	01
II - PARTE EXPERIMENTAL	28
II.1 - Reagentes e Soluções	28
II.1.1 - Composição da Solução Modificadora Utilizada para Preparação dos Filmes de Azul da Prússia (AP)	30
II.1.1.a- Por Voltametria Cíclica	30
II.1.1.b- Por Deposição a Potencial Controlado	31
II.1.1.c- Por Deposição a dois Potenciais Controlados	31
II.2 - Equipamentos	31
II.2.1 - Sistema de Eletrodos	32
II.2.2.1 - Preparação dos Eletrodos Modificados com Azul da Prússia	33
II.2.2.1.a - Por Voltametria Cíclica	33
II.2.2.1.b - Por Deposição a Um Potencial Controlado	34
II.2.2.1.c - Por Deposição a Dois Potenciais Controlados	34
II.2.2.1.d - Por Deposição a Dois Potenciais Controlados e Ativação em Solução contendo KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e RuCl_3 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	34
II.2.2.1.e - Por Deposição a Dois Potenciais Controlados e Ativação em Solução contendo KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e RhCl_3 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	35
II.2.2.2 - Preparação dos Eletrodos Modificados em Solução de RhCl_3	35
II.2.2.2.a - Por Deposição a Dois Potenciais Controlados em Solução contendo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de RhCl_3	35
II.2.3.1 - Curvas Analíticas para Determinação de H_2O_2	36
II.2.3.1.a - Curvas Analíticas para Determinação de H_2O_2 Utilizando o Eletrodo Modificado com Azul da Prússia	36

II.2.3.1.b - Curvas Analíticas para Determinação de H ₂ O ₂ Utilizando o Eletrodo Modificado com Azul da Prússia e Posteriormente Ativado em Solução contendo 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ de RhCl ₃	36
II.2.3.1.c - Curvas Analíticas Utilizadas para Estabelecer o Limite de Detecção para Determinação de H ₂ O ₂ Utilizando o Eletrodo Modificado com Azul da Prússia e Posteriormente Ativado em Solução contendo 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ de RhCl ₃	37
II.2.3.2– Avaliação da Interferência dos ácidos Ascórbico e Úrico na Determinação de H₂O₂ Utilizando os Eletrodos Modificados com Azul da Prússia e Posteriormente Ativados em Solução contendo 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de RhCl₃	37
II.2.3.2a - Curva Corrente vs Potencial - Interferência do ácido Ascórbico na Determinação de H ₂ O ₂ Utilizando Eletrodos Modificados com Azul da Prússia e Posteriormente Ativados em Solução contendo 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ de RhCl ₃	37
II.2.3.2b - Interferência do ácido Ascórbico na Determinação de H ₂ O ₂ Utilizando os Eletrodos Modificados com Azul da Prússia e Posteriormente Ativados em Solução contendo 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ de RhCl ₃	38
III- RESULTADOS E DISCUSSÕES	39
III.1 - Preparação de Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com Azul da Prússia por Voltametria Cíclica	39
III.1.1 - Formação do Filme de Azul da Prússia como Descrito por Chi et al ⁽²⁹⁾ .	39
III.1.2 - Influência da Concentração de HCl na Solução Modificadora.	39

III.1.3 - Influência da Concentração de KNO_3 na Solução Modificadora.	44
III.1.4 - Estabilidade dos Filmes de Azul da Prússia Durante Ciclagens Sucessivas em Solução de Eletrólito Suporte.	48
III.1.4.a - Influência da Secagem Prévia dos Filmes.	48
III.1.4.b - Influência do pH da Solução de Eletrólito Suporte na Estabilidade dos Eletrodos Modificados.	49
III.1.4.c - Influência da Concentração de FeCl_3 da Solução Modificadora na Estabilidade dos Eletrodos Modificados.	53
III.1.5 - Redução Catalítica de H_2O_2 em Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com Filmes de Azul da Prússia.	59
III.1.5.a - Redução Catalítica de H_2O_2 Usando Voltametria Cíclica.	59
III.1.5.b - Escolha do Potencial Adequado para Redução Catalítica de H_2O_2 .	64
III.1.5.c - Determinação Amperométrica de H_2O_2 .	68
III.2 - Preparação de Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com Azul da Prússia por Deposição a Um Potencial Controlado	70
III.2.1 - Crescimento dos Filmes de Azul da Prússia Durante Ciclagens Sucessivas em Solução de Eletrólito Suporte.	70
III.2.1.a - Influência do Ânion do Sal de Potássio nas Correntes de Picos dos Filmes de Azul da Prússia.	73
III.2.1.b - Influência da Introdução de KCl na Solução Modificada Durante o Processo de Formação dos Filmes.	75
III.2.2 - Determinação Amperométrica de H_2O_2 .	77
III.3 - Preparação de Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com Azul da Prússia por Deposição a Dois Potenciais Controlados	79

III.3.1.a - Crescimento dos Filmes de Azul da Prússia Durante Cidagens Sucessivas em Solução de Eletrólito Suporte contendo RuCl_3 .	82
III.3.1.b - Crescimento dos Filmes de Azul da Prússia Durante Cidagens Sucessivas em Solução de Eletrólito Suporte contendo RhCl_3 .	86
III.3.2 - Escolha do Potencial Adequado para Redução Catalítica de H_2O_2 em Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com Azul da Prússia e Posteriormente Ativados em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e 1 m mol L^{-1} de RhCl_3 (EPCAP-Rh)	90
III.3.3 - Preparação de Eletrodo de Pasta de Carbono Modificado em solução 1 m mol L^{-1} de RhCl_3 por Deposição a Dois Potenciais Controlados (EPC-Rh).	92
III.3.4 – Comportamento Eletroquímico do Eletrodo de Pasta de Carbono Modificado com Filme de Azul da Prússia ativado em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e 1 m mol L^{-1} de RhCl_3 , (EPCAP-Rh).	98
III.3.5 - Faixas Lineares e Limites de Detecção para Determinação de H_2O_2 em Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com AP ativados com RhCl_3 (EPCAP- Rh).	102
III.3.6 - Armazenamento e Tempo de Vida dos EPCAP-Rh.	104

III.3.7 - Avaliação da Interferência dos ácidos Ascórbico e Úrico	106
Durante a Determinação de H_2O_2 Utilizando os Eletrodos Modificados com Azul da Prússia e Posteriormente Ativados em Solução contendo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de RhCl_3	
IV – CONCLUSÕES	110
V - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114

DESENVOLVIMENTO DE ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO MODIFICADOS COM FILMES DE $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$, AZUL DA PRÚSSIA PARA DETERMINAÇÃO DE H_2O_2

I- INTRODUÇÃO

O monitoramento de H_2O_2 e peróxidos orgânicos é importante em diversos processos bioquímicos⁽¹⁾, hospitalares⁽²⁾, industriais e ambientais⁽³⁾. Nos processos bioquímicos como, por exemplo, o “stress” oxidativo⁽¹⁾, o equilíbrio entre espécies próoxidantes e antioxidantes é quebrado em favor do estado próoxidante. Os resultados deste desequilíbrio são lesões no DNA gerando produtos degradados de desoxirribose, bases modificadas como exemplo a 8-oxo-guanina promutagênica que, se presente no DNA durante a replicação, incorpora dAMP resíduos, o que induz a transversão mutagênica e pode levar ao câncer⁽⁴⁾ (Figura 1).

Figura 1. Transversão mutagênica no pareamento normal de Watson Crick.

Nos processos hospitalares o peróxido de hidrogênio tem sido utilizado como um agente despirogenizante⁽²⁾ alternativo, eliminando as endotoxinas

causadoras de febre dos componentes médicos hospitalares. Este procedimento tem sido adotado porque o solvente utilizado para a lavagem destes componentes, o clorofluorcarbono (CFC) é particularmente o freon 12. Buscando a diminuição do impacto causado pelo freon 12 na camada de ozônio na estratosfera e ainda, visando obediência ao protocolo de Montreal se buscam alternativas, ainda que menos eficientes no aspecto técnico, para a substituição deste fluorado.

O peróxido também é importante para fabricação de muitos produtos industriais ⁽⁵⁾ tais como: pastas de alto rendimento (PAR) nas formulações de papéis de imprensa, papéis de impressão, escrita e pasta fofa. Entretanto, esta última deve ser previamente submetida a processos de branqueamento ⁽⁵⁾, seja pelo uso de agentes oxidantes ou pelo uso de agentes redutores. Quando se deseja alto ganho de percentuais em alvura o reagente mais utilizado é a H_2O_2 ou uma aplicação desta seguida de tratamento com ditionito de sódio (ou hidrossulfito de sódio).

Sob o aspecto ambiental, a importância da água oxigenada reside no fato da mesma ser o oxidante fotoquímico de maior participação na oxidação de SO_2 a H_2SO_4 na fase aquosa da atmosfera auxiliando na produção de chuva ácida. A principal fonte de H_2O_2 é a reação de radicais hidroperóxil em fase gasosa, gerada a partir da emissão de poluentes primários e poluentes secundários ⁽³⁾ como mostra a Figura 2.

Figura 2. Processo de formação e propagação da chuva ácida ⁽³⁾.

A determinação eletroanalítica de peróxidos pode ser efetuada com eletrodos de trabalho não modificados, como por exemplo, eletrodos e micro-eletrodos de platina ou carbono vítreo ⁽⁶⁾. Os maiores problemas associados à utilização de eletrodos não modificados são o alto potencial empregado (0,584 V vs Ag/AgCl), o envenenamento do eletrodo ⁽⁷⁾ e a alta concentração de H_2O_2 necessária para a detecção ($1\mu - 80 \text{ mmol L}^{-1}$) ⁽⁸⁾.

Por outro lado, estes problemas parecem ter sido satisfatoriamente resolvidos determinando-se H_2O_2 em meio alcalino com eletrodo gotejante de mercúrio ⁽³⁾. A determinação pode ser feita por redução ou oxidação:

A melhor opção para a determinação de peróxido na faixa de concentração entre $1 - 10 \mu \text{ mol L}^{-1}$ é trabalhar na faixa onde se elimina a interferência do O_2 .

Alternativamente pode-se utilizar sistemas enzimáticos, que conferem maior seletividade no reconhecimento molecular do analíto. Neste caso, a enzima mais

utilizada é a peroxidase, enzima redox glicolisada que possui uma ferroporfirina ou ainda a flavina adenina dinucleotídeo (FADH₂), como cofator fortemente ligado à estrutura da enzima. Na reação catalítica com peróxido, o centro ativo da enzima nativa é oxidado, em uma única etapa envolvendo dois elétrons, a um composto intermediário denominado de composto (I) enquanto o substrato é reduzido. Para completar o ciclo catalítico, a enzima pode ser diretamente reduzida, na superfície do eletrodo, à sua forma nativa. O processo ocorre em duas etapas, envolvendo um elétron na etapa de formação de um composto intermediário, denominado de composto (II) que também deve receber um elétron para regeneração final do centro ativo da enzima. Assim, a corrente de redução registrada é então proporcional à concentração de H₂O₂, Figura 3.

Figura 3. Redução de H₂O₂ efetuada pela enzima peroxidase.

Alternativamente, biossensores podem ser construídos utilizando transdutores quimicamente modificados com doadores ou aceptores eletrônicos, denominados de mediadores, compostos intermediários que facilitam a transferência de elétrons entre o eletrodo e o centro ativo de uma enzima, como por exemplo, íons ferrocianeto ⁽⁹⁾, fenóis ⁽¹³⁾, orto- e para- fenilenodiamina ⁽¹⁰⁾, ferroceno ⁽¹¹⁾ e seus derivados ⁽¹²⁾, figuras 3 e 4.

Figura 4. Ciclo catalítico da enzima peroxidase (HRP) ⁽¹³⁾. R + = radical protoporfirina. CF = composto fenólico, (mediador).

Os eletrodos quimicamente modificados (**EQM**) com mediadores de elétrons podem ser utilizados para determinação direta de H_2O_2 e, além de economicamente mais viáveis permitem o monitoramento do analito a potenciais relativamente mais baixos do que os eletrodos não modificados ⁽¹³⁾, proporcionando maior seletividade à metodologia analítica. A utilização de eletrodos modificados envolve a disponibilidade de um mediador adequado que apresente alta velocidade de transferência eletrônica na superfície do eletrodo ^(7, 12, 13, 37).

Existe ainda interesse adicional na preparação dos eletrodos quimicamente modificados para determinação de H_2O_2 , uma vez que inúmeros sistemas enzimáticos, empregando as mais diversas enzimas, produzem água oxigenada como produto final, Tabela I.1. Assim, inúmeros biossensores poderão vir a ser construídos empregando-se mediadores capazes de reduzir ou oxidar cataliticamente o peróxido de hidrogênio. Neste caso, os mediadores devem possuir comportamento redox reversível a baixos potenciais e reagir rapidamente com o centro ativo da enzima.

Tabela I.1. Reações enzimáticas que ocorrem com produção de água oxigenada.

Substrato	Reações	Espécie detectada	Ref
Ácido úrico	$\text{Ácido úrico} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{Uricase}} \text{alantoina} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$	H_2O_2	14
Ácido úrico	$\text{Ácido úrico} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{Uricase}} \text{alantoina} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$ $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \xrightarrow{\text{Catalase}} \text{CH}_3\text{CHO} + 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{CH}_3\text{CHO} + \text{NADP}^+ \xrightarrow{\text{Aldeído desidrogenase}} \text{acetato} + \text{NADPH} + \text{H}^+$	NADH	14
Ácido úrico	$\text{Ácido úrico} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{Uricase}} \text{alantoina} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$ $2\text{H}_2\text{O}_2 + \text{cromógenos} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{corante} + 4\text{H}_2\text{O}$	Corante	14
Glucose	$\text{Glucose} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Glucose oxidase}} \text{ácido gluconico} + \text{H}_2\text{O}_2$	H_2O_2	14
Glucose	$\text{Glucose} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Glucose oxidase}} \text{ácido gluconico} + \text{H}_2\text{O}_2$ $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{cromógenos} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{corante} + \text{H}_2\text{O}$	Corante	14

Tabela I.1. Reações enzimáticas que ocorrem com produção de água oxigenada.

MAO (monoamino oxidase)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{MAO}} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{NH}_3 + \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$ Pentilamina	H_2O_2	15
MAO (monoamino oxidase)	Dopamina $+ \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightleftharpoons{\text{MAO}} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	H_2O_2	16
MAO (monoamino oxidase)	Serotonina $+ \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightleftharpoons{\text{MAO}} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	H_2O_2	16
Lactato	$\text{Lactato} \xrightarrow{\text{L}_{\text{ox}} (\text{FAD})} \text{Piruvato}$ $\text{O}_2 \xrightarrow{\text{L}_{\text{ox}} (\text{FADH}_2)} \text{H}_2\text{O}_2$ $2 \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Rh} \rightleftharpoons \text{Rh}(\text{H}_2\text{O}_2)$ $\text{Rh}(\text{H}_2\text{O}_2) \xrightleftharpoons[\text{L}_{\text{ox}} (\text{FAD})]{\text{L}_{\text{ox}} (\text{FADH}_2)} \text{Rh} + \text{L}_{\text{ox}} (\text{FADH}_2) + 4 \text{OH}^-$	H_2O_2	17

Evidentemente, outros métodos analíticos podem ser utilizados para determinação de H_2O_2 e entre estes podem ser citados os métodos espectrométricos (fluorimetria⁽¹⁸⁾, espectrofotometria^(19,20) e quimiluminescência⁽²²⁾), envolvendo ou não sistemas enzimáticos, Tabela I.2.

Tabela I.2. Alguns métodos analíticos para determinação de água oxigenada.

Fluorimetria	Hemin e Ferrotetrasulfonatoftalocianina (FeTsPa) mimetizam a peroxidase na determinação de H ₂ O ₂ . Excitação a 610 nm e emissão de fluorescência a 678 nm.	0,0 – 3,0 x 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ (Hemin) 0,0 – 2,0 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ (FeTsPa) ou 0,0 – 7,5 x 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹ (Hemin) 0,0 – 2,0 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ (FeTsPa)	3,7 x 10 ⁻⁹ mol L ⁻¹ (Hemin) 4,9 x 10 ⁻⁹ mol L ⁻¹ (FeTsPa)	23
Fluorimetria	β-ciclodextrin-hemin foi estudado como um mimetizador da peroxidase na catálise de oxidação do H ₂ O ₂ em pH = 10,4. Excitação a 322 nm e emissão de fluorescência a 410 nm.	3,0 x 10 ⁻⁸ – 8,0 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	3,4 x 10 ⁻⁹ mol L ⁻¹	24

Tabela I.2. Alguns métodos analíticos para determinação de água oxigenada.

Fluorimetria	<p> </p> <p> PHPAA Ácido p-hidroxifenilacético PHPAA dimer R = H, alquil </p> <p>Peróxidos orgânicos são convertidos a H₂O₂ na coluna de HPLC por irradiação de UV. Excitação a 285 nm e emissão de fluorescência a 400 nm.</p>	42 – 225 ng m L ⁻¹	14 ng m L ⁻¹	25
Fluorimetria	<p>Hemin e Ferrotetrasulfonatofalocianina (FeTsPa) mimetizam a peroxidase na determinação de H₂O₂. Excitação a 610 nm e emissão de fluorescência a 678 nm.</p>	<p>0,0 – 3,0 x 10⁻⁷ mol L⁻¹ (Hemin) (FeTsPa)</p> <p>ou</p> <p>0,0 – 7,5 x 10⁻⁸ mol L⁻¹ (Hemin) 0,0 – 2,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ (FeTsPa)</p>	<p>3,7 x 10⁻⁹ mol L⁻¹ (Hemin) 4,9 x 10⁻⁹ mol L⁻¹ (FeTsPa)</p>	23

Recentemente, eletrodos quimicamente modificados com Azul da Prússia têm sido utilizados na determinação electrocatalítica de H_2O_2 .

