Universidade de São Paulo

Instituto de Química de São Carlos

Programa de Pós-Graduação em Química

Sâmea Eulles Quixaba de Carvalho

Desenvolvimento e aplicação de eletrodos quimicamente modificados com Hexacianoferratos dos metais Fe, Ni e Co.

São Carlos

2011

Sâmea Eulles Quixaba de Carvalho

Desenvolvimento e aplicação de eletrodos quimicamente modificados com Hexacianoferratos dos metais Fe, Ni e Co.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências (Química Analítica).

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Mazo

São Carlos

2011

Dissertação dedicada aos meus pais Vicente e Eliete por toda dedicação, confiança e amor a mim oferecidos;

As minhas irmãs Samara e Samanta, ao Sâmio, minha família e meus amigos por me apoiarem e acreditarem em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a DEUS por estar presente em todos os momentos da minha vida e sempre me dar forças pra seguir em frente.

Aos meus pais Vicente e Eliete por sempre confiarem em mim, sempre me apoiarem em tudo que preciso e por todo ensinamento que me proporcionaram durante todos os momentos da minha vida. As minhas irmãs por sempre estarem me apoiando. Ao Sâmio pela força e companheirismo durante este momento. A minha família e amigos por todo carinho e confiança.

Ao Professor Dr. Luiz Henrique Mazo pela orientação e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Sergio Antonio Spinola Machado pelo apoio e ensinamentos no Gmeme.

Ao Dr. Murilo Cabral pela grande contribuição, ensinamentos e confiança depositada.

Agradeço aos meus amigos do Piauí Adriana, Janete, Sabrina, Elenice, Washington, Alexandre, Mike, Adriane, Sumaria, Taylon, Dilleys por toda amizade e em especial ao Adriano, Wilson e Orlando por me acolherem na chegada.

Agradeço aos amigos Dyovani, Inês, Diego, Fernando, Ivana, Rafael, Murilinho, Eduardo, Deodato, Okumura, Livia, Milena, João Tiengo, Marcelo, Claudia, Raquel e todos do Gmeme que estiveram presente nesses dois anos em minha vida.

RESUMO

O presente trabalho descreve o uso de eletrodos de carbono vítreo como eletrodo-base para modificação com hexacianoferratos de Fe (FeHCF), Co (CoHCF) e Ni (NiHCF) por meio da adsorção destes complexos utilizando a técnica de voltametria cíclica. Os eletrodos quimicamente modificados (EQMs) preparados por este método apresentam características diferenciadas tais como robustez e estabilidade ao longo das medidas eletroquímicas, além de boas propriedades redox. Os EQMs com FeHCF e NiHCF foram avaliados em função da sua atividade eletrocatalítica para a reação de oxidação do Ácido Ascórbico em solução de KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). O EQM com CoHCF foi avaliado nas mesmas condições dos outros filmes, porém não apresentou uma diminuição no sobrepotencial de oxidação do Ácido Ascórbico. Embora não tenha apresentado uma resposta semelhante aos EQMs com FeHCF e NiHCF, o EQM com CoHCF apresentou a melhor sensibilidade da resposta de corrente de pico quando comparado aos demais. A fim de proporcionar a renovação da superfície do eletrodo foi avaliada a utilização de eletrodos de pasta de carbono modificada com FeHCF, CoHCF ou NiHCF. Os parâmetros de composição da pasta, o eletrólito suporte e o pH foram avaliados utilizando o EPCM com FeHCF por meio da técnica de voltametria cíclica e os parâmetros otimizados foram aplicados no uso dos EPCM com CoHCF e NiHCF. Para avaliar a sensibilidade na deteccção da L-Cisteína, do Glifosato e da N-Acetilcisteína, os EPCMs modificados foram submetidos a estudos com a técnica de voltametria de onda quadrada. Todos os analitos apresentaram resposta eletroquímica em todos os EPCMs, porém as melhores respostas foram para o FeHCF na presença de L-Cisteína, CoHCF na presença de Glifosato e NiHCF na presença de N-Acetilcisteína. Na presença de 1×10^{-8} mol L^{-1} dos analitos os EPCMs com hexacianoferratos apresentaram um boa resposta eletroquímica, embora não tenha sido possível observar uma linearidade entre o aumento da concentração dos analitos propostos e a corrente de pico. Essa sensibilidade demonstrada pelos EPCMs na presença de moléculas com grupos funcionais, como ácidos carboxílicos, aminoácidos e tióis abre novas perspectivas para a análise direta de compostos de interesse clínico, farmacêutico e amostras de interesse ambiental.

ABSTRACT

This work describes the use of glassy carbon electrodes as the base for electrode modification with hexacyanoferrates of Fe (FeHCF), Co (CoHCF) and Ni (NiHCF) through adsorption of these complexes using cyclic voltammetry. The chemically modified electrodes (CMEs) prepared by this method have specific features such as robustness and stability along the electrochemical measurements, and good redox properties. The CME with FeHCF and NiHCF were evaluated take into accounting their electrocatalytic activity for oxidation reaction of Ascorbic Acid in KCl 0.1 mol L^{-1} (pH 6.6). The CME with CoHCF was evaluated under the same conditions, but did not show a decrease on the overpotential for Ascorbic Acid oxidation. Although the CME with CoHCF has not showed the same behavior presented by CMEs with FeHCF and NiHCF, the CME with CoHCF presented the best sensitivity in order to relationship between peak current and concentration of Ascorbic Acid when compared to CMEs with either. In order to provide the renewal of the electrode surface was evaluated the use of carbon paste electrodes (CPEs) modified with FeHCF, CoHCF and NiHCF. The CPE parameters such as composition, supporting electrolyte and pH were evaluated using the CPE with FeHCF by cyclic voltammetry and these optimized parameters were applied for CPEs with CoHCF and NiHCF. The studies about the sensitivity of the detection for L-Cysteine, glyphosate and N-acetylcysteine using the modified CPEs with hexacyanoferrates were performed by square wave voltammetry. All analytes showed electrochemical response at all CPEs, but the best electrochemical responses were obtained for FeHCF in the presence of L-Cysteine, CoHCF in the presence of glyphosate and NiHCF in the presence of N-acetylcysteine. The CPEs with hexacyanoferrates in the presence of 1×10^{-8} mol L^{-1} of L-Cysteine, glyphosate or N-acetylcysteine had showed a good electrochemical response, although were not possible to observe a linear correlation between the concentration of analytes and peak current. This sensitivity demonstrated by CPEs with hexacyanoferrates electrodes in presence of specific functional groups such as carboxylic acids, amino acids and thiols opens new perspectives for the direct analysis of compounds with clinical, pharmaceutical and environmental samples.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Os diversos estudos realizados que levaram a uma grande evolução de sensores..... 14
Tabela 2: Os métodos mais importantes utilizados para a introdução de um agente modificador sobre o eletrodo base segundo Kubota..... 15
Tabela 3: Procedência e pureza dos reagentes utilizados..... 33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: A cela unitária do Azul da Prússia e seus núcleos de ferro coordenados octaedricamente..... 17

Figura 2: Representação esquemática da célula eletroquímica: (1) eletrodo de trabalho, (2) eletrodo de referência, (3) eletrodo auxiliar, (4) entrada de N_2, (5) saída de N_2..... 30

Figura 3: Voltamograma cíclico obtido após formação do filme de FeHCF depositado na superfície de eletrodo Carbono Vitreo em solução KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6), velocidade de varredura 50 mV s^{-1}..... 41

Figura 4: A) Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com FeHCF em diferentes concentrações de KCl (pH 6,6) a 50 mV s^{-1}. B) Influência da concentração do eletrólito sobre a resposta do EQM, de acordo com figura 4A..... 43

Figura 5: A) Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com FeHCF no estudo da variação de velocidade em eletrólito KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). B) Influencia da velocidade nas correntes de pico do eletrodo, de acordo com figura 5 A..... 44

Figura 6: Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com FeHCF em KCl 0,1 mol L^{-1}. Velocidade de varredura 50 mV s^{-1} no estudo de varreduras consecutivas..... 45

Figura 7: Voltamograma cíclico obtido após formação do filme de CoHCF depositado na superfície de eletrodo Carbono Vitreo em solução KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6), velocidade de varredura 50 mV s^{-1}..... 47

Figura 8: A) Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com CoHCF em diferentes concentrações de KCl (pH 6,6). Velocidade de varredura 50 mV s^{-1}. B) Influência da concentração do eletrólito sobre a resposta do EQM, de acordo com figura 8A..... 48

Figura 9: A) Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com CoHCF no estudo da variação de velocidade em eletrólito KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). B) Influencia da velocidade nas correntes de pico do eletrodo, de acordo com figura 9A..... 49

Figura 10: Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com CoHCF em KCl 0,1 mol L^{-1}. Velocidade de varredura 50 mV s^{-1} no estudo de varreduras consecutivas..... 50

Figura 11: Voltamograma cíclico obtido após formação do filme de NiHCF depositado na superfície de eletrodo CV em solução KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6) e velocidade de varredura 50 mV s^{-1}..... 51

Figura 12: A) Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com NiHCF em diferentes concentrações de KCl (pH 6,6). Velocidade de varredura 50 mV/s.;A)Influencia da concentração do eltrolito sobre a resposta do EQM, de acordo com figura 12A. 52

Figura 13: A) Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com NiHCF no estudo da variação de velocidade em eletrólito KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). B) Influencia da velocidade nas correntes de pico do eletrodo, de acordo com figura 13 A..... 53

Figura 14: Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com NiHCF em KCl 0,1 mol L^{-1}. Velocidade de varredura 50 mV s^{-1} no estudo de varreduras consecutivas..... 54

Figura 15: Voltamograma cíclico obtido para eletrodo de CV em solução KCl 0,1molL^{-1} (pH 6,6) e velocidade 50mVs^{-1} na ausência e presença de 1,0 mmolL^{-1} de acido ascórbico. (___) Perfil Voltametrico do carbono vítreo na ausência de Ácido Ascórbico, (___) Perfil Voltametrico do carbono vítreo na presença de 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} de Ácido Ascórbico..... 55

Figura 16: Estudo das Adições de Ácido Ascorbico em eletrólito KCl 0,1M e velocidade 50 mV/s utilizando EQM com FeHCF, nas concentrações variando de 1mmolL^{-1} a 8 mmolL^{-1}.(___)(___)Perfil Voltamétrico do EQM com FeHCF na ausência de AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com FeHCF na presença de 2 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com FeHCF na presença de 4 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com FeHCF na presença de 6 x 10^{-3} mol L^{-1} AA. 56

Figura 17: Estudo das Adições de Ácido Ascorbico em eletrólito KCl 0,1M e velocidade 50 mVs^{-1} utilizando EQM com CoHCF, nas concentrações variando de 1$mmolL^{-1}$ a 8 $mmolL^{-1}$. .(___)Perfil Voltamétrico do EQM com CoHCF na ausência de AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com CoHCF na presença de 2 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com CoHCF na presença de 4 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com CoHCF na presença de 6 x 10^{-3} mol L^{-1} AA. 57
Figura 18: Estudo das Adições de Ácido Ascorbico em eletrólito KCl 0,1M e velocidade 50 mV/s utilizando EQM com NiHCF, nas concentrações variando de 0,5 $mmolL^{-1}$ a 1 $mmolL^{-1}$. (___) Perfil Voltamétrico do EQM com NiHCF na ausência de AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com NiHCF na presença de 8 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com NiHCF na presença de 2 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com NiHCF na presença de 4 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com NiHCF na presença de 6 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com NiHCF na presença de 8 x 10^{-3} mol L^{-1} AA.. 59
Figura 19: Relação Ip x Concentração dos Estudos das Adições de Ácido Ascorbico em eletrólito KCl 0,1 mol L^{-1} e velocidade de varredura 50 mV s^{-1} utilizando os EQMs com FeHCF, CoHCF e NiHCF em concentrações que variam entre 2 $mmolL^{-1}$ e 6 mmol L^{-1}..... 60
Figura 20: Estudo da porcentagem de pó de Hexacianoferrato de Ferro na composição do EPCM em KCl 0,1M; v=50mV/s. (__) Pasta composta com 5% ($_{m/m}$) de FeHCF ,(__)Pasta composta com 15% ($_{m/m}$) de FeHCF. 62
Figura 21: Voltamograma do estudo da variação de eletrolitos com adição de cisteina em um EPCM com FeHCF ; KCl 0,1 mol L^{-1}; v=50 mV s^{-1}..... 64
Figura 22: Voltamograma do estudo de pH do EPCM com 5%azul em KCl 0,1mol L^{-1}; v=50 mV s^{-1}..... 65
Figura 23: Estudo da adição de L-Cisteina em KCl 0,1 mol L^{-1} à 50 mV s^{-1}, utilizando eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com FeHCF. (___)Perfil Voltamétrico do EPCM com FeHCF na ausência de L-Cis, (___)Perfil Voltamétrico do EPCM com FeHCF na presença de 1 x 10^{-3} mol L^{-1} L-Cis..... 67
Figura 24: Estudo da adição de Glifosato em KCl 0,1 mol L^{-1} à 50 mV s^{-1}, utilizando eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com CoHCF. (___) Perfil Voltamétrico do EPCM com CoHCF na ausência de GLF, (___) Perfil Voltamétrico do EPCM com CoHCF na presença de 1 x 10^{-3} mol L^{-1} GLF..... 68
Figura 25: Estudo da adição de N-AcetilCisteina em KCl 0,1 mol L^{-1} à 50 mV s^{-1}, utilizando eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com NiHCF. (___) Perfil Voltamétrico do EPCM com NiHCF na ausência de N-Acet, (___) Perfil Voltamétrico do EPCM com NiHCF na presença de 1 x 10^{-3} mol L^{-1} N-Acet..... 69
Figura 26: Estudo da adição de cisteína em diferentes eletrólitos (A)Tampão acetato (B)Tampão PBS+NO_3 (C) Tampão fosfato (D) Tampão BR (E) KCl. Frequencia = 70 Hz; Incremento de varredura de potencial = 2 mV; Amplitude = 50 mV..... 71
Figura 27: Voltamogramas obtidos para adição de L-Cisteina utilizando o EPCM modificado com FeHCF em tampão BR. Freqüência = 70 Hz; Incremento de varredura de potencial = 2 mV; Amplitude = 50 mV..... 72
Figura 28 Estudo da adição de cisteina utilizando EPCM com hexacianoferrato de ferro, tampão Br, ph = 6..... 73
Figura 29: Estudo da adição de glifosato em diferentes eletrólitos (A)Tampão BR (B)Tampão PBS+NO_3 (C) KCl (D) Tampão acetato (E) Tampão fosfato. Frequencia = 70 Hz; Incremento de varredura de potencial = 2 mV; Amplitude = 50 mV. 76
Figura 30: Voltamogramas obtidos para adição de Glifosato utilizando o EPCM modificado com CoHCF em tampão fosfato. Freqüência = 70 Hz; Incremento de varredura de potencial = 2 mV; Amplitude = 50 mV..... 77
Figura 31: Estudo da adição de glifosato utilizando EPCM com hexacianoferrato de Cobalto, Tampão Fosfato (ph 2,0)..... 78
Figura 32: Estudo da adição de N-Acetilcisteina utilizando EPCM com hexacianoferrato de Níquel, tampão Br, ph = 6.....80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EQM	Eletrodo Quimicamente modificado
CN	Ciano
V C	Voltametria Ciclica
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleótideo
FeHCF	Hexacianoferrato de Ferro
CoHCF	Hexacianoferrato de Cobalto
NiHCF	Hexacianoferrato de Niquel
VOQ	Voltametria de Onda Quadrada
$\mathbf{E_i}$	Potencial Inicial
$\mathbf{E_f}$	Potencial Final
EPCM	Eletrodo de Pasta de Caarbono modificada
CV	Carbono Vitreo
L-Cis	L-cisteina
PC	Pasta de Carbono
CLAE	Cromatografia de Alta Eficiencia
CG	Cromatografia Gasosa
CCD	Cromatografia de camada delgada
AA	Ácido Ascórbico
N-Acet	N-acetil-l-cisteina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 12

1.1 Eletrodos Quimicamente Modificados (EQM) 12

1.1.1 Modificadores 16

1.2 L-2-amino-3-mercaptopropanóico (L-Cisteína) 23

1.3 L-α- acetamido–β–ácido mercapto propiônico (N-Acetil-cisteina) 25

1.4 N-fosfonometilglicina (Glifosato) 26

2. OBJETIVOS 29

3. PARTE EXPERIMENTAL 30

3.1 Instrumentação 30

3.1.1 Célula Eletroquímica 30

3.1.2 Eletrodos 31

3.2 Reagentes 32

3.3 Soluções 33

3.4 Equipamentos 33

3.5 Metodologia 33

3.5.1 Limpeza 33

3.5.2 Modificação do eletrodo de carbono vítreo com hexacianoferrratos. 34

3.5.3 Estudos sobre os EQMs recém preparados 37

3.5.4 Estudo de detecção do AA 37

3.5.5 Estudo dos EPCM (Eletrodo de Pasta de Carbono Modificado) 38

3.5.6 Determinação Voltamétrica utilizando os EPCM 39

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES 40

4.1 Estudo com Eletrodo modificado com Hexacianoferrato de Ferro 40

4.2 Estudo com Eletrodo modificado com Hexacianoferrato de Cobalto 46

4.3 Estudo com Eletrodo modificado com Hexacianoferrato de Níquel 51

4.4 Estudos sobre o comportamento dos filmes com Fe, Co e Ni na presença de AA. 55

4.5 Estudo da modificação com pasta de carbono 62

4.6 Estudo de Analitos 66
4.6.1 Estudo da detecção dos compostos nos EPCMs utilizando Voltametria Cíclica (VC) 67
4.6.2 Estudo da analise de L-Cisteína (L-Cis) com EPCM com Fe 70
4.6.3 Estudo da analise de glifosato com EPCM com CoHCF 75
4.6.4 Estudo da analise de N-Acetilcisteína (N-Acet) com EPCM com NiHCF 80
5. CONCLUSÃO 82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 84

1. INTRODUÇÃO

1.1 Eletrodos Quimicamente Modificados (EQM)

O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM) foi inicialmente utilizado na eletroquímica por MOSES et. al. em 1975 para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, convenientemente imobilizadas em suas superfícies com o objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução. A modificação do eletrodo normalmente confere a este as características físico-químicas (reatividade, seletividade, etc.) do modificador, possibilitando assim o desenvolvimento de dispositivos com respostas adequadas para vários propósitos e aplicações desde a catálise de reações orgânicas e inorgânicas até a transferência de elétrons em moléculas de interesse [1].

Os estudos com eletrodos quimicamente modificados vêm sendo muito realizado durante as ultimas décadas [1,8,12]. E o desenvolvimento desses sensores com características diferenciadas é uma área em crescimento e de grande interesse da eletroquímica e eletroanalítica. Estes materiais possuem uma ampla aplicação em estudos eletroanalíticos devido à versatilidade de modificações e modificadores eletroquímicos. Algumas das vantagens da utilização desses materiais são a alta sensibilidade, seletividade e estabilidade.

Tal interesse deve-se à possibilidade de aplicar esses materiais em análises dos mais diversos tipos de amostras tais como ambiental, clínica e industrial. Uma forma de se obter um sensor com estas características é a modificação de eletrodos

sólidos, que permite o desenvolvimento dos mais variados tipos de sensores. Alem das vantagens já citadas, os EQMs vêm sendo muito utilizados com o objetivo de diminuir o sobrepotencial que alguns analitos requerem para se oxidar ou reduzir, na tentativa de minimizar os problemas de interferentes e estabilidade dos sensores durante as análises [2].

A escolha do material como eletrodo base, cuja superfície será modificada, é um aspecto muito importante na preparação de um EQM. Este substrato deve apresentar características eletroquímicas apropriadas e também ser adequado para o método de modificação escolhido. Há vários materiais que servem como substratos, dentre os materiais convencionais destacam-se o ouro, platina, carbono vítreo, mercúrio na forma de filme, fibras de carbono e pasta de carbono. O material que mais se destaca neste tipo de aplicação é o Carbono Vítreo (CV), pois apresenta boa condutividade elétrica, estabilidade térmica e robustez. Essas características possibilitam a utilização dos eletrodos de CV como base para modificação e assim, o monitoramento de processos de transferência de carga, suporte para polímeros eletroativos e modificadores de superfície [3].

Quanto à ação de interferentes, estes inibem ou mascaram a resposta eletroquímica das espécies de interesse. Uma maneira de eliminar os interferentes, por meio físicos, é recobrir a superfície do eletrodo com uma membrana polimérica, que possa, com base na carga e/ou tamanho, bloquear o acesso do interferente, sendo permeável a espécie de interesse. Filmes como acetato de celulose ou Nafion® vêm sendo utilizados para este fim. O Nafion® é um ionômero, perfluoro-sulfonatado polianiônico, que tem a capacidade de acumular cátions [4-7], e exibe permeabilidade seletiva pela acumulação de cátions hidrofóbicos grandes preferencialmente do que cátions hidrofílicos pequenos [5].

Por meio de estudos já realizados observou-se que o EQMs tem uma vasta área de atuação na saúde, indústria de alimentos ou mesmo em aplicações ambientais. As aplicações realizadas com EQM envolvem em sua maioria técnicas voltamétricas ou amperométricas [8].

Tabela 1: Estudos realizados com EQMs **[9].**

METAS	AÇÃO
Imobilização de grupos funcionais Cheek e Nelson, em 1964	Melhora da seletividade e sensibilidade
Incorporação de catalisadores inorgânicos (ftalocianinas metálicas) Jasinski, em 1965	Maior sensibilidade
Incorporação de catalisadores biológicos (imobilização de glicose oxidase) (biossensores) Updicke e Hicks, em 1967	Melhora da seletividade
Utilização de filmes poliméricos (polipirrol) Diaz, em 1970	Estabilidade, seletividade
Aparecimento da denominação (Eletrodo quimicamente modificado, EQM) Murray e colaboradores, 1975	Definição da terminologia
Microeletrodos modificados Fleischmann anos 80	Aplicação ***in vivo***
Matrizes inorgânicas (Eletrodos de sílica modificada) Miller, anos 80	Maior estabilidade
Uso de membranas biológicas (membranas de fosfolipideos) Miller e Millazo, em 1981	Melhora da estabilidade, tempo de vida
Incorporação de aditivos (PEI e BSA)	Maior sensibilidade e seletividade

Os EQMs apresentam vários pontos positivos como é citado na Tabela 1. Há varias formas de modificar a superfície do eletrodo base, a Tabela 02 mostra o resumo dos métodos mais importantes utilizados para a introdução de um agente modificador sobre o eletrodo base.

Tabela 2: os métodos mais importantes utilizados para a introdução de um agente modificador sobre o eletrodo base segundo Kubota [8].

Modificação	Características
Adsorção	Incorporação simples e rápida de compostos em uma ampla gama de eletrodos base
Ligação Covalente	Incorporação de um vasto número de substâncias, de maneira estável, através da manipulação da reatividade dos grupos funcionais existentes na superfície do eletrodo.
Filmes Poliméricos	Imobilização de policamadas da espécie ativa na superfície do eletrodo – Ampliação da resposta eletroquímica.
Materiais compósitos	Possibilidade de modificação interna do material eletródico. Exemplos: pasta de carbono, resina epóxi, poliestireno, etc.

Dentre os métodos citados na Tabela 2, a técnica de filmes poliméricos permite a imobilização de muitas monocamadas da espécie ativa na superfície modificada, ampliando assim a resposta eletroquímica. Esse método utiliza a preparação do eletrodo modificado a partir do recobrimento com filme polimérico, o mesmo deve ser condutor ou permeável ao eletrólito e a espécie de interesse.

Por sua vez a adsorção consiste de um dos métodos mais simples, pois consiste na dissolução do agente modificador em um solvente e a exposição do eletrodo à solução. Neste trabalho será citado um exemplo de eletro adsorção onde será aplicado um potencial ao eletrodo para adsorção do filme na superfície do eletrodo.

Já, os materiais compósitos reúnem os eletrodos formados pela combinação de duas ou mais fases de diferentes naturezas. Um grupo muito utilizado e que representa bem os materiais compósitos são os eletrodos de pasta de carbono. Estes consistem na mistura de grafite com um liquido orgânico imiscível em soluções aquosas podendo utilizar um modificador para formar um EQM. Compósitos podem

ser formados pela combinação de diferentes materiais, do tipo inorgânico-inorgânico, orgânico-orgânico ou orgânico-inorgânico (sendo, neste último caso, também chamados de materiais híbridos) [10,11].

O modificador pode ser escolhido de acordo com a necessidade de aplicação. O polímero pode ser eletroativo, quimicamente ativo (propriedades ligante ou de troca-iônica para pré-concentração), ou inerte (exclusão de interferentes) [12]. Um exemplo de eletrodo que utiliza o modificador é a pasta de carbono e apresenta vantagens como a baixa corrente de fundo, baixo ruído, superfície facilmente renovada, modificação conveniente, facilidade de preparação e ampla faixa de potencial de trabalho [2].

1.1.1 Modificadores

a) Hexacianometalatos

Os Hexacianometalatos são compostos de valência mista que contem íons em mais de um estado de oxidação formal em uma mesma unidade molecular. O caráter de valência mista é responsável pela coloração de vários minerais conhecidos. Os complexos com Ferro apresentam vários estados de oxidação do ferro em seus óxidos. Esses complexos são utilizados em pinturas de vasos, com o objetivo de se obter os pigmentos preto, vermelho e Azul da Prússia (AP).

Os complexos de valência mista contendo pontes do tipo ciano (CN) vêm chamando muito atenção nos últimos anos, devido principalmente às suas

propriedades estrutural, redox e espectroscópica particulares. Os compostos do tipo Hexacianometalatos de metais são uma importante classe de compostos de valência mista e possuem a característica de serem insolúveis. Eles apresentam fórmula geral $M^A_T[M^B(CN)_6]_V.H_2O$, onde M^A e M^B são metais de transição com diferentes números de oxidação [13]. Além disso, estes compostos contêm outros íons metálicos e várias quantidades de água intersticiais. O composto mais conhecido e estudado desta classe é o hexacianoferrato de ferro ($Fe_4[Fe(CN)_6]_3$), mais conhecido como azul da Prússia [13].

O Azul da Prússia (AP) é constituído por núcleos metálicos de ferro (II) e ferro (III) alternadamente sendo intercalados por ligantes ciano (CN) em ponte, de modo que cada centro atômico de ferro está coordenado a seis grupos CN. Geralmente apresenta grande tendência a polimerizar e formar longas cadeias que se estendem por toda a rede cristalina do filme [14, 15, 16].

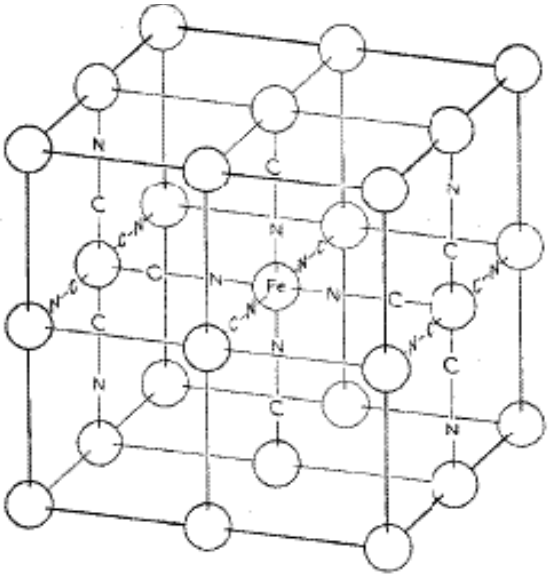


Figura 1: A cela unitária do Azul da Prússia e seus núcleos de ferro coordenados octaedricamente

A representação de uma unidade cúbica de face centrada sugere várias proposições estruturais, sendo que as principais sugerem, por um lado, a existência de íons de ferro(III) ou potássio nas posições intersticiais da cela unitária. Por outro lado, BUSER et al. [16] citam uma possível presença de moléculas de água nos interstícios sem, no entanto, a existência de qualquer espécie iônica nesta região, mas apenas em suas posições reticulares [17].

A partir do trabalho desenvolvido por NEFF [18], com eletrodos modificados com AP, vários outros estudos com o filme fino deste complexo inorgânico vêm sendo realizados por diversos grupos de pesquisa. Esse complexo apresenta características importantes, tanto em química inorgânica, quanto em eletroquímica, por possuir propriedades singulares e diferentes estados de oxidação possíveis. Isto se deve à alta reversibilidade eletroquímica, a seletividade ao transporte de íons e a estabilidade que estes compostos apresentam [18].

Na literatura podem ser encontrados vários trabalhos utilizando eletrodos modificados com hexacianoferratos [19-25].

WANG et al.[22], determinaram NADH oxidado. O mecanismo proposto pelos autores se baseia no H_2O_2 formado por uma reação enzimática. Assim, utilizando filmes modificados com complexos Ni e Cu. Os EQMs foram também aplicados em determinação indireta de glicose em amostras de sangue e fluidos biológicos [22]. LIN et al.[21] estudaram a determinação de H_2O_2 utilizando EQM com hexacianoferrato de Cromo (CrHCF). A reação proposta pelos autores é descrita a seguir:

$$2K_2\{Cr(II)[Fe(II)(CN)_6]\} + H_2O_2 + 2H^+ \rightarrow 2K\{Cr(III)[Fe(II)(CN)_6]\} + 2H_2O + 2K^+ \quad (1)$$

b) Hexacianoferrato de Ferro (FeHCF)

Desde a descoberta desse polímero semicondutor insolúvel, Hexacianoferrato de Ferro (FeHCF) ou Azul da Prússia (AP), ele vêm sendo utilizado em diversos estudos [14,15,16,18,19,26]. A sua cor azul intensa foi anteriormente atribuída a uma "oscilação de valência". Os eletrodos modificados com AP podem ser eletroquimicamente oxidados ou reduzidos por um mecanismo que envolve o transporte de íons e elétrons [27].

$$Fe_4[Fe(CN)_6]_3 + 4e^- + 4K^+ \rightarrow Fe_4K_4[Fe(CN)_6]_3 \quad (2)$$

Existem dois tipos de AP que são conhecidos com solúvel e insolúvel, esses termos referem-se ao processo de transporte entre fases pelo qual passa um determinado colóide ao se misturar com uma fase dispersiva. O AP nas suas duas formas apresenta baixa solubilidade água, entretanto sua solubilidade aumenta em meios fortemente alcalinos e ácidos, respectivamente, de acordo com as seguintes reações [16,28]:

$$Fe_4[Fe(CN)_6]_{3(s)} + 12OH^-_{(aq)} \rightarrow 4Fe(OH)_{3(s)} + 3[Fe(CN)_6]^{4-}_{(aq)} \quad (3)$$

$$[Fe(CN)_6]^{3-}_{(aq)} + 6H^+_{(aq)} \rightarrow Fe^{3+}_{(aq)} + 6HCN_{(g)} \quad (4)$$

O AP apresenta-se também com diferentes estados de oxidação para os íons metálicos de ferro, ele contém átomos de ferro alternados no reticulo entre os estados de oxidação +2 e +3. Esta variedade de derivados pertencentes a este

composto pode sofrer reações em determinados potenciais de oxidação ou redução controlados por meio de um potenciostato em uma célula eletroquímica [29,30].

HOU e WANG [24] exploraram a oxidação eletrocatalítica da Hidrazina em eletrodo de CV modificado com AP em meio ácido. Apresentaram sua determinação automatizada empregando o sistema de analise por injeção em fluxo. A curva analítica para o sulfato de hidrazina foi linear no intervalo de 32 µg a 0,6 ng.

OLIVEIRA et. al. [31] utilizaram um eletrodo de platina modificado com AP e observaram que ele funciona com um sensor voltamétrico eficaz para íons persulfato. A faixa linear de concentração para determinação do persulfato variou entre $5x10^{-1}$ mol L^{-1} a $3x10^{-1}$ mol L^{-1} com fator de correlação. Na determinação de persulfato em produtos comerciais para cabelo houve uma excelente correlação entre o método proposto (eletroquimico) e o método tradicional de analise.

KARYAKIN et.al. [32] estudou a otimização da modificação de um eletrodo de carbono vítreo com AP e observou que o EQM apresentou alta seletividade para redução de H_2O_2 em presença de oxigênio.

c) Hexacianoferrato de Cobalto (CoHCF)

O Hexacianoferrato de Cobalto (CoHCF) é considerado um material interessante para modificar a superfície dos eletrodos devido seu comportamento redox reversível [33]. Esse complexo atrai interesses particulares devido a sua propriedade eletrocrômica que dependem dos estados de oxidação dos íons Co e Fe, bem como a natureza do íon de metal alcalino nele incorporados durante a eletrodeposição. O CoHCF apresenta boa atividade eletrocatalítica para uma

variedade de moléculas como ácido ascórbico, nitrito, hidrazina, p-clorofenol e hidroxilamina.

CASTRO et al. [34] modificaram um eletrodo de carbono vítreo com CoHCF e mostrou a sua eficacia para determinação de dopamina, em uma faixa linear de 1,2 × 10^{-5} mol L^{-1} até 5,0 × 10^{-4} mol L^{-1}, e um limite de detecção de 8,9 × 10^{-6} mol L^{-1}. Os filmes com CoHCF foram recobertos com Nafion®, a fim de aumentar a permeabilidade e seletividade. Assim as determinações de dopamina foram realizadas na presença de Ácido Ascórbico.

YON e LOWE [20] modificaram a superficie de microeletrodos de ouro com CoHCF e avaliaram a oxidação catalitica de NADH. HIN e LOWE [19] propuseram o mecanismo de ação do EQM com CoHCF na presença de NADH:

$$2\ K[CoFe(III)(CN)_6\ ] + 2\ K^+ + NADH \rightarrow 2\ K_2[CoFe(II)(CN)_6] + NAD^+ + H^+ \quad (5)$$

Onde NADH corresponde a forma reduzida da nicotinamida-adenina-dinucleotídeo ou NAD^+.

SHANKARAN et. al.[23] imobilizaram o $K[CoFe(III)(CN)_6\ ]$ em um eletrodo de pasta de carbono (EPC), para a detecção amperométrica de glutationa. A oxidação eletrocatalítica da glutationa utilizando o EPC modificado com CoHCF permitiu uma resposta linear estável no intervalo de concentração de glutationa entre 9,0 x 10^{-5} mol L^{-1} e 9,9 x 10^{-4} mol L^{-1}.

FLORESCU e BRETT [35] caracterizaram em diferentes eletrólitos a modificação do eletrodo de carbono vítreo modificado com CoHCF e suas propriedades. O trabalho dos autores visava a determinação de H_2O_2 produzido via uma reação enzimática. A oxidação da glicose usando a enzima glicose oxidase tem

como produtos o ácido glucônico e H_2O_2. Assim, utilizando o EQM com CoHCF sobre eletrodos de carbono vítreo foi possível determinar H_2O_2 em 0,0 V. Neste potencial a presença de interferentes é minimizada. Esses eletrodos apresentaram uma resposta linear entre 10 µmol L^{-1} e 120 µmol L^{-1}, com um limite de detecção de 0,27 µmol L^{-1}.

d) Hexacianoferrato de Niquel (NiHCF)

Os complexos de hexacianoferrato de níquel possuem uma estrutura cúbica, onde os átomos de metais (Fe e Ni) se encontram ligados aos grupos cianeto. Os átomos de ferro e níquel se encontram nos vértices do cubo alternadamente, de modo que todos os átomos de ferro estão coordenados exclusivamente com o carbono e todos os átomos de níquel ao nitrogênio. O centro do cubo é ocupado por cátions de metais alcalinos para manter a neutralidade de cargas [36].

Chen et al.[37] preparam um eletrodo de ouro modificado com hexacianoferrato de níquel. Utilizaram-se dois procedimentos para a preparação do filme, deposição química e deposição eletroquímica. Através do estudo feito por Chen et al.[81] estabeleceu-se um novo método de deposição, imersão do eletrodo por 30 minutos em solução para formação do filme. Por meio desta metodologia de preparação dos filmes observou-se uma melhor estabilidade com uma maior facilidade de preparação para o mesmo.

HIN e LOWE [38] modificaram um eletrodo base que consiste em folhas de níquel porosas com filme de NiHCF para mostrar sua potencialidade para a

determinação de $S_2O_3^{2-}$ em efluentes de águas industriais. A reação entre o complexo NiHCF e os ânions $S_2O_3^{2-}$ é descrita a seguir:

$$2\ Ki\{Ni^{II}[Fe^{III}(CN)_6]\} + 2\ S_2O_3^{2-} + 2\ K^+ \rightarrow 2\ K_2\{Ni^{II}[Fe^{II}(CN)_6]\} + S_4O_6^{2-} \quad (6)$$

ZHOU et al. [39] investigaram a oxidação eletrocatalítica da dopamina em microdiscos de platina modificados com filme de NiHCF. A reação eletroquímica entre o complexo e a dopamina pode ser descrita como:

$$2Na\{Ni^{II}[Fe^{III}(CN)_6]\} + 2Na^+ + dopamina_{red} \rightarrow 2Na2\{Ni^{II}[Fe^{II}(CN)_6]\} + dopamina_{oxi} \quad (7)$$

Os artigos, brevemente, discutidos mostram as potencialidades e aplicações dos filmes preparados com hexacianometalatos dos metais Ferro, Cobalto e Níquel.

1.2 L-2-amino-3-mercaptopropanóico (L-Cisteína)

O ácido 2-amino-3-mercaptopropanóico (L-Cisteína, L-Cis) é um aminoácido com papel importante nos sistemas biológicos e usados em vários setores, tais como na medicina e química de alimentos. Quando exposto ao ar, e sob determinadas condições fisiológicas (incluindo no interior de proteínas), a L-Cisteína pode oxidar-se formando Cistina, a qual é composta por duas L-Cisteínas unidas por uma ligação dissulfeto [40].

O grupo sulfidrila da L-Cis é determinante para a atividade biológica das proteínas e enzimas [41]. A L-Cis é considerada um aminoácido não essencial,

quando, em condições fisiológicas normais, quantidades suficientes do mesmo são originadas da dieta e do metabolismo do aminoácido essencial metionina e do aminoácido não essencial serina pela via de trans-sulfuração. Entretanto, a *L*-Cis é estabelecida como condicionalmente essencial, em certas circunstâncias, por exemplo, em casos de neonatos prematuros [42].

L-Cis está presente em vários cosméticos e preparações farmacêuticas, por exemplo, é usada na formulação de alguns antibióticos e tratamento de danos à pele. As propriedades antioxidantes da L-Cis são reconhecidas, quando da regulação de numerosos processos bioquímicos e são essenciais à manutenção da saúde como, por exemplo, na inibição de danos oxidativos causados por ERO, formadas durante estresse oxidativo [43].

A L-Cisteína é muito importante nos sistemas biológicos e tem sido amplamente utilizada na medicina e indústrias alimentícias [44]. Dessa forma, é considerável a necessidade do desenvolvimento de métodos sensíveis para a detecção de L-Cisteína nos fluidos corporais, produtos farmacêuticos e amostras de alimentos [48].

Técnicas eletroquímicas e materiais de eletrodo foram utilizados para o estudo da oxidação eletroquímica, detecção e determinação de L-Cisteína e seus derivados, incluindo a preparação de EQMs [46].

MIMICA [47] et al. relataram a atividade eletrocatalítica da vitamina B_{12} para a eletroxidação de L-Cis e seus efeitos sobre a reversibilidade eletroquímica do par redox L-Cisteína / L-Cistina. O eletrodo de grafite foi utilizado para a adsorção da coenzima B_{12}. A concentração de L-Cis utilizado foi 0,01 mol L^{-1}.

A oxidação de L-cisteína tem uma resposta eletroquímica muito pobre e um grande sobrepotencial de oxidação em eletrodos de carbono convencionais [48].

Portanto, a capacidade eletrocatalítica do FeHCF na determinação voltamétrica de L-cisteína também foi estudada nesse trabalho.

1.3 L-α- acetamido–β–ácido mercapto propiônico (N-Acetil-cisteina)

O L-α-acetamido-β-ácido mercapto propiônico (N-Acetilcisteína, N-Acet) é um pó cristalino branco, com leve odor acético. É facilmente solúvel em água e em álcool é praticamente insolúvel em clorofórmio e éter. Foi introduzida no mercado nos anos 1960 foi o primeiro agente chamado como mucolítico [48]. Tem a habilidade de reduzir extracelularmente cistina para L-Cisteína e agir intracelularmente como fontes de grupos sulfídrilas.

Como fonte de grupo sulfídrila, a N-Acet estimula a síntese de glutationa (GSH), aumenta à atividade da glutationa S transferase, promove a desintoxicação do fígado e é um poderoso antioxidante capaz de reduzir drasticamente os radicais livres no organismo. A N-Acet é um agente mucolítico capaz de romper as ligações ou pontes de dissulfetos das mucoproteínas, transformando-as em partículas menores e diminuindo a viscosidade das mesmas, facilitando a sua eliminação [51].

VIEIRA E FATIBELLO [50] propuseram um processo espectrofotométrico de injeção em fluxo para a determinação de N-Acet em formulações farmacêuticas. No processo a Ferroína (Fe(II)) em excesso é oxidado pelo Cério(IV) produzindo Cério(III) e Fe(III). Ao adicionar N-Acet a mesma reage com Cério(IV) proporcionando um aumento de sinal. A curva analítica teve faixa linear de $6,5x10^{-6}$ a $1,3x10^{-4}$ mol L^{-1} e limite de detecção $5,0x10^{-6}$ mol L^{-1}.

SUAREZ [51] preparou e caracterizou um EPC modificado com Hexacianoferrato de Cobre (II). O comportamento eletroquímico do EQM para eletroxidação de N-Acet foi explorado usando Voltametria linear. A curva analítica foi obtida na faixa linear entre $1,2x10^{-4}$ mol L^{-1} a $8,3x10^{-4}$ mol L^{-1} com limite de detecção de $6,3x10^{-5}$ mol L^{-1}.

1.4 N-fosfonometilglicina (Glifosato)

O N-fosfonometilglicina (Glifosato, GLF) é um herbicida, sistêmico, não-seletivo, moderadamente tóxico (classe toxicológica II), utilizado no controle anual de ervas daninhas. Até o momento estudos mostram que o GLF não tem poder carcinógeno ou mutagênico em animais e seres humanos. Efeitos levemente tóxicos têm sido apenas observados em pássaros selvagens e alguns organismos aquáticos [52].

O GLF é moderadamente persistente em solo, com tempo médio de meia vida de 47 dias. É fortemente adsorvido na maioria dos solos, até mesmo em solos com pouca matéria orgânica. Portanto, menos de 2% do material aplicado é transportado para as fontes de água (rios, lagos, etc.). O glifosato também é adsorvido fortemente por matéria orgânica aquática e não sofre fotodegradação. No Brasil é extensamente utilizado em culturas de cana-de-açúcar. O glifosato é um herbicida ácido, mas comumente utilizado na forma de sal de isopropilamina. O glifosato tem solubilidade relativamente baixa em água (1 a 8% em 25-100 o C) e é insolúvel em solventes orgânicos [53].

JIANG e LUCY [54] determinaram glifosato em água utilizando fluorescência induzida a laser e obtiveram um limite de detecção de 0,27 µg L^{-1}. CHIU et al [55] analisaram glifosato em soja utilizando quimiluminescência e obtiveram limite de detecção de 0,6 mg Kg^{-1}. Outras técnicas de detecção são condutividade [55] e fluorescência indireta [56].

BRONSTAD e FRIESTAD [57,58] desenvolveram uma metodologia de análise de glifosato baseada na detecção de um derivado N-nitroso utilizando eletrodo de mercúrio. Neste método, a molécula de glifosato é derivatizada através da reação com nitrito de sódio e ácido clorídrico. Como resultado, ocorre a introdução de um grupo N-nitroso no grupo amino secundário, o qual é facilmente reduzido e pode ser determinado polarograficamente. TEÓFILO et al. [59] desenvolveram uma metodologia de análise de glifosato utilizando voltametria de onda quadrada, com o mesmo procedimento de derivatização descrito anteriormente. O limite de detecção para o glifosato utilizando esta reação de derivatização varia entre 25 µg L-1 a 1 mg L-1.

COUTINHO et al. [60] determinaram o glifosato através do estudo sobre a interação do microeletrodo de cobre e glifosato por meio de técnicas voltamétricas. Dessa forma, os autores desenvolveram uma metodologia de análise de glifosato utilizando detecção coulométrica com microeletrodo de cobre, aliada à cromatografia líquida para análise em amostras de alimentos e água. O princípio de detecção foi baseado no acréscimo da corrente anódica de microeletrodo de cobre na presença de agentes complexantes, tais como glifosato, com a formação de um complexo solúvel de Cu(II). Os limites de detecção obtidos foram de 100 µg L^{-1} para sucos de frutas, 32 µg L^{-1} e 1,9 µg L^{-1} para amostras de água e 53 µg Kg^{-1} para amostras de soja.

As técnicas analíticas padrão para a detecção de pesticidas e seus resíduos são as cromatográficas (líquida de alta eficiência (CLAE), gasosa (CG) e de camada delgada (CCD)) [47,61]. Outras técnicas utilizadas são as espectroscópicas, como espectrometria de massa [62], infravermelho [63] e ultravioleta [64]. Apesar de as técnicas serem muito sensíveis e precisas, a principal desvantagem é a necessidade de um pré tratamento da amostra, levando a um maior tempo na realização das análises e a um gasto elevado de reagentes para a etapa de preparação das amostras.

A análise de glifosato utilizando técnicas eletroanalíticas é pouco explorada. O glifosato não apresenta resposta eletroquímica direta em eletrodo de mercúrio, ou seja, é polarograficamente inativo, uma vez que não apresenta grupos químicos que possam ser reduzidos. No entanto, com os avanços no desenvolvimento de novos materiais para aplicações eletroanalíticas, como o baixo custo, a velocidade de análise e uma boa sensibilidade, em comparação a maioria das técnicas citadas, as técnicas eletroquímicas passaram a ser consideradas como uma importante e alternativa ferramenta para análises de compostos orgânicos diversos. Isto inclui a análise do herbicida glifosato por apresentar maior sensibilidade e simplicidade de análise [65].

O glifosato apresenta três grupos funcionais (amínico, carboxílico e fosfônico), que podem formar fortes ligações coordenadas com íons metálicos, particularmente com os íons dos metais de transição [66]. A facilidade em coordenar como ligante tridentado coloca o glifosato numa posição privilegiada entre os herbicidas [67].

2. OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi a preparação e caracterização de EQM com Hexacianoferratos de Ferro, Cobalto e Níquel sobre eletrodo de carbono vítreo e pasta de carbono para aplicação na determinação eletroquímica de L-Cis, N-Acet e GLF.

Este objetivo geral pode ser detalhado em:

a. Preparação dos eletrodos quimicamente modificados com hexacianoferrato de Fe, Co e Ni sobre eletrodo de carbono vítreo e eletrodos de pasta de carbono.
b. Preparação dos eletrodos quimicamente modificados com hexacianometalatos de Fe, Co e Ni em eletrodo de Pasta de Carbono.
c. Estudo do comportamento eletroquímico dos EQMs (FeHCF, CoHCF e NiHCF) na presença de Ácido Ascórbico (AA) utilizando Voltametria Cíclica.
d. Comparar os comportamentos eletroquímicos dos eletrodos modificados.
e. Aplicação dos EPCM na determinação eletroquímica dos analitos L-Cis, N-Acet e GLF.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Instrumentação

3.1.1 Célula Eletroquímica

Para medidas eletroquímicas utilizou-se uma célula convencional de vidro, com compartimento único de 30 mL, com tampa de Teflon® contendo orifícios de encaixe para três eletrodos (eletrodo de trabalho, eletrodo auxiliar ou contra-eletrodo e eletrodo de referência) e um orifício para a saída e entrada de N_2, conforme mostrado na representação esquemática da Figura 2.

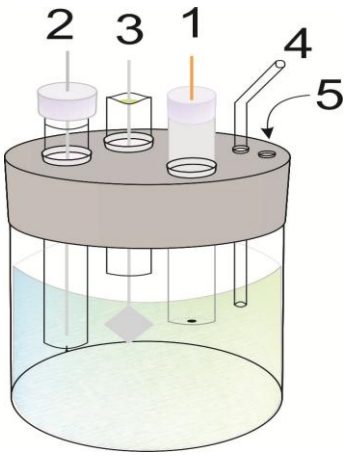


Figura 2 - Representação esquemática da célula eletroquímica: (1) eletrodo de trabalho, (2) eletrodo de referência, (3) eletrodo auxiliar, (4) entrada de N_2, (5) saída de N_2**.**

3.1.2 Eletrodos

a) Eletrodos de referência e auxiliar

O eletrodo de referência utilizado foi o eletrodo Ag/AgCl saturado em uma solução de KCl 3,0 mol L^{-1}. Um fio de prata, previamente polido com lixas 660 e anodizado em uma solução de ácido clorídrico 0,3 mol L^{-1}, em um compartimento próprio completamente preenchido com solução KCl 3,0 mol L^{-1} contendo alguns cristais de $AgNO_3$. A anodização do fio de prata em solução de HCl é necessária para formar um filme de cloreto de prata na superfície do fio.