Os filmes de $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ Azul da Prússia (AP) apresentam transição redox a baixo potencial e acentuado efeito catalítico. Em comparação à enzima peroxidase são electrocatalisadores baratos, além de serem utilizados como mediadores para determinação de H_2O_2 em presença de oxigênio molecular no desenvolvimento de biossensores⁽²⁶⁻³⁸⁾, figura 5.

Figura 5. Redução e Oxidação eletroquímica de H_2O_2 em eletrodos modificados com filme de Azul da Prússia⁽²⁹⁾.

O Azul da Prússia (AP), $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$, é um composto de coordenação conhecido há muito tempo e intensamente estudado. Ele tem sido formulado em duas variedades conhecidas como "solúvel" ($\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$) e "insolúvel" ($\text{Fe}_4^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$), apesar de ambas as formas apresentarem solubilidade baixa⁽³⁹⁾, $K_s \approx 10^{-40}$. Na realidade, tais termos foram empregados para indicar a tendência do AP para formar soluções coloidais⁽⁴⁰⁾, além da facilidade da utilização do mesmo na fabricação de tintas e vernizes⁽⁴¹⁾ devido à peptização de pigmentos⁽⁴²⁾.

A primeira estrutura para o AP foi proposta em 1936 por Kegging e Milles ⁽⁴³⁾ utilizando difratometria de raio – X. A forma “insolúvel” consiste em cadeias de Fe(III)-NC-Fe(II) em retículo cúbico de face centrada (Figura 6), onde os íons Fe(III) e Fe(II) são cercados octaedricamente por átomos de nitrogênio (N) e carbono (C) do cianeto. As diferenças entre vários compostos surgem porque metais alcalinos podem ser incorporados na estrutura cristalina e além disto, o átomo de ferro pode estar em diferentes estados de oxidação.

Figura 6. Representação simplificada da estrutura inicialmente proposta para o Azul da Prússia ^(42,44).

Ludi et al. ⁽⁴⁰⁾ determinaram, por difração de raios-X, a densidade do AP ($d_{\text{experimental}} = 1,75 - 1,81 \text{ g cm}^{-3}$) e com isso comprovaram que 1 unidade de célula estrutural do AP “insolúvel” $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3x\text{H}_2\text{O}$ é constituída por uma rede cúbica primitiva de cadeias de Fe(III)-NC-Fe(II) com aresta (a) = 10,166 Å e $d_{\text{ideal}} = 1,78 \text{ g cm}^{-3}$ para $x = 15$. Deste modo, o modelo de Ludi et al ⁽⁴⁰⁾ discorda do modelo proposto de Kegging e Milles ⁽⁴³⁾ que não pressupõe coordenação intersticial dos estados de transição dos íons metálicos, nem posições cristalográficas suficientes para as moléculas de água de rede e moléculas de água de coordenação de acordo com o grau de hidratação do composto.

O Azul da Prússia em diferentes estados de hidratação e desidratação^(45,46) tem sido estudado por difração de nêutrons. O resultado do cálculo estrutural utilizado na análise de difração revela duas estruturas distintas de moléculas de H₂O, onde 6 delas estão coordenadas ao Fe(III) ligado ao nitrogênio do cianeto e aproximadamente 8 moléculas de H₂O adicionais estão presentes ou isoladas no centro da célula unitária octante ou como moléculas de H₂O conectadas por pontes de hidrogênio para uma coordenação⁽⁴⁶⁾.

Além disso, Ganguli e Bhattacharya⁽⁴⁷⁾ estudaram por termogravimetria todos os diferentes estados de hidratação do AP. O efeito da hidratação sobre a condutividade foi estudado por RMN de H, comprovando a cristalização de H₂O para íons de Fe³⁺ em Fe₄[Fe(CN)₆]₃ nH₂O como previsto pelo modelo de Ludi⁽⁴⁰⁾. Os autores também concluíram que a energia de ativação para a formação do Azul da Prússia varia com a hidratação do complexo e quanto mais hidratado este for menor será a energia de ativação de formação do mesmo. Conseqüentemente o AP pode ser um semicondutor do tipo p que apresenta dois níveis de Fe³⁺ (ativação e acepção) perto da banda de valência, que é formada por ambos orbitais de ligação e Fe²⁺. Dependendo do nível de Fe³⁺, o composto seria um isolante. Então a transferência de elétrons entre Fe²⁺ e Fe³⁺ (para a banda de valência do nível de Fe³⁺) torna-se característica de um composto de valência mista responsável pela mudança drástica nas propriedades eletrônicas do material.

Os mesmos autores⁽⁴⁸⁾ também propuseram, com base em estudos DTA e RMN, que há 3 classes de moléculas de H₂O caracterizadas como água zeolítica, água de rede e água de coordenação natural e não apenas duas como proposto no modelo de Ludi⁽⁴⁰⁾. Os estudos com RMN demonstram que existem moléculas de H₂O intermediárias, denominadas de água de rede, além das moléculas de água de coordenação. Estas últimas encontram-se fortemente ligadas à estrutura cristalina.

Então, em termos de coordenação pode ser estabelecido que as moléculas de H₂O são distribuídas em 1^a, 2^a e 3^a esferas de coordenação respectivamente água de zeolítica, água de rede e água de coordenação⁽⁴⁸⁾.

As características de eletrodos modificados com filmes de AP dependem principalmente das condições de formação dos filmes. Estes últimos podem ser preparados química ou eletroquimicamente.

Dentre os trabalhos que descrevem a preparação química podem ser citados os trabalhos de Melvin e Robin ⁽⁴²⁾, Duncan e Wigley ⁽⁴⁹⁾, Buser et al. ⁽⁴⁰⁾, Neff ^(50,51), Day et al. ⁽⁴⁵⁾, Ellis et al. ⁽³⁹⁾, Itaya et al ⁽⁴¹⁾ e Ganguli e Bhattacharya ^(47,48).

Melvin e Robin ⁽⁴²⁾ prepararam uma dispersão aquosa de AP por adição estequiométrica de solução K₄ Fe^{II}(CN)₆ a uma solução Fe^{III}(ClO₄)₂. O mesmo procedimento foi realizado substituindo-se o K₄ Fe^{II}(CN)₆ por K₄Ru^{II}(CN)₆ ou K₄Os^{II}(CN)₆. Os autores atribuíram a coloração azul à mudança da transferência de carga entre Fe^{II}(CN)₆⁴⁻ e Fe^{III}. A medida da intensidade de transição indica que os elétrons da última camada externa estão em geral (99%) localizados no Fe^{II}(CN)₆⁴⁻.

Neff ⁽⁵⁰⁾ observou que filmes finos e aderentes de Azul da Prússia sobre eletrodos de Pt eram formados por imersão do eletrodo (previamente catodizado em HCl 1 mol L⁻¹ a 1 mA por 1 hora) em soluções contendo íons Fe³⁺ e [Fe(CN)₆]³⁻ na proporção de 1:1 por alguns minutos. Nesta solução modificadora formou-se o complexo Fe^{III}[Fe^{III}(CN)₆], Marrom da Prússia, que pode sofrer polimerização lenta promovendo a eventual precipitação do Verde de Berlim, Fe^{III}[Fe^{III}(CN)₆]. Por este motivo, soluções recém preparadas devem ser utilizadas. O voltamograma cíclico, registrado com um eletrodo assim modificado, em solução de KCl 1 mol L⁻¹ apresentou na varredura anódica (E_{final} = 0,6 V vs ECS) a coloração azul devido à formação do AP enquanto na varredura catódica a superfície do eletrodo tornou-se incolor, ao redor de 0,0 V, devido à redução do Azul da Prússia ao sal de Everitt, K₂Fe^{II}Fe^{II}(CN)₆, também denominado de Branco da Prússia. Em potenciais mais positivos do que 1,0 V, o filme tornou-se verde,

aparentemente devido à oxidação do Azul da Prússia ao Verde de Berlim. Como no caso anterior, as colorações sobre o eletrodo se alternaram em função do potencial aplicado.

Ellis et al ⁽³⁹⁾ descreveram a deposição de micro-cristais do Azul da Prússia sobre eletrodo de Pt previamente catodizado em solução 1 mol L⁻¹ de HCl por 15 minutos a 0,1 mA. O eletrodo, previamente tratado foi imerso em soluções aquosas contendo 1 mmol L⁻¹ de FeCl₃, 2 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆], 0,01 mol L⁻¹ de KCl em 0,1 mol L⁻¹ de HCl e a formação do AP identificada pelo aparecimento de coloração azul clara na superfície do eletrodo. Os autores admitiram que a primeira etapa da reação de formação do filme envolve a redução de íons Fe³⁺ livres ou no complexo de Fe[Fe(CN)₆]:

(Forma “solúvel” do AP)

Apesar da reação (I.3) ser desfavorável, o processo total possui energia livre de – 177 kJ mol⁻¹, permitindo a formação química do filme. Os autores acreditam que metais como ouro e platina catalisam a reação (I.3) uma vez que os potenciais redox do Azul da Prússia foram independentes do material do eletrodo. Assim, este último deveria atuar apenas como catalisador da reação durante a redução do íon Fe³⁺ ao íon Fe²⁺. Esta proposta foi comprovada pela introdução, junto ao eletrodo de trabalho, de um fio de cobre ou ferro, a qual resultou no aumento da velocidade de formação do filme, uma vez que estes metais atuaram como ânodo de sacrifício. Deste modo, o eletrodo de trabalho comportou-se como um cátodo para a redução do íon Fe³⁺.

Após lavagem com água deionizada, o eletrodo modificado com AP foi condicionado em solução 0,01 mol L⁻¹ de FeCl₂ contendo 0,01 mol L⁻¹ de HCl por 30 minutos, com o objetivo de eliminar o excesso de íons ferricianeto da superfície do filme.

Os autores salientaram a importância da preparação dos filmes em meio ácido, como um procedimento importante para evitar a contaminação dos filmes

com Fe_2O_3 . Além disso, salientaram ainda, que filmes preparados na presença de KCl originam, preferencialmente a forma solúvel do Azul da Prússia.

Neff et al ⁽⁵¹⁾ assumiram que o AP "solúvel" era quimicamente depositado sobre a superfície de eletrodos e que as reações de redução e oxidação do AP poderiam ser descritas pelas equações:

Entretanto não foi encontrada nenhuma evidência espectroscópica da presença de potássio nos filmes ⁽⁴¹⁾.

Apesar dos trabalhos que descrevem a preparação química destes filmes terem fornecido informações importantes à cerca das condições de preparação e caracterização da estrutura dos filmes de Azul da Prússia ^(42,40,50,45,39,47,48,51), a preparação eletroquímica ainda continua sendo o método mais amplamente utilizado, principalmente no desenvolvimento de eletrodos modificados e biossensores, sempre utilizados na determinação direta de H_2O_2 , ou desta, como produto de uma reação enzimática. Conseqüentemente, são nestes trabalhos que um maior número de informações acerca da estabilidade dos filmes, principalmente durante a redução catalítica do peróxido, é encontrada.

Vários trabalhos descrevem a preparação eletroquímica de filmes de Azul da Prússia ^(41,56,57,51,59,52,60,26-30,58,31-33,53,34-37,54,55,38); estes podem ser distinguidos quanto a método de preparação: voltametria cíclica ^(26,27,29), deposição a corrente constante ^(41,56,57,51,58,54) e deposição a potencial controlado ^(52,60,30,59,53,36,55).

Itaya et al ⁽⁴¹⁾ preparam filmes de AP, via eletroquímica, sobre eletrodos de Pt, carbono vítreo e SnO_2 a partir de solução contendo concentrações equimolares de FeCl_3 e $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, $0,02 \text{ mol L}^{-1}$. O eletrodo de trabalho, juntamente com demais eletrodos, foi imerso na solução modificadora e polarizado catodicamente por 120 segundos sob condições galvanostáticas com densidade de corrente de $40 \mu \text{ A / cm}^2$. O comportamento eletroquímico dos eletrodos modificados foi estudado em solução de KCl 1 mol L^{-1} , (pH = 4,0). Os filmes de AP apresentaram maior espessura do que os obtidos por reação química, porém não resistiriam a

sucessivas ciclagens a potenciais positivos (0,9 V) em solução de KCl 1 mol L⁻¹, (pH = 4,0).

Chi et al.⁽²⁹⁾ propuseram a formação do filme de Azul da Prússia por voltametria cíclica sobre eletrodo de grafite pirolítico. Os autores utilizaram um sistema de três eletrodos com Ag/AgCl (KCl sat) como eletrodo de referência, Pt como eletrodo auxiliar e grafite pirolítico como eletrodo de trabalho, preparando o filme em solução tampão fosfato pH 6,0 contendo 2 mmol L⁻¹ de K₃Fe(CN)₆ e 2 mmol L⁻¹ de Fe₂(SO₄)₃. Entretanto sabe-se que neste pH o Fe^{III} é hidrolisado a hidróxido férrico⁽⁶¹⁾, o que impossibilita a formação do filme neste meio.

Karyakin et al.⁽³⁰⁾ descreveram um biossensor amperométrico para determinação de glicose e álcool em sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA), através da detecção do peróxido de hidrogênio formado em eletrodos modificados com Azul da Prússia. O filme foi formado por eletrodeposição na superfície do eletrodo de trabalho, a partir de solução contendo 1 mol L⁻¹ de KCl; 3 mmol L⁻¹ de HCl; 1 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆] e 1 mmol L⁻¹ de FeCl₃ por aplicação de um potencial constante de 0,4 V por 30 ou 100 segundos. Nesta etapa os reagentes foram adsorvidos na superfície do eletrodo e posteriormente o filme foi ativado (reação de oxi-redução) em solução 0,1 mol L⁻¹ de KCl por ciclagem no intervalo $-0,05 \text{ V} \leq E_{\text{aplicado}} \leq 0,35 \text{ V}$ a uma velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. Não apenas estes autores⁽³⁰⁾, mas outros^(60, 55) adotaram procedimento similar.

Karyakin et al.⁽⁵³⁾ utilizaram um sistema de três eletrodos com Ag/AgCl (KCl sat) como eletrodo de referência, Pt como eletrodo auxiliar e carbono vítreo como eletrodo de trabalho. A partir de solução contendo 2 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆] e 2 mmol L⁻¹ de FeCl₃ o filme foi preparado por deposição a potencial controlado $E_{\text{apl}} = 0,4 \text{ V}$ por 60 s. Depois da deposição do filme, o eletrodo foi ciclado em eletrólito suporte 0,1 mol L⁻¹ de KCl contendo 0,1 mol L⁻¹ de HCl, no intervalo de $-0,05 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 0,35 \text{ V}$ com velocidade de varredura de 50 mVs⁻¹. A estabilidade do filme foi avaliada em solução 0,1 mol L⁻¹ de KCl, no intervalo de potencial de $-0,05 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 0,35 \text{ V}$ e com velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. Após 25 ciclos, o eletrodo foi submetido a

um potencial constante de $-0,05$ V por algum tempo e em seguida foi seco a 100 °C por 1 hora o que promoveria maior estabilidade ao filme.

Garcia-Jareño et al ⁽⁵⁴⁾ prepararam filmes de Azul da Prússia por deposição a corrente catódica constante sobre eletrodos de óxido de índio ($i_c = 40 \mu A cm^{-2}$; 150 seg) e ouro ($i_c = 600 \mu A cm^{-2}$; 150 seg), utilizando como solução modificadora $20 mmol L^{-1}$ de $K_3[Fe(CN)_6]$ e $20 mmol L^{-1}$ de $FeCl_3$. Os autores concluíram que filmes insolúveis de Azul da Prússia são convertidos em filmes solúveis por ciclagens sucessivas ao redor do sistema de redução Azul da Prússia $\rightarrow$ Branco da Prússia, pela incorporação de íons K^+ na forma insolúvel do filme. A estabilidade dos filmes de Azul da Prússia aumentou quando estes foram recobertos com Náftion.

O AP pode ser reduzido eletroquimicamente em solução de eletrólito suporte (sais de K^+) a $Fe(II)$ -NC- $Fe(II)$ incolor (sal de Everitt), ou então oxidado de modo parcial para formar um composto verde conhecido como verde de Berlim. Com a aplicação de potenciais mais anódicos é possível a obtenção da forma amarela totalmente oxidada, simplificada como $Fe(III)$ -NC- $Fe(III)$ (amarelo da Prússia ou marrom da Prússia). ^(58,62) As reações de óxido redução do AP podem ser representadas de modo simplificado pelo seguinte esquema ⁽⁵²⁾:

Itaya et al ⁽⁴¹⁾ propuseram, com base em estudos espectrocópicos, que os filmes fossem constituídos pelo AP “insolúvel”, e que as reações eletroquímicas de redução e oxidação fossem:

Durante a oxidação ou a redução de um filme polimérico é necessária a entrada ou saída de espécies iônicas, para assegurar a eletroneutralidade. Pelas Equações 1.5 e 1.8 o potássio é responsável pela manutenção do balanceamento

de cargas no processo de redução. Por outro lado na reação de oxidação os modelos de Neff⁽³⁹⁾ e Itaya⁽⁴¹⁾ divergem, pois a Equação I.6 pressupõe a expulsão de K⁺ do AP, enquanto na Equação I.9 pressupõe a incorporação de um ânion.