O eletrodo auxiliar foi uma placa de platina soldada a um fio de platina de 0,5 mm de diâmetro e embutido em um tubo de vidro, de maneira que não houvesse infiltração de solução. Antes dos experimentos aquecia-se o eletrodo em chama redutora e lavava-se o eletrodo com água Milli-Q.

b) Eletrodo de trabalho

Os eletrodos de trabalho foram eletrodos modificados com FeHCF, CoHCF e NiHCF. Os eletrodos foram obtidos por eletropolimerização dos modificadores utilizando a técnica de voltametria cíclica nas condições previamente otimizadas. O eletrodo base utilizado para a imobilização do polímero foi um eletrodo de carbono vítreo (GC) (A= 0,18 cm^2) embutido em Teflon®.

Foram utilizados em experimentos posteriores eletrodos de pasta de carbono modificados com FeHCF, CoHCF e NiHCF. Os eletrodos foram obtidos por

uma mistura de grafite, nujol e uma proporção de modificador em condições previamente otimizadas.

3.2 Reagentes

Todos os reagentes utilizados neste trabalho são de pureza analítica (PA). A Tabela 3 apresenta a procedência e a pureza dos reagentes utilizados.

Tabela 3 - Procedência e pureza dos reagentes utilizados.

Reagente	Procedência
Glifosato	Agrociências
Ferricianeto de Potassio	Mallinckrodt
Cloreto de Ferro	Mallinckrodt
n-acetil-l-cisteina	Sigma-Aldrich
Hidróxido de sódio	J. T. Baker
Cloreto de potássio	J. T. Baker
Ácido Ascórbico	Mallinckrodt
L - Cisteína	Cromato Produtos Químicos LTDA
Cloreto de Cobalto	Mallinckrodt
Cloreto de Niquel	Riedel-de Hoen
Cloreto de Sódio	J. T. Baker
Ácido Clorídrico	J. T. Baker
Pó de grafite	Sigma-Aldrich
Nujol	Sigma-Aldrich
tampão fosfato	Panreac

3.3 Soluções

Todas as soluções foram preparadas em água purificada pelo sistema Barnstead Nanopure. As soluções utilizadas foram KCl, FeCl, $CoCl_2$, NiCl, tampão Br, tampão fosfato, tampão acetato

3.4 Equipamentos

Para a realização das medidas eletroquímicas foi utilizado um potenciostato da Autolab (PGSTAT 128 N) interfaceado com um computador pelo programa GPES 4.9 acoplado um micro computador adequado.

Os eletrodos de carbono vítreo foram polidos em politriz Panambra Struers modelo DPU-10 a 600 rpm com feltro Buehler®.

3.5 Metodologia

3.5.1 Limpeza

O pré-tratamento da superfície do carbono vítreo neste trabalho foi realizado em duas etapas: um procedimento mecânico e uma etapa eletroquímica. O polimento mecânico foi realizado em lixa d'água com granulometria 1500 e 2000, seguida de um polimento em suspensão de alumina (1,0 µm; 0,3 µm; 0,05 µm)

utilizando tecido de polimento como base para fricção, até que suas superfícies apresentassem um aspecto espelhado. Após cada etapa de polimento os eletrodos foram lavados com água ultra purificada do sistema Barnstead e submetidos a limpeza por ultrasom durante três minutos e lavados novamente para remoção de partículas residuais. O grau de limpeza nos eletrodos foi avaliado por experimentos de voltametria cíclica em um eletrólito KCl 0,2 mol L^{-1}, variação de potencial entre -0,2 V a 1,2 V, velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} em temperatura ambiente. O perfil voltamétrico do eletrodo de carbono vítreo, nestas condições, é bem conhecido.

Após a etapa de polimento mecânico foi realizada a etapa de polimento eletroquímico onde ocorre a variação da janela de potencial durante a voltametria cíclica de -0,2 a 1,2 V (*vs* Ag/AgCl) utilizando como eletrólito suporte solução de KCl 0,2 mol L^{-1} e variando a velocidade de varredura com 10 ciclos a 25 mV s^{-1}, 20 ciclos a 50 mV s^{-1} e 25 ciclos a 100 mV s^{-1}.

3.5.2 Modificação do eletrodo de carbono vítreo com hexacianoferrratos.

Os hexacianoferratos dos metais Fe,Co e Ni foram obtidos a partir de uma síntese [35,68]. A adsorção dos ferricianetos metálicos na superfície eletródica devidamente limpa, foi realizada por imersão do eletrodo de carbono vítreo em solução de cloreto do metal, ferricianeto de potássio e solução do eletrólito KCl 0,1 mol L^{-1} ou NaCl 0,1 mol L^{-1} . Os parâmetros de tempo de imersão e concentração das soluções foram avaliados por voltametria cíclica.

Utilizou-se o método de eletrodeposição no modo potenciostático, o qual foi adaptado da metodologia da literatura [29,34,38]. O método constitui em aplicar uma variação de potencial sobre o sistema eletroquímico a uma determinada velocidade de varredura e número de ciclos escolhidos de acordo com a necessidade da formação do filme. No presente estudo, o potencial escolhido foi à variação de -0,2 V a 1,2 V com a velocidade de varredura de 50 mV s^{-1}, o número de ciclos utilizados foram 30 ciclos. Estes parâmetros foram os mesmos para os três eletrodos modificados utilizados tanto FeHCH, CoHCF e NiHCF. A solução de deposição (eletrólitos) utilizada neste procedimento consistiu de uma mistura de soluções distintas, as quais foram preparadas e logo em seguida misturadas e utilizadas, sendo que sempre foram preparadas no mesmo dia em que foram utilizadas para preparar os filmes.

Para estabilização, os eletrodos foram imersos durante 1h nos respectivos eletrólitos KCl ou NaCl (pH 6,6).

a) Hexacianoferrato de Ferro (FeHCF)

As soluções para preparo do filme foram Ferricianeto de Potássio ($K_3Fe(CN)_6$) 5 mmol L^{-1}, KCl 0,1 mol L^{-1} e solução de Cloreto de Ferro III ($CoCl_2$ $6H_20$) 5 mmol L^{-1} e HCl 0,1 mol L^{-1}, ambas preparadas em água ultra purificada. As soluções foram misturadas na proporção de 1:1 dentro da cela eletroquímica, de forma que a solução final presente na cela eletroquímica era constituída de $K_2Fe(CN)_6$ e $FeCl_3$ 2,5 mmol L^{-1} e HCl e KCl 0,1 mmol L^{-1} (eletrólito suporte) e pH 2,3. Após a mistura das soluções iniciou-se o processo de eletrodeposição.

b) Hexacianoferrato de Cobalto (CoHCF)

As soluções para preparo do filme foram Ferricianeto de Potássio ($K_3Fe(CN)_6$) 5 mmol L^{-1}, NaCl 0,1 mol L^{-1} e solução de Cloreto de Cobalto ($CoCl_2$) 5 mmol L^{-1} e HCl 0,1 mol L^{-1}, ambas preparadas em água deionizada. As soluções foram misturadas na proporção de 1:1 dentro da cela eletroquímica, de forma que a solução final presente na cela eletroquímica era constituída de $K_2Fe(CN)_6$ e $FeCl_3$ 2,5 mmol L^{-1} e NaCl e KCl 0,1 mmolL^{-1} (eletrólito suporte) e pH 2,3. Após a mistura das soluções iniciou-se o processo de eletrodeposição.

c) Hexacianoferrato de Niquel (NiHCF)

As soluções para preparo do filme foram Ferricianeto de Potássio ($K_3Fe(CN)_6$) 5 mmol L^{-1} e KCl 0,1 mol L^{-1} e a outra solução era de Cloreto de Niquel ($NiCl_3$) 5 mmol L^{-1} e HCl 0,1 mol L^{-1}, ambas preparadas em água deionizada. As soluções foram misturadas na proporção de 1:1 dentro da cela eletroquímica, de forma que a solução final presente na cela eletroquímica era constituída de $K_2Fe(CN)_6$ e $NiCl_3$ 2,5 mmol L^{-1} e HCl e KCl 0,1 mmol L^{-1} (eletrólito suporte) e pH 2,3. Após a mistura das soluções iniciou-se o processo de eletrodeposição.

3.5.3 Estudos sobre os EQMs recém preparados

Após a deposição foram realizados experimentos de estabilidade eletroquímica, melhor velocidade de varredura e concentração do eletrólito com os EQMs, os quais foram submetidos a 50 ciclos voltamétricos, mantendo constante velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} e potencial de 0,0 V a 1,0 V para medidas de estabilidade. Para medidas de velocidade de varredura variou-se a velocidade de 50 mV s^{-1} a 300 mV s^{-1} com potencial de 0,0 V a 1,0 V. Para medidas de melhor concentração de eletrólito variou-se a concentração de KCl de 0,1 mol L^{-1} a 1,0 mol L^{-1} em uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} e potencial de 0,0 V a 1,0 V.

3.5.4 Estudo de detecção do AA

A primeira caracterização dos EQMs com FeHCF, CoHCF e NiHCF foram verificados para a oxidação catalítica do ácido ascórbico por voltametria cíclica no intervalo de potencial 0,0 a 1,0 V a 50 mV s^{-1}. E, posteriormente, os resultados obtidos com este eletrodo foram comparados com os obtidos em eletrodo de carbono vítreo no intuito de verificar o efeito eletrocatalítico dos filmes na análise desse composto. As concentrações do AA variavam entre 1,0 mmol L^{-1} e 10,0 mmol L^{-1}, o eletrólito utilizado foi KCl 0,1 mol L^{-1}.

3.5.5 Estudo dos EPCM (Eletrodo de Pasta de Carbono Modificado)

Com o objetivo de comparação entre as metodologias empregadas na obtenção dos EQMs, os complexos de FeHCF, CoHCF e NiHCF foram imobilizados em pasta de carbono (PC).

Inicialmente preparou-se uma solução de cloreto de metal e hexacianoferrato de ferro, concentrações iguais as utilizadas no preparo de soluções para modificação do CV, a fim de precipitar um pó que seria o modificador. Os cloretos utilizados foram dos metais Fe, Co e Ni de acordo com o modificador desejado. Após o preparo das soluções as mesmas foram centrifugadas a fim de separar o pó do modificador e posteriormente colocadas na estufa com propósito de obter o pó do modificador.

Posteriormente realizou-se o estudo da quantidade de modificador, pó de carbono e nujol a serem utilizados no EPCM. Onde se homogeneizou em almofariz de vidro inicialmente 5% do modificador, 20% de nujol e 75% de pó de grafite em massa para o preparo de 100g de PC modificada. Após preparada a pasta de carbono modificada observou-se o perfil voltamétrico em KCl 0,1molL^{-1}. Posteriormente a fim de uma comparação de melhor resposta voltametrica utilizou-se 15% de modificador, 20% de nujol e 65% de pó de grafite e observou-se qual obteria o melhor perfil voltametrico. O estudo da influência da composição foi realizado variando-se a proporção de modificador e pó de grafite e de acordo com trabalhos observados na literatura [22,25,47]. A pasta de carbono foi preparada e colocada em uma seringa de 1 mL.

Após a escolha de melhor composição para o EPCM foram realizados experimentos de melhor eletrólito e melhor pH. Para estudos dos EPCM variou-se o

potencial de 0,0 V a 1,2 V à 50 mV s^{-1}. O estudo de eletrólito foi feito com as soluções de KCl, NaCl e Acetato de sódio. Após a escolha do melhor eletrólito foi observado qual seria o melhor pH para utilização do EPCM, os pH utilizados foram 2, 3, 4, 7 e 8.

3.5.6 Determinação Voltamétrica utilizando os EPCM

Alguns compostos foram analisados com os EPCM. Os compostos escolhidos para analise foram L-Cisteína utilizando pasta FeHCF, N-Acetilcisteina utilizando filme de NiHCF e Glifosato utilizando filme de CoHCF.

Os estudos iniciais com o EPCM para análise dos compostos citados acima foram realizados utilizando a técnica de voltametria cíclica. A análise foi realizada num intervalo -0,2 V a 1,0 V a 50 mV s^{-1}, o eletrólito utilizado para os três compostos foi KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). As soluções dos compostos variaram entre 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} e 1,0 x 10^{-4} mol L^{-1}. A partir desse estudo foi possível verificar a detecção direta dos compostos com os eletrodos desenvolvidos.

No intuito obter novas informações sobre a interação dos compostos com os eletrodos utilizados, estudos posteriores foram realizados utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. Os parâmetros da voltametria de onda quadrada otimizados foram: frequência (*f*) 70 Hz, amplitude (*a*) 50 mV e incremento de potencial de varredura 2 mV foram utilizados para a realização das medidas eletroquímicas com glifosato. Para isso foram utilizadas soluções com concentrações variando de 10^{-5} mol L^{-1} a 10^{-8} mol L^{-1} dos compostos estudados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Estudo com Eletrodo modificado com Hexacianoferrato de Ferro

A Figura 6 mostra o perfil voltamétrico do EQM com FeHCF sobre CV, após 10 ciclos, em KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). A varredura de potenciais foi realizada entre 0,0 V – 1,0 V a 50 mV s^{-1}. Durante a varredura no sentido positivo, houve primeiro a oxidação do filme de FeHCF, e na varredura reversa, a redução do filme de FeHCF. O primeiro processo de oxidação do filme (pico A) em 0,25 V, que é associado à transição entre os estados de oxidação do Branco da Prússia (átomos de ferro no estado de oxidação igual a +2 e íons potássio que participam do balanço de cargas ($K_4Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ $6H_20$)) e o Azul da Prússia (átomos de ferro alternados nos retículos entre os estados de oxidação +2 e +3). O segundo processo de oxidação (pico B) em 0,9 V é associado a transição entre os estados de oxidação do Azul da Prússia e Verde Berlim (estado intermediário entre o azul e o amarelo da Prússia ($K_{1/3}Fe^{III}[Fe^{III}(CN)_6]_{2/3}[Fe^{II}(CN)_6]_{1/3}$).

Na varredura reversa é observada a complementação dos processos descritos anteriormente.

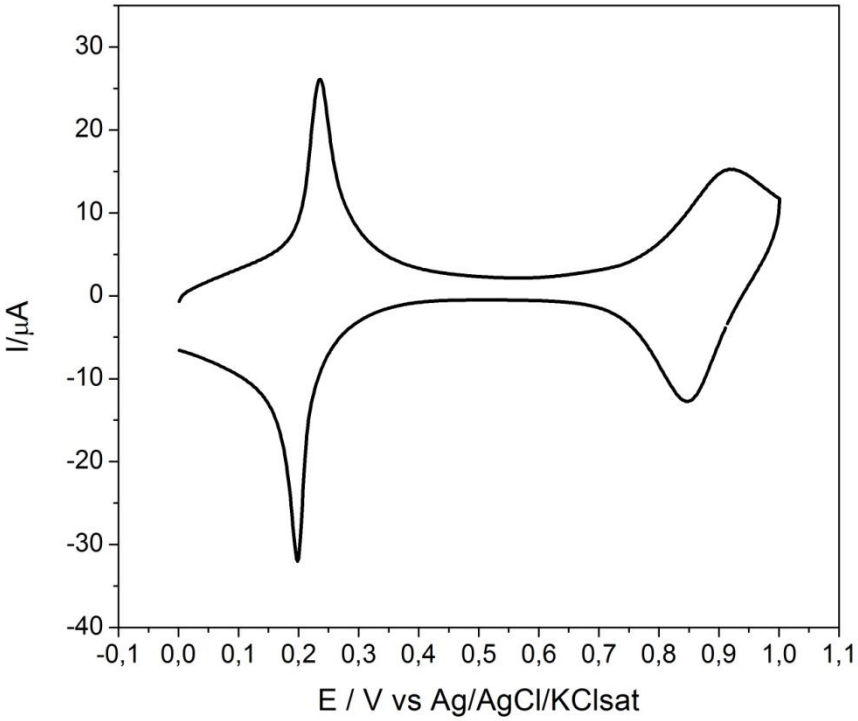


Figura 3: Voltamograma cíclico obtido após formação do filme de FeHCF depositado na superfície de eletrodo Carbono Vítreo em solução KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6), velocidade de varredura 50 mV s^{-1}**.**

Os processos de oxidação e redução do filme de FeHCF já foram relatados na literatura por LUNDGREN e MURRAY [31], onde em 0,25 V ocorre a oxidação do filme para a formação do Azul da Prússia. Entre 0,4 V – 0,7 V ocorre a estabilização do filme com a espécie (Azul da Prússia) e finalmente, em 0,9 V ocorre a oxidação do processo com a formação do Verde Berlim. As reações que ocorrem na superfície do eletrodo são descritas a seguir:

Pico A (Oxidação do Branco da Prússia)

$$K_4Fe^{III}{}_4[Fe^{II}(CN)_6]_{3(s)} \rightarrow Fe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_{3(s)} + 4K^+{}_{(aq)} + 4e^- \qquad (8)$$

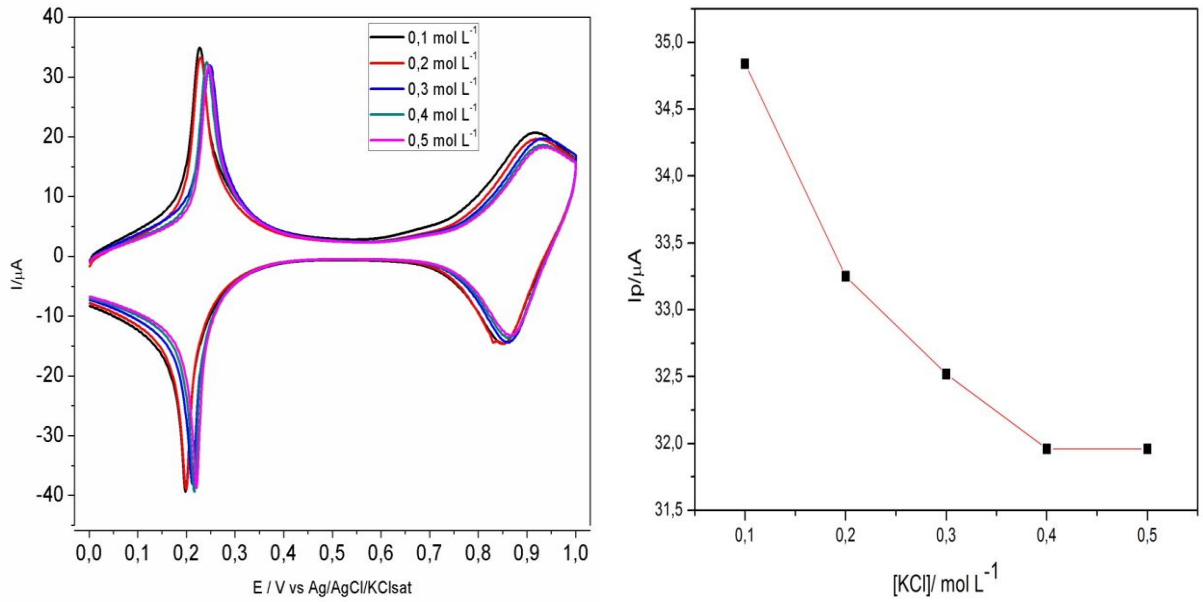
Pico B (Oxidação do Azul da Prússia)

$$K^+Fe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]^-{}_{(s)} \rightarrow {}^2/_3K^+{}_{(aq)} + {}^2/_3e^- + K_{1/3}Fe^{III[}Fe^{III}(CN)_6]^2/_3[Fe^{II}(CN)_6]_{1/3} \quad (9)$$

LUNDGREN e MURRAY [29] estudaram o crescimento de filmes de FeHCF em eletrodos de platina e SnO_2 a fim de ter uma melhor visão da composição e das reações eletroquímicas dos filmes FeHCF. Eles observaram que o perfil do filme de FeHCF, crescido sobre o eletrodo de platina é similar ao filme crescido em eletrodo de carbono vitreo. O perfil voltamétrico observado na Figura 6 mostra que há concordância com os perfis apresentados por LUNDGREN e MURRAY.

ITAYA et al [14] estudaram perspectivas eletroquimicas, estrutura e formação para o FeHCF, indicando que se trata de um grupo de compostos polinucleares complexos com uma abrangente área de estudos. O perfil voltametrico encontrado para o filme de FeHCF é bem parecido com o apresentado neste trabalho, ressaltando que o material base utilizado por Itaya et al. foram eletrodos de ouro em K_2SO_4, em uma velocidade de varredura igual a 1 mVs^{-1} e eletrodos de SnO_2 em K_2SO_4 em uma velocidade de varredura igual a 5 mVs^{-1}. Mostrando que o perfil do filme de FeHCF é caracteristico indepedente do eletrodo base onde o mesmo é depositado.

De acordo com CARMO et al. [69], o eletrólito suporte e a sua concentração exercem uma grande influência no comportamento eletroquímico apresentado pelo filme de FeHCF. Na Figura 4 foram realizadas varreduras entre 0,0 V – 1,0 V a 50 mV s^{-1} em diferentes concentrações de KCl (pH 6,6). O perfil voltamétrico do filme apresentou uma discreta variação nas correntes e potenciais de pico para os processos redox associados às Reações (8) e (9). A presença dos ânions cloreto induzem a dopagem do filme como descrito por CHEN et al [29].



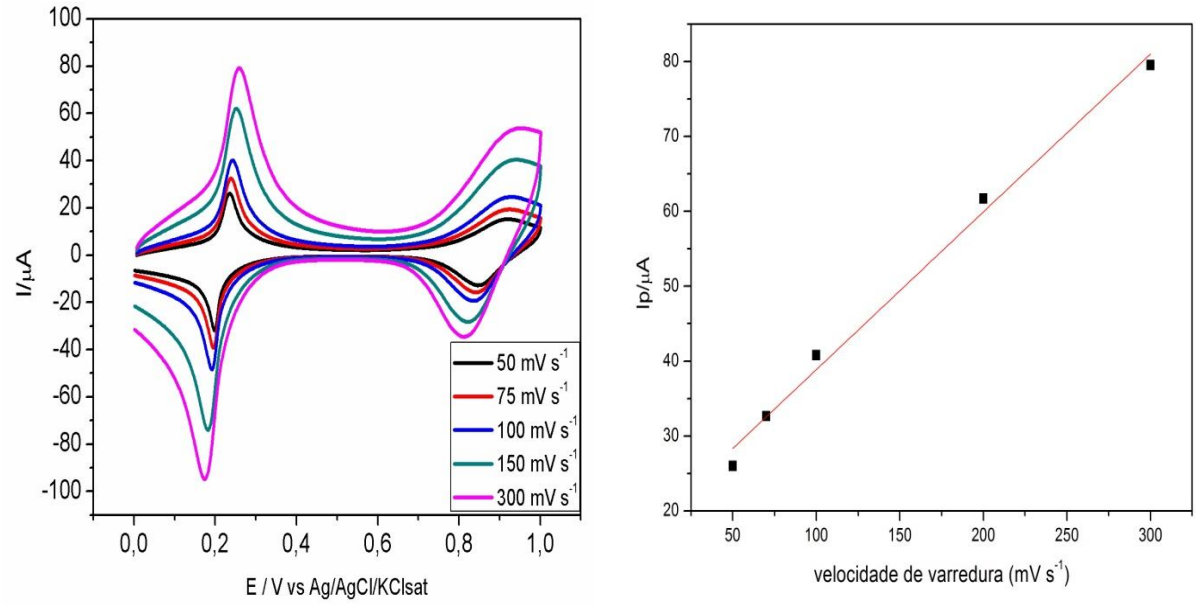
(A) (B)

Figura 4: A) Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com FeHCF em diferentes concentrações de KCl (pH 6,6) a 50 mV s^{-1}. B) Influência da concentração do eletrólito sobre a resposta do EQM, de acordo com Figura 4A.

A variação discreta observada nas correntes e potenciais de pico na Figura 4 podem ser atribuídos a uma dificuldade dos ânions e/ou cátions permearem nos interstícios da célula unitária do filme de FeHCF [23]. Além disso, pode se atribuir esse comportamento a baixa solubilidade do filme, uma baixa probabilidade do filme sofrer degradação e assim pode ser considerado como um filme homogêneo.

A Figura 5 mostra a influência da velocidade de varredura no comportamento do EQM com FeHCF. As varreduras realizadas em diferentes velocidades de varredura em uma solução de KCl 0,1 $molL^{-1}$ (pH 6,6). Na Figura 5 pode-se observar que as correntes de pico sofreram um aumento proporcional com o aumento da velocidade de varredura. Observa-se que tanto a corrente de pico na varredura no sentido positivo quanto à corrente de pico na varredura no sentido negativo, varia linearmente em função da velocidade de varredura. Destaca-se na

Figura 5B o estudo de linearidade do pico referente ao potencial 0,2 V, de acordo com dados obtidos na Figura 5A.