Mortimer e Rosseinky⁽⁶³⁾ observaram que ocorria diminuição da largura da banda e diminuição do $\lambda_{\max}$ de absorção do AP de 760 nm para 690 nm, após redução ao sal de Everitt e re-oxidação ao estado inicial. Com base neste dado sugeriram que inicialmente a forma “insolúvel” do complexo era formada, porém durante a ciclagem consecutiva de potencial em solução de KCl, esta era convertida na forma “solúvel”.

Um estudo extenso sobre estes eletrodos foi efetuado por Lundgren e Murray⁽⁵⁹⁾, os quais encontraram quantidades significativas de cloreto e a ausência de potássio nos filmes recém preparados. Propuseram então a formulação do AP como (HCl)Fe^{III}₄[Fe^{II}(CN)₆]₃.6H₂O, onde íons cloreto estariam coordenados aos íons Fe(III) que não estão ligados a NC-Fe^{II}. O hidrogênio ácido pode ser facilmente trocado por íons K⁺, apenas por imersão do eletrodo em solução de KCl. Durante a redução eletroquímica do AP ao BP mais íons K⁺ são incorporados ao filme, enquanto íons Fe³⁺ passam para solução o que levaria, por aproximação à composição “solúvel”. Porém a conversão não ocorre de maneira quantitativa e acaba-se tendo uma mistura das duas formas do AP. Os autores observaram ainda, que um voltamograma estável, na reação de oxidação, só era obtido se o filme fosse previamente reduzido a (Fe^{II},Fe^{II}), pois de outro modo haveria perda rápida na resposta eletroquímica. A Equação I.9 sugere que, durante a redução, ocorra a entrada de Cl⁻, entretanto K⁺ também é incorporado ao filme. A Equação I.10 foi então proposta para descrever a redução de um filme previamente oxidado:

Este modelo está de acordo com os dados de eletrogravimetria com microbalança de cristal de quartzo obtidos por Feldman e Melroy⁽⁶⁴⁾ que observaram perda de massa durante o processo de oxidação e a invariabilidade

dos potenciais redox dos filmes em relação à natureza do ânion empregado como eletrólito suporte.

Examinando-se as Equações 1.5 e 1.8 pode-se supor que a natureza do cátion presente na solução deve influir na reação de redução do AP, uma vez que este tem que penetrar no interior dos canais formados pelas cadeias poliméricas $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$. Sais de K^+ , Rb^+ , Cs^+ e NH_4^+ permitem a manutenção de voltamogramas estáveis, enquanto Na^+ , Li^+ , H^+ e os cátions bivalentes de metais alcalinos terrosos levam à queda na resposta eletroquímica em seguidas varreduras cíclicas consecutivas.^(54,55) A facilidade com que ocorre a redução segue a ordem $\text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$ ^(50,39,29), o que indica que o raio hidratado do cátion face às dimensões dos canais do retículo determina o comportamento eletroquímico do filme. Em uma situação extrema, o cátion volumoso tetraetilamônio não permite obter qualquer resposta eletroquímica, uma vez que não consegue penetrar nos canais do AP⁽³⁹⁾. Por esse motivo a presença do íon K^+ é necessária para a obtenção de resposta voltamétrica do filme, figura 7.

Figura 7. Voltamogramas cíclicos registrados em solução modificadora contendo: 2 mmol L⁻¹ de K₃ [Fe(CN)₆]; 3 mmol L⁻¹ de FeCl₃; 0,5 mol L⁻¹ de KNO₃ em HCl 0,02 mol L⁻¹. Velocidade de varredura 60 m V s⁻¹ e -0,4 V ≤ E_{apl} ≤ 1,2 V.

Plichon e Besbes⁽⁵²⁾ utilizaram a técnica do efeito miragem para estudar o AP. O efeito miragem ocorre quando um feixe de laser passa através de uma camada com índice de refração variável e é defletido. O feixe de laser pode ser direcionado paralelamente à superfície do eletrodo e sofre deflexão quando ocorre um gradiente de concentração, devido a entrada ou a saída de íons dentro de filmes durante um processo eletroquímico. Os autores observaram que íons K^+ entram no filme durante a redução em meio neutro, enquanto que em meio ácido há a entrada simultânea de prótons, para a compensação de cargas. Sais de potássio (Cl^- , Br^- , SO_4^{2-} , NO_3^- e ClO_4^-) não causam nenhuma mudança nos resultados, exceto o KBF_4 que levava à expulsão de hexacianoferrato para a solução. Passando para a reação de oxidação, os dados de detecção pelo efeito miragem indicaram que espécies são expulsas do filme, o que descarta a Equação I.9. A Equação I.6 também não é apropriada, uma vez que os autores constataram que $Fe(III)$ e não K^+ , é expulso do filme. Tal conclusão foi obtida devido à formação de um complexo de coloração vermelha sangue ao se adicionar tiocianato na solução onde se efetuou a varredura de potencial. Na varredura reversa os íons entram no filme, porém a ciclagem repetitiva por longo tempo não é aconselhável, uma vez que parte de $Fe(III)$ difunde-se para longe do eletrodo.

Posteriormente os mesmos autores⁽⁶⁰⁾ sintetizaram filmes de AP na ausência de K^+ , com a utilização de reagentes contendo Li^+ . Não foram observadas diferenças entre o comportamento eletroquímico dos filmes sintetizados com sais de K^+ ou Li^+ , tanto na redução como na oxidação do filme. Portanto, o filme logo que sintetizado não deve conter estes cátions, favorecendo a sua formulação como a forma "insolúvel". Por outro lado, através de medidas coulométricas, concluíram que a conversão "insolúvel" para "solúvel" não ocorre em grande extensão durante o primeiro ciclo de oxiredução.

Como se pode constatar, há muitos dados e interpretações controversas em relação à composição de EQM de filmes da AP.

Atualmente^(54,55) é aceito que a forma ‘insolúvel’ é a que se obtém em filmes recém preparados, porém ciclagens de potencial na presença de eletrólito levam a uma mudança de composição em extensão não muito grande.

O principal problema encontrado no desenvolvimento de eletrodos modificados com filmes de AP, está relacionado com sua instabilidade durante a redução catalítica H_2O_2 , na qual ocorre a liberação de íons OH^- ⁽⁵³⁾. Deste modo diversos trabalhos tem sido publicados para tentar resolver este problema, desde métodos de preparação dos filmes química ^(62,50,39,47) e eletroquimicamente ^(26-38,50,56,57), condicionamento dos filmes formados em soluções contendo $FeCl_2$ ⁽³⁹⁾ e $RuCl_3$ ⁽⁶⁵⁾, secagem prévia dos filmes ^(39,53,55) (para que sua estrutura zeolítica não contenha moléculas de H_2O), recobrimento com filme permseletivo Náfon ⁽²⁷⁻³⁸⁾ (que impede a entrada de ânions e adicionalmente desidrata o filme) e controle da composição do eletrólito suporte ^(56,57,47,48,30,36) (pH, composição do tampão, adição de sais contendo íons de K^+) utilizado para o crescimento e/ou determinação da H_2O_2 .

Karyakin et al. ⁽⁵³⁾ investigaram o mecanismo de redução de H_2O_2 na presença de O_2 por deposição de filmes de AP sobre eletrodos de carbono vítreo. Os eletrodos modificados apresentaram estabilidade em potenciais negativos e em solução neutra de eletrólito suporte. Porém a redução direta de H_2O_2 em solução neutra, envolve $2 e^-$ formando $2 OH^-$, que complexam o ferro da estrutura cristalina desestabilizando o filme.

Os autores ⁽⁵³⁾ e outros ^(39,55) concluíram que eletrodos modificados recém preparados são instáveis enquanto que os eletrodos modificados, previamente secos, são mais estáveis. A existência de água no policristal inorgânico afeta a estabilidade do eletrodo modificado e alguns autores ⁽⁵⁵⁾ consideram que a remoção irreversível da H_2O zeolítica por aquecimento a $100^\circ C$ durante 1 hora,

propiciaria a obtenção de filmes mais estáveis . De fato a água poderia estar promovendo a hidrólise do Fe^{3+} .

Benedetto et al.⁽⁶⁵⁾ criaram uma rota geral para a estabilização de filmes inorgânicos de InHCF (hexacianoferrato (II/III) de Indium (III)) sobre eletrodos de carbono vítreo, por ciclagem sucessiva em solução $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl, $\text{pH} = 2$, contendo 1 mmol L^{-1} de RuCl_3 no intervalo de potencial aplicado de $0,0 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 0,9 \text{ V}$ a 50 m V s^{-1} , sendo os filmes de InHCF análogos aos filmes de AP.

O filme InHCF modificado com rutênio apresentou maior estabilidade e área ativa devido incorporação no filme, de Ru(III) e espécies dinucleares ($\text{Ru}_2\text{O}_6^{3+}$), na estrutura zeolítica, com formação de ligações ciano e oxo, (Fe-CN-Ru e Fe-O-Ru).

Outros autores também estudaram o comportamento do Ru(III) sobre o filme de Azul da Prússia⁽⁶⁶⁾ e seus análogos⁽⁶⁷⁻⁷¹⁾, e assim como Benedetto et al⁽⁶⁵⁾ concluíram que o eletrodo modificado tem sua estabilidade e ação catalítica aumentada pela incorporação de Ru(III) e $\text{Ru}_2\text{O}_6^{3+}$ na estrutura zeolítica. Eletrodos modificados com Ru/Ru(CN) de valência mista têm sido utilizados para oxidação e determinação de As(III) em meio ácido⁽⁷²⁾, mediação da oxidação de N-nitrosamina ⁽⁷³⁾ e determinação de álcoois^(74,75) enquanto eletrodos modificados com $\text{RuCl}_3/\text{RhCl}_3$ tem sido utilizados na determinação de H_2O_2 ⁽⁷⁶⁾.

Os principais parâmetros que devem ser estudados para a preparação, crescimento e/ou estabilização dos filmes de Azul da Prússia são: pH e concentração de íons K^+ na solução modificadora bem como no eletrólito suporte utilizado para avaliação da estabilidade do filme e determinação de H_2O_2 , intervalo de tempo decorrido entre a formação do filme e o teste de estabilidade, temperatura e tempo de secagem do filme, influência do condicionamento prévio em solução de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e efeito do O_2 na redução catalítica de H_2O_2 .

OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram: i) avaliar três métodos distintos de preparação do filme Azul de Prússia visando otimizar o sistema para detecção de peróxido de hidrogênio com vistas ao desenvolvimento futuro de biossensores; ii) estudar os fatores que podem afetar a estabilidade dos eletrodos modificados durante a redução catalítica de H_2O_2 e iii) Apresentar alternativas que permitam a obtenção do AP em sua forma insolúvel, solucionando assim os problemas de instabilidade dos filmes.

II- PARTE EXPERIMENTAL

II.1- Reagentes e Soluções

Reagentes

A tabela II.1 apresenta os reagentes utilizados durante o desenvolvimento do trabalho.

Tabela II.1. Os reagentes utilizados durante o desenvolvimento do trabalho.

Reagente	Procedência	Reagente	Procedência
HCl	Merck	ácido cítrico	Merck
FeSO ₄ .7H ₂ O	Merck	K ₃ [Fe(CN) ₆]	Merck
NaNO ₃	Merck	FeCl ₃	Merck
NaH ₂ PO ₄	Merck	KNO ₃	Merck
RhCl ₃ .3H ₂ O	Aldrich Chemical Co	RuCl ₃ .3H ₂ O	Aldrich Chemical Co
Grafite Acheson 38	Ficher	óleo mineral nujol (16140-3)	Aldrich Chemical Co
Acetato de sódio	Merck	NaOH	Merck
Ácido ascórbico	Merck	Hepes	Merck
Citrato de potássio	Merck	ácido acético	Merck
Na ₂ HPO ₄	Merck	KCl	Merck
Peridrol 30%	Merck	K ₂ C ₂ O.H ₂ O	Merck
KMnO ₄	Merck	Ácido úrico	Merck

Todos os reagentes foram utilizados sem purificação prévia.

Soluções:

Todas as soluções foram preparadas utilizando-se água deionizada proveniente de um purificador Nanopure, da Barnstead.

Soluções de HCl: As soluções estoque $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl foram preparadas pipetando-se quantidades apropriadas de ácido clorídrico concentrado e diluindo-se em água deionizada.

Solução de KCl: A solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl foi preparada dissolvendo-se quantidade apropriada do sal em solução de HCl $0,02 \text{ mol L}^{-1}$.

Solução de $\text{RhCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: A solução de 1 mmol L^{-1} de $\text{RhCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl foi preparada dissolvendo-se quantidades apropriadas dos sais em solução de HCl $0,02 \text{ mol L}^{-1}$.

Solução de $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: A solução de 1 mmol L^{-1} de $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl foi preparada dissolvendo-se quantidades apropriadas dos sais em solução de HCl $0,02 \text{ mol L}^{-1}$.

Soluções de KMnO_4 : As soluções de permanganato foram preparadas por dissolução de aproximadamente 3,2 g de permanganato de potássio em 1000 mL de água deionizada. As soluções foram brandamente aquecidas durante 15-30 minutos e resfriadas a temperatura ambiente. Em seguida as soluções foram filtradas através de um funil contendo lã de vidro purificada, recolhendo-se o filtrado em um frasco limpo de vidro âmbar. Estas soluções foram padronizadas utilizando-se $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ como padrão primário⁽⁷⁷⁾.

Soluções de H_2O_2 : As soluções de H_2O_2 foram preparadas pipetando-se quantidades apropriadas de água oxigenada 30% e diluindo-se em água deionizada. As soluções foram posteriormente padronizadas com a solução padrão secundário de KMnO_4 , como descrito na literatura⁽⁷⁷⁾.

Soluções de ácido ascórbico $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$: As soluções de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ foram preparadas dissolvendo-se quantidades apropriadas do sal em água deionizada previamente desaeradas com N_2 .

Soluções de ácido úrico $C_5H_4N_4O_3$: As soluções de $C_5H_4N_4O_3$ foram preparadas dissolvendo-se quantidades apropriadas do sal em água deionizada previamente desaeradas com N_2 .

Todas as soluções tampão utilizadas foram preparadas como descrito na referência⁽⁷⁸⁾.

A tabela II.2 apresenta as soluções tampão utilizadas durante o desenvolvimento do trabalho.

Tabela II.2. Soluções tampão utilizadas durante o desenvolvimento do trabalho⁽⁷⁸⁾.

Solução tampão	Composição	pH
$NaH_2PO_4 + Na_2HPO_4$	0,05 mol L ⁻¹ de NaH_2PO_4 / 0,05 mol L ⁻¹ de Na_2HPO_4	6,1
$NaH_2PO_4 + Na_2HPO_4$	0,05 mol L ⁻¹ de NaH_2PO_4 / 0,05 mol L ⁻¹ de Na_2HPO_4	6,5
$C_6H_8O_7 \cdot H_2O + Na_2HPO_4$	0,1 mol L ⁻¹ de ácido cítrico / 0,2 mol L ⁻¹ de Na_2HPO_4	5,5
$H_3CCOOH + H_3CCOONa$	0,01 mol L ⁻¹ ácido acético / 0,01 mol L ⁻¹ acetato de sódio	5,5
$C_6H_8O_7 \cdot H_2O + C_6H_5K_3O_7 \cdot H_2O$	2 mmol L ⁻¹ ácido cítrico / 10 mmol L ⁻¹ citrato de potássio	6,1
$C_6H_8O_7 \cdot H_2O + C_6H_5K_3O_7 \cdot H_2O$	2 mmol L ⁻¹ ácido cítrico / 10 mmol L ⁻¹ citrato de potássio	6,5

II.1.1 - Composição da Solução Modificadora Utilizada para Preparação dos Filmes de Azul da Prússia (AP):

II.1.1.a- Por Voltametria Cíclica⁽²⁹⁾

A composição da solução modificadora utilizada para preparação dos filmes de Azul da Prússia foi: 2 mmol L⁻¹ de $K_3[Fe(CN)_6]$; 3 mmol L⁻¹ de $FeCl_3$; 0,5 mol L⁻¹ de KNO_3 em HCl 0,02 mol L⁻¹. Para a preparação desta solução 0,0405g $FeCl_3$ foram dissolvidas em 10,00 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹. Em seguida, 0,0330g de $K_3[Fe(CN)_6]$ e 2,53g de KNO_3 foram dissolvidos em água deionizada e a solução resultante adicionada à solução de $FeCl_3$. O volume final foi completado a 50,00 mL.

II.1.1.b- Por Deposição a Potencial Controlado⁽⁵³⁾

A composição da solução modificadora utilizada para preparação dos filmes de Azul da Prússia foi: 2 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆]; 3 mmol L⁻¹ de FeCl₃; 0,5 mol L⁻¹ de KCl em HCl 0,02 mol L⁻¹. Para a preparação desta solução 0,0405g FeCl₃ foram dissolvidas em 10,00 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹. Em seguida, 0,0330g de K₃[Fe(CN)₆] e 1,86g de KCl foram dissolvidos em água deionizada e a solução resultante adicionada à solução de FeCl₃. O volume final foi completado a 50,00 mL.

II.1.1.c- Por Deposição a dois Potenciais Controlados

A composição da solução modificadora utilizada para preparação dos filmes de Azul da Prússia foi: 2 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆]; 3 mmol L⁻¹ de FeCl₃; em HCl 0,02 mol L⁻¹. Para a preparação desta solução 0,0405g FeCl₃ foram dissolvidas em 10,00 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹. Em seguida, 0,0330g de K₃[Fe(CN)₆] foi dissolvido em água deionizada e a solução resultante adicionada à solução de FeCl₃. O volume final foi completado a 50,00 mL.

II.2- Equipamentos

As medidas de pH foram efetuadas utilizando-se pHmetro Modelo 654 e eletrodo de vidro combinado modelo 6.0203.100 (OE), ambos da Metrohm. Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando-se um computador 4.86 da Hundai acoplado a um potenciostato MQPG-01, com um sistema potenciostato MQPG-01.

II.2.1- Sistema de Eletrodos

Utilizou-se um sistema de 3 eletrodos constituído de eletrodo de pasta de carbono (EPC); eletrodo auxiliar Pt e eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl sat.), figura 8.

A pasta de carbono foi preparada misturando-se grafite (previamente aquecido a 150 °C por pelo menos 2 horas) com óleo nujol na razão de 2:1 (grafite : nujol).

O eletrodo de trabalho foi construído no próprio laboratório constituindo-se de um cilindro de cobre de 90 mm de comprimento por 3 mm de diâmetro que tem a função de contato elétrico, envolto por um tubo de plástico de 75 mm de comprimento por 6 mm de diâmetro externo e 4 mm de diâmetro interno, com uma parede de 1 mm de espessura. A barra de cobre foi introduzida no interior do tubo de plástico por uma das extremidades até cerca de 1 mm da outra extremidade do tubo. Em seguida, preencheu-se o espaço entre o bastão de cobre e o tubo plástico com uma camada de cola Araldite para vedação e fixação da barra de cobre ao tubo plástico. Após a secagem da cola, a pasta de carbono foi introduzida na cavidade formada entre a extremidade do cilindro de cobre e o tubo plástico.

O eletrodo auxiliar foi constituído de um fio de platina soldado a um fio de Ni-Cr, utilizando-se um suporte de vidro como corpo para o eletrodo.

O eletrodo de referência foi Ag / AgCl (KCl_{sat}) um fio de prata foi lixado para a remoção de óxidos, lavado com etanol para a retirada de gordura e imerso com demais eletrodos (referência e auxiliar) em solução de ácido clorídrico 10⁻³ mmol L⁻¹. O AgCl foi precipitado na superfície do eletrodo por oxidação do fio de prata a 8 mV vs Ag/AgCl, KCl sat. por 700 s. A montagem do eletrodo foi efetuada como descrito por Pedrotti et al ⁽⁷⁹⁾.

Figura 8. Esquema representativo do sistema de eletrodos.

A pasta de carbono foi utilizada por ser um material barato, facilmente removível e que permite a imobilização enzimática durante a preparação da própria pasta de carbono.

II.2.2.1- Preparação dos Eletrodos Modificados com Azul da Prússia

II.2.2.1.a- Por Voltametria Cíclica

Após imersão do sistema de eletrodos na solução modificadora efetuou-se 50 ciclos na solução modificadora no intervalo de potencial $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 1,2 \text{ V}$ com velocidade de varredura de 60 m V s^{-1} .

II.2.2.1.b- Por Deposição a Um Potencial Controlado

Após imersão do sistema de eletrodos na solução modificadora aplicou-se 0,4 V por 1 minuto na solução modificadora (pré-concentração dos reagentes). Em seguida os eletrodos foram ativados em solução eletrólito suporte contendo 0,1 mol L⁻¹ de KCl em 2,0 x 10⁻² mol L⁻¹ de HCl (realização de 50 ciclos no intervalo de - 0,05 V ≤ E_{apl} ≤ 0,35 V a 50 m V s⁻¹) e utilizados apenas após secagem a temperatura ambiente por 24 horas.

II.2.2.1.c- Por Deposição a Dois Potenciais Controlados

Após imersão do sistema de eletrodos na solução modificadora aplicou-se 0,4 V ao eletrodo de trabalho durante 2 minutos (etapa de pré-concentração de reagentes). Em seguida, o potencial foi imediatamente revertido para - 0,4 V durante mais 2 minutos (etapa de redução dos reagentes e formação do filme de Azul da Prússia). O ciclo foi repetido por mais duas vezes. Em seguida, os eletrodos foram ativados em solução de eletrólito suporte contendo 0,5 mol L⁻¹ de KCl e 2,0 x 10⁻² mol L⁻¹ de HCl (realização de 50 ciclos no intervalo de - 0,4 V ≤ E_{apl} ≤ 0,6 V a 60 mV s⁻¹) e utilizados apenas após secagem a temperatura ambiente por 24 horas.

II.2.2.1.d- Por Deposição a Dois Potenciais Controlados e Ativação em Solução contendo KCl 0,5 mol L⁻¹ e RuCl₃ 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹

Após imersão do sistema de eletrodos na solução modificadora aplicou-se 0,4 V ao eletrodo de trabalho durante 2 minutos (etapa de pré-concentração de reagentes). Em seguida, o potencial foi imediatamente revertido para - 0,4 V durante mais 2 minutos (etapa de redução dos reagentes e formação do filme de Azul da Prússia). O ciclo foi repetido por mais duas vezes. Em seguida, os eletrodos modificados foram ativados em solução contendo 0,5 mol L⁻¹ de KCl, 2,0 x 10⁻² mol L⁻¹ de HCl e 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de RuCl₃ (realização de 50 ciclos no

intervalo de $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 0,6 \text{ V}$ a 60 mV s^{-1}) e utilizados após secagem a temperatura ambiente por 24 horas.

II.2.2.1.e- Por Deposição a Dois Potenciais Controlados e Ativação em Solução contendo KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e RhCl_3 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$

Após imersão do sistema de eletrodos na solução modificadora aplicou-se $0,4 \text{ V}$ ao eletrodo de trabalho durante 2 minutos (etapa de pré-concentração de reagentes). Em seguida, o potencial foi imediatamente revertido para $-0,4 \text{ V}$ durante mais 2 minutos (etapa de redução dos reagentes e formação do filme de Azul da Prússia). O ciclo foi repetido por mais duas vezes. Em seguida, os eletrodos modificados foram ativados em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl, $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de HCl e $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de RhCl_3 (realização de 50 ciclos no intervalo de $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 0,6 \text{ V}$ a 60 mV s^{-1}) e utilizados após secagem a temperatura ambiente por 24 horas.

Os três últimos métodos de preparação constituem-se em contribuições inéditas, as quais foram formuladas após leitura detalhada de métodos previamente descritos na literatura.

II.2.2.2- Preparação dos Eletrodos Modificados em Solução de RhCl_3

II.2.2.2.a- Por Deposição a Dois Potenciais Controlados em Solução contendo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de RhCl_3

Após imersão do sistema de eletrodos na solução contendo 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 e $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl, aplicou-se $0,4 \text{ V}$ ao eletrodo de trabalho durante 2 minutos. Em seguida, o potencial foi imediatamente revertido para $-0,4 \text{ V}$ durante

mais 2 minutos. O ciclo foi repetido por mais duas vezes. Em seguida, os eletrodos modificados foram ativados em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de HCl (realização de 50 ciclos no intervalo de $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 0,6 \text{ V}$ a 60 mV s^{-1}) e utilizados após secagem a temperatura ambiente por 24 horas.

II.2.3.1- Curvas Analíticas para Determinação de H_2O_2

II.2.3.1.a- Curvas Analíticas para Determinação de H_2O_2 Utilizando o Eletrodo Modificado com Azul da Prússia

O eletrodo de pasta de carbono modificado com Azul da Prússia (**EPC-AP**) foi utilizado na determinação amperométrica de H_2O_2 no intervalo de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão (citrato de potássio/ácido cítrico) $\text{pH} = 6,1$ contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 . O potencial aplicado foi de $0,040 \text{ V}$ vs $E_{\text{Ag/AgCl, KCl(sat)}}$.

II.2.3.1.b- Curvas Analíticas para Determinação de H_2O_2 Utilizando o Eletrodo Modificado com Azul da Prússia e Posteriormente Ativado em Solução contendo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de RhCl_3

O eletrodo de pasta de carbono modificado com Azul da Prússia e posteriormente ativado em solução contendo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de RhCl_3 (**EPC-AP-Rh**) foi utilizado na determinação amperométrica de H_2O_2 no intervalo de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão (citrato de potássio/ácido cítrico) $\text{pH} = 6,1$ contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. O potencial aplicado foi de $0,040 \text{ V}$ vs $E_{\text{Ag/AgCl, KCl(sat)}}$.

II.2.3.1.c- Curvas Analíticas Utilizadas para Estabelecer o Limite de Detecção na Determinação de H₂O₂ Utilizando o Eletrodo Modificado com Azul da Prússia e Posteriormente Ativado em Solução contendo 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de RhCl₃

O eletrodo de pasta de carbono modificado com Azul da Prússia e posteriormente ativado em solução contendo 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de RhCl₃ (**EPC-AP-Rh**) foi utilizado na determinação amperométrica de H₂O₂ no intervalo de 9,3 x 10⁻⁸ mol L⁻¹ a 8,6 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ em solução tampão (citrato de potássio/ácido cítrico) pH = 6,1 contendo 0,5 mol L⁻¹ de KCl. Porém, a faixa de trabalho utilizada para cálculo do limite de detecção e sensibilidade foi de 5,1 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ a 8,6 x 10⁻⁴ mol L⁻¹.

II.2.3.2- Avaliação da Interferência dos ácidos Ascórbico e Úrico na Determinação de H₂O₂ Utilizando os Eletrodos Modificados com Azul da Prússia e Posteriormente Ativados em Solução contendo 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de RhCl₃

II.2.3.2.a- Interferência do ácido Ascórbico na Determinação de H₂O₂. Utilizando os Eletrodos Modificados com Azul da Prússia e Posteriormente Ativados em Solução contendo 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de RhCl₃

Os eletrodos de pasta de carbono modificados com Azul da Prússia e posteriormente ativados em solução contendo 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de RhCl₃ (**EPC-AP-Rh**) foram utilizados para registrar a corrente de redução na ausência e presença de 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de ácido ascórbico e/ou úrico. A na faixa de

potencial estudada foi - 0,21 V $\leq$ E_{api} $\leq$ 0,19 V, em solução tampão citrato de potássio / ácido cítrico pH 6,1 contendo 0,5 mol L⁻¹ de KCl.

II.2.3.2.b- Interferência do Ácido Ascórbico na Determinação de H₂O₂ Utilizando os Eletrodos Modificados com Azul da Prússia e Posteriormente Ativados em Solução Contendo 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de RhCl₃

O eletrodo de pasta de carbono modificado com Azul da Prússia e posteriormente ativado em solução contendo 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de RhCl₃ (**EPC-AP-Rh**) foi utilizado na determinação amperométrica de H₂O₂. Para tanto, fixou-se o potencial aplicado ao eletrodo em 0,040 V e, após estabilização da linha base, efetuaram-se 3 adições de solução estoque de H₂O₂ à célula contendo tampão citrato de potássio/ ácido cítrico, pH 6,1 e 0,5 mol L⁻¹ de KCl. Após a última adição do analito ([H₂O₂] = 2,4 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ na célula de medida), efetuou-se uma adição de ácido ascórbico de modo a obter uma concentração final de 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ do interferente. Este procedimento foi efetuado na presença e na ausência de O₂.

III- RESULTADOS E DISCUSSÕES

III.1-Preparação de Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com Azul da Prússia por Voltametria Cíclica.

III.1.1- Formação do Filme de Azul da Prússia como Descrito por Chi et al⁽²⁹⁾.

Inicialmente, tentou-se reproduzir o trabalho de Chi et al ⁽²⁹⁾, porém nas condições de pH utilizadas (pH = 6,0/ tampão fosfato), o filme de Azul da Prússia não se formou.

Em vista deste resultado preliminar decidiu-se, avaliar a influência de diversos parâmetros, não somente na formação do filme, como também em sua estabilidade em eletrólito suporte. Os resultados serão abordados a seguir.

III.1.2- Influência da Concentração de HCl na Solução Modificadora.

Como anteriormente descrito no item II.1.1.a, página 30, variou-se o volume de HCl 0,1 mol L⁻¹ utilizado para dissolução de FeCl₃, de modo que a concentração de HCl na célula eletroquímica variou no intervalo de 0,01 mol L⁻¹ ≤ [HCl] ≤ 0,1 mol L⁻¹. Este procedimento foi adotado com o objetivo de evitar a hidrólise do íon Fe³⁺, durante o processo de preparação da solução modificadora. Os voltamogramas cíclicos registrados durante o processo de crescimento do filme são similares àqueles apresentados na Figura 7, página 23.

A influência da acidez do meio pode ser constatada durante o processo de formação do filme, uma vez que em 0,02 mol L⁻¹ de HCl as correntes catódicas e anódicas correspondentes aos picos I e II, redução do Azul da Prússia ao Branco da Prússia e oxidação do Branco da Prússia ao Azul da Prússia respectivamente,

foram as mais altas correntes de picos, atingindo-se valores estáveis de corrente a partir do 20º voltamograma. Para concentrações de HCl superiores a 0,02 mol L⁻¹, correntes de pico inferiores foram registradas, Figura 9.

Figura 9. Correntes de pico obtidas durante a formação de filmes de Azul da Prússia em diversas concentrações de HCl. Solução modificadora: 2 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆]; 3 mmol L⁻¹ de FeCl₃; 0,5 mol L⁻¹ de KNO₃. E_i = - 0,4 V; E_f = 1,2 V e velocidade de varredura = 60 m V s⁻¹.

Apesar disto, mesmo na concentração otimizada de HCl, o filme não se manteve estável durante a ciclagem em eletrólito suporte, tampão fosfato, pH 6,5, Figura 10.

Figura 10. Variação relativa de correntes de pico anódico e catódico dos filmes de Azul da Prússia formados em diversas concentrações de HCl, como função do número de voltamogramas cíclicos efetuados em solução tampão fosfato, pH = 6,5.

$E_i = -0,4 \text{ V}$; $E_f = 1,2 \text{ V}$; velocidade de varredura = 60 m V s^{-1} .

Variação relativa da corrente = $(i_{\text{ciclo considerado}} \times 100) / i_{1^\circ \text{ Ciclo medido}}$.

III.1.3- Influência da Concentração de KNO_3 na Solução Modificadora.

Após verificar que existia uma condição de acidez que permitia a obtenção de mais altas correntes durante a formação dos filmes, apesar da pequena estabilidade dos mesmos, decidiu-se fixar a concentração de HCl na solução modificadora em $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, passando-se a variar a concentração do íon K^+ na composição da mesma.

Observou-se um aumento nas correntes de formação com o aumento da concentração de KNO_3 . Os melhores resultados foram obtidos em solução $0,35 \text{ mol L}^{-1}$, Figura 11.

Figura 11. Correntes de pico obtidas durante a formação de filmes de Azul da Prússia em diversas concentrações de KNO₃ como função do número de voltamogramas cíclicos. Solução modificadora: 2 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆]; 3 mmol L⁻¹ de FeCl₃ em 0,02 mol L⁻¹ de HCl. E_i = - 0,4 V; E_f = 1,2 V e velocidade de varredura = 60 m V s⁻¹.

Ao se efetuar a ciclagem em eletrólito suporte (tampão fosfato, pH 6,5) observou-se a perda de aproximadamente 80% do filme ativo após 30 ciclos, Figura 12.

Figura 12. Variação relativa de corrente dos picos II e I de filmes de Azul da Prússia formados em diversas concentrações de KNO₃, como função do número de voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão fosfato, pH = 6,5.

$E_i = -0,4 \text{ V}$; $E_f = 1,2 \text{ V}$; velocidade de varredura = 60 m V s^{-1} .

Variação relativa da corrente = $(i_{\text{ciclo considerado}} \times 100) / i_{1^\circ \text{ Ciclo medido}}$.

Apesar da concentração de $0,35 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 , apresentar os melhores resultados na formação, o mesmo não ocorre quando se efetua a ciclagem em eletrólito suporte (tampão fosfato, pH 6,5). Deste modo, utilizou-se a maior concentração de KNO_3 ($0,50 \text{ mol L}^{-1}$), como sendo a concentração ideal de íons K^+ , uma vez que esta concentração não interfere muito na formação do filme e ao efetuar ciclagens em eletrólito suporte não foi observada diferença em relação à porcentagem de queda do filme formado em solução de $0,35 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 .

III.1.4- Estabilidade dos Filmes da Azul da Prússia Durante Ciclagens Sucessivas em Solução de Eletrólito Suporte.

III.1.4.a- Influência da Secagem Prévia dos Filmes.

De acordo com Ellis et al ⁽³⁹⁾ e Karyakin et al ⁽³⁰⁾ a estabilidade dos eletrodos modificados com Azul da Prússia aumenta com a secagem previa dos filmes à temperatura ambiente.