(A) (B)

Figura 5: A) Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com FeHCF no estudo da variação de velocidade em eletrólito KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). B) Influencia da velocidade nas correntes de pico do eletrodo, de acordo com figura 5 A.

Observou-se na Figura 5A que há aumento tanto na corrente faradaica, como na corrente capacitiva. Porém, mesmo com o aumento da velocidade de varredura os picos na varredura no sentido positivo e no sentido negativo mostram-se reversíveis e bem definidos. A diferença entre o potencial dos picos na varredura sentido positivo e negativo aumenta com o aumento da velocidade de varredura, indicando que o processo de transferência eletrônica é mais reversível em velocidades menores, com isso a utilização de velocidades menores é mais apropriada.

Para fins de observação do comportamento eletroquímico do EQM com FeHCF na presença de AA foi escolhida a velocidade de 50 mV s^{-1}. Nesta

velocidade os picos A e B aparecem com uma boa definição e o filme apresenta uma baixa corrente capacitiva.

A estabilidade do filme também foi avaliada e como demonstrado na Figura 6, ao serem realizadas sucessivas varreduras em solução de KCl 0,1 mol L^{-1}. Observa-se uma pequena diminuição da corrente de pico dos processos A e B, tal fato pode indicar a existência de fatores indesejáveis, como por exemplo, decomposição ou modificação química dos filmes, assim como a conseqüente degradação ou destruição do filme.

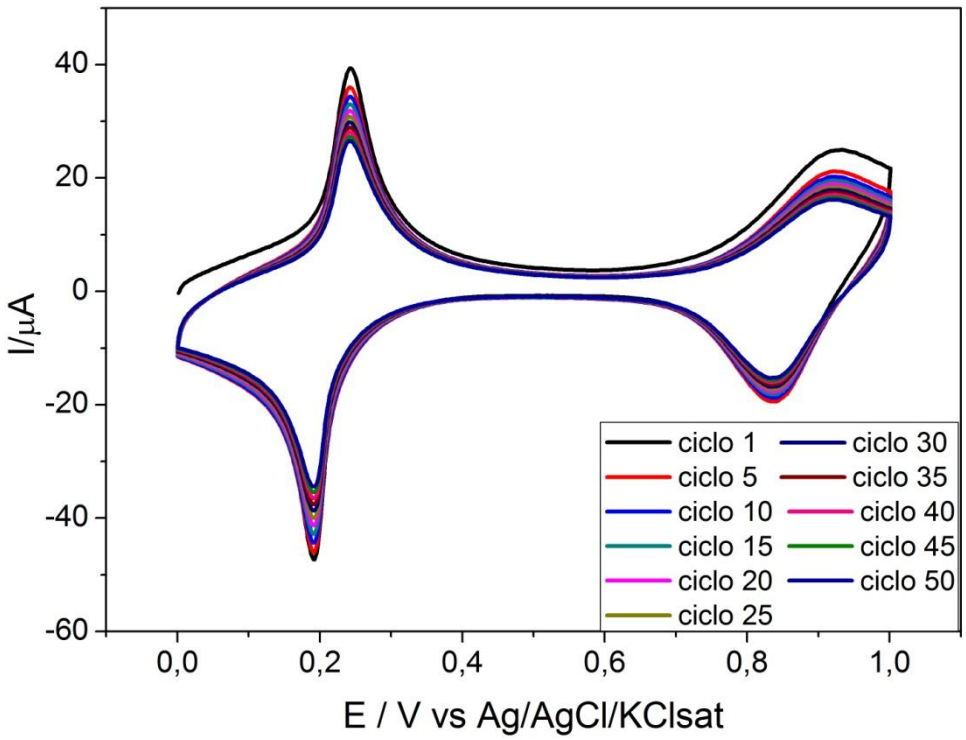


Figura 6: Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com FeHCF em KCl 0,1 mol L^{-1}. Velocidade de varredura 50 mV s^{-1} no estudo de varreduras consecutivas.

Os estudos da velocidade de varredura e de varreduras consecutivas mostram que não há surgimento de novos picos, o que poderia sugerir a ocorrência de outros eventos eletroquímicos neste eletrodo. Esses resultados reforçam a

proposta inicial relacionada à boa estabilidade apresentada por este tipo de complexo.

4.2 Estudo com Eletrodo modificado com Hexacianoferrato de Cobalto

A Figura 7 mostra o perfil voltamétrico do EQM com CoHCF, após 10 ciclos, em KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). A varredura de potenciais foi realizada entre 0,0 V – 1,0 V a 50 mV s^{-1}. No sentido positivo, houve primeiro a oxidação do filme de CoHCF, e na varredura reversa, a redução do filme de CoHCF. A resposta voltametrica do EQM em KCl 0,1 molL^{-1} mostra o pico referente ao par redox $[Co(II)Fe(II)(CN)_6]$/ $[Co(II)Fe(III)(CN)_6]$. O processo de oxidação se refere a reação a seguir:

$$Na_2Co^{II}[Fe^{II}(CN)_6] \rightarrow NaCo^{II}[Fe^{III}(CN)_6] + Na^+ + e^- \quad (10)$$

A Figura 7 mostra um voltamograma cíclico típico para o EQM com CoHCF e apresenta um pico de oxidação em 0,62V e um pico de redução em 0,39V. A deposição do filme de hexacianoferrato de Co começa a partir da redução de Fe(II) a Fe(III) e em seguida o Co reage instantaneamente com Fe(III) para ocorrer a deposição do filme.

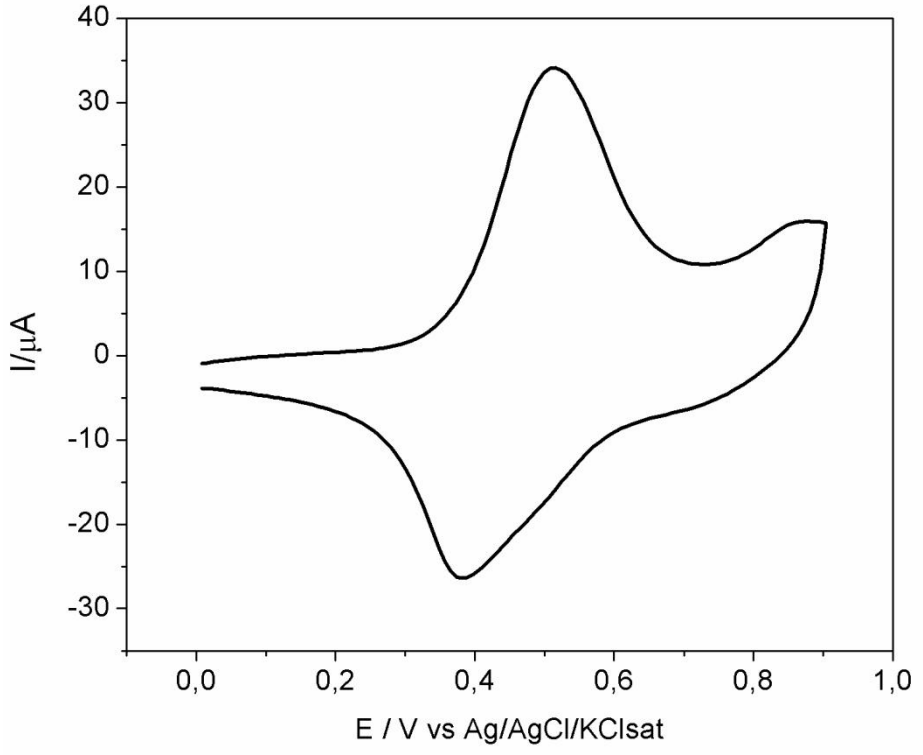
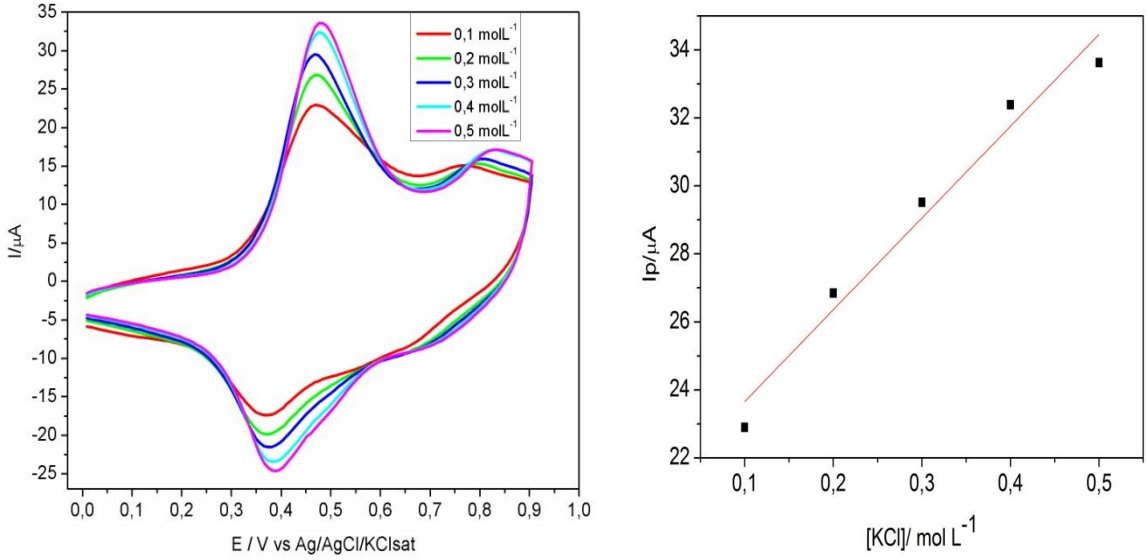


Figura 7: Voltamograma cíclico obtido após formação do filme de CoHCF depositado na superfície de eletrodo Carbono Vitreo em solução KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6), velocidade de varredura 50 mV s^{-1}**.**

A formação do filme de CoHCF se dar por meio da redução de $Fe_3(CN)^{3-}_6$ para $Fe_2(CN)^{4-}_6$, em seguida, o Co^{2+} reage instantaneamente com $Fe_2(CN)^{4-}_6$ para deposição do filme na superfície do eletrodo. No resultado obtido para o filme depois de 50 varreduras consecutivas mostra que os processos ocorrem juntos por isso observa-se formação de um pico apenas.

O comportamento voltamétrico do EQM foi também avaliado em função da concentração do cátion metálico contido no eletrólito suporte. Na Figura 8A foram realizadas varreduras entre 0,0 V – 0,9 V, em uma velocidade de varredura igual a 50 mV s^{-1}, em diferentes concentrações de KCl (pH 6,6). Observa-se que o perfil voltamétrico do EQM é afetado com o aumentando a concentração do eletrólito suporte. Pode-se observar um aumento na corrente. Este efeito da resposta em termos de corrente de pico demonstra a habilidade da quantidade de cátions em entrar e sair dos interstícios da célula unitária do complexo, os íons dependendo do

tamanho e quantidade podem entrar facilmente, o que define o perfil voltamétrico observado na Figura 8A [71].

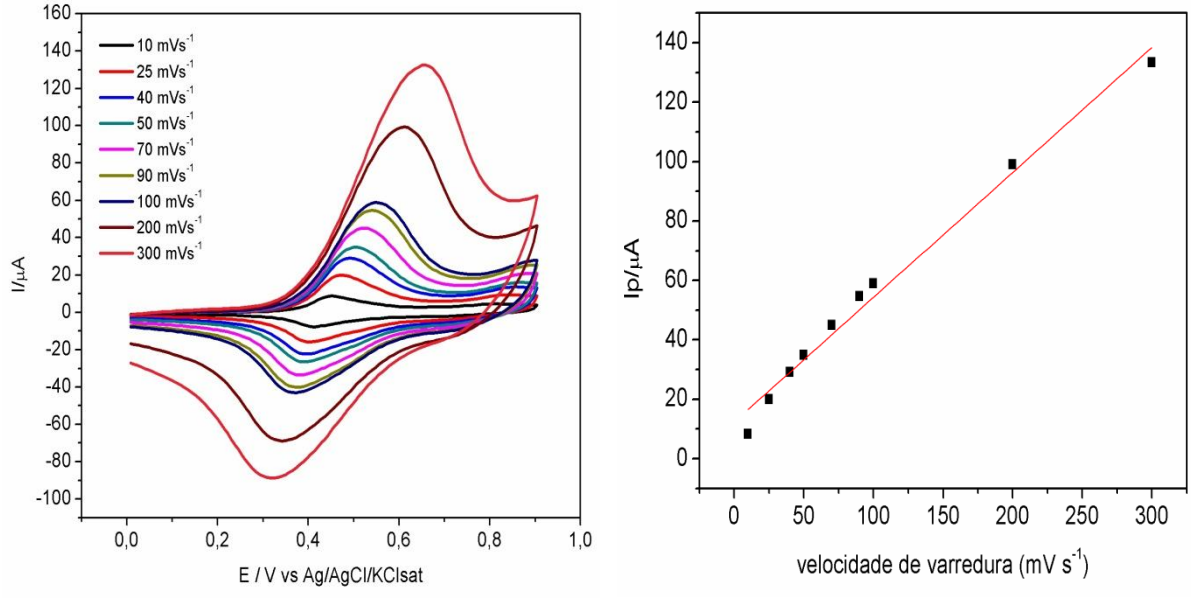


(A) (B)

Figura 8: A) Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com CoHCF em diferentes concentrações de KCl (pH 6,6). Velocidade de varredura 50 mV s^{-1}. **B)** Influência da concentração do eletrólito sobre a resposta do EQM, de acordo com figura 8A.

A linearidade e aumento de corrente de pico relacionado ao aumento de concentração do eletrólito como pode ser observado na Figura 8 pode ser explicado pela presença de íons K^+ presentes tanto em solução quanto a presença de inos K^+ no filme. Com o aumento da concentração de KCl há um maior numero de íons K^+ possíveis para entrar ou sair dos interstícios da célula unitária do complexo.

O estudo da influência da velocidade de varredura foi realizado em uma solução 0,1 mol L^{-1} de KCl, utilizando o EQM com CoHCF em diferentes velocidades de varredura (10 – 300 mV s^{-1}).



(A) **(B)**

Figura 9: A) Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com CoHCF no estudo da variação de velocidade em eletrólito KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). B) Influencia da velocidade nas correntes de pico do eletrodo, de acordo com figura 10A.

Pode se observar na Figura 9A que as correntes de pico aumentam, assim como houve um deslocamento dos potenciais de pico com o aumento da velocidade de varredura. Esse deslocamento do potencial de pico diminui a reversibilidade do par redox presente no EQM com CoHCF. O aumento da velocidade de varredura provoca uma pequena distorção na forma dos voltamogramas observados na Figura 10A, havendo aumento tanto na corrente faradaica, como na corrente capacitiva. Com isso pode-se ressaltar que o EQM modifica com CoHCF pode ser mais bem utilizado em velocidades mais baixas, avaliando que em velocidades mais baixas a reversibilidade dos picos são maiores. A Figura 9B mostra com maior precisão, de acordo com dados da Figura 9A, a linearidade relacionada entre o aumento da corrente de pico e o aumento de velocidade.

A fim de verificar a estabilidade do filme de CoHCF foram realizadas varreduras sucessivas, entre 0,0 V – 0,9 V; a 50 mV s^{-1}, com o EQM modificado com

CoHCF em KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6), pode ser observado na Figura 10. Nas varreduras consecutivas observa-se uma diminuição de corrente, em torno de 15 µA. A diminuição de corrente pode ser proporcional a uma pequena decomposição do filme ou mesmo a destruição do mesmo através de consecutivas varreduras.

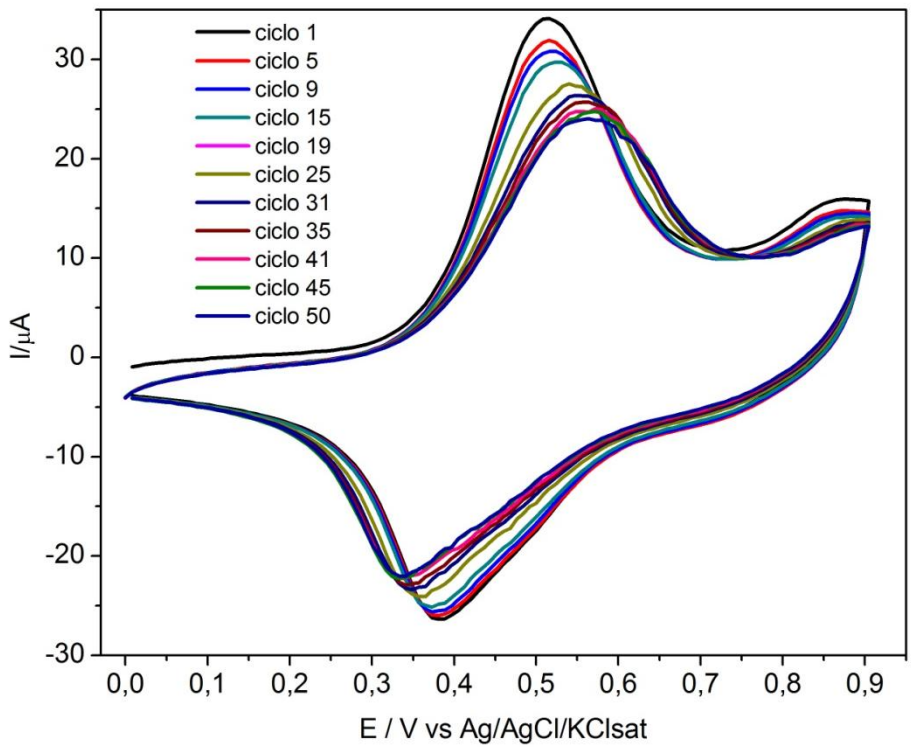


Figura 10: Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com CoHCF em KCl 0,1 mol L^{-1} . Velocidade de varredura 50 mV s^{-1} no estudo de varreduras consecutivas.

Na Figura 10 pode se observar que não há surgimento de novos picos que pudessem sugerir ocorrência de outros eventos eletroquímicos neste eletrodo. Este fato pode indicar que o complexo é estável, pois não se observa nenhum processo referente ao Fe nessa faixa de potencial [25].

4.3 Estudo com Eletrodo modificado com Hexacianoferrato de Níquel

A Figura 11 mostra o perfil voltamétrico do EQM com NiHCF, após 10 ciclos, em KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). A varredura de potenciais foi realizada entre 0,0 V – 1,2 V a 50 mV s^{-1}. No sentido positivo, houve primeiro a oxidação do filme de NiHCF, e na varredura reversa, a redução do filme de NiHCF. O primeiro processo de oxidação do filme, processo em 0,52 V, é associado a reação 11 e o segundo processo de oxidação, processo em 0,66 V, é associado a reação 12. Os pares redoxes correspondem a [70]:

$$[Ni^{2+}{}_2{+}Fe^{II}(CN)_6] \rightarrow [Ni^{2+}{}_2{+}Fe^{II}(CN)_6]^+ \quad (11)$$

$$[K_2Ni^{2+}Fe^{II}(CN)_6] \rightarrow [KNi^{2+}Fe^{II}(CN)_6] \quad (12)$$

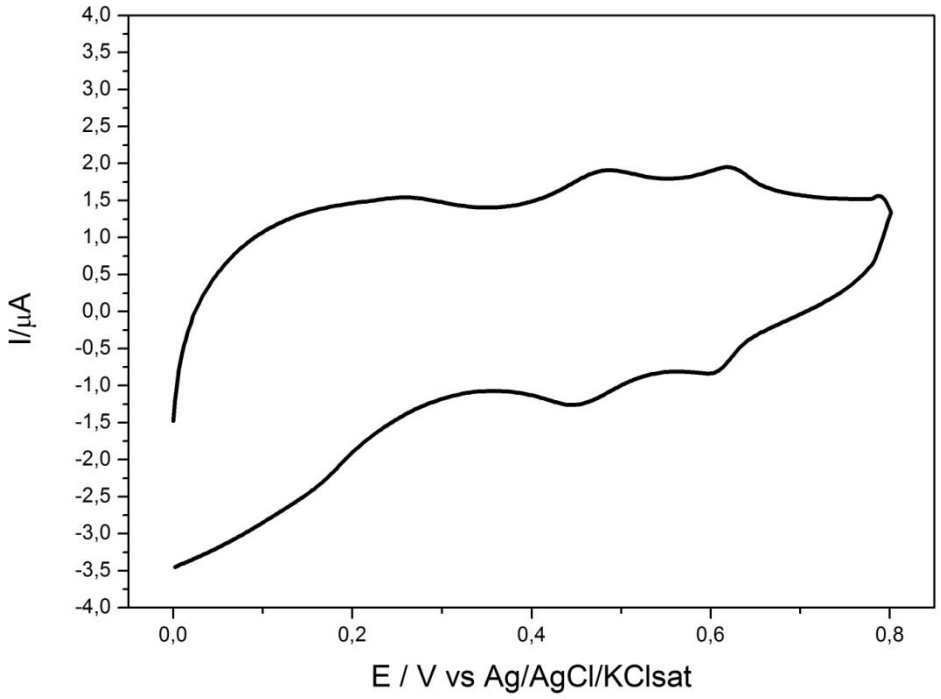
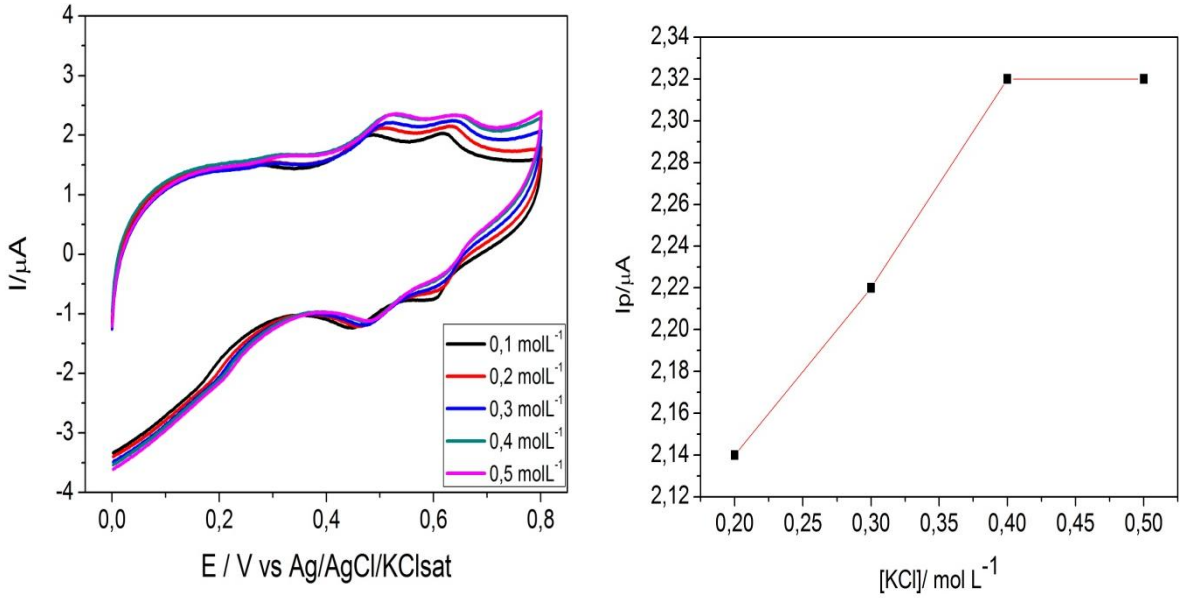


Figura 11: Voltamograma cíclico obtido após formação do filme de NiHCF depositado na superfície de eletrodo CV em solução KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6) e velocidade de varredura 50 mV s^{-1}.

O eletrólito suporte e a sua concentração exercem uma grande influência no comportamento eletroquímico nos eletrodos [70], como já foi discutido até aqui. O comportamento voltamétrico do EQM com NiHCF foi avaliado em função da concentração do cátion metálico contido no eletrólito suporte. Na Figura 12 foram realizadas varreduras entre 0,0 V – 1,0 V a 50 mV s^{-1} em diferentes concentrações de KCl (pH 6,6).



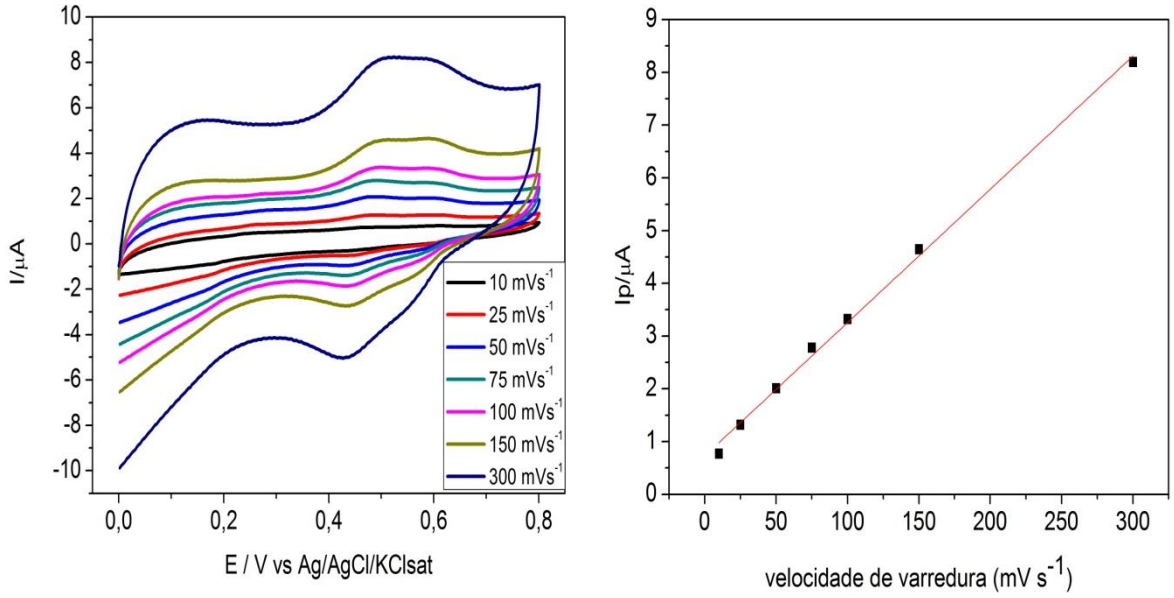
(A) (B)

Figura 12: A) Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com NiHCF em diferentes concentrações de KCl (pH 6,6). Velocidade de varredura 50 mV/s.;B)Influencia da concentração do eltrolito sobre a resposta do EQM, de acordo com figura 12A.

Pode se observar que o perfil voltamétrico do EQM com NiHCF é pouco afetado aumentando a concentração do eletrólito e há um aumento na corrente, assim como uma variação para potenciais mais positivos. Este efeito da resposta em termos de corrente e potencial de pico demonstra a habilidade da quantidade de íons em entrar e sair dos interstícios da célula unitária do complexo [71].

A Figura 13 mostra a influência da velocidade de varredura no comportamento eletroquímico do EQM com NiHCF. As varreduras em diferentes

velocidades foram realizadas entre 0,0 – 1,0 V à 50 mV s^{-1} em KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). O aumento da velocidade de varredura provoca pequenas distorções na forma dos voltamogramas do modificador, havendo aumento tanto na corrente faradaica, como na corrente capacitiva. Mesmo com o aumento da velocidade de varredura os picos anódicos e catódicos mostram-se reversíveis em e bem definidos. As correntes de pico aumentam proporcionalmente ao aumento de velocidade.



(A) (B)

Figura 13: **a)** Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com NiHCF no estudo da variação de velocidade em eletrólito KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). **B)** Influencia da velocidade nas correntes de pico do eletrodo, de acordo com figura 13 A.

Com o objetivo de avaliar a estabilidade do EQM modificado com NiHCF foram realizadas varreduras consecutivas entre 0,0 V – 1,0 V, com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1}, em KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6). Na Figura 14 pode se observar uma pequena variação no perfil voltamétrico do EQM com NiHCF.

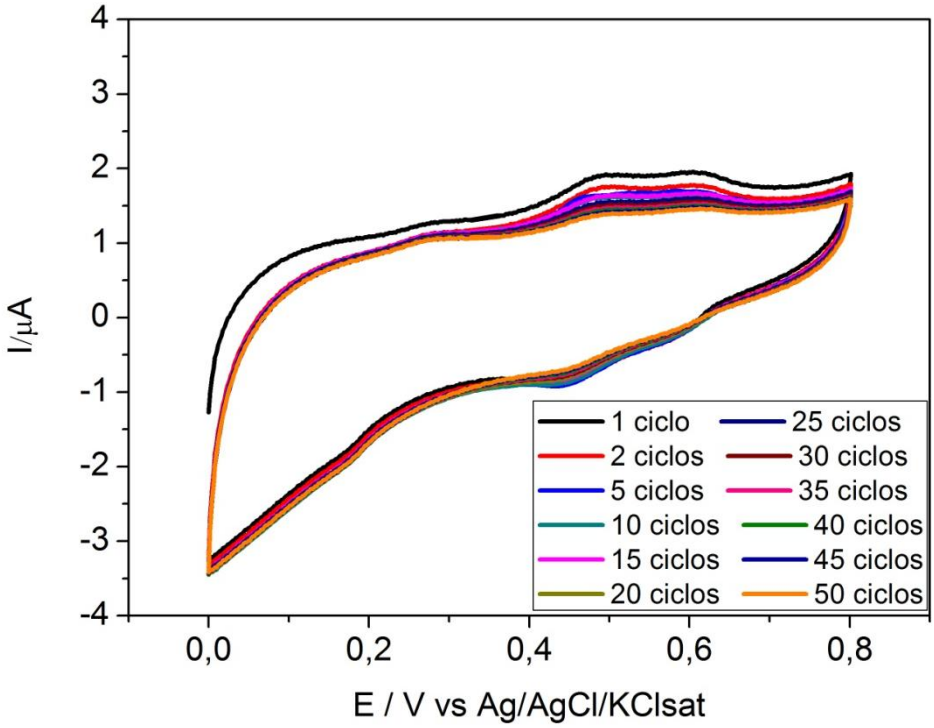


Figura 14: Voltamogramas obtidos para o EQM modificado com NiHCF em KCl 0,1 mol L^{-1} . Velocidade de varredura 50 mV s^{-1} no estudo de varreduras consecutivas.

Pode ser observada na Figura 14 a estabilidade do filme relativa a um não surgimento de novos picos durante as varreduras consecutivas, pode se observar também que o filme tem uma diminuição de corrente, mas com valor não tão significativo.

4.4 Estudos sobre o comportamento dos filmes com Fe, Co e Ni na presença de AA.

A Figura 15 mostra dois voltamogramas cíclicos para o eletrodo de carbono vítreo em KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6), as varreduras foram realizadas entre 0,0 V – 1,0 V à 50 mV s^{-1} na ausência e presença de AA 1,0 mmol L^{-1}. Pode se observar que a ausência de AA, o eletrodo de carbono vítreo apresenta seu perfil voltamétrico típico característico [75]. Na presença de AA pode se observar um pico em 0,53 V, que está relacionado à oxidação do AA [75].

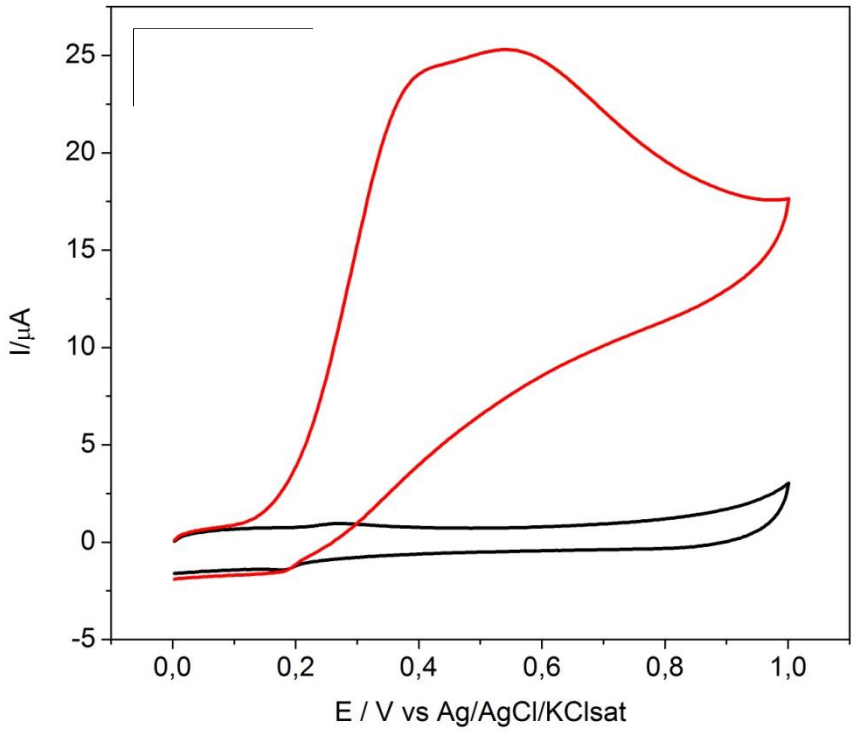


Figura 15: Voltamograma cíclico obtido para eletrodo de CV em solução KCl 0,1mol L^{-1} (pH 6,6) e velocidade 50mVs^{-1} na ausência e presença de 1,0 mmol L^{-1} de acido ascórbico. (___) Perfil Voltamétrico do carbono vítreo na ausência de Ácido Ascórbico, (___) Perfil Voltamétrico do carbono vítreo na presença de 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} de Ácido Ascórbico.

A Figura 16 mostra os voltamogramas cíclicos para o EQM modificado com FeHCF na ausência e na presença de AA em KCl 0,1molL^{-1} (pH=6,6). Pode se

observar três picos na varredura no sentido positivo (0,22 V; 0,53 V; 0,9 V) e dois picos na varredura no sentido negativo (0,2 V; 0,85 V). O pico em potencial 0,22 V e 0,53 V na varredura no sentido positivo refere-se à oxidação do AA pelo EQM com FeHCF e o pico em potencial 0,9 V refere-se ao filme FeHCF. Na varredura no sentido negativo os dois picos apresentados em potenciais 0,2 V e 0,85 V referem-se ao filme FeHCF

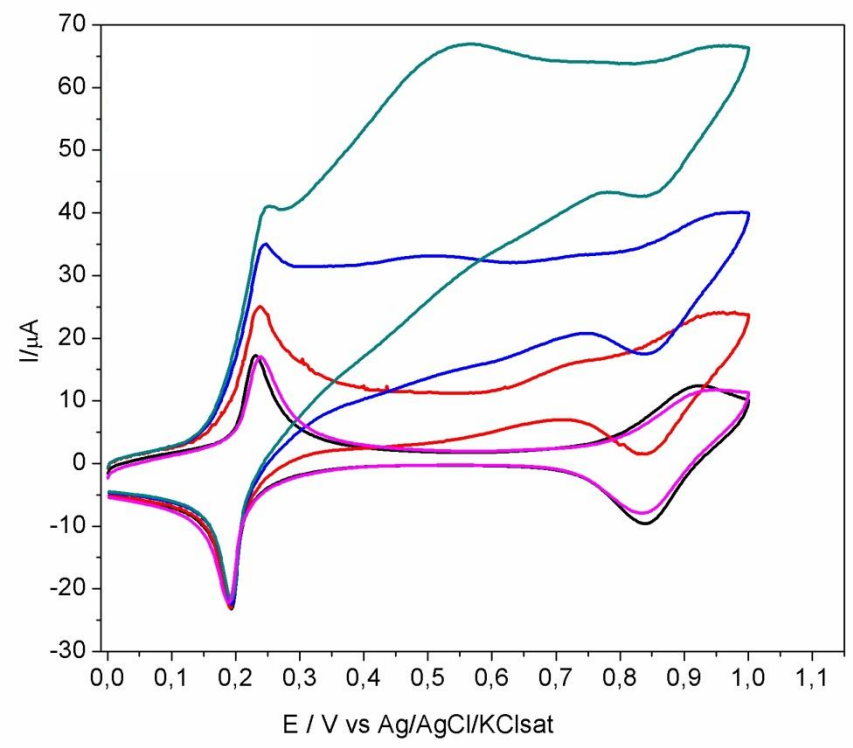


Figura 16: Estudo das Adições de Ácido Ascórbico em eletrólito KCl 0,1M e velocidade 50 mV/s utilizando EQM com FeHCF, nas concentrações variando de 1mmolL^{-1} a 8 mmol L^{-1}.(___)(___)Perfil Voltamétrico do EQM com FeHCF na ausência de AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com FeHCF na presença de 2 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com FeHCF na presença de 4 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com FeHCF na presença de 6 x 10^{-3} mol L^{-1} AA.

A utilização do EQM com FeHCF obteve resultado satisfatório na detecção de AA pois como pode ser observado na Figura 16 há um aumento de corrente correspondente ao aumento de concentração, variando entre 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} e 1,0 x 10^{-2} mol L^{-1} , de AA presente na solução KCl 0,1 mol L^{-1}. Por ser uma molécula

irreversível pode se observar apenas a oxidação do AA pelo filme FeHCF, o que especificamente é bem mostrado no potencial 0,22 V, na Figura 16. O potencial de oxidação do AA utilizando o EQM com FeHCF é menor que o potencial de oxidação do AA utilizando CV.

A Figura 17 mostra os voltamogramas cíclicos para o EQM modificado com CoHCF na ausência e na presença de AA em KCl 0,1molL^{-1} (pH=6,6). Pode se observar um pico na varredura no sentido positivo (0,7 V) que na primeira varredura refere-se apenas ao EQM com CoHCF mas com a adição do AA há um aumento de corrente referente a oxidação do AA.

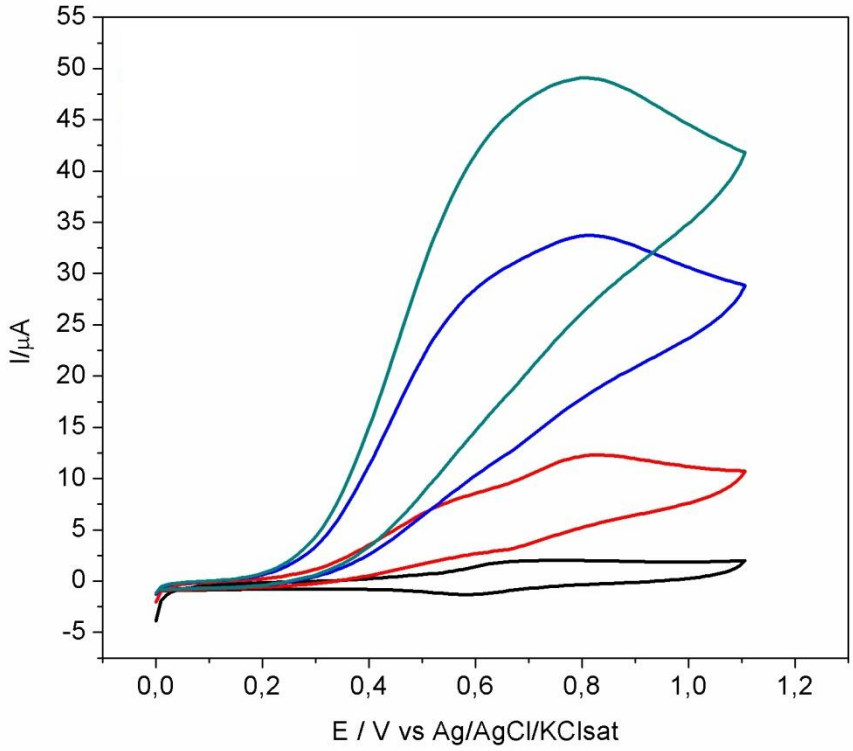


Figura 17: Estudo das Adições de Ácido Ascórbico em eletrólito KCl 0,1M e velocidade 50 mV s^{-1} utilizando EQM com CoHCF, nas concentrações variando de 1mmol L^{-1} a 8 mmol L^{-1}. .(___)Perfil Voltamétrico do EQM com CoHCF na ausência de AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com CoHCF na presença de 2 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com CoHCF na presença de 4 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com CoHCF na presença de 6 x 10^{-3} mol L^{-1} AA.

Com a utilização do EQM com CoHCF na detecção de AA obteve-se resultado satisfatório. A Figura 17 mostra um aumento de corrente correspondente ao aumento de concentração de AA, variando entre 1,0 x 10^{-3} mol L^{-1} e 1,0 x 10^{-2} mol L^{-1}, presente na solução KCl 0,1 mol L^{-1}. Como descrito anteriormente por ser uma molécula irreversível observa-se apenas a oxidação do AA pelo filme CoHCF, o que especificamente é bem mostrado no potencial 0,7 V, na Figura 17. O potencial de oxidação do AA utilizando o EQM com CoHCF é maior que o potencial de oxidação do AA utilizando CV.

A Figura 18 mostra os voltamogramas cíclicos para o EQM modificado com NiHCF na ausência e na presença de AA em KCl 0,1mol L^{-1} (pH=6,6). Pode se observar que não há nenhum pico na varredura no sentido positivo, mas com a adição do AA há um aumento de corrente referente a oxidação do AA com uma corrente máxima em torno de 0,4V.

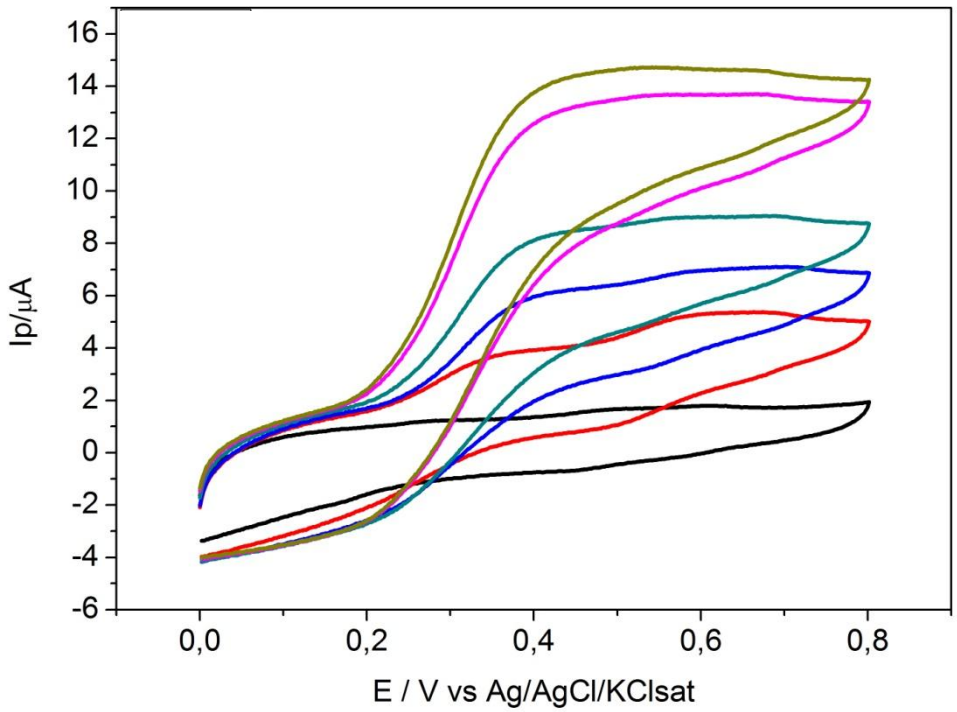


Figura 18: Estudo das Adições de Ácido Ascórbico em eletrólito KCl 0,1M e velocidade 50 mV s^{-1} utilizando EQM com NiHCF, nas concentrações variando de 0,5 mmol L^{-1} a 1 mmol L^{-1}. (___) Perfil Voltamétrico do EQM com NiHCF na ausência de AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com NiHCF na presença de 8 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com NiHCF na presença de 2 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com NiHCF na presença de 4 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com NiHCF na presença de 6 x 10^{-3} mol L^{-1} AA, (___)Perfil Voltamétrico do EQM com NiHCF na presença de 8 x 10^{-3} mol L^{-1} AA.

Experimentos de voltametria cíclica foram realizados com EQM modificado com NiHCF, no estudo de oxidação do AA que é considerado importante no desenvolvimento de sensores. A utilização do EQM com NiHCF mostrou na Figura 18 um aumento de corrente correspondente ao aumento de concentração de AA presente na solução KCl 0,1 mol L^{-1}. O potencial de oxidação do AA utilizando o EQM com NiHCF é ligeiramente menor que o potencial de oxidação do AA utilizando CV.

A Figura 19 mostra a relação entre a corrente de pico e as concentrações de AA presente em solução. A Figura 20 mostra os dados referentes às Figuras 16, 17 e 18.

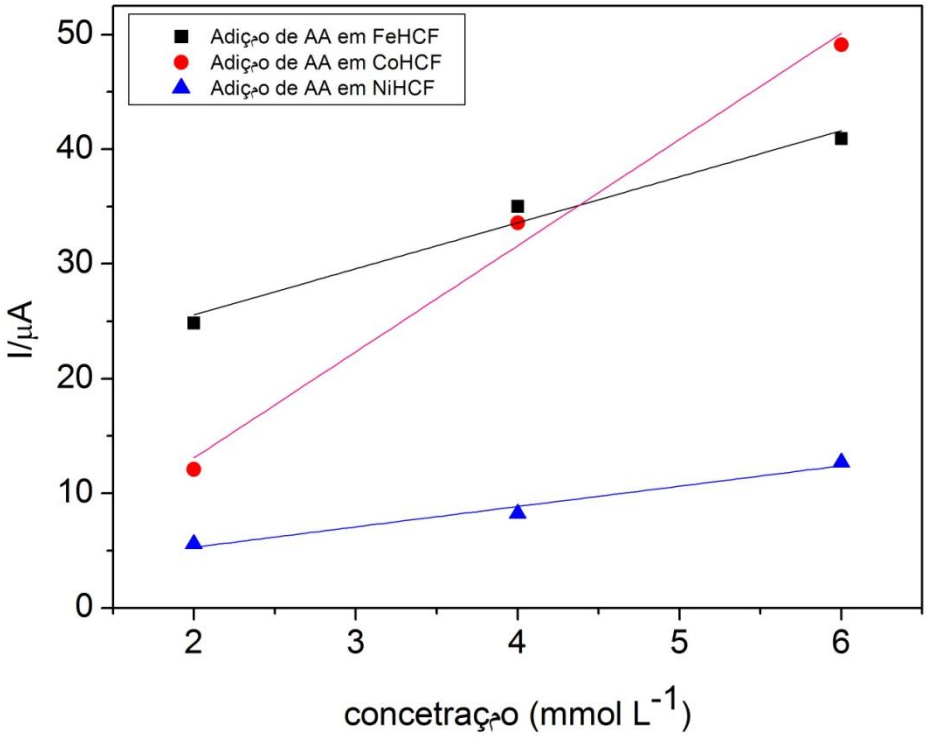


Figura 19: Relação Ip x Concentração dos Estudos das Adições de Ácido Ascórbico em eletrólito KCl 0,1 mol L^{-1} e velocidade de varredura 50 mV s^{-1} utilizando os EQMs com FeHCF, CoHCF e NiHCF em concentrações que variam entre 2 mmol L^{-1} e 6 mmol L^{-1}.

Embora o EQM com CoHCF não tenha apresentado o efeito eletrocatalítico observado para os EQMs com FeHCF e NiHCF, pode-se observar que esse EQM com CoHCF apresentou a melhor resposta em termos da relação sinal em função da concentração de AA. Em todos os casos vale salientar o fato de que os resultados obtidos na utilização dos EQM com FeHCF, CoHCF e NiHCF confirmam a viabilidade da proposta de analise do AA.

Este fato já foi confirmado por CHEN et al. [37] fabricaram um eletrodo de ouro modificado com hexacianoferrato de níquel estável e de fácil preparação e utilizaram o mesmo para analise de Ácido Ascórbico. O resultado obtido neste trabalho mostrou-se satisfatório para detecção do AA, pois mostrou um aumento de corrente no pico referente à oxidação do AA durante varredura no sentido positivo e

o resultado obtido por CHEN et al. [37] mostrou variação tanto no pico na varredura no sentido positivo quanto no pico na varredura no sentido negativo.

Para os outros filmes com EQMs com FeHCF e CoHCF ainda não foram devidamente explorados com a finalidade de aplicação na determinação rápida de AA em amostras de interesse clínico ou farmacêutico, por exemplo.

Os resultados obtidos na utilização dos EQM com FeHCF, CoHCF e NiHCF apresentados confirmam a viabilidade da proposta de analise do AA.

Para todos os filmes, a intensidade da corrente no pico referente à oxidação do AA durante varredura no sentido positivo aumenta proporcionalmente em relação à concentração do analito. O aumento da intensidade da corrente anódica ocorre devido a oxidação eletrocatalítica do AA pelo mediador FeHCF, CoHCF ou NiHCF. O Fe(III) produzido durante a varredura no sentido positivo oxida quimicamente o AA, enquanto que este é reduzido a Fe(II), que por sua vez é eletroquimicamente oxidado a Fe(III).