Para avaliar a influência deste parâmetro na estabilidade dos filmes em solução de eletrólito suportes, fixaram-se as concentrações de HCl e KNO_3 na solução modificadora em $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Após a formação do filme (50 ciclos), o eletrodo foi deixado em repouso à temperatura ambiente por 24 horas.

Após a secagem os eletrodos apresentaram maior estabilidade de modo que os resultados aqui obtidos estão em concordância com aqueles apresentados nas referências **(30)** e **(39)**.

III.1.4.b- Influência do pH da Solução de Eletrólito Suporte na Estabilidade dos Eletrodos Modificados.

Uma vez constatada que a presença dos íons K^+ é importante durante o processo de formação dos filmes de AP, avaliou-se a estabilidade dos filmes formados como função da introdução de KNO_3 e variação de pH do eletrólito suporte. Os dados obtidos são apresentados na Figura 13.

Figura 13. Efeito do pH e da introdução de KNO₃ no eletrólito suporte na estabilidade dos Picos II e I dos filmes de Azul da Prússia. (A) na ausência de KNO₃ e (B) na presença de 0,5 mol L⁻¹ de KNO₃. $E_i = -0,4$ V; $E_f = 1,2$ V; velocidade de varredura = 60 mV s⁻¹.

$$\text{Variação da corrente} = (i_{\text{ciclo considerado}} \times 100) / i_{1^\circ \text{ Ciclo medido}} \cdot$$

Estes resultados demonstraram que os filmes de Azul da Prússia são mais estáveis quando ciclados em solução de eletrólito suporte contendo íons K^+ .

Decorre de imediato destes resultados, que os filmes também são mais estáveis em meio ácido, no entanto constatou-se, que uma pequena variação de pH (de 6,1 para 6,5) causou um decréscimo acentuado na estabilidade dos filmes, o qual não pode ser explicado apenas por uma variação de 0,4 unidades de pH. Uma vez que tanto íons PO_4^{3-} quanto íons OH^- , podem formar complexos estáveis com Fe^{3+} , a presença destes íons podem causar a dissolução do filme de acordo com:

Para avaliar esta hipótese, os testes de estabilidade foram efetuados em pH 6,1 e 6,5 utilizando-se tampões com composição diferentes. Os dados obtidos são apresentados na figura 14.

Figura 14. Variação das correntes de pico anódico e catódico de filmes de Azul da Prússia como função do número de voltamogramas cíclicos efetuados em soluções tampões de pH 6,1 e 6,5, com composições diferentes, mas contendo 0,5 mol L⁻¹ de KNO₃:

■ Na H₂PO₄ 0,05 mol L⁻¹ / Na₂HPO₄ 0,05 mol L⁻¹ pH = 6,1;

▼ Na H₂PO₄ 0,05 mol L⁻¹ / Na₂HPO₄ 0,05 mol L⁻¹ pH = 6,5;

● Ácido cítrico 0,002 mol L⁻¹ / Citrato de Potássio 0,01 mol L⁻¹ pH = 6,1;

▲ Ácido cítrico 0,002 mol L⁻¹ / Citrato de Potássio 0,01 mol L⁻¹ pH = 6,5;

Eletrodos secos a temperatura ambiente por 24 horas. E_i = - 0,4 V; E_f = 1,2 V; velocidade de varredura = 60 m V s⁻¹.

Variação da corrente = (i_{ciclo considerado} × 100) / i_{1º Ciclo medido}

Os dados apresentados na figura 14 confirmam a hipótese previamente formulada, de que íons PO_4^{3-} desestabilizam os filmes de Azul da Prússia.

Deste modo é recomendável que o eletrólito suporte utilizado não contenha espécies derivadas do anion fosfato. Adotou-se então o tampão citrato de potássio / ácido cítrico contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 como o eletrólito suporte mais adequado.

III.1.4.c- Influência da Concentração de FeCl_3 da Solução Modificadora na Estabilidade dos Eletrodos Modificados.

Diminuiu-se a concentração de FeCl_3 da solução modificadora de 3 mmol L^{-1} para 2 mmol L^{-1} e avaliou-se a estabilidade dos eletrodos modificados como função desta alteração. As demais condições: 2 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$; $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 em $\text{HCl } 0,02 \text{ mol L}^{-1}$, intervalo de potencial $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 1,2 \text{ V}$ e velocidade de varredura de 60 mV s^{-1} , mantiveram-se inalteradas em relação ao procedimento otimizado. Os resultados obtidos são apresentados nas figuras 15.1, 15.2 e 16.

De acordo com a Figura 15.1, três picos de oxidação foram observados durante a formação e crescimento dos filmes os quais podem ser atribuídos à oxidação do AP ($0,34 \text{ V}$), um complexo misto entre o AP e o verde de Berlin ($\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3 + \text{Fe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6]_3$) ($0,45 \text{ V}$) e ao verde de Berlin ($1,0 \text{ V}$), respectivamente, figura 15.1 (A 1). Quando o eletrodo modificado é estabilizado em tampão ácido cítrico/ citrato de potássio pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 , figura 15.1 (B 1), os picos apresentaram melhor definição, maiores valores de correntes, além do fato do pós-pico a $0,45 \text{ V}$ ter desaparecido. Deste modo pode-se concluir que ao se estabilizar o filme em eletrólito suporte houve uma reorganização estrutural do filme.

Entretanto, ao se comparar às variações de corrente dos picos anódico e catódico deste filme com aquele filme formado na presença de excesso de FeCl_3

(figura 15.2) não se observa, para 50 ciclos em solução tampão ácido cítrico/citrato de potássio pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 , diferença significativa.

Figura 15.1. Voltamogramas cíclicos registrados em: (A 1) solução modificadora contendo 2 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$; 2 mmol L^{-1} de FeCl_3 ; $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 em $\text{HCl } 0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 1,2 \text{ V}$; (B 1) solução eletrólito suporte tampão ácido cítrico/citrato de potássio pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 . Velocidade de varredura = 60 m V s^{-1} e $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 1,2 \text{ V}$.

Figura 15.2. Voltamogramas cíclicos registrados em: (A 2) solução modificadora contendo 2 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$; 3 mmol L^{-1} de FeCl_3 ; $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 em $\text{HCl } 0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 1,2 \text{ V}$; (B 2) solução eletrólito suporte tampão ácido cítrico/citrato de potássio pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 . Velocidade de varredura = 60 m V s^{-1} e $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 1,2 \text{ V}$.

Deste modo com o intuito de compreender melhor a reação de oxi-redução AP/BP que está ocorrendo na superfície do eletrodo modificado ou ao redor desta superfície, os eletrodos modificados com Azul da Prússia foram ciclados em eletrólito suporte tampão citrato de potássio/ácido cítrico pH 5,5 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 . Em seguida a solução de eletrólito suporte foi trocado por uma nova solução (tampão citrato de potássio/ácido cítrico pH 5,5 contendo adição de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3) de modo a não ter nenhuma espécie dissociada na solução ao redor do eletrodo. Os dados são apresentados na figura 16.

Independentemente da concentração de FeCl_3 se encontrar ou não em excesso a proporção do pico II anódico (oxidação do Branco da Prússia ao Azul da Prússia) e pico I catódico (redução do Azul da Prússia ao Branco da Prússia) é de 1:2, ou seja, provavelmente há formação de AP “solúvel” (Pico II) que estaria se reduzindo a BP “solúvel” e “insolúvel” (Pico I). Uma outra possibilidade é que a corrente do Pico I possua a contribuição relativa à redução do excesso de ferricianeto a ferrocianeto de potássio, enquanto o processo inverso não pode ser detectado, uma vez que ferrocianeto é consumido durante a formação do filme:

Além disso, observou-se que o eletrodo modificado com filme de Azul da Prússia formado em solução modificadora contendo excesso de FeCl_3 (Figura 16 A), após os 160 ciclos não apresentou queda nas correntes dos picos AP/BP enquanto que o eletrodo modificado com filme de Azul da Prússia formado em solução modificadora contendo concentrações equimolares de FeCl_3 e $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (Figura 16 B) apresentou uma queda nas correntes dos picos AP/BP.

Figura 16. Voltamogramas cíclicos registrados em solução eletrólito suporte tampão ácido citrico/citrato de potássio pH 5,5 com $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 , (A) filme formado em solução modificadora 2 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$; 3 mmol L^{-1} de FeCl_3 ; $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 em HCl $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e (B) filme formado em solução modificadora: 2 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$; 2 mmol L^{-1} de FeCl_3 ; $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 em HCl $0,02 \text{ mol L}^{-1}$.

Velocidade de varredura = 60 m V s^{-1} e $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 1,2 \text{ V}$.

Então, concluiu-se que a presença do excesso de FeCl_3 na solução modificadora favoreceu a formação do AP “insolúvel”, uma vez que o eletrodo modificado se manteve estável após um alto número de ciclos consecutivos ter sido efetuado em eletrólito suporte.

III.1.5- Redução Catalítica de H_2O_2 em Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados Com Filmes de Azul da Prússia

III.1.5.a- Redução Catalítica de H_2O_2 Usando Voltametria Cíclica.

Chi Dong et al.⁽²⁹⁾ utilizaram a voltametria cíclica e eletrodo de carbono pirolítico para demonstrar o efeito catalítico de filmes de Azul da Prússia na redução de H_2O_2 . O pico de redução do BP (branco da Prússia) mantém-se constante enquanto o pico de AP cresce. Desta forma a H_2O_2 atua como agente oxidante do filme.

Figura 17. Voltamogramas cíclicos registrados em eletrólito suporte com eletrodo modificado com Azul da Prússia, apresentado por Chi Dong⁽²⁹⁾:

(1) na ausência de H_2O_2 e (2) na presença de 1 mmol L^{-1} de H_2O_2 .

Eletrólito suporte: tampão $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$, pH 6,5. $E_i = -0,4 \text{ V}$; $E_f = 1,2 \text{ V}$; velocidade de varredura = 60 m V s^{-1} .

Uma vez estabelecida as melhores condições de formação dos filmes de AP, solução modificadora: 3 mmol L⁻¹ de FeCl₃; 2 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆]; 0,5 mol L⁻¹ de KNO₃ em HCl 0,02 mol L⁻¹, intervalo de potencial $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 1,2 \text{ V}$, velocidade de varredura de 60 mV s⁻¹, secagem a temperatura ambiente por 24 horas e estabilização em solução eletrólito suporte tampão citrato de potássio / ácido cítrico pH 5,5 contendo 0,5 mol L⁻¹ de KNO₃, intervalo de potencial $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 1,2 \text{ V}$ e velocidade de varredura de 60 mVs⁻¹, reproduziu-se o procedimento dos autores acima citados. Os resultados, apresentados na Figura 18 demonstram que se houve redução da H₂O₂ pelo filme de Azul da Prússia, a reação não pode ser detectada utilizando-se a voltametria cíclica. Como a velocidade de varredura utilizada, 60 mV s⁻¹, poderia ser muito alta para se detectar a reação de redução de H₂O₂ pelo filme de Azul da Prússia, diminuiu-se a velocidade de varredura para 10 mV s⁻¹. Os resultados são apresentados na figura 19. Mesmo a baixa velocidade de varredura a reação catalítica não foi observada e houve perda acentuada do filme ativo.

O autor ⁽⁵⁴⁾ atribuiu à ciclagem sucessiva ao redor do par redox AP/BP, a formação do Azul da Prússia solúvel que conseqüentemente dissolveria o filme e não permitiria a detecção da catálise de H₂O₂. Porém foi observado na figura 16, que o excesso de FeCl₃ na solução modificadora favoreceu a formação do AP “insolúvel”, uma vez que o eletrodo modificado se manteve estável após serem efetuados um alto número de ciclos consecutivos em eletrólito suporte.

Então provavelmente apesar de termos encontrado as melhores condições de formação do filme de Azul da Prússia utilizando-se a voltametria cíclica, esta técnica não foi suficientemente sensível para detecção da redução da H₂O₂.

Figura 18. Voltamogramas cíclicos registrados em tampão ácido cítrico/citrato de potássio (pH 5,5) contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 com eletrodo de pasta modificado com Azul da Prússia e previamente seco a temperatura ambiente por 24.

(1) Na ausência de H_2O_2 ;

(2) Na presença de 1 mmol L^{-1} de H_2O_2 ;

$E_i = -0,4 \text{ V}$; $E_f = 1,2 \text{ V}$; velocidade de varredura = 60 mVs^{-1} .

Figura 19. Voltamogramas cíclicos registrados em tampão ácido cítrico/citrato de potássio (pH 6,1) contendo 0,5 mol L⁻¹ de KCl com eletrodo de pasta modificado com Azul da Prússia e previamente seco a temperatura ambiente por 24.

(1) Na ausência de H_2O_2 ;

(2) Na presença de 1 mmol L⁻¹ de H_2O_2 ;

$E_i = -0,4$ V; $E_f = 1,2$ V; velocidade de varredura = 10 mV s⁻¹.

Comparando-se os resultados apresentados na Figura 15.2 com os apresentados na Figura 19, percebe-se que nesta última as correntes dos Picos II e I são praticamente iguais. Isto mostra a importância da secagem prévia na reestruturação cristalina dos filmes.

III.1.5.b- Escolha do Potencial Adequado para Redução Catalítica de H_2O_2 .

Em função dos resultados obtidos no item anterior avaliou-se a influência do potencial aplicado na corrente de redução catalítica de H_2O_2 utilizando os eletrodos modificados com Azul da Prússia, os quais foram preparados como descrito no item III.1.5.a, página 61. O potencial aplicado ao eletrodo foi variado ponto a ponto na faixa de -210 a $+190$ mV. Para cada potencial aplicado, a leitura de corrente foi efetuada após 5 minutos. Os dados obtidos são apresentados na figura 20.

Figura 20. Influência do potencial aplicado nas correntes catalíticas de redução registradas em solução 1 mmol L^{-1} de H_2O_2 . (■) Eletrodo de pasta de carbono e (●) Eletrodo de pasta de carbono modificado com o filme de Azul da Prússia.

Eletrodos secos a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte: tampão ácido cítrico/citrato de potássio, pH 5,5 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 . $E_i = -0,4 \text{ V}$; $E_f = 1,2 \text{ V}$; velocidade de varredura = 60 mV s^{-1} .

Analisando-se estes dados concluiu-se que:

- i) Em eletrodos não modificados, não ocorre redução catalítica de H_2O_2 ;
- ii) Para potenciais mais negativos que 200 m V (vs Ag/AgCl) já se observa a redução catalítica de H_2O_2 nos eletrodos modificados, de acordo com o mecanismo:

Uma vez que aplicando potenciais negativos, pode-se também registrar a redução catalítica do O_2 , avaliou-se a influência da corrente de redução do O_2 na determinação catalítica de H_2O_2 . Para tanto, registraram as curvas corrente-potencial com o eletrodo modificado, item II.2.3.2.a página 37. Os dados obtidos são apresentados na figura 21.

Figura 21. Influência do potencial aplicado nas correntes catalíticas de redução registradas com eletrodos de pasta de carbono modificados com filmes de Azul da Prússia em soluções não desaeradas, na presença e ausência de H_2O_2 .

- (■) Na ausência de H_2O_2 ;**
- (●) Em $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 ;**
- (▲) Em $0,3 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 ;**
- (▼) Em 1 mmol L^{-1} de H_2O_2 ;**

Eletrodos secos a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte: tampão ácido cítrico/citrato de potássio, pH 5,5 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 . $E_i = -0,4 \text{ V}$; $E_f = 1,2 \text{ V}$; velocidade de varredura = 60 mV s^{-1} .

Pode-se concluir, a partir dos dados obtidos, que a influência do O₂ torna-se mais significativa na presença de baixas concentrações de H₂O₂ e em potenciais mais negativos. Por isto, o potencial escolhido para determinações amperométricas de H₂O₂ foi 40 m V (vs Ag/AgCl).

III.1.5.c- Determinação Amperométrica de H₂O₂.

Estabelecidas as melhores condições de formação e estabilidade dos filmes de Azul da Prússia, efetuou-se a determinação amperométrica de H₂O₂ na faixa de $5,0 \times 10^{-5}$ a $8,6 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ fixando-se o potencial em 40 m V (vs Ag/AgCl).

A primeira curva analítica efetuada apresentou a seguinte equação de reta: $I_p = 0,33 + 27,75 [H_2O_2]$; $r^2 = 0,998$ e relação linear no intervalo de $1,4 \times 10^{-4} \leq [H_2O_2] \leq 5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Os dados obtidos são apresentados na figura 22.

Figura 22. Determinação amperométrica de H_2O_2 em eletrodo de pasta de carbono (EPC) e eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia. (A) Amperogramas registrados na presença de concentrações crescentes de H_2O_2 : A= $5,0 \times 10^{-5}$; B= $1,4 \times 10^{-4}$; C= $2,4 \times 10^{-4}$; D= $3,3 \times 10^{-4}$; E= $4,1 \times 10^{-4}$; F= $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; (B) 1ª Curva analítica para determinação de H_2O_2 .

Eletrodos secos a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 5,5 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 .

$E_{apl} = 40 \text{ mV (Ag/AgCl)}$.

Como pode ser observado na figura 22 A, o efeito catalítico diminuiu drasticamente após a realização da 1ª curva analítica.