Desta forma AA é oxidado na superfície eletródica, sendo que este processo ocorre em um potencial diferente do potencial em que ocorre a oxidação do AA em CV não modificado.

Com base nas Figuras 16 e 18 pode-se observar o efeito eletrocatalítico dos EQM modificados com FeHCF e NiHCF pois os mesmos em relação ao eletrodo de CV diminuíram o potencial que ocorre a oxidação do AA. O efeito eletrocatalítico tem como objetivo principal reduzir a energia de ativação da reação, no caso uma reação envolvendo elétrons, mas o efeito eletrocatalítico também pode ajudar a excluir interferentes já que diminui o potencial da reação tornando-o característico. No caso observado na Figura 17 mostra que o EQM com CoHCF detecta o AA, demonstrado

com o aumento na corrente de pico, mas o mesmo não diminui o potencial de oxidação do AA relacionando-o com CV.

Dentre os eletrodos estudados, entretanto o que demonstrou melhor resultado para analise do AA foi EQM modificado com FeHCF pois precisa de menos energia para oxidar o AA.

4.5 Estudo da modificação com pasta de carbono

Ao analisarmos alguns fármacos e pesticidas nos EQM com FeHCF, CoHCF e NiHCF observou-se uma adsorção nas adições sucessivas de diferentes concentrações dos analitos e com isso uma resposta não linear para os estudos eletroquímicos de detecção dos mesmos.

A partir dos problemas detectados foi feito um estudo para utilização de eletrodo de pasta de carbono modificado (EPCM) com FeHCF, CoHCF e NiHCF. A possibilidade de modificar o corpo do eletrodo de pasta de carbono apresenta a vantagem de não perder o modificador a cada renovação da superfície. O estudo foi baseado na literatura [25] e os parâmetros encontrados para o EPCM com FeHCf foram utilizados para os demais EPCMs. Os estudos utilizando a Voltametria Cíclica foram feitos em KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6) a 50 mV s^{-1}

O efeito da composição da pasta sobre a resposta voltamétrica do eletrodo modificado foi inicialmente avaliado com 5 e 15 % ($_{m/m}$) de pó do modificador, neste caso FeHCF,em uma varredura de potencial entre 0,0 – 1,4 V em KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6) a 50 mV s^{-1}. A Figura 20 mostra o efeito da porcentagem em massa de FeHCF presente na pasta de carbono sobre a resposta do eletrodo.

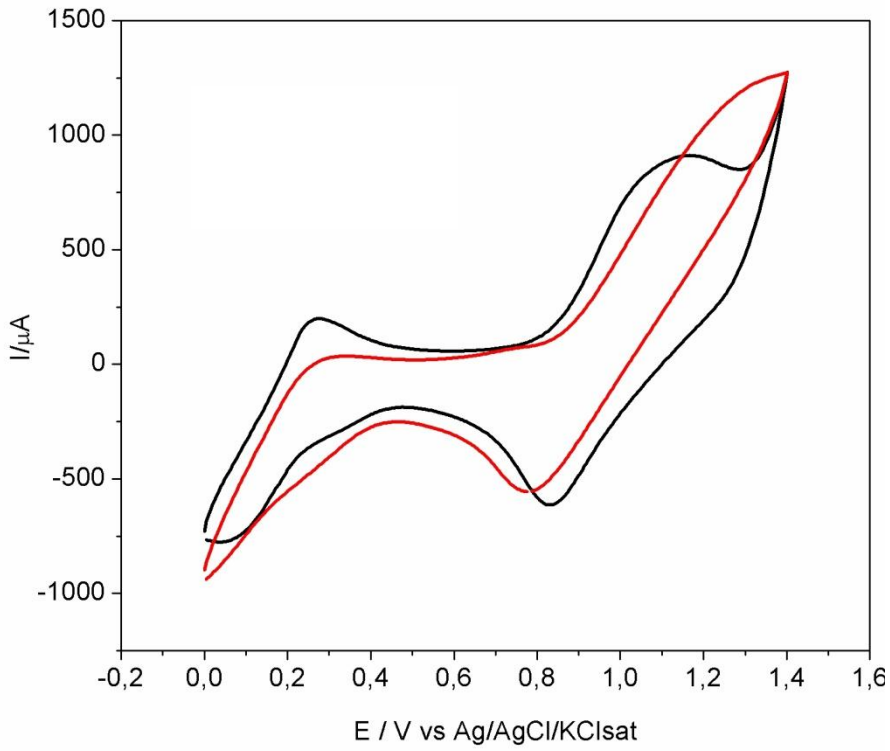


Figura 20: Estudo da porcentagem de pó de Hexacianoferrato de Ferro na composição do EPCM em KCl 0,1M; v=50mV/s. (__) Pasta composta com 5% ($_{m/m}$) de FeHCF ,(__)Pasta composta com 15% ($_{m/m}$) de FeHCF.

Como pode ser observado, o aumento da concentração de $Fe_3[Fe(CN)_6]_2$ na pasta de carbono levou a um perfil com picos menos definidos em relação ao eletrodo que possui uma menor concentração do modificador, isso pode ser devido a um aumento da resistência da pasta de carbono causada pela diminuição da concentração de grafite na mesma. Por apresentar um melhor perfil voltamétrico uma composição de 5% ($_{m/m}$) de FeHCF, 75% ($_{m/m}$) de pó de grafite e 25% ($_{m/m}$) de óleo mineral foi escolhida.

Foram avaliadas três soluções como eletrólitos suporte, sendo o cloreto de sódio, o acetato de sódio e o cloreto de potássio variando potencial 0,0 V a 1,4 V à 50 mV s^{-1}, como pode ser visto na Figura 21. A velocidade utilizada para o estudo foi de 50 mV s^{-1}.

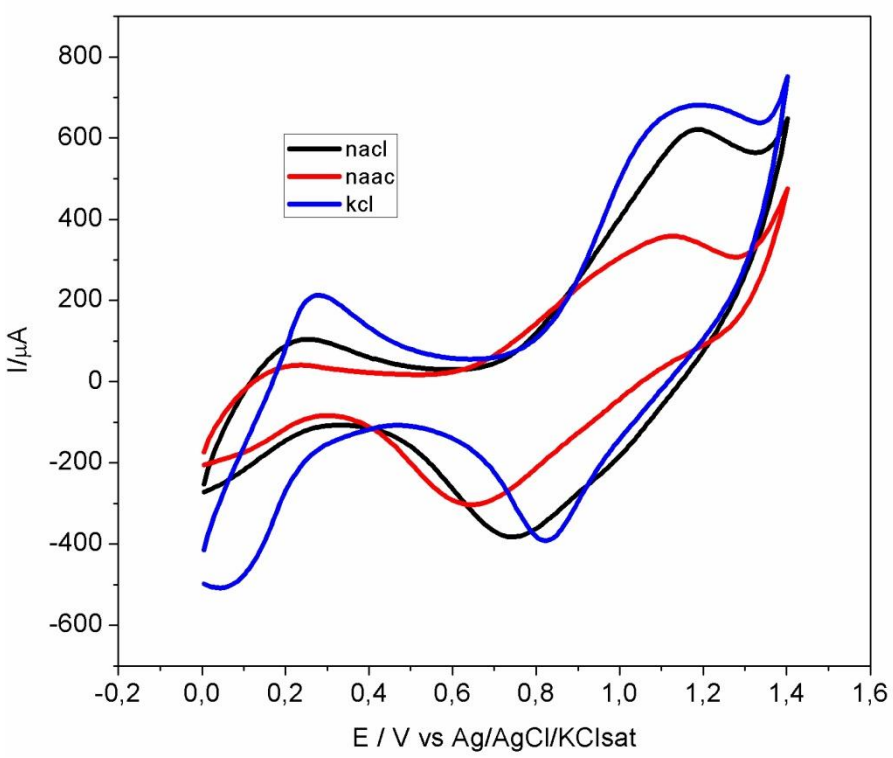


Figura 21: Voltamograma do estudo da variação de eletrólitos com adição de L-Cisteína em um EPCM com FeHCF ; KCl 0,1 mol L^{-1}; v=50 mV s^{-1}.

Vários trabalhos [25,72] mencionam o uso do cloreto de potássio como eletrólito suporte. Os resultados obtidos nesse trabalho concordam com o que foi observado em estudos anteriores. A melhor interação entre a pasta e a solução KCl é devido a troca dos íons K^+ presentes no complexo que modifica a pasta e os íons K^+ presentes na solução [75].

O comportamento eletroquímico de eletrodo de pasta de carbono modificada com FeHCF (5% $_{m/m}$) foi estudado em um intervalo de pH entre 2,0 e 8,0 em eletrólito KCl à 50 mV s^{-1}. A Figura 22 mostra o efeito da acidez do meio sobre a corrente de pico do eletrodo modificado.

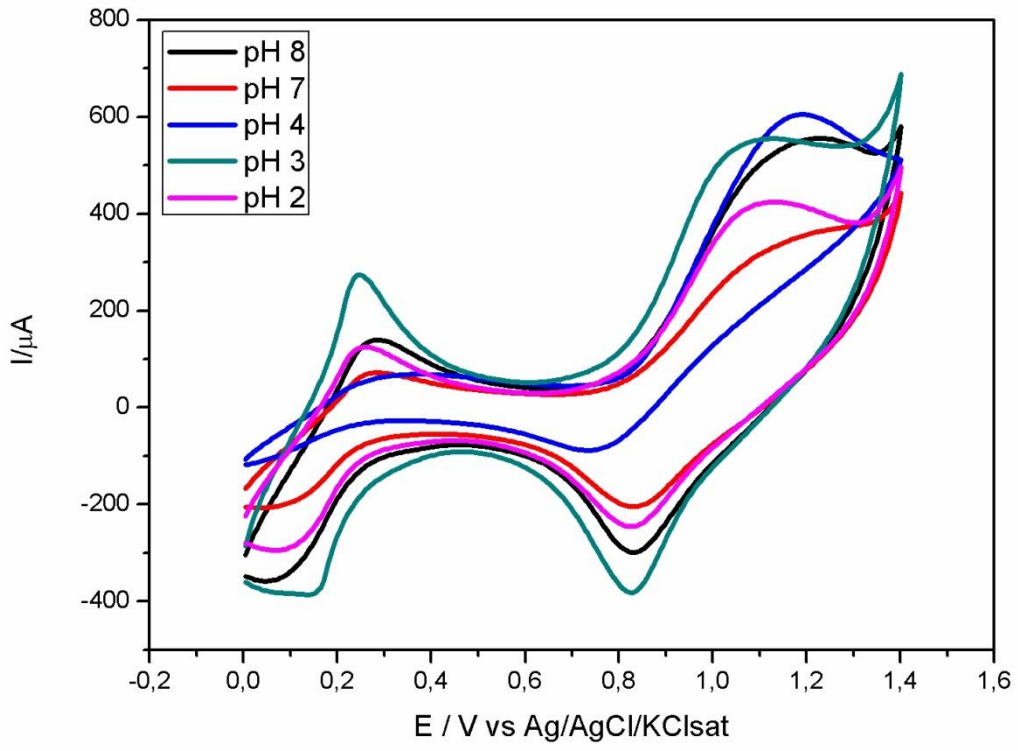


Figura 22: Voltamograma do estudo de pH do EPCM com 5%azul em KCl 0,1M; v=50 mV s^{-1}.

Observa-se uma melhor corrente de pico para valores de pH entre 2,0 e 4,0 o que provavelmente se deve a influência dos íons H^+ na cinética de reação do FeHCF na superfície do eletrodo. Para valores de pH acima de 6 observa-se um aumento na magnitude de corrente. Isso se deve ao fato de que muitos hexacianoferratos metálicos apresentarem resposta eletroquímica estável somente em meio neutro ou levemente ácido devido a hidrólise dos íons Fe(II) e Fe(III) em meio alcalino, o que leva à deterioração do eletrodo modificado.

Sendo assim, uma solução KCl 0,10 mol L^{-1} (pH 3,0) foi escolhida para estudos posteriores.

4.6 Estudo de Analitos

Após serem avaliadas as melhores condições para o melhor perfil eletroquímico dos EQMs em pasta de carbono foram investigadas as possibilidades de detecção de L-Cis, GLF e N-Acet. Inicialmente foram avaliados os três tipo de EPCMs, na presença de cada analito. Embora os três tenham apresentado resposta eletroquímica na presença da L-Cis, GLF e N-Acet, foram escolhidos para os estudos a seguir, àqueles que apresentaram melhor resposta eletroquímica.

Assim, os estudos posteriores mostram o estudo da L-Cis utilizando o EPCM com FeHCF, o estudo do GLF utilizando o EPCM com CoHCF e o estudo da N-Acet utilizando o EPCM com NiHCF.

Inicialmente foram realizados estudos com voltametria cíclica, com o objetivo de se observar os principais processos eletroquímicos envolvidos na oxidação e/ou na redução dos analitos propostos e em seguida, os estudos utilizando a voltametria de onda quadrada foram realizados a fim de se obter uma melhor sensibilidade na detecção dos compostos utilizando os EPCMs tiveram valores padronizados. Os valores utilizados foram os seguintes.

- Freqüência: 70 Hz
- Amplitude: 50 mV
- Incremento de varredura de potenciais: 2 mV

4.6.1 Estudo da detecção dos compostos nos EPCMs utilizando Voltametria Cíclica (VC)

A Figura 23 apresenta os voltamogramas cíclicos do EPCM com FeHCF em KCl 0,1 molL^{-1} (pH 6,6) a 50 mV s^{-1} na ausência e na presença de L-Cis em diferentes concentrações.

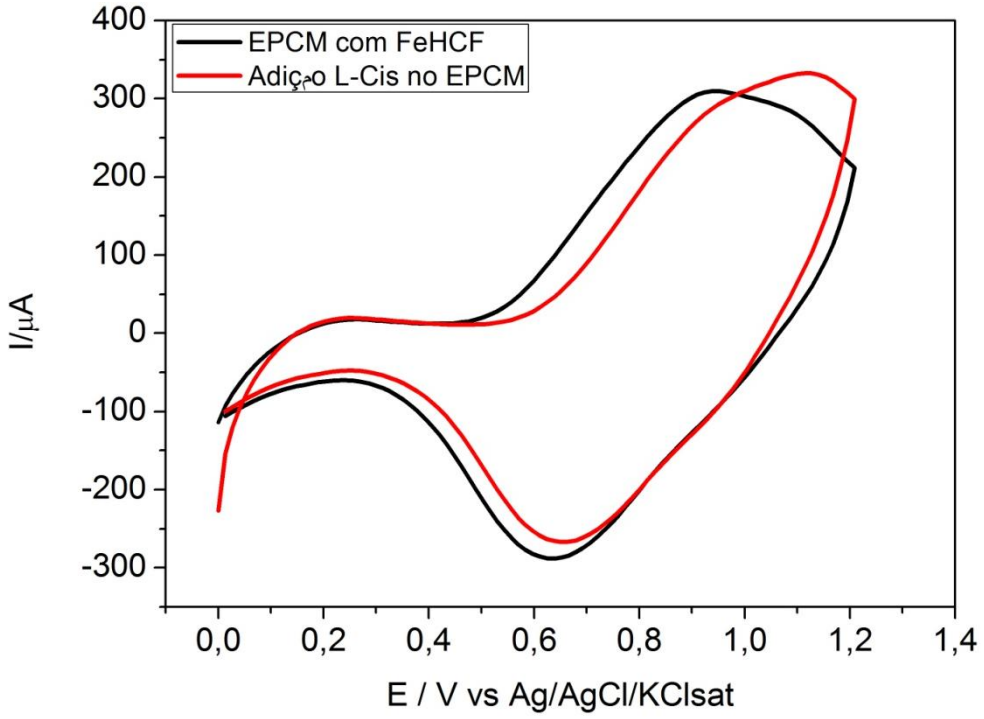


Figura 23: Estudo da adição de L-Cisteína em KCl 0,1 mol L^{-1} à 50 mV s^{-1}, utilizando eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com FeHCF. (___)Perfil Voltamétrico do EPCM com FeHCF na ausência de L-Cis, (___)Perfil Voltamétrico do EPCM com FeHCF na presença de 1 x 10^{-3} mol L^{-1} L-Cis.

Um par redox é observado nos potenciais 0,63 V e 0,94 V, referentes ao EQM modificado com FeHCF em solução de KCl 0,1molL^{-1} na ausência e na presença de L-Cis. Com adição do L-Cis há um aumento de corrente e uma variação de potencial os quais podem ser relacionados à oxidação do analito.

A Figura 24 apresenta o voltamogramas cíclicos do EPCM em KCl 0,1 molL^{-1} (pH 6,6) na ausência e na presença de GLF.

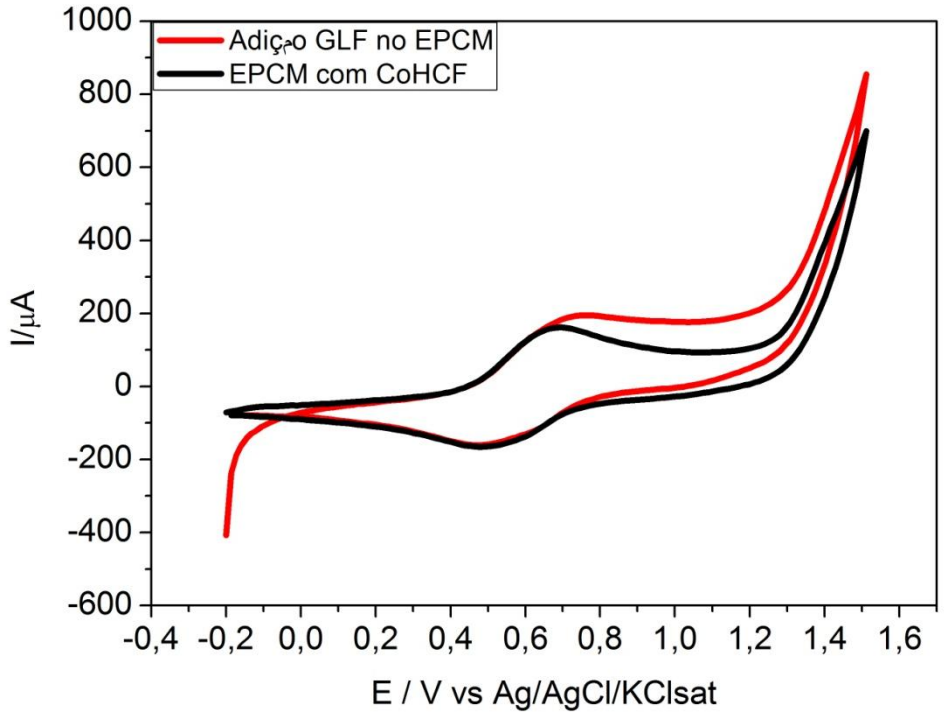


Figura 24: Estudo da adição de Glifosato em KCl 0,1 mol L^{-1} à 50 mV s^{-1}, utilizando eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com CoHCF. (___) Perfil Voltamétrico do EPCM com CoHCF na ausência de GLF, (___) Perfil Voltamétrico do EPCM com CoHCF na presença de 1 x 10^{-3} mol L^{-1} GLF.

Um par redox é observado nos potenciais 0,5 V e 0,7 V, referentes ao EQM modificado com CoHCF em solução de KCl 0,1mol L^{-1} na ausência e na presença de GLF. Com adição do GLF há um aumento de corrente o qual pode ser relacionados à oxidação do GLF presente em solução e por ser uma molécula irreversível observa-se mudança apenas no pico durante a varredura para potenciais positivos.

A Figura 25 apresenta os voltamogramas cíclicos do EPCM com NiHCF em solução KCl 0,1 mol L^{-1} (pH 6,6) na ausência e na presença de N-Acet em diferentes concentrações.

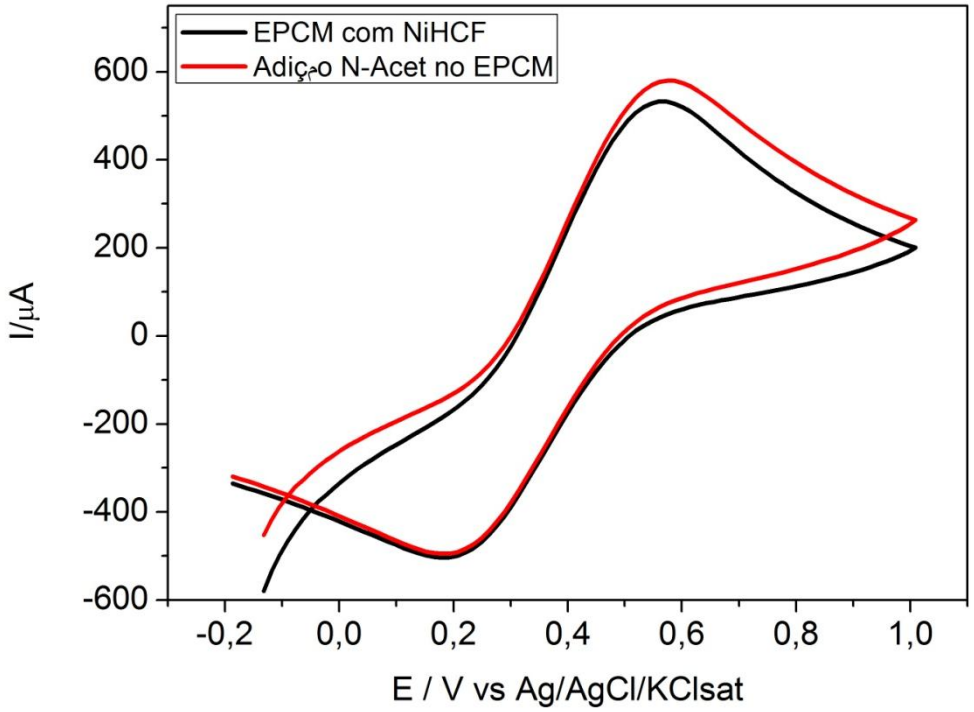


Figura 25: Estudo da adição de N-Acetilcisteina em KCl 0,1 mol L^{-1} à 50 mV s^{-1}, utilizando eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com NiHCF. (___) Perfil Voltamétrico do EPCM com NiHCF na ausência de N-Acet, (___) Perfil Voltamétrico do EPCM com NiHCF na presença de 1 x 10^{-3} mol L^{-1} N-Acet.

Um par redox é observado nos potenciais 0,2 V e 0,57 V, referentes ao EQM modificado com NiHCF em solução de KCl 0,1 mol L^{-1} na ausência e na presença de N-Acet. Com adição do N-Acet há um aumento na corrente de pico, na varredura para potenciais positivos, referente à oxidação da N-Acet.

As Figuras 23, 24, 25 mostram que em medidas de Voltametria Cíclica os EPCM com FeHCF, CoHCF e NiHCF detectam os analitos estudados.

4.6.2 Estudo da analise de L-Cisteína (L-Cis) com EPCM com Fe

Nos resultados apresentados anteriormente, o eletrólito suporte e o pH da solução foram padronizados para os três tipos de EPCMs em função dos perfis voltamétricos observados pra o EPCM modificado com FeHCF. Agora nos estudos com voltametria de onda quadrada foram realizados novamente estudos referentes a escolha do eletrólito suporte e do pH visando uma melhor sensibilidade na determinação dos analitos em estudo.

Após a verificação, com voltametria cíclica, da oxidação da L-Cis utilizando o EPCM, as condições de trabalho foram otimizadas utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada (VOQ). O primeiro parâmetro a ser estudado é o eletrólito, como mostra Figura 26.