Deste modo concluiu-se que os eletrodos modificados com filmes de AP obtidos por voltametria cíclica não tem estabilidade suficiente para a determinação de H_2O_2 , pois durante a redução do peróxido de hidrogênio, um aumento local nos valores de pH pode favorecer a complexação do Fe^{3+} desestabilizando o filme (equação III.2., página 53), como proposto por Karyakin et al ⁽⁵³⁾.

III.2- Preparação de Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com Azul da Prússia por Deposição a Um Potencial Controlado.

III.2.1- Crescimento dos Filmes de Azul da Prússia Durante Ciclagens Sucessivas em Solução de Eletrólito Suporte.

Inicialmente tentou-se reproduzir em pasta de carbono o trabalho de Karyakin et al. ⁽⁵³⁾, no qual os eletrodos de carbono vítreo foram modificados com filmes de AP, por deposição a potencial controlado nas seguintes condições: potencial aplicado 0,4 V por 60 segundos em solução modificadora contendo 2 mmol L^{-1} de FeCl_3 , 2 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em 0,02 mol L^{-1} de HCl. Após a pré-concentração dos reagentes na superfície do eletrodo, este foi ciclado em solução 0,1 mol L^{-1} de KCl no intervalo de potencial de $-0,05 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 0,35 \text{ V}$, com velocidade de varredura de 50 m V s^{-1} . Este processo foi denominado de ativação.

Adicionalmente avaliou-se o efeito do aumento da concentração de FeCl_3 de 2 para 3 mmol L^{-1} . Os resultados são apresentados na figura 23.

O eletrodo modificado que apresentou maiores valores de corrente foi aquele preparado em soluções modificadoras contendo 3 mmol L^{-1} de FeCl_3 . Logo, o filme se comportou de maneira similar aquela observada para filmes formados

por voltametria cíclica, em que o excesso de FeCl_3 favoreceu a formação do AP “insolúvel” na superfície do eletrodo.

Figura 23. Voltamogramas cíclicos, registrados em eletrólito suporte, com eletrodos de pasta de carbono modificados com filmes de Azul da Prússia depositados a 0,4 V, a partir de soluções contendo:

(1) 3 mmol L⁻¹ de FeCl₃, 2 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆] em HCl 0,02 mol L⁻¹ ;

(2) 2 mmol L⁻¹ de FeCl₃, 2 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆] em HCl 0,02 mol L⁻¹ ;

Eletrólito suporte: 0,1mol L⁻¹ KCl; $E_i = -0,05$ V; $E_f = 0,35$ V; velocidade de varredura = 50 m V s^{-1} . Os eletrodos foram previamente secos a temperatura ambiente por 24 horas.

Então, com o intuito de obter eletrodos modificados que apresentassem maior estabilidade, variaram-se os seguintes parâmetros: substituição do KCl pelo KNO_3 na formação e avaliação da estabilidade dos filmes e adição de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl na solução modificadora.

III.2.1.a- Influência do Ânion do Sal de Potássio nas Correntes de Picos dos Filmes de Azul da Prússia

Estudou-se a influência da substituição do KCl pelo KNO_3 nas correntes de picos dos eletrodos modificados, de acordo com as condições descritas no item anterior. Os dados são apresentados na figura 24.

Figura 24. Voltamogramas cíclicos, registrados em eletrólito suporte, com eletrodos modificados com filmes de Azul da Prússia:

(1) Eletrólito suporte + $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 ;

(2) Eletrólito suporte + $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl ;

$E_i = -0,05 \text{ V}$; $E_f = 0,35 \text{ V}$; velocidade de varredura = 50 m V s^{-1} ; Solução modificadora: 3 mmol L^{-1} de FeCl_3 , 2 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl ; Potencial aplicado $0,4 \text{ V}$ durante 60 segundos. Os filmes formados foram previamente secos a temperatura ambiente por 24 horas.

Observou-se que os valores de corrente são maiores e os picos melhor definidos em soluções contendo KCl do que em soluções contendo KNO_3 .

Deste modo pode-se concluir que os íons cloreto também participam da formação e manutenção do balanceamento de carga do filme de AP. Estes resultados estão de acordo com os resultado Itaya et al.⁽⁴¹⁾ que propõem a entrada de ânions Cl^- para manter a eletroneutralidade do filme.

III.2.1.b- Influência da Introdução de KCl na Solução Modificadora Durante o Processo de Formação dos Filmes.

A influência da adição de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl na solução modificadora utilizada para preparação dos filmes por deposição a potencial controlado foi efetuada segundo procedimento descrito no item III.2.1, página 72.

Os dados são apresentados na figura 25.

Figura 25. Voltamogramas cíclicos, registrados em eletrólito suporte contendo $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl, com eletrodos modificados com filmes de Azul da Prússia depositados a $0,4 \text{ V}$, formados em solução modificadora: 3 mmol L^{-1} de FeCl_3 , 2 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$:

(1) Ausência de KCl;

(2) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl;

Tempo de secagem: 24 horas; Intervalo de varredura em eletrólito suporte $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl: $-0,05 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 0,35 \text{ V}$; velocidade de varredura: 50 m V s^{-1} .

Observou-se que os valores de corrente pico dos eletrodos modificados em solução modificadora contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e ausente do íons K^+ , não apresentaram diferenças significativas.

III.2.2- Determinação Amperométrica de H_2O_2 .

Uma vez encontradas as melhores condições de formação do filme, determinou-se H_2O_2 no intervalo de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando a técnica de amperometria ($E_{\text{apl}} = 40 \text{ m V}$) em solução tampão (citrato de potássio/ácido cítrico) $\text{pH} = 6,1$ contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl.

Os amperogramas apresentados na figura 26 mostram que o filme apresentou pouca estabilidade durante a determinação de H_2O_2 . Este fato foi decorrente do rápido desprendimento do filme da superfície do eletrodo, constatado pela coloração azulada adquirida pelo eletrólito suporte.

Figura 26. Amperogramas registrados na presença de H_2O_2 com eletrodos de pasta de carbono (EPC) e eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia (EPC-AP) preparado utilizando-se deposição a potencial controlado 0,4 V: A = $5,0 \times 10^{-5}$; B = $1,4 \times 10^{-4}$; C = $2,4 \times 10^{-4}$; D = $3,3 \times 10^{-4}$; E = $4,1 \times 10^{-4}$; F = $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 .

Eletrólito suporte: tampão citrato, pH 5,5 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 . Potencial aplicado para determinação de H_2O_2 = 40 m V. Eletrodo modificado foi previamente seco a temperatura ambiente por 24 horas.

III.3- Preparação de Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com Azul da Prússia por Deposição a Dois Potenciais Controlados

Em função dos resultados obtidos no item anterior, e considerando que o melhor método de preparação do filme consiste em promover a formação do Azul da Prússia “insolúvel” na superfície do eletrodo para que este possa ser estável durante a determinação de H_2O_2 , tentou-se então a preparação dos filmes de Azul da Prússia em eletrodos de pasta de carbono por deposição a dois potenciais controlados como descrito no item II.2.2.1c, página 34. A composição da solução modificadora foi: 3 mmol L^{-1} de FeCl_3 , 2 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl .

Os dados são apresentados na figura 27.

Figura 27. Amperogramas (A) e Curvas analíticas (B), obtidos com eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia. A = $5,0 \times 10^{-5}$; B = $1,4 \times 10^{-4}$; C = $2,4 \times 10^{-4}$; D = $3,3 \times 10^{-4}$; E = $4,1 \times 10^{-4}$; F = $8,6 \times 10^{-4} mol L^{-1}$ de H_2O_2 para determinação H_2O_2 .

Eletrodo preparado utilizando-se deposição a dois potenciais controlados e previamente seco a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte: tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 6,1 contendo $0,5 mol L^{-1}$ de KNO_3 . Potencial aplicado = 40 m V.

No 1º amperograma, não houve variação significativa de corrente mediante adições consecutivas de H₂O₂. Entretanto registraram-se mais dois amperogramas consecutivos, a partir dos quais foi possível obter duas curvas analíticas. As equações que descrevem os parâmetros das curvas analíticas para determinação de H₂O₂ são apresentadas na tabela III.1.

Tabela III.1. Equações que descrevem os parâmetros das curvas analíticas.

Equação	r ²	Faixa de linearidade (mol L ⁻¹)
$I_{p2} = 0,06 + 1,33 [H_2O_2]$	0,985	$5,0 \times 10^{-5} - 8,6 \times 10^{-4}$
$I_{p3} = 0,06 + 1,28 [H_2O_2]$	0,987	$5,0 \times 10^{-5} - 5,0 \times 10^{-4}$

Concluiu-se que ocorreu uma pequena perda de sensibilidade, no entanto houve uma melhor estabilização do filme durante a determinação de H₂O₂.

III.3.1.a - Crescimento dos Filmes de Azul da Prússia Durante Ciclagens Sucessivas em Solução de Eletrólito Suporte contendo RuCl_3 .

Benedetto et al ⁽⁶⁵⁾ e outros autores estudaram o comportamento dos eletrodos de carbono vítreo modificados com Azul da Prússia ⁽⁶⁶⁾ e seus análogos ⁽⁶⁷⁻⁷¹⁾ durante ciclagens sucessivas em solução eletrólito suporte contendo 1 mmol L^{-1} de RuCl_3 . Os autores ⁽⁶⁵⁻⁷¹⁾ concluíram que o eletrodo modificado tem sua estabilidade e sua ação catalítica aumentado pela incorporação de Ru(III) e espécies dinucleares ($\text{Ru}_2\text{O}_6^{3+}$), na estrutura zeolítica com formação de ligações ciano e oxo, (Fe - CN - Ru e Fe - O - Ru).

Denominou-se ativação em solução de RuCl_3 , o eletrodo modificado com filme de Azul da Prússia, ciclado sucessivamente (50 ciclos) em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl, 1 mmol L^{-1} de RuCl_3 em $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl no intervalo de potencial $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{ap}} \leq 0,6 \text{ V}$, com velocidade de varredura $= 60 \text{ m V s}^{-1}$.

Deste modo estudou-se a influência da ativação em solução de RuCl_3 do eletrodo de pasta de carbono modificado com Azul da Prússia, preparados como descrito no item II.2.2.1.d, página 34, durante a determinação de H_2O_2 no intervalo de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão (citrato de potássio/ácido cítrico) $\text{pH} = 6,1$ contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl.

Os dados são apresentados nas figuras 28 e 29.

Figura 28. Amperogramas registrados na presença de H_2O_2 em eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia e posteriormente ativado em solução de RuCl_3 . A = $5,0 \times 10^{-5}$; B = $1,4 \times 10^{-4}$; C = $2,4 \times 10^{-4}$; D = $3,3 \times 10^{-4}$; E = $4,1 \times 10^{-4}$; F = $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 .

Eletrodo preparado utilizando-se a deposição a dois potenciais controlados e secos a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 . Potencial aplicado na determinação de H_2O_2 = 40 m V.

Figura 29. Curvas analíticas obtidas com eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia e posteriormente ativado em solução contendo RuCl_3 , durante a determinação de H_2O_2 .

Eletrodo preparado utilizando-se a deposição a dois potenciais controlados e secos a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 . Potencial aplicado na determinação de $\text{H}_2\text{O}_2 = 40 \text{ mV}$.

No 1º amperograma não foi possível se determinar H_2O_2 , entretanto registraram-se amperogramas consecutivos a partir dos quais foram feitas curvas analíticas para se determinar H_2O_2 . As equações que descrevem os parâmetros das curvas analíticas dos eletrodos modificados e ativados em solução 1 mmol L^{-1} de RuCl_3 são apresentadas na tabela III.2.

Tabela III.2. Equações que descrevem os parâmetros das curvas analíticas obtidos para o eletrodo modificado com Azul da Prússia, ativados em 1 mmol L^{-1} de RuCl_3 .

Equação	r^2	Faixa de linearidade (mol L^{-1})
$I_{p2} = 0,07 + 3,93 [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,999	$1,4 \times 10^{-4} - 8,6 \times 10^{-4}$
$I_{p3} = 0,08 + 6,68 [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,994	$5,0 \times 10^{-5} - 8,6 \times 10^{-4}$
$I_{p4} = 0,01 + 6,42 [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,992	$5,0 \times 10^{-5} - 8,6 \times 10^{-4}$
$I_{p5} = 0,09 + 6,61 [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,992	$5,0 \times 10^{-5} - 8,6 \times 10^{-4}$
$I_{p6} = 0,04 + 5,58 [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,996	$5,0 \times 10^{-5} - 8,6 \times 10^{-4}$

Com a ativação em solução de RuCl_3 o eletrodo modificado com filme de AP apresentou uma sensibilidade média de $0,79 \pm 0,06 \text{ A mol L cm}^{-2}$.

Deste modo conclui-se que o eletrodo modificado com filme de AP e ativado em solução de RuCl_3 apresentou uma melhora na estabilidade durante determinação da redução catalítica de H_2O_2 .

III.3.1.b- Crescimento dos Filmes de Azul da Prússia Durante Ciclagens Sucessivas em Solução de Eletrólito Suporte contendo RhCl_3 .

No item anterior, uma considerável melhora na estabilidade do eletrodo modificado com Azul da Prússia e ativado em solução contendo RuCl_3 foi apresentado, por isso decidiu-se estudar o comportamento do Rh(III) devido ao seus semelhantes estados de oxi-redução, como os do Ru(III) .

Neste item denominou-se ativação em solução de RhCl_3 , o eletrodo modificado com Azul da Prússia e ciclado sucessivamente em solução 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 , $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl em $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl , no intervalo de potencial $-0,4 \text{ V} \leq E_{\text{apl}} \leq 0,6 \text{ V}$ e com velocidade de varredura $= 50 \text{ m V s}^{-1}$.

Portanto eletrodos modificados com Azul da Prússia e ativados em solução de RhCl_3 (preparados de acordo com o item II.2.2.1.e, pagina 35), foram utilizados na determinação de H_2O_2 no intervalo de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão (citrato de potássio/ácido cítrico) $\text{pH} = 6,1$ contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl .

Os dados são apresentados nas figuras 30 e 31.

Figura 30. Amperogramas registrados na presença de H_2O_2 em eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia e posteriormente ativado em solução de RhCl_3 . A = $5,0 \times 10^{-5}$; B = $1,4 \times 10^{-4}$; C = $2,4 \times 10^{-4}$; D = $3,3 \times 10^{-4}$; E = $4,1 \times 10^{-4}$; F = $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 .

Eletrodo preparado utilizando-se a deposição a dois potenciais controlados e secos a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. Potencial aplicado na determinação de H_2O_2 = 40 m V.

Figura 31. Curvas analíticas obtidas com eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia e posteriormente ativado em solução de $RhCl_3$, durante a determinação de H_2O_2 .

Eletrodo preparado utilizando-se a deposição a dois potenciais controlados e secos a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 . Potencial aplicado na determinação de $H_2O_2 = 40 \text{ mV}$.

Registraram-se amperogramas consecutivo dos quais foram feitas curvas analíticas para se determinar H_2O_2 . As equações que descrevem os parâmetros das curvas analíticas dos eletrodos modificados ativados em 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 são apresentadas na tabela III.3.

Tabela III.3. Equações que descrevem os parâmetros das curvas analíticas do eletrodo modificado, posteriormente ativado em solução de RhCl_3 .

Equação	r^2	Faixa de linearidade (mol L^{-1})
$I_{p2} = 0,01 + 9,52 [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,999	$5,0 \times 10^{-5} - 8,6 \times 10^{-4}$
$I_{p3} = 0,09 + 9,54 [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,999	$5,0 \times 10^{-5} - 8,6 \times 10^{-4}$
$I_{p4} = 0,05 + 9,14 [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,999	$5,0 \times 10^{-5} - 8,6 \times 10^{-4}$
$I_{p5} = 0,08 + 10,01 [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,994	$5,0 \times 10^{-5} - 8,6 \times 10^{-4}$
$I_{p6} = 0,08 + 9,64 [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,999	$5,0 \times 10^{-5} - 8,6 \times 10^{-4}$

O eletrodo modificado com filme de AP quando ativado em solução de RhCl_3 apresentou uma sensibilidade média de $1,20 \pm 0,15 \text{ A mol L cm}^{-2}$ e uma perda de sensibilidade de 1,26%. Comparando-se os dados apresentados na Figura 27B com os apresentados na Figura 31, observa-se que além do aumento de estabilidade, obteve-se também níveis maiores de corrente catalítica. O aumento de corrente pode ser atribuído a uma melhor imobilização do filme na superfície do eletrodo após o tratamento em solução de RhCl_3 . Um dos motivos para que isto acontecesse pode ser atribuído à possibilidade de incorporação do ródio na estrutura zeolítica do Azul da Prússia, onde o diâmetro dos canais é da ordem de $3,2 \text{ Å}$ ^(71a). Desde que o diâmetro do íon Rh^{3+} hidratado ($\text{NC} = 6$) é da ordem de $1,61 \text{ Å}$, é possível que o ródio seja incorporado na estrutura do AP através de ligações ciano e oxo ($\text{Fe} - \text{CN} - \text{Rh}$ e $\text{Fe} - \text{O} - \text{Rh}$), similar ao proposto por Benedetto ⁽⁶⁵⁾.

III.3.2- Escolha do Potencial Adequado para Redução Catalítica de H_2O_2 em Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com Azul da Prússia e Posteriormente Ativados em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 (EPCAP-Rh).

Uma vez que aplicando potenciais negativos, pode-se também registrar a corrente de redução do O_2 , avaliou-se esta influência na determinação de H_2O_2 . Para tanto, registrou-se a curva corrente - potencial com eletrodo modificado EPCAP-Rh na ausência e presença de H_2O_2 . Os dados obtidos são apresentados na figura 32.

Figura 32. Curvas corrente vs potencial registradas com eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia e posteriormente ativado em solução de $RhCl_3$:

(■) na ausência de H_2O_2 ;

(●) na presença de 1 mmol L^{-1} de H_2O_2

Eletrodos previamente secos a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte: tampão ácido cítrico/citrato de potássio, pH 5,5 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. $E_i = -0,4 \text{ V}$; $E_f = 1,2 \text{ V}$; velocidade de varredura = 60 mVs^{-1} .

Pode-se concluir, a partir dos dados obtidos, que a influência do O_2 torna-se mais significativa em potenciais mais negativos. Por isto, o potencial escolhido para determinações amperométricas de H_2O_2 foi 40 mV (vs Ag/AgCl). O EPCAP-Rh apresentou 8,0% de influência da corrente de O_2 , no potencial de 40 mV (vs Ag/AgCl). Para concentrações mais baixas de H_2O_2 convém aumentar o potencial aplicado de modo a minimizar a interferência do O_2 .

III.3.3- Preparação de Eletrodo de Pasta de Carbono Modificado em solução 1 mmol L⁻¹ de $RhCl_3$ por Deposição a Dois Potenciais Controlados (EPC-Rh).

Para poder compreender melhor o efeito do $RhCl_3$ nos eletrodos de pasta de carbono modificados com filme de Azul da Prússia, (EPCAP), estudou-se o comportamento do EPC modificado com 1 mmol L⁻¹ de $RhCl_3$, (EPC-Rh), como descrito no item II.2.2.2.a da página 35, na determinação de H_2O_2 no intervalo de $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ à $8,6 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ utilizando amperometria ($E_{apl} = 40$ mV) em solução tampão (citrato de potássio/ácido cítrico) pH = 6,1 contendo 0,5 mol L⁻¹ de KCl.

Os amperogramas e as curvas analítica do EPC-Rh são apresentados na figura 33.

Figura 33. Determinação amperométrica de H_2O_2 em eletrodo de pasta de carbono modificado em solução de RhCl_3 : (A) Amperogramas registrados na presença de concentrações crescentes de H_2O_2 : A = $5,0 \times 10^{-5}$; B = $1,4 \times 10^{-4}$; C = $2,4 \times 10^{-4}$; D = $3,3 \times 10^{-4}$; E = $4,1 \times 10^{-4}$; F = $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 . (B) Curvas analíticas para determinação H_2O_2 ;

Eletrodo preparado utilizando-se a deposição a dois potenciais controlados e seco a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte: tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. Potencial aplicado para determinação de H_2O_2 = 40 m V.

As equações que descrevem os parâmetros das curvas analíticas são apresentadas na tabela III.4.

Tabela III.4. Equações que descrevem os parâmetros das curvas analíticas dos EPC-Rh preparado por deposição a dois potenciais controlados e ciclado em solução 0,1 mol L⁻¹ de KCl em 0,02 mol L⁻¹ de HCl.

Equação	r ²	Faixa de linearidade
$i_{p2} = 0,05 + 3,65 [H_2O_2]$	0,999	$1,4 \times 10^{-4} - 4,1 \times 10^{-4}$
$i_{p3} = 0,03 + 3,71 [H_2O_2]$	0,999	$1,4 \times 10^{-4} - 4,1 \times 10^{-4}$

Na figura 34 são comparados os voltamogramas obtidos com o eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia (EPCAP), com o voltamograma obtido do eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia e ativado em solução contendo 0,5 mol L⁻¹ de KCl e 1 mmol L⁻¹ de RhCl₃ (EPCAP-Rh) e com o voltamograma obtido do eletrodo de pasta de carbono modificado em solução 1 mmol L⁻¹ de RhCl₃ (EPC-Rh).

Figura 34. Voltamogramas cíclicos, registrados em eletrólito suporte, com eletrodos de pasta de carbono modificados a dois potenciais controlados.

(1) Eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia EPCAP;

(2) Eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia e ativado em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 EPCAP-Rh;

(3) Eletrodo de pasta de carbono modificado em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 EPC-Rh;

Os eletrodos foram secos a temperatura ambiente por 24 horas.

Eletrólito suporte: tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. $E_i = -0,40 \text{ V}$. $E_f = 0,60 \text{ V}$. velocidade de varredura = 50 mV s^{-1} .

O eletrodo modificado em solução 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 (EPC-Rh) apresentou a formação de um pico de oxidação a $-0,3 \text{ V}$ e o pico de redução ocorre junto com a redução do hidrogênio ($2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$). Este fato pode ser comprovado pela formação de micros bolhas na superfície do eletrodo.

Observou-se que no EPCAP-Rh o pico de oxidação do RhCl_3 foi obtido no mesmo valor ($-0,3\text{V}$) daquele obtido com EPC-Rh e o EPCAP-Rh apresentou maior nível de corrente e um deslocamento do potencial de pico de oxidação para valores mais próximos do zero do que o EPCAP.

Na figura 35 são comparados os amperogramas obtidos com os eletrodos de pasta de carbono modificados com filme de Azul da Prússia (EPCAP), com o EPCAP e ativado em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 (EPCAP-Rh) e com o eletrodo de pasta de carbono modificado em solução de 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 (EPC-Rh). Os eletrodos foram utilizados na determinação de H_2O_2 no intervalo de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão (citrato de potássio/ácido cítrico) $\text{pH} = 6,1$ contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl .

Figura 35. Amperogramas registrados com EPCAP, EPC-Rh e EPCAP-Rh na presença de concentrações crescentes de H_2O_2 . A = $5,0 \times 10^{-5}$; B = $1,4 \times 10^{-4}$; C = $2,4 \times 10^{-4}$; D = $3,3 \times 10^{-4}$; E = $4,1 \times 10^{-4}$; F = $8,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 .

Eletrodos preparados utilizando-se a deposição a dois potenciais controlados e secos a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. Potencial aplicado na determinação de H_2O_2 = 40 m V.

Deste modo pode-se concluir que os eletrodos modificados em solução 1 mmol L⁻¹ de RhCl₃ (EPC-Rh) e o eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia (EPCAP) apresentam menor sensibilidade do que o eletrodo modificado com filme de Azul da Prússia e ativado em solução contendo 0,5 mol L⁻¹ de KCl e 1 mmol L⁻¹ de RhCl₃ (EPCAP-Rh), deste modo o RhCl₃ não está somente estabilizando o filme, mas também está reforçando o efeito catalítico da redução de H₂O₂.

III.3.4- Comportamento Eletroquímico do Eletrodo de Pasta de Carbono Modificado com Filme de Azul da Prússia ativado em solução contendo 0,5 mol L⁻¹ de KCl e 1 mmol L⁻¹ de RhCl₃, (EPCAP-Rh).

Avaliou-se o comportamento eletroquímico dos eletrodos de pasta de carbono modificados com AP e posteriormente ativados em solução de RhCl₃. A figura 36 mostra o voltamograma cíclico registrado em tampão ácido cítrico/ citrato de potássio, pH 6,1, contendo 0,5 mol L⁻¹ de KCl. Em 0,3 V, o branco da Prússia é oxidado ao Azul da Prússia, enquanto a 0,18 V, o Azul da Prússia é reduzido ao branco da Prússia. O potencial redox do sistema pode ser estimado como 0,24 V vs E_{Ag/AgCl,KCl(sat)} e corresponde a (E_{p,a} + E_{p,c})/2 V.

Figura 36. Voltamogramas cíclicos, registrados em eletrólito suporte, com eletrodos de pasta de carbono modificados a dois potenciais controlados.

(1) Eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia e ativado em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 ;

(2) Eletrodo de pasta de carbono modificado em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 ;

Eletrodos foram secos a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte: tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 6,1 contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. $E_i = -0,40 \text{ V}$. $E_f = 0,60 \text{ V}$. Velocidade de varredura = 50 mV s^{-1} .

O voltamograma cíclico apresentado na figura 36 foi utilizado para estimar o excesso superficial ou concentração superficial de Azul da Prússia imobilizado no eletrodo.

Para tanto, determinou-se a carga do pico anódico, após descontar a contribuição da corrente capacitiva, encontrando-se o valor de $1,3 \times 10^{-3}$ C. Considerando-se que n = numero de elétrons = 4 elétrons^(36,56) estão envolvidos no processo eletródico e que o eletrodo possui uma área de $A = 0,080 \text{ cm}^2$, o valor estimado do excesso superficial foi calculado através da formula, $\int i \, dt = Q/(n F A) = \Gamma$, $F = 9,6485 \times 10^4 \text{ C mol}^{-1}$, sendo Q = quantidade de carga na superfície do eletrodo e Γ = excesso superficial que foi igual a $4,3 \times 10^{-8} \text{ cm}^{-2} \text{ mol}^{-1}$. Este último valor é maior do que outros dados apresentados na literatura^(28, 30, 36) que se encontram na ordem de $10^{-9} \text{ cm}^{-2} \text{ mol}^{-1}$ e deve refletir o maior tempo de deposição utilizado neste trabalho, já o diâmetro dos eletrodos aqui empregados são muito próximos daqueles utilizados na literatura.

A figura 37 mostra que o processo é controlado por difusão na faixa de $25 \leq v \leq 400 \text{ Vs}^{-1}$. Desde que o filme encontra-se imobilizado na superfície do eletrodo este comportamento reflete a incorporação de íons K^+ no filme durante o processo de redução e difusão destes íons para fora do filme durante o processo de redução.

Figura 37. Curvas das correntes de picos anódica e catódica vs a raiz quadrada da velocidade de varredura dos eletrodos de pasta de carbono modificados com filmes de Azul da Prússia e ativados em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 .

Eletrólito suporte tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. $E_{\text{ap}} = 40 \text{ mV}$.

$$I_{p,c} = 0,006 + 0,63 v^{1/2} (r^2 = 0,999)$$

$$I_{p,a} = 0,017 + 0,58 v^{1/2} (r^2 = 0,998)$$

III.3.5- Faixas Lineares e Limites de Detecção para Determinação de H₂O₂ em Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com AP ativados com RhCl₃ (EPCAP- Rh).

A faixa linear e limite de detecção para a determinação de H₂O₂ com o EPCAP-Rh, no intervalo de $9,34 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $4,98 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foram calculados como descrito na referência **(80)**. Os dados utilizados foram provenientes da realização de curvas analíticas efetuadas utilizando-se tampão (citrato de potássio/ácido cítrico) pH = 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e potencial aplicado de 40 m V.

Os dados são apresentados na tabela III.5.

Tabela III.5. Equações que descrevem os parâmetros das curvas analíticas e os limites de detecção obtidos para determinação de H₂O₂ com EPCAP-Rh.

Equação	Faixa de linearidade (mol L ⁻¹)	r ²	Desvio Padrão (μ A)	Limite de detecção (10 ⁻⁴ mol L ⁻¹)
$I_{p2} = 0,044 + 10,4 [H_2O_2]$	$5,12 \times 10^{-5} - 1,13 \times 10^{-4}$	0,999	1,07	0,31
$I_{p3} = 0,023 + 13,0 [H_2O_2]$	$5,12 \times 10^{-5} - 1,13 \times 10^{-4}$	0,999	0,060	0,01*
$I_{p4} = 0,090 + 9,45 [H_2O_2]$	$5,12 \times 10^{-5} - 1,13 \times 10^{-4}$	0,999	1,71	0,54
$I_{p5} = 0,043 + 8,96 [H_2O_2]$	$5,12 \times 10^{-5} - 1,13 \times 10^{-4}$	0,999	1,24	0,42
$I_{p6} = 0,070 + 11,4 [H_2O_2]$	$5,12 \times 10^{-5} - 1,13 \times 10^{-4}$	0,999	1,18	0,31
$I_{p7} = 0,044 + 11,9 [H_2O_2]$	$5,12 \times 10^{-5} - 1,13 \times 10^{-4}$	0,999	0,879	0,22
$I_{p8} = 0,030 + 11,9 [H_2O_2]$	$5,12 \times 10^{-5} - 1,13 \times 10^{-4}$	0,999	0,369	0,09
$I_{p9} = 0,040 + 12,1 [H_2O_2]$	$5,12 \times 10^{-5} - 1,13 \times 10^{-4}$	0,999	1,32	0,33
$I_{p10} = 0,030 + 11,9 [H_2O_2]$	$5,12 \times 10^{-5} - 1,13 \times 10^{-4}$	0,999	0,369	0,09

* Valores rejeitados para cálculo de limite de detecção.

A sensibilidade, calculada dividindo-se o valor médio do coeficiente angular das curvas analíticas pela área do eletrodo (0,080 cm²), foi de $1,4 \pm 0,2 \text{ A mol L}^{-1}\text{cm}^{-2}$ e o limite de detecção médio foi de $2,5 \pm 0,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

III.3.6- Armazenamento e Tempo de Vida dos EPCAP-Rh.

Os eletrodos de pasta de carbono modificados com filmes de Azul da Prússia e ativados em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 (EPCAP-Rh), foram preparados como descrito no item II.2.2.1.e, página 35. As curvas analíticas utilizadas para o limite de detecção foram preparadas como descrito no item II.2.3.1.c, página 36. Cabe salientar que diariamente foram efetuadas 6 curvas analíticas consecutivas. Quando fora de uso o eletrodo foi armazenado em solução $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. Os dados são apresentados na figura 38 e na tabela III. 6.

Figura 38. Curvas analíticas obtidas com eletrodos de pasta de carbono modificados com filmes de Azul da Prússia e ativados em solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e 1 mmol L^{-1} de RhCl_3 , durante a determinação de H_2O_2 . (a) 1°, (b) 2°, (c) 3°, (d) 4° e (e) 5° dias.

Eletrodo preparado utilizando-se a deposição a dois potenciais controlados e secos a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 . Potencial aplicado na determinação de $\text{H}_2\text{O}_2 = 40 \text{ mV}$.

As equações que descrevem os parâmetros das curvas analíticas médias são apresentadas na tabela III.6.

Tabela III.6. Equações que descrevem os parâmetros das curvas analíticas médias dos EPCAP-Rh preparado por deposição a dois potenciais controlados.

Dia	Equação Média	Faixa linear $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	Sensibilidade $\text{A mol}^{-1} \text{ L cm}^{-2}$	Sensibilidade (%)	Desvio Padrão	r^2
1º	$ip = 0,0029 + 10,5 [\text{H}_2\text{O}_2]$	5,0 - 86	1,32	100	0,02	0,999
2º	$ip = 0,0439 + 11,8 [\text{H}_2\text{O}_2]$	5,0 - 86	1,47	111	0,03	0,999
3º	$ip = 0,0262 + 9,68 [\text{H}_2\text{O}_2]$	5,0 - 86	1,21	92	0,02	0,999
4º	$ip = 0,0107 + 9,38 [\text{H}_2\text{O}_2]$	5,0 - 86	1,17	89	0,03	0,999
5º	$ip = 0,0271 + 7,71 [\text{H}_2\text{O}_2]$	5,0 - 86	0,96	73	0,02	0,999

Depois de 5 dias de utilização nestas condições, a sensibilidade do eletrodo diminuiu 27%.

III.3.7- Avaliação da Interferência dos ácidos Ascórbico e Úrico Durante a Determinação de H_2O_2 Utilizando se Eletrodos Modificados com Azul da Prússia e Posteriormente Ativados em Solução contendo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de RhCl_3

Sabe-se da literatura que os principais interferentes para determinação de H_2O_2 utilizando-se eletrodos modificado com filme de Azul da Prússia são o ácido ascórbico e o ácido úrico ⁽²⁷⁾. Deste modo estudou-se o comportamento dos eletrodos modificados com filme de Azul da Prússia e posteriormente ativados em solução de RhCl_3 na determinação de H_2O_2 na presença de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico e na presença de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de ácido úrico. A figura 39 mostra as curvas correntes vs potencial obtidas como descrito no item II.2.3.3.a, página 38.

Figura 39. Variação das corrente de redução de $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de ácido úrico, $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de ácido ascórbico e O_2 como função do potencial aplicado ao **EPC-AP-Rh**. Eletrodos previamente secos a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte: tampão ácido cítrico/citrato de potássio, pH 5,5 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl.

A corrente de redução registrada em solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 (em potencial de 40 mV) não foi alterada pela presença de ácido úrico na mesma concentração. O eletrodo não apresentou, na faixa de $-0,21 \text{ V} \leq E_{\text{apli}} \leq 0,19 \text{ V}$, nenhum sinal amperométrico devido à oxidação direta deste componente.

Nas mesmas condições anteriormente descritas, a oxidação direta do ácido ascórbico na superfície do eletrodo somente foi detectada em potenciais iguais ou superiores a 0,060 V.

Avaliou-se a interferência do ácido ascórbico durante a determinação de H_2O_2 , como descrito no item II.2.3.3.b, página 38. Os resultados são apresentados na figura 40. A adição do ácido ascórbico causou uma diminuição de apenas 4% na corrente catalítica de redução da H_2O_2 devido a um ligeiro consumo desta última por reação direta com o ácido ascórbico ⁽⁸¹⁾. Este valor aumentou para 30% na presença de O_2 , indicando que a oxidação do ácido ascórbico pela H_2O_2 pode, evidentemente estar sendo catalisada pelo oxigênio dissolvido.