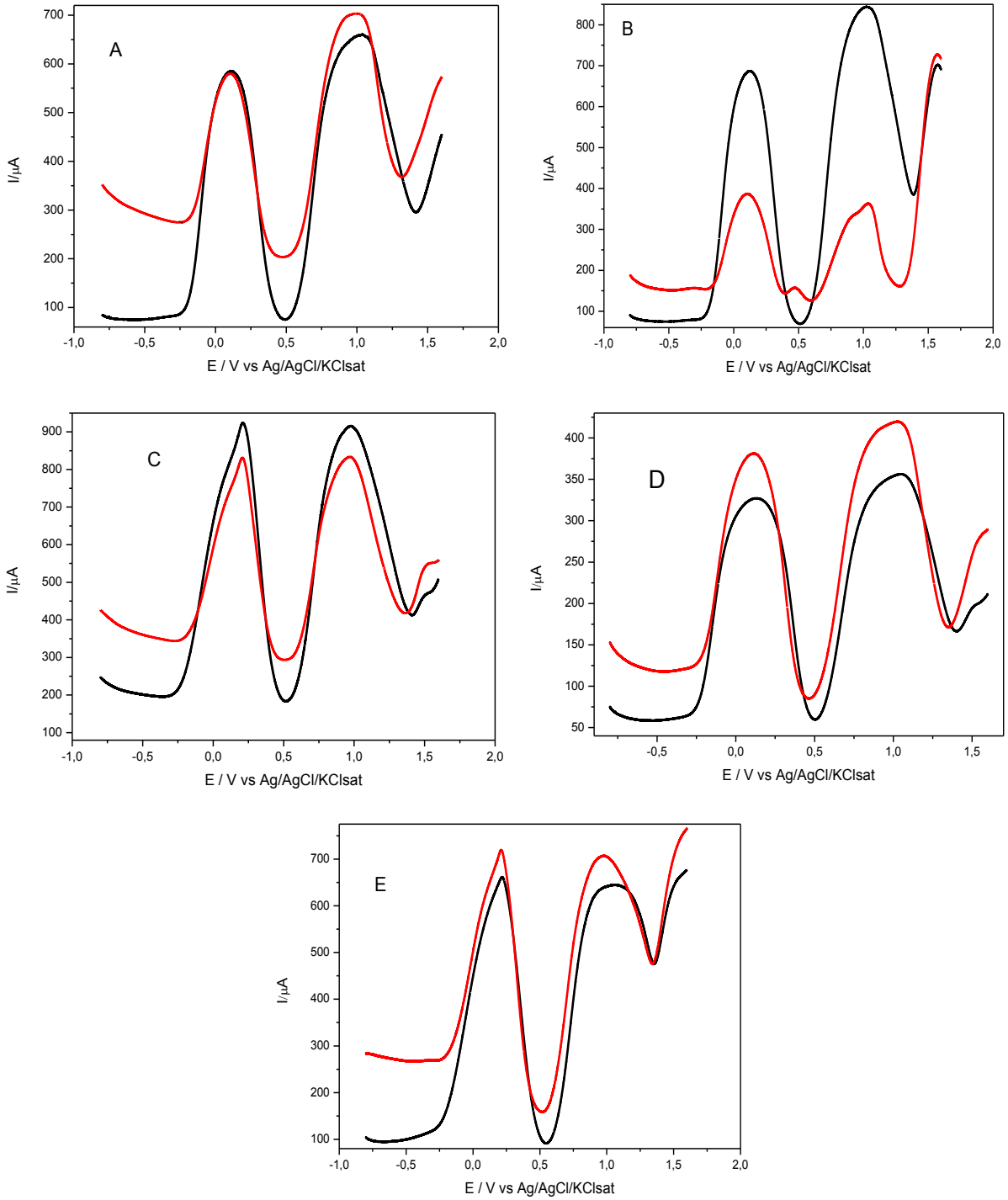


Figura 26: Estudo da adição de L-Cisteína em diferentes eletrólitos (A)Tampão acetato (B)Tampão PBS+NO_3 (C) Tampão fosfato (D) Tampão BR (E) KCl**.** Freqüência = 70 Hz; Incremento de varredura de potencial = 2 mV; Amplitude = 50 mV.

No estudo realizado com diferentes eletrólitos observou-se que, conforme ilustra a Figura 26, a intensidade da corrente é influenciada de acordo com o eletrólito utilizado, onde o melhor eletrólito a ser utilizado neste caso é o tampão BR.

Nos estudos realizados com diferentes cátions ou ânions a intensidade de corrente como o também o potencial médio do par redox pode ser influenciado pelo cátion ou ânion utilizado [69].

O comportamento eletroquímico do EPCM foi estudado em um intervalo de pH entre 2 e 9 na presença de L-Cisteína 1 x 10^{-5} mol L^{-1} em solução. A figura 27 mostra o efeito da acidez do meio sobre a corrente de pico anódico do eletrodo modificado, para a diferença entre correntes na ausência e presença de L-Cisteína.

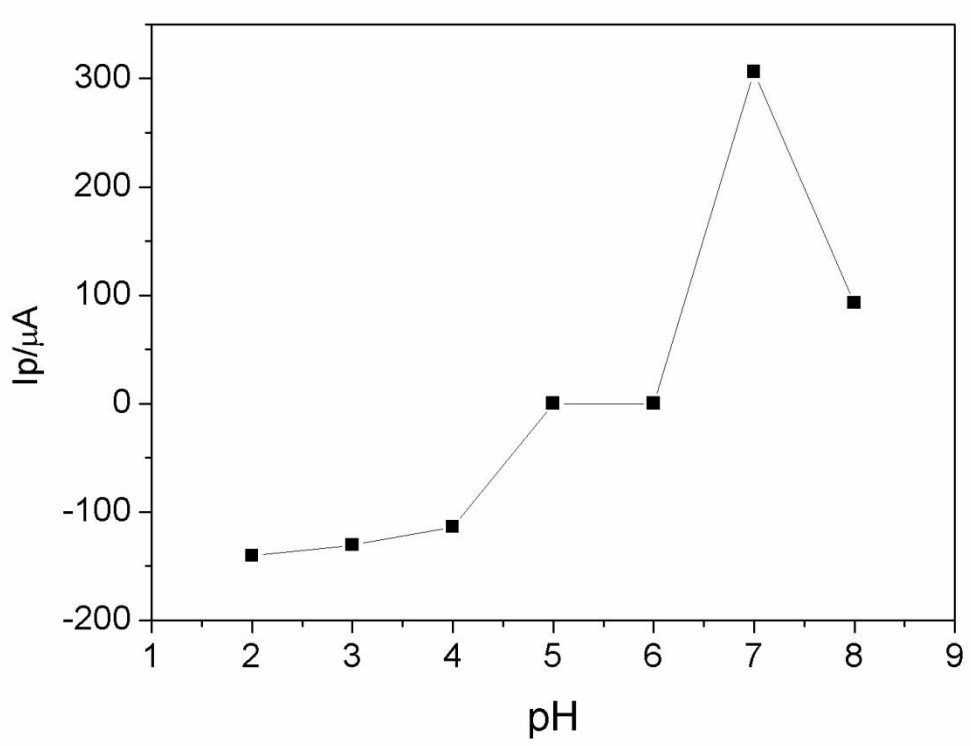


Figura 27: Voltamogramas obtidos para adição de L-Cisteína utilizando o EPCM modificado com FeHCF em tampão BR. Freqüência = 70 Hz; Incremento de varredura de potencial = 2 mV; Amplitude = 50 mV

Observa-se um aumento significativo da corrente de pico para valores de pH entre 4 e 7 o que provavelmente se deve a influencia dos H^+ presentes na solução. Isso se deve ao fato de hexacianoferratos metálicos apresentarem resposta

eletroquímica estável somente em meio neutro ou acido devido a hidrolise dos íons Fe(II) e Fe(III) em meio alcalino, o que leva a determinação do eletrodo modificado.

Depois de otimizada as condições experimentais do EPCM com FeHCF, o mesmo foi utilizado para testar a L-Cis como mostra Figura 28. Foram feitas varreduras variando a concentração de L-Cis do analito entre 10^{-5} mol L^{-1} e 10^{-8} mol L^{-1}. O mecanismo de funcionamento do EPCM com FeHCF foi baseado em duas reações redox. A primeira envolve a redução de Fe(III) pela L-Cisteína na pasta de carbono formando Fe(II) na superfície do eletrodo e o produto da oxidação da L-Cisteína na solução. O íon Fe(II) formado é então oxidado eletroquimicamente a Fe(III). A corrente de pico anódico obtida em potencial 0,40 V é proporcional à concentração de L-Cisteína em solução.

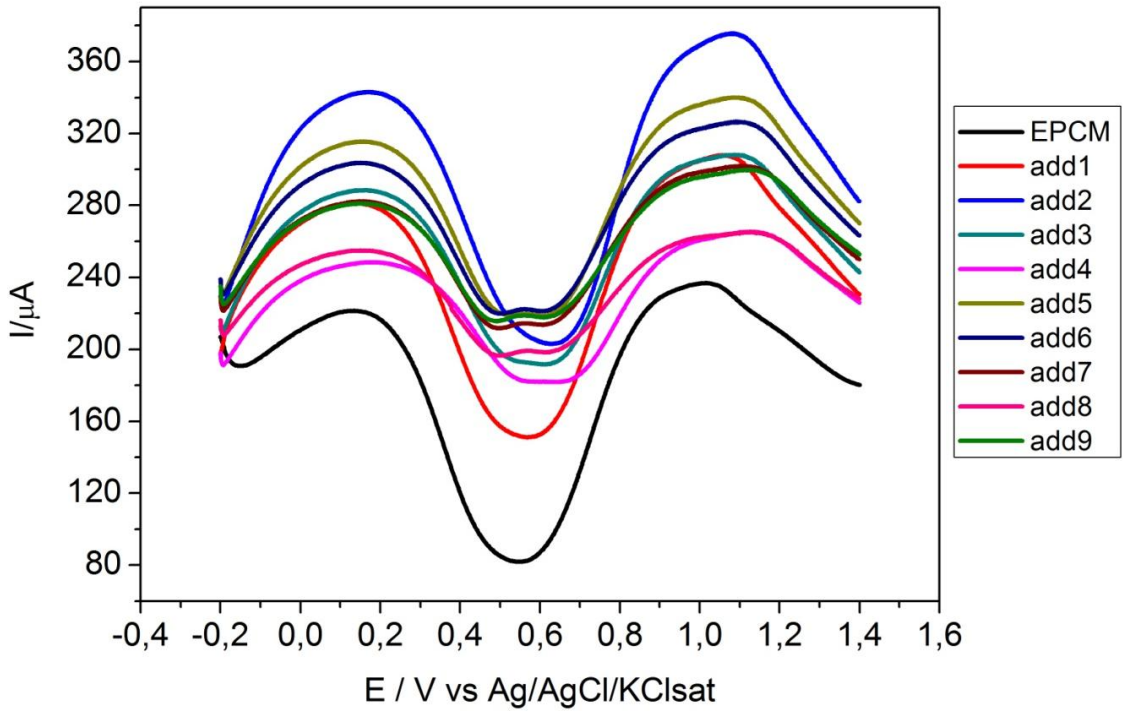


Figura 28: Estudo da adição de L-Cisteína utilizando EPCM com hexacianoferrato de ferro, tampão Br, ph = 6.

O comportamento eletroquímico do EPCM com FeHCF para a oxidação da L-Cisteína em diferentes concentrações é apresentado na Figura 29. O EPCM modificado com FeHCF apresenta, após a primeira adição de L-Cis na solução, um aumento de corrente. Porém com consecutivas adições há uma diminuição de corrente. Desta forma não foi observada um aumento linear da corrente de pico em 0,2 V, com o aumento da concentração de L-Cis.

Isto pode ser explicado em função da adsorção de L-Cis na superfície do eletrodo após a sua oxidação na superfície do eletrodo. Como a L-Cis é uma espécie química tiolada, ela pode sofrer uma dimerização, após a etapa de oxidação, e se adsorver na superfície do eletrodo.

Uma alternativa ao problema da adsorção foi a renovação da superfície do eletrodo; fazendo o polimento do EPCM em papel sulfite. No entanto não foi observada nenhuma melhora na resposta eletroquímica para as adições sucessivas da L-Cis.

Embora esse problema tenha sido detectado, o EPCM com FeHCF se mostrou sensível à presença de L-Cis no meio em uma concentração de 1×10^{-8} mol L^{-1}. Mesmo em concentrações mais elevadas foram observadas correntes em 0,2 V maiores do que a corrente do branco (na ausência de L-Cis), mas não foi possível obter uma resposta linear para a variação de corrente de pico em 0,2 V em função da concentração de L-Cis.

4.6.3 Estudo da analise de glifosato com EPCM com CoHCF

A oxidação do Glifosato foi investigado utilizando o EQM modificado com CoHCF, as condições de trabalho foram otimizadas utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. Onde o primeiro parâmetro observado é o estudo de eletrólito. . Como pode ser observado na Figura 29 o primeiro parâmetro observado é o estudo de eletrólito.

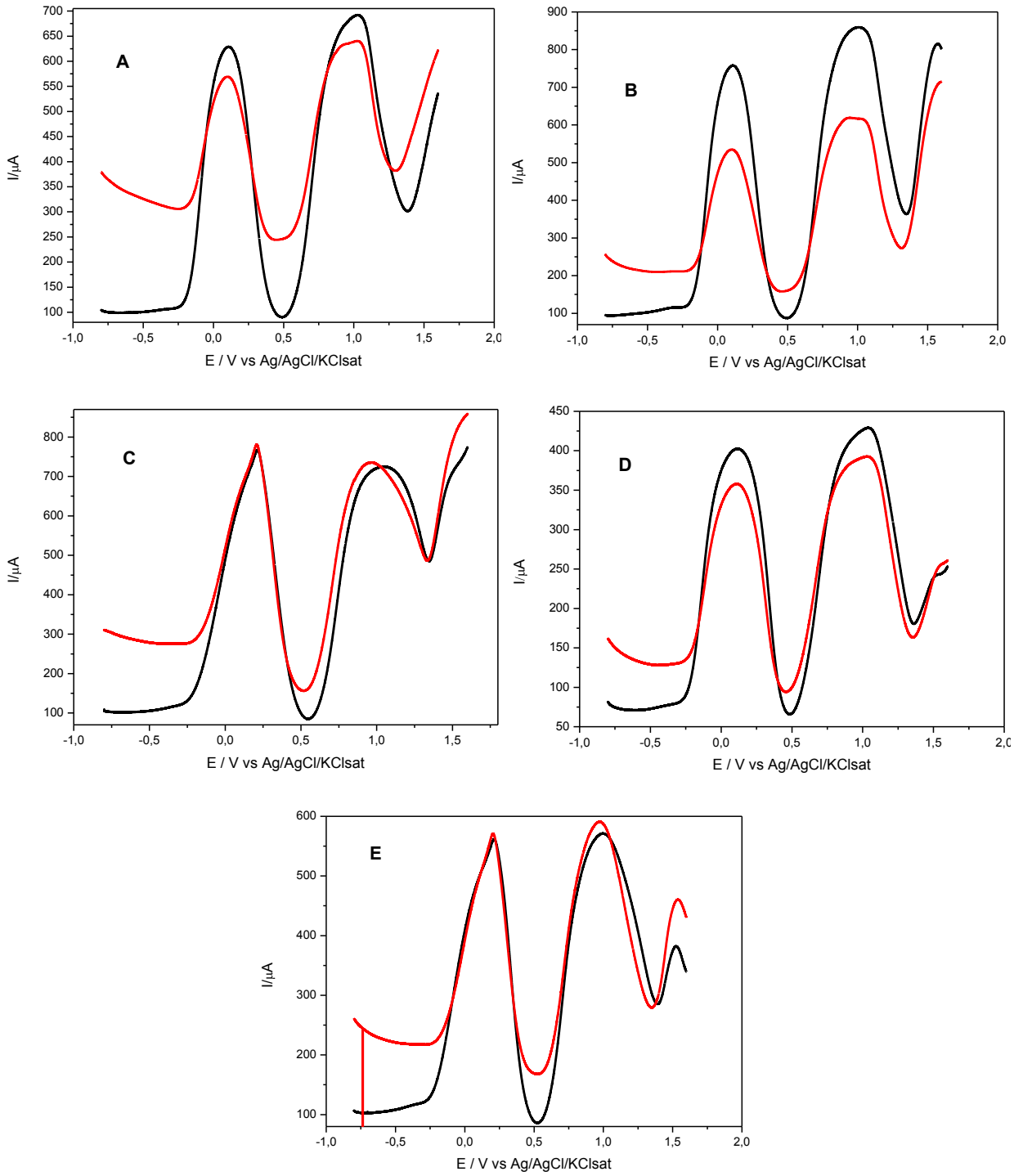


Figura 29: Estudo da adição de glifosato em diferentes eletrólitos (A) Tampão BR (B) Tampão PBS+NO_3 (C) KCl (D) Tampão acetato (E) Tampão fosfato**.** Freqüência = 70 Hz; Incremento de varredura de potencial = 2 mV; Amplitude = 50 mV.

No estudo realizado com diferentes eletrólitos observou-se que, conforme ilustra a Figura 29, a intensidade da corrente é influenciada de acordo com o

eletrólito utilizado, onde o melhor eletrólito a ser utilizado neste caso é o tampão Na_2HPO_4-KH_2PO_4. Como já foi discutido anteriormente o K^+ possui muita mobilidade na troca iônica entre os hexacianoferratos metálicos e soluções que possuam K^+ em sua composição. A transferências de íons K^+ e Na^+ entre as fases de solução e CoHCF é facilitada por causa do tamanho dos íons. FLORESCU e BRETT [35] utilizaram em seus estudos o tampão fosfato na utilização de eletrodo modificado com CoHCF.

O comportamento eletroquímico do EPCM foi estudado em um intervalo de pH entre 1 e 10 na ausência e na presença da solução de Glifosato 10^{-5} mol L^{-1}. A Figura 30 mostra o efeito da acidez do meio sobre a corrente de pico catódico do eletrodo modificado, para a diferença entre correntes na ausência e presença de GLF.

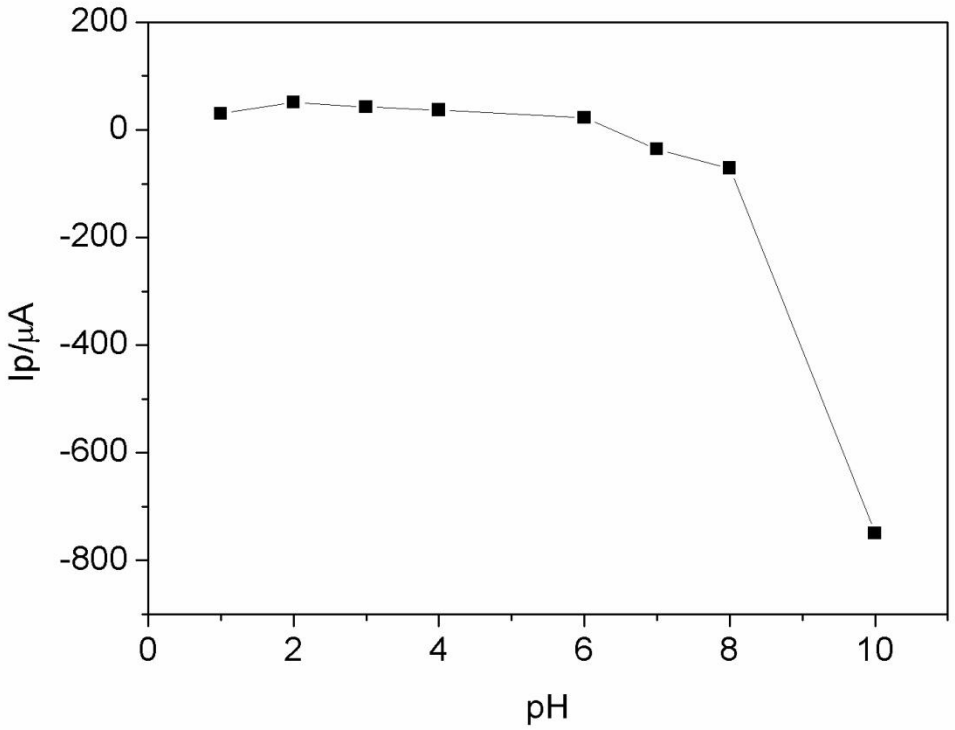


Figura 30: Voltamogramas obtidos para adição de Glifosato utilizando o EPCM modificado com CoHCF em tampão fosfato. Freqüência = 70 Hz; Incremento de varredura de potencial = 2 mV; Amplitude = 50 mV.

Observa-se um aumento estabilidade de valor da corrente de pico para valores de pH entre 1 e 6 o que provavelmente se deve a influencia dos H^+ presentes na solução. Isso pode se deve ao fato de hexacianoferratos metálicos apresentarem resposta eletroquímica estável somente em meio neutro ou acido devido a hidrolise dos íons Fe(II) e Fe(III) em meio alcalino, o que leva a determinação do eletrodo modificado.

Depois de otimizada as condições experimentais do EPCM com CoHCF o mesmo foi utilizado para testar a GLF como mostra Figura 31. Foram feitas varreduras variando a concentração do analito entre 10^{-5} mol L^{-1} e 10^{-8} mol L^{-1}. O mecanismo de funcionamento do EPCM com CoHCF foi baseado em dois picos que estão presentes nos potenciais 0,5 V e 1,4V.

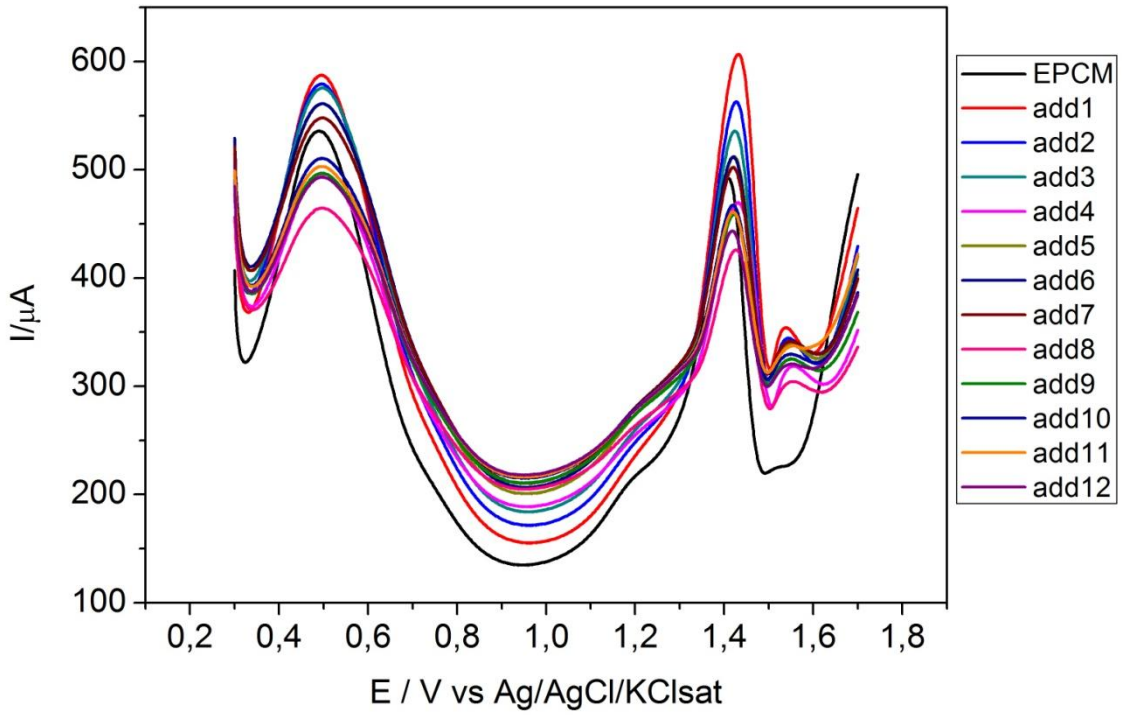


Figura 31: Estudo da adição de glifosato utilizando EPCM com hexacianoferrato de Cobalto, Tampão Fosfato (ph 2,0).

Após a primeira adição de GLF, o EPCM modificado com CoHCF apresenta um aumento de corrente de pico em 0,5 V e 1,4 V, mas posteriormente com adições consecutivas há uma diminuição de corrente e, novamente, não há uma linearidade entre o aumento de concentração de GLF e o aumento da corrente de pico em 0,5 V e/ou 1,4 V.

Da mesma maneira que foi explicado para a L-Cis, o GLF adsorve na superfície do eletrodo e não deixa a superfície “livre” para a oxidação de mais GLF. Esse comportamento já foi observado para eletrodos de cobre, onde os autores realizavam uma etapa de pré-tratamento eletroquímico entre uma medida e outra com o objetivo de renovar a superfície do eletrodo.

Embora tenha sido realizada uma tentativa de polimento mecânico da superfície (a fim de renovar a superfície do eletrodo), não foi possível observar um aumento sucessivo da corrente de pico em 0,5 e/ou 1,4 V com o aumento da concentração de GLF.

Assim como foi observado para o EPCM com FeHCF, o EPCM modificado com CoHCF apresenta uma certa sensibilidade na presença de concentrações muito baixas de GLF, na ordem de 1 x 10^{-8} mol L-1. Em concentrações mais elevadas, a variação de corrente de pico nos potenciais iguais a 0,5 V e 1,4 V não apresentam uma variação lógica. Isso pode ser um indício da forte adsorção do GLF em concentrações mais elevadas tornando o procedimento inviável. Mas por outro lado, em baixas concentrações de GLF é possível observar variações de corrente acima da corrente observada na ausência do GLF.