Figura 40. Amperogramas registrados na presença de H_2O_2 e ácido ascórbico com eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de Azul da Prússia e ativado em solução de RhCl_3 (EPCAP-Rh) preparado utilizando-se a deposição a dois potenciais controlados: $A = 4,95 \times 10^{-5}$; $B = 1,45 \times 10^{-4}$; $C = 2,38 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 e $D = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico.

(1) na presença de O_2 e (2) na ausência de O_2 .

Eletrodo foi seco a temperatura ambiente por 24 horas. Eletrólito suporte tampão ácido cítrico / citrato de potássio, pH 6,1 contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. $E_{\text{apl}} = 40 \text{ mV}$.

IV- CONCLUSÕES

- 1) O mecanismo para a formação eletroquímica do filme de Azul da Prússia deve envolver a redução de íons $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ a $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ na superfície do eletrodo (1º ciclo de varredura). Estes últimos precipitam com íons Fe^{3+} , originando o Azul da Prússia na superfície do eletrodo, o qual é reduzido ao branco da Prússia no pico I (figura 7, página 23). Assim, tem-se:

ou

$E_{p1c}=0,18\text{V}$

(Pico II → Oxidação do branco da prússia à azul da prússia)

ou

$E_{p1a}=0,34\text{V}$

(Pico III → Oxidação do azul da prússia à verde de berlim)

ou

$E_{p2a}=1,00\text{V}$

(Pico IV → Redução do verde de berlim à azul da prússia

(verde de berlim)

(azul da prússia solúvel)

ou

(verde de berlim)

(azul da prússia insolúvel)

$$E_{p2c}=0,86V$$

Deste modo, no primeiro voltamograma cíclico observa-se, apenas na região negativa de potencial, um ombro a 0,4V seguido de um pico a 0,25V. Este ombro pode ser atribuído à formação de um filme de Azul da Prússia sobre o eletrodo, enquanto o pico à 0,25V pode ser atribuído à redução deste filme ao branco da Prússia;

- 2) Deve-se evitar quando possível, a presença de espécies derivadas de PO_4^{3-} e a utilização dos eletrodos modificados em meio alcalino, porque ambos os íons PO_4^{3-} e OH^- formam complexos estáveis com os íons de Fe^{3+} ;
- 3) Os filmes apresentaram maior estabilidade após secagem à temperatura ambiente por 24 horas;
- 4) Para que os filmes de Azul das Prússia mantenham-se estáveis na superfície do eletrodo é recomendável que a solução de medida contenha íons K^+ , os quais atuam no balanceamento de carga durante o processo redox e também no aumento da resistência do filme à acidez do meio;
- 5) Utilizando-se a voltametria cíclica para determinação de H_2O_2 não foi possível observar nenhum aumento no pico anódico, não apenas devido à ciclagem sucessiva ao redor do par redox AP/BP a qual favorece a, formação de uma mistura do Azul da Prússia solúvel e insolúvel, como também devido ao consumo local de H^+ para redução do peróxido de hidrogênio, o qual facilita a desestabilização do filme;

- 6) A melhor composição para a solução modificadora foi 2 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆], 3 mmol L⁻¹ de FeCl₃ em HCl 0,02 mol L⁻¹. A presença do excesso de FeCl₃ na solução modificadora favorece a formação do AP “insolúvel”;
- 7) O melhor potencial aplicado para a determinação de H₂O₂ foi de 0,040 V, onde a influência da redução do oxigênio é de apenas 8,0%. Este valor foi determinado para concentrações de H₂O₂ na ordem de 1,0 mmol L⁻¹. Para concentrações mais baixas do analito o potencial deve ser ligeiramente aumentado totalmente à contribuição do O₂ para a corrente catalítica de redução da H₂O₂;
- 8) O melhor eletrodo modificado com Azul da Prússia foi aquele obtido por deposição a dois potenciais controlados: 0,4 V por 120 segundos (adsorção dos reagentes)/ - 0,4 V por 120 segundos (redução dos reagentes – formando o AP “insolúvel”), ciclo repetido por três vezes;
- 9) Os eletrodos modificados com Azul da Prússia devem ser ativados em solução 0,1 mol L⁻¹, 1 mmol L⁻¹ RhCl₃ em 0,02 mol L⁻¹ de HCl no intervalo de - 0,4 V ≤ E_{apl} ≤ 0,6 V com velocidade de 60 mV s⁻¹ e posteriormente seco a temperatura ambiente por 24;
- 10) A ciclagem do eletrodo modificado com AP em solução de RhCl₃ exerce efeito catalítico adicional na redução de água oxigenada (figura 34, página 95);
- 11) Curvas ip vs v^{1/2} indicam que o sistema é governado pela difusão de íons K⁺ para interior do filme de AP durante o processo de redução e do interior do filme para a solução durante o processo de oxidação;
- 12) O valor estimado para o excesso superficial foi de a 4,3 x 10⁻⁸ cm⁻² mol⁻¹;
- 13) O limite de detecção e sensibilidade para a determinação de H₂O₂ com eletrodos de pasta de carbono modificados com Azul da Prússia e posteriormente ativados em solução de RhCl₃, foram de 2,5 ± 0,02 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ e 1,4 ± 0,2 A mol L⁻¹ cm⁻² respectivamente;
- 14) Os eletrodos modificados de acordo com os itens 8 e 9 depois de 5 dias de utilização intensa perda de sensibilidade de 27%. Quando fora de uso o eletrodo foi armazenado em solução 0,5 mol L⁻¹ de KCl;

- 15) A corrente de redução registrada em solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 (em potencial de 40 mV) não foi alterada pela presença de ácido úrico na mesma concentração. O eletrodo não apresentou, na faixa de $-0,21 \text{ V} \leq E_{\text{apli}} \leq 0,19 \text{ V}$, nenhum sinal amperométrico devido à oxidação direta deste componente;
- 16) A corrente de oxidação direta de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico na superfície do eletrodo somente foi detectada em potenciais iguais ou superiores a 0,060 V;
- 17) A adição do ácido ascórbico durante a determinação de H_2O_2 causou uma diminuição de apenas 4% na corrente catalítica de redução da H_2O_2 devido a um ligeiro consumo desta última por reação direta com o ácido ascórbico ⁽⁸¹⁾. Este valor aumentou para 30% na presença de O_2 , indicando que a oxidação do ácido ascórbico pela H_2O_2 pode, eventualmente, ser catalisada pelo oxigênio dissolvido.

V- REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Augusto, O., Hix, S., Morais, M. S. e Vasquez-Vivar, J., *Ciência e Cultura*, 47 (5/6), 280, (1995).
- (2) Pinto, T. J. A, *Revista Publica*, São Paulo, 29, (1), 75, (1995).
- (3) Rocha, F.R., Dissertação de Mestrado, IQ-USP, (1999).
- (4) Rover, L., Höechr, N. F., Vellasco, A. P.e Kubota, L. T., *Química Nova*, 24, (1), 112, (2001).
- (5) Neves, J.M. e Otsuki, H., *Congresso Anual de Celulose e Papel da Abtap*, 23 São Paulo, 333, (1990).
- (6) Hall, S. B., Khudaish, A. E., Hart, A. L., *Electrochim. Acta*, 45, 3573, (2000).
- (7) Brett, A. M. e Brett, C.M.A. "Electroquímica – Princípios, Métodos e Aplicações", Livraria Almedina: Coimbra, (1996).
- (8) Hall, S. B., Khudaish, A. E., Hart, A. L., *Electrochim. Acta*, 43, 579, (1998).
- (9) Gorton, L., *Electroanalysis*, 7, (1), 23 (1995).
- (10) Hall, E. A., Gooding, J. J. e Hall, C. E., *Mikrochim. Acta*, 121, 119 (1995).
- (11) Ruzgas, T., Csoregi, E., Emnéus, J. e Gorton, L., *Anal. Chim. Acta*, 309,35 (1995).
- (12) Guindilis, A.L., Atanasov, P.e Wilkins, E., *Eletroanalysis*, 9, (9), 661, (1997).
- (13) Rosatto, S.S., Freire, R.S., Durán, N. e Kubota, L.T., *Química Nova*, 24, (1), 77, (2001).
- (14) Wiseman, A., "Manual de Biotecnologia de Los Enzimas", Editora Acribia, S.A.: Zaragoza, (1985).
- (15) O'Brien, E.M., Tipton, K.F., McCrodden, J.M. and Youdim, M.B.H., *Biochem. Pharmacol.*, 47, (4), 617, (1994).
- (16) Yagodina, O.V., Nikolskaya, E.B., *Sens. Actuators B*, 44, 566, (1997).
- (17) Rosatto, S.S., Freire, S., Duran, N. and Kubota, L.T., *Química Nova*, 24, 77, (2001).
- (18) Guilbault, G. G., Kuan, S. S .and Brignac, Jr P .J., *Anal. Chim. Acta*, 47 503 (1969).

- (19) Rocha, R. T., Bertotti, M., Richter, E. M. R, Souza, A. S.; Gavini, G., *Encontro Nacional de Química Analítica*, São Carlos, 9, (1997).
- (20) Oliveira, M.C., Nogueira, R.F.P., Resende, U.M. e Boaventura, M.A. D., *Quimica Nova*, 24, (2), 188, (2001).
- (21) Tsukagoshi, K., Tomita, Y. and Nakajima, R., *Chem. Lett.*, 486, (2001).
- (22) Zhang, K., Mao, L., Cai, R., *Talanta*, 51, 179, (2000).
- (23) Chen, X., Li, D., Yang, H., Zhu, Q., Zheng, H. and Xu, J., *Analyst*, 126, 523, (2001).
- (24) Liu, Z., Cai, R., Mao, L., Huang, H. and Ma, W., *Analyst*, 124, 173, (1999).
- (25) Hong, J., Maguhn, J., Freitag, D. and Kettrup, A., *Fresenius J. Anal. Chem.*, 361, 124, (1998).
- (26) Zhou, J. and Wang, E., *J. Electroanal. Chem.*, 331, 1029, (1992).
- (27) Karyakin, A. A., Gitelmacher, O. V. and Karyakina, E. E., *Anal. Lett.*, 27, (15), 2861, (1994).
- (28) Karyakin, A. A., Gitelmacher, O.V. and Karyakina, E. E., *Anal. Chem.*, 67 (14), 2419 (1995).
- (29) Chi, Qijin, Dong, Shaojun, *Anal. Chim. Acta*, 310, 429 (1995).
- (30) Karyakin, A. A., Karyakina, E. E. e Gorton, L., *Talanta* 43, 1597, (1996).
- (31) Q. Deng, B. Lin and S. Dong, *Analyst*, 123 (10), 1995 (1998).
- (32) Karyakin, A. A., Karyakina, E. E., *Sens. Actuators B*, 57 (1-3), 268 (1999).
- (33) Zhang, X., Wang, J., Ogorivc, B. and Spichiger, U. E., *Electroanalysis*, 11(13), 945 (1999).
- (34) Garjonyte, R. and Malinauskas, A., *Sens. Actuators B*, 63 (1-2), 122 (2000).
- (35) Wilkins, E., Carter, M., Voss, J. and Ivnitski, D., *Electrochem. Commun.*, 2(11), 786 (2000).
- (36) Karyakin, A. A., Karyakina, E. E. and Gorton, L., *Anal. Chem.*, 72, 1720, (2000).
- (37) Yabuki, S., Mizutani, F. And Hirata, Y., *Sens. Actuators B*, 65 (49), 51, (2000).

- (38) Mattos, I.L., Lukachova, L.V., Gorton, L., laurell, T. and Karyakin, A.A., *Talanta* 54 (5), 963, (2001).
- (39) Ellis, D., Eckhoff, M. and Neff, V. D, *J. Phys. Chem.*, 85, 1225, (1981).
- (40) Buser, H.J., Schwarzench, D., Petter, W., Ludi, A., *Inorg. Chem.*, 16, 2704, (1977).
- (41) Itaya, K., Ataka, T. e Toshima, S., *J. Am. chem. Soc.*, 104, 4767, (1982).
- (42) Robin, M.B., *Inorg. Chem.*, 1, 337, (1962).
- (43) Keggin, J.F. and Miles, F.D., *Nature*, 137, 577, (1936).
- (44) Pharr, C.M. and Griffiths, P.R., *Anal. Chem.*, 69, 4673, (1997).
- (45) Herren, F., Ludi, A., Güdel, H. U., Hulliger, F. and Givord, D., *Helv. Chim. Acta*, 63, 148, (1980).
- (46) Herren, F., Fisher, P., Ludi, A. e Hälgl, W., *Inorg. Chem.*, 19, 956, (1980).
- (47) Ganguli, S., and Bhattacharya, M., *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, 79 (1), 1513, (1983).
- (48) Bal, B., Ganguli, S. and Bhattacharya, M., *J. Phys. Chem.*, 88, 4575, (1984).
- (49) Ducan, J. F. and Wigley, P. W. R., *J. Chem. Soc.*, 1120, (1963).
- (50) Neff, V. D., *J. Electrochem. Soc.*, 125, (6), 886, (1978).
- (51) Neff, V. D., *J. Electrochem. Soc.*, 132, 1382, (1985).
- (52) Plichon, V. e Besbes, S., *J. Electroanal. Chem.*, 284, 141, (1990).
- (53) Karyakin, A .A., Karyakina, E. E. e Gorton, L., *Electrochem. Commun.* 1, 78, (1999).
- (54) García-Jareño, J.J., Sanmatías, A., Vicente, F., Gabrielli, C., Keddarn, M., Perrot, H., *Electrochim. Acta*, 45, 3765, (2000).
- (55) Mattos, I.L., Gorton, L., Ruzgas, T. and Karyakin, A .A ., *Anal. Sci.*, 16, 795, (2000).
- (56) Itaya, K., Akahoshi, H. e Toshima, S., *J. Electrochem. Soc.*, 129, (7), 1498, (1982).
- (57) Itaya, K., Ataka, T. e Toshima, S., *J. Phys. Chem.*, 86, 2415, (1982).
- (58) Itaya, K. e Uchida, I., *Inorg. chem.*, 25, 389, (1996).
- (59) Lundgren, C.A. e Murray, R. W., *Inorg. chem.*, 27, 933, (1988).

- (60) Plichon, V. e Besbes, S., *Electrochim. Acta*, 37, 501, (1992).
- (61) Voguel, A., "Química Analítica Qualitativa", 1ª Edição, Editora Mestre Jou, São Paulo, (1981).
- (62) Ibers, J. A. e Davidson, N., *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 476, (1951).
- (63) Mortimer, R. J., Rosseinsky, D. R., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2059 (1984).
- (64) Feldman, B. J. E Melroy, O. R., *J. Electroanal. Chem.*, 234, 213, (1987).
- (65) Benedetto, G.E. and Cataldi, T. R.I., *Langmuir*, 14, 6274, (1998).
- (66) Kaneko, M., Teratani, S. and Harashima, K., *J. Electroanal. Chem.*, 325, 325, (1992).
- (67) Rajan, K. and Neff, V.D., *J. Phys. Chem.*, 86, 4361, (1982).
- (68) Cataldi, T.R.I., Benedetto, G.D. and Campa, C., *J. Electroanal. Chem.*, 437, 93, (1997).
- (69) Cataldi, T.R.I., Benedetto, G.D., *J. Electroanal. Chem.*, 458, 149, (1998).
- (70) Cataldi, T.R.I., Benedetto, G.D. and Bianchini, A., *Electroanalysis*, 10, (17), 1163, (1998).
- (71) Benedetto, G.D., Guascito, M.R., Ciriello, R., Cataldi, T.R.I., *Anal. Chim. Acta*, 410, 143, (2000).
- (71a) Angelini, G., Fornarini, S. and Speranza, M., *J. Am. Chem. Soc.*, 104, 4773, (1982).
- (72) Cox, J.A. and Kulesza, P.J., *Anal. Chem.*, 56, 1021, (1984).
- (73) Cox, J.A. and Gorski, W., *J. Electroanal. Chem.*, 389, 123, (1995).
- (74) Karyakin, A. A., Gitelmacher, O.V. and Karyakina, E. E., *Anal. Chem.*, 67, 101, (1995).
- (75) Cataldi, T.R.I., Centonze, D., Desimoni, E., Forastiero, V., *Anal. Chim. Acta*, 310, 257, (1995).
- (76) O'Connel, P.J., O'Sullivan, C.K. and Guilbault, G.G., *Anal. Chim. Acta*, 373, 261, (1998).
- (77) Voguel, A., "Análise Química Quantitativa", Livros Técnicos e Científicos Editora A.S., Rio de Janeiro, (1992).

- (78) D.D. Perrin; B. Dempsey; "*Buffer for pH and Metal Ion Control*", Chapman and Hall Ltda: New York, (1974).
- (79) Pedrotti, J. J., Agnes, L., Gutz, I. G. R., *Electroanalysis*, 8, 673, (1996).
- (80) Miller, J.C. and Miller, J.N., *Statistics For Analytical Chemistry*, Ellis Horwood Limited, New York, (1988).
- (81) Deng, Q., Li, B. and Dong, S., *Analyst*, 123, 1995, (1998).