4.6.4 Estudo da analise de N-Acetilcisteína (N-Acet) com EPCM com NiHCF

O estudo da adição de N-Acet utilizando EPCM com NiHCF foi estudada com os mesmos parâmetros de eletrólito e pH utilizados pelo estudo da adição de L-Cis utilizando EPCM com FeHCF já mostrados anteriormente.

Depois de otimizada as condições experimentais do EPCM com NiHCF o mesmo foi utilizado para testar a N-Acet. Como mostra Figura 32 foram feitas varreduras variando a concentração do analito entre 10^{-5} mol L^{-1} e 10^{-8} mol L^{-1}. A corrente de pico de oxidação obtida em potencial 0,40 V não foi proporcional à concentração de N-Acet em solução.

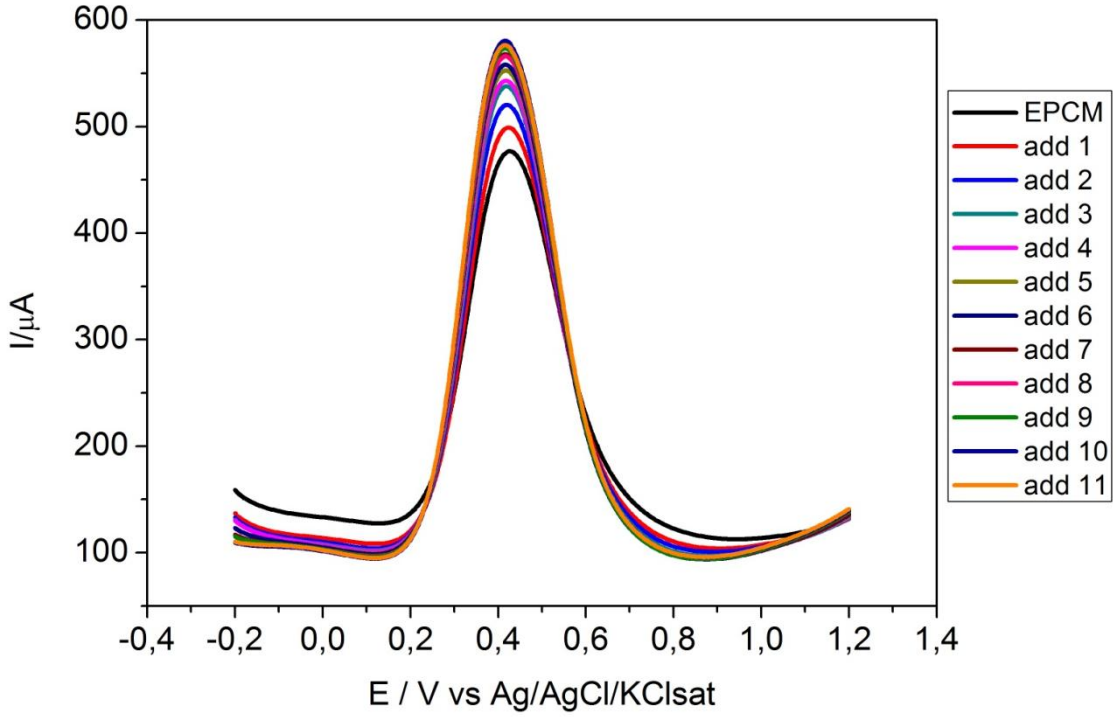


Figura 32: Estudo da adição de N-Acetilcisteina utilizando EPCM com hexacianoferrato de Níquel, tampão Br, ph = 6.

O comportamento eletroquímico do EPCM com NiHCF para a oxidação da N-Acet em diferentes concentrações é mostrado na Figura 32. O EPCM modificado com NiHCF apresenta com a primeira adição de N-Acet na solução um aumento de

corrente em 0,4 V, mas depois de consecutivas adições há uma diminuição de corrente ou uma variação não linear da corrente observada em 0,4 V com aumento de concentração. Esse fato pode ser explicado em função da adsorção do composto na superfície do eletrodo, após a sua oxidação, que acompanha um raciocínio mecanístico semelhante ao que foi discutido anteriormente para o EPCM com FeHCF na presença de L-Cis. Ou seja, a formação de um dímero após a sua etapa de oxidação na superfície do eletrodo.

Mesmo com a limpeza mecânica da superfície do eletrodo, na tentativa de renovação da superfície eletródica, não foi possível observar uma linearidade na relação entre o aumento da concentração de N-Acet e a corrente de pico observada em 0,4 V. Porém, mesmo na ausência de linearidade, o EPCM com NiHCF foi sensível em baixas concentrações de N-Acet mostrando que, assim como, os outros dois EPCMs pode atuar como um sensor direto na determinação de espécies que tenham características moleculares semelhantes a um ácido carboxílico, um aminoácido ou ainda espécies contendo átomos de enxofre.

5. CONCLUSÃO

Os eletrodos convencionais de CV foram modificados com FeHCF, CoHCF e NiHCF através de adsorção, por meio de Voltametria Cíclica, formando filmes modificados com hexacianoferratos. Os filmes mostraram aderência na superfície do eletrodo de CV e estabilidade ao longo das medidas eletroquímicas.

Os EQMs com FeHCF e NiHCF mostraram ter atividade eletrocatalítica para a oxidação de AA. Isso foi observado em função do aumento na sensibilidade da resposta de corrente de pico e um sobrepotencial menor quando comparado ao estudo em eletrodo CV para a oxidação do AA. O EQM com CoHCF mostrou a melhor sensibilidade da resposta de corrente de pico, mas não foi possível observar uma diminuição de potencial da corrente de pico comparado ao potencial observado no carbono vítreo.

A utilização do eletrodo de pasta de carbono modificado com FeHCF, CoHCF e NiHCF foi avaliada utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada para melhor observação da interação entre os EPCMs com FeHCF, CoHCF e NiHCF e os analitos *L*-Cis, GLF e N-Acet respectivamente. Embora tenha sido possível observar que é possível detectar os analitos propostos com os EPCMs modificados com diferentes hexacianoferratos, não foi possível observar uma resposta linear entre a corrente de pico e o aumento da concentração dos analitos.

Com este trabalho evidenciou-se a utilização dos EPCMs com FeHCF, CoHCF e NiHCF para detecção de L-Cis, GLF e N-Acet respectivamente. Os EPCMs apresentaram potencial para aplicação na determinação dos compostos estudados, uma vez que se observou a detecção dos mesmos em uma concentração de 1,0 $x10^{-8}$ mol L^{-1} para o analito em eletrólito utilizado. Concentração muito boa comparada aos valores encontrados por MIMICA et al. [47] para detecção

de L-Cis (0,01 mol L^{-1}), VIEIRA E FATIBELLO et al. [50] para detecção de N-Acet (5 x 10^{-6} mol L^{-1}) e por COUTINHO et al. [60] para detecção de GLF (100 µg L^{-1}).

Como proposta futura, novos estudos relacionados à reprodutibilidade da superfície eletródica devem ser realizados para que os eletrodos citados neste trabalho venham a ser utilizados na determinação interpretação dos mecanismos relacionados à oxidação de ácidos carboxílicos, aminoácidos e espécies tioladas na presença de complexos como os hexacianoferratos. Além disso, a possível aplicação destes eletrodos como sensores descartáveis em análises diretas de composto de interesse clínico, farmacêutico e ambiental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MOSES, P.R.; WIER, L. & MURRAY, R.W., Chemically Modified Tin Oxide Electrode. ***Anal. Chem.*,** v. 47, n.12, p. 1882, 1975.

2. MAFTALE, T. J.; NYOKONG, T.; Electrocatalytic oxidation of cysteine by molybdenum (V) phthalocyanine complexes. ***J. Electroanal. Chem***., v.*408*, p.213., 1996.

3. MALEKI, H.; COJOCARU, C. D.; BRETT, C. M. A.; JENKINS, G. M.;SELMAN, J. R. Changes in the electrochemical behavior of polymeric carbon induced by heat-treatment and doping with lithium ions. ***J. Electroch. Soc.***, New Jersey, v. 145, n. 3, p. 721, 1998.

4. DOWNEY,T.M.; NIEMAN, T.A. Chemiluminescence detection using regenerable tris(2,2′-bipyridyl)ruthenium(II) immobilized in Nafion. ***Anal.Chem***. v.59, p.261, 1992.

5. ESPENSCHEID, M. W.; GHATAK-ROY, A.R.; MOORE, R.B.; PENNER, R.M.; SZENTIRMAY, M. N.; MARTIN, C.R. Sensors from polymer modified electrodes. ***J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1***, v.82, p.1051-1070, 1986.

6. LIMOGES,B; DEGRAND,C.; BRONSIER,P.; BLANKESPOOR,R.L. Homogeneous electrochemical immunoassay using a perfluorosulfonated ionomer-modified electrode as detector for a cationic-labeled hapten. ***Anal. Chem***., v.65, p.1054, 1993.

7. LE GAL LA SALE, S.; LIMOGES, B.; DEGRAND. Ch. New immunoassay techniques using Nafion-modified electrodes and cationic redox labels or enzyme labels. ***J. Electroanal. Chem***, v. 379, p.281, 1993.

8. PEREIRA, A.; SANTOS, A.S.; KUBOTA, L., T. Tendências em modificações de eletrodos amperometricos para aplicações analíticas. ***Quim. Nov.***, v.25, p.6, 2002.

9. LEAL, G.F.; CALIXTO, C.M.F.; SANTOS, S.X.; CAVALHEIRO, E.T.G. Determinação de *L*-cisteína utilizando eletrodo compósito à base de grafite/poliuretana modificado com hexacianoferrato de cobre (II). Instituto de Química de São Carlos, USP, SP.

10. CHUJO, Y., Organic--inorganic hybrid materials. ***Curr. Opin. in Sol. Stat. and Mater. Scie.***, v. 1, p.806, 1996.

11. GEHR, R. J., BOYD, R. W., Optical Properties of Nanostructured Optical Materials. ***Chem. of Mater.***, v. 8, p.1807-1819, 1996.

12. SOUSA, M.F.B. “Eletrodos quimicamente modificados aplicados a eletroanalise: Uma breve abordagem”. ***Quim. Nov.***, v. 20, p.12, 1997.

13. BEALL, G. W., MILLIGAN, W. O., PETRICH, J. A., SWANSON, B. I., Crystal structure and Raman spectral study of ligand substitution in Mn3[Co(CN)6]2.xL. ***Inorganic Chemistry***, v. 17, p.2978, 1978.

14. ITAYA K., UCHIDA I., NEFF V.D.; Electrochemistry of Polynuclear Transition Metal Cyanides: Prussian Blue and Its Analogues. ***Accounts of Chemical Research***, v. 19, p. 162, 1986.

15. ZHANG D., WANG K., SUN D., XIA X., CHEN H.; Potentiodynamic deposition of Prussian Blue from a solution containing single component of ferricyanide and its mechanism investigation. ***J. Sol. Stat. Electrochem.***, v. 7, p. 561, 2003.

16. BUSER, H.J.; SCHWARZENBACH D., PETTER W., LUDI A.; The Crystal Structure of Prussian Blue. ***Inorg. Chem.***, v. 16, p. 2704, 1977.

17. ROBIN M.B.; The Color and Electronic Configurations of Prussian Blue. ***Inorg. Chem.***, v. 1, p. 337, 1962.

18. NEFF, V. D., Electrochemical Oxidation and Reduction of Thin Films of Prussian Blue. ***J. Electrochem. Soc.***, v. 125, p.886, 1978.

19. CAI, C.; JU, H.; CHEN, H. Cobalt hexacyanoferrate modified microband gold electrode and its electrocatalytic activity for oxidation of NADH. ***J.Electroanal. Chem***. v.397 , p.185, 1995.

20. YON HIN, B. F. Y.; LOWE, C. R.; “Catalytic oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide at hexacyanoferrate-modified nickel electrodes”. ***Anal. Chem.***, v.*59*, p.2111, 1987.

21. LIN, M. S.; SHIH, W. C.; Chromium hexacyanoferrate based glucose biosensor. ***Anal. Chim. Acta***, v.*381*, p.183, 1999.

22. WANG, J.; ZHANG, X.; PRAKASH, M.; Glucose microsensors based on carbon paste enzyme electrodes modified with cupric hexacyanoferrate ***Anal. Chim. Acta***, v.*395*, p.11, 1999.

23. SHANKARAN, D.R. & NARAYANAN, S.S., "Mechanically immobilized copper hexacyanoferrate modified electrode for electrocatalysis and amperométrica determination of glutathione". ***Bull. Korean Chem. Soc***., *v.*22, p.816, 2001.

24. HOU,W.; WANG,E. “Flow-injection amperometric detection of hydrazine by eletrocatalytic oxidation at a Prussian Blue film modified electrode. ***Analyt. Chem. Acta***, v.257, p.275, 1992.

25. VICENTINI**,** F.C. **Avaliação da potencialidade de eletrodos compósitos à base de grafite/poliuretana modificados com hexacianoferratos de Cu(II), Co(II) e Fe(II) para fins analíticos.** 2009. 87 f. Dissertação (Mestrado em Química)- Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

26. ITAYA K., UCHIDA I., NEFF V.D.; Electrochemistry of Polynuclear Transition Metal Cyanides: Prussian Blue and Its Analogues. ***Acco. of Chem. Rese.***, v. 19, p. 162, 1986.

27. KINGOI TAYA and ISAMUUC HIDA. Electrochemistry of Polynuclear Transition Metal Cyanides: Prussian Blue and Its Analogues ***Acc. Chem. Res.***, v.19, p.162, 1986.

28. ZHANG D., WANG K., SUN D., XIA X., CHEN H.; Potentiodynamic deposition of Prussian Blue from a solution containing single component of ferricyanide and its mechanism investigation. ***J. Sol. Sta. Electrochem.***, v. 7, p. 561, 2003.

29. LUNDGREN C.A., MURRAY R.W.; Observations on the Composition of Prussian Blue Films and Their Electrochemistry. ***Inorg. Chem.***, v. 27, p.933, 1988.

30. RICCI F., PALLESCHI G.; Sensor and Biosensor preparation, optimization and applications of Prussian Blue modified electrodes. ***Bios. and Bioelectr.***, v. 21, p. 389, 2005.

31. OLIVEIRA, M.F.; MORTIMER B., R.J.; STRADIOTTOC,N.R. Voltammetric determination of persulfate anions using an electrode modified with a Prussian blue film. ***Microchemic. J.***, v.*64,* p.155, 2000.

32. KARYAKIN,A; KARYAKINA,E.; GORTON,L. On the mechanism of H_2O_2 reduction at Prussian Blue modified electrodes. ***Electrochem. Communic.***, v.1, p.78, 1999.

33. CHEN,S.M.; WU, M.H.; THANGAMUTHU, R. Preparation, characterization, and Electrocatalytic Properties of Cobalt Oxide and Cobalt Hexacyanoferrate Hybrid Films". ***Electroan.***, v.20, 2008.

34. CASTRO, S.L.S; MORTIMER, R.J.; OLIVEIRA, M.F.; STRADIOTTO, N.R. Electrooxidation and Determination of Dopamine Using a Nafion®-Cobalt Hexacyanoferrate Film Modified Electrode. ***Sens.,*** v.8, p.1950, 2008.

35. FLORESCU,M.; BRETT,C.M.A. Development and Characterization of Cobalt Hexacyanoferrate Modified Carbon Electrodes for Electrochemical Enzyme Biosensors. ***Analytical Letters***. Vol. 37, p. 871, 2004.

36. SCHNEEMEYER, L. F.; SPENGLER, S. E.; MURPHY, D. W. Ion Selectivity in nickel hexacyanoferrate films on electrode surfaces. ***Inorg. Chemistry***, v. 24, p. 3044, 1985.

37.CHEN, W.; TANG,J.;CHENG H.S; XIA, X.H. A simple method for fabrication of sole composition nickel hexacyanoferrate modified electrode and its application. ***Talan.***, v.80,p.539,2009.

38. HIN, Y.; LOWE,C.R. Catalytic oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide at hexacyanoferrate-modified nickel electrodes, ***Anal. Chem***., v. 59, p. 2111, 1987.

39. ZHOU, D.; JU,H.X.; CHEN, H.Y. Catalytic oxidation of dopamine at a microdisk platinum electrode modified by electrodeposition of nickel hexacyanoferrate and Nafion®. ***J. Electroanal. Chem.*****,** v.408, p.219, 1996.

40. CHEN, H.L.; LI, M.S.; Structure and Function of Biomacromolecules, ***Shang. Scien. Press***, Shanghai, p.4, 1999.

41. OSIPOV, A.V.; LEVASHOV, M.Y.; TSETLIN, V.I.; UTKIN, Y.N.; Cobra venom contains a pool of cysteine-rich secretory proteins. ***Biochem. Biophys. Res. Commun***. v.328, p.177, 2005.

42. SHEW, S.B., KESHEN, T.H., JAHOOR, F., JAKSIC, T. Assessment of cysteine synthesis in very-low-birth weight (VLBW) premature neonates using a [$^{13}C_6$]glucose tracer. ***J. Pediatr. Surg***. 40, 2005, 52.

43. DROGE, W.; Free radicals in the physiological control of cell function. ***Physiol. Rev***., v.82, p.47, 2002.

44. LIMA, P. R.; SANTOS, W. J. R.; LUZ, R. C. S.; DAMOS, F. S.; OLIVEIRA, A. B.; GOULART , M. O. F.; KUBOTA, L.T. An amperometric sensor based on electrochemically triggered reaction: Redox-active Ar–NO/Ar–NHOH from 4-nitrophthalonitrile-modified electrode for the low voltage cysteine detection. ***J. Electroanal. Chem.***, v.612, p. 87, 2008.

45. MALEKI, N.; SAFAVI, A.; SEDAGHATI, F.; TAJABADI, F. Efficient electrocatalysis of l-cysteine oxidation at carbon ionic liquid electrode. ***Anal. Biochem*****.**, v. 369, p. 149, 2007.

46. VANDEBERG, P.J.; JOHNSON, D.C. Pulsed electrochemical detection of cysteine, cystine, methionine, and glutathione at gold electrodes following their separation by liquid chromatography. ***Anal. Biochem*****.,** v. 65, p. 2713, 1993.

47. MIMICA, D.; BEDIOUI, F.; ZAGAL, J. H. Reversibility of the L-cysteine/L-cystine redox process at physiological pH on graphite electrodes modified with coenzyme B_{12} and vitamin B_{12}. ***Electrochim. Acta*****,** v. 48, p. 323, 2002.

48. LARA, P. F. & OLIVEIRA-FILHO, R. M. Evolução farmacológica dos mucolíticos ***Arqui. Fund. Otorrinilarin*****.**, v.3, p.68, 1999.

49. GOODMAN, G. A.; RALL, W. T., NIES, S. A. The pharmacological basis of therapeutic, ***Mcgraw-Hill*** , New York, v.8, p. 99, 1992.

50. VIEIRA, H.J.; FATIBELLO,O.F. Determinação indireta de N-acetil-L-cisteína por injeção em fluxo empregando Ce(IV) e ferroína. ***Quím. Nov.****,* v.28, p.5, 2005.

51. SUAREZ, W.T. **Desenvolvimento de procedimentos analíticos para determinação de N-Acetilcisteína em produtos farmacêuticos.** Dissertação (Mestrado em Química)-Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005

52. EXTOXNET: *The extension Toxicology Network*. In:http://extoxnet.orst.edu/

53. AMARANTE JÚNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R., BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L.Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. ***Química Nova***, v. 25, p. 589,2002.

54. JIANG, J.; LUCY, C. A. Determination of glyphosate using off-line ion exchange preconcentration and capillary electrophoresis-laser induced fluorescence detection. ***Talan.***, v. 72, n. 1, p. 113, 2007.

55. CHIU, H-Y.; LIN, Z-Y.; TU, H-L.; WHANG, C-W. Analysis of glyphosate and aminomethylphosphonic acid by capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection. ***J. of Chromatog.A***, v. 1177, n. 1, p. 195, 2008.

56. CHANG, S. Y.; LIAO, C-H. Analysis of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid by capillary electrophoresis with indirect fluorescence detection. ***J. of Chromatog.A***, v. 959, n. 1-2, p. 309, 2002.

57. FRIESTAD, H. O.; BROENSTAD, J. O. Improved polarographic method for determination of glyphosate herbicide in crops, soil and water. ***J. of Assoc. of Off. Anal. Chem.,*** v. 68, n. 1, p. 76, 1985.

58. FRIESTAD, H. O.; BROENSTAD, J. O. Method for determination of glyphosate residues in natural waters based on polarography of the N-nitroso derivative. ***Analyst.***, v. 101,p. 820, 1976.

59. TEOFILO,R.F.; REIS,C.; REIS, E.L.; SILVA,G.A.; KUBOTA,L.T. “Experimental design employed to square wave voltametry response optimization for the glyphosate determination”. ***J. Braz. Chem. Soc***., v. 15, p.6, 2004.

60. COUTINHO, Cláudia Flávia Breda. **Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação do herbicida glifosato**. 2008. 116 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

61. HIDALGO, C.; RIOS, C.; HIDALGO, M.; SALVADO, V.; SANCHO, J. V.; HERNANDEZ, F. Improved coupled-column liquid chromatographic method for the determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid residues in environmental waters. ***J. of Chromatog. A***, v. 1035, p. 153, 2004.

62. GOODWIN, L.; STARTIN, J. R.; KEELY, B. J.; GOODALL, D. M. Analysis of glyphosate and glufosinate by capillary electrophoresis–mass spectrometry utilising a sheathless microelectrospray interface. ***J. of Chromatog. A***, v. 1004, p.107, 2003.

63. MOROVJÁN, G.; FEKETE, J.; RÉPÁSI, J. Determination of glyphosate and some related compounds by ion-exchange high performance liquid chromatography.***J. Liq. Chromatog.***, v.18, p. 3219, 1995.

64. JIANG, J.; LUCY, C. A. Determination of glyphosate using off-line ion exchange preconcentration and capillary electrophoresis-laser induced fluorescence detection. ***Talan.***,v. 72, p. 113, 2007.

65. LAWRENCE, N.S.; BECKETT, E. L.; DAVIS, J.; COMPTON, R. G. Advances in the voltammetric analysis of small biologically relevant compounds. ***Analyt. Biochem.***, v.303, p. 1, 2002.

67. SUBRAMANIAM, V. AND HOGGARD, P. E., Metal complexes of Glyphosate***. J. of Agricu. and Food Chem.***, v. 36, p. 1326, 1988.

68. ROBIN M.B.; The Color and Electronic Configurations of Prussian Blue. ***Inorg. Chem.***, v. 1, p. 337, 1962.

69. ITAYA K., UCHIDA I., NEFF V.D.; Electrochemistry of Polynuclear Transition Metal Cyanides: Prussian Blue and Its Analogues. ***Acco. of Chem. Res.***, v. 19, p. 162, 1986.

70. CARMO,D.R.; SILVA, R.M.; STRADIOTTO,N.R. Eletrochemical Behaviour of copper nitroprusside generated in situ onto the graphite paste electrode surface, and its application in the determination of n-acethylcysteine*.* ***Portug. Electroch. Acta,*** v.23, p.457, 2005.

71. JOSEPH, J.; GOMATHI, H. ;RAO, P.G. Electrochemical characteristics of thin films of nickel hexacyanoferrate formed on carbon substrates. ***Electrochem. Acta****,* v.36, p.1537,1991.

72. CASTILHO, M.S. **Desenvolvimento de metodologias eletroanaliticas para determinação de potássio e fósforo em biodiesel.** Tese (Doutorado em Quimica). Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2009.

73. GARCÍA-JANERO,J.J.; SANMATÍAS,A.;BENITO,D.;NAVARRO-LABOULAIS,J.;VICENTE,F. The role of inner counterions within PB films during electrochemical processes. ***Intern. J. of Inorg. Mater.***, v. 1, p. 343, 1999.

74. VILAS-BOAS, M.; FREIRE, C.; DE CASTRO, B. & HILLMAN, A.R., “Electrochemical characterization of a novel salen-type modified electrode”*.* ***J.Phys. Chem. B***. v.102, p.8533, 1998.

75. KARYAKIN, A. A.; STRAKHOVA, A. K.; KARYAKINA, E. E.; VARFOLOMEYEV, S. D.; YATSIMIRSKY, A. K. The electrochemical polymerization of methylene blue and bioelectrochemical activity of the resulting film. ***Bioelectrochem. and Bioener.***, v. 32, p. 35, 1993.

76. CARMO, R.D.; SILVA, R.M.; STRADIOTTO, N. R. “Electrocatalysis and Determination of Ascorbic Acid Through Graphite Paste Electrode Modified With Iron Nitroprusside”. ***Portug. Electroch. Acta*****,** v.22, p.71, 2004.