GENIKELLY CAVALCANTI MACHADO

*Determinação sequencial de nitrato e nitrito por voltametria de pulso
diferencial empregando um ultramicroeletrodo de ouro*

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos, da Universidade
de São Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Área de concentração: Química Analítica

Orientador: Prof. Dr.
Sergio Antonio Spinola Machado

São Carlos
2010

Ao meu marido Alexandre, com amor, admiração e gratidão
por sua compreensão e paciência ao longo
do período de elaboração deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por dar-me força e saúde para cumprir mais essa etapa;

Ao prof. Dr. Sergio Antonio Spinola Machado pela orientação nesse trabalho;

Ao João Tiengo pela confecção dos ultramicroeletrodos e pela boa vontade e disposição em ajudar sempre;

Ao Murilo Cabral pelas discussões sobre o trabalho e pela boa vontade em ajudar;

A Juliana Cancino pelas valiosas dicas sobre a limpeza e condicionamento dos ultramicroeletrodos;

A todos os membros do grupo GMEME pela agradável convivência, amizade e pela contribuição direta ou indireta na realização desse trabalho;

A Cátia e ao Leandro por terem me hospedado e me ajudado muito quando cheguei em São Carlos;

As amigas de república, Julieta, Kelly Narimoto, Marie, Marina e Naiara. Obrigado pelo convívio sempre alegre e agradável;

Aos amigos que fiz em São Carlos e que vou levar para vida toda, Ana Eliza, Bruna, Danila, Julieta, Luana, Maria Inês, Naiara e Ulisses;

As queridas amigas, Ana Isabel, Camila e Vanessa;

A minha família pelo apoio;

Ao meu marido Alexandre pelo amor, carinho, amizade e companherismo;

Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida

RESUMO

MACHADO, G.C. **Determinação sequencial de nitrato e nitrito por voltametria de pulso diferencial empregando um ultramicroeletrodo de ouro.** 2010. 88f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

Este trabalho descreve o desenvolvimento de um método eletroanalítico para determinação sequencial de nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-), utilizando como técnica, a voltametria de pulso diferencial. O método se baseia na redução eletroquímica dos íons nitrato sobre um ultramicroeletrodo de ouro modificado *in situ* com cádmio depositado em regime de subtensão, e na seqüência, a remoção da monocamada de cádmio e a oxidação eletroquímica dos íons nitritos sobre o ultramicroeletrodo não modificado. Os ensaios voltamétricos para determinação quantitativa de nitrato e nitrito foram realizados em solução de NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 3,3) preparada com água ultrapura. Utilizando as condições experimentais e os parâmetros voltamétricos otimizados, foram construídas curvas analíticas para determinação de nitrito e nitrato separadamente e também para determinação sequencial dos dois analitos. Para a determinação do NO_2^- , foi observado uma relação linear entre a corrente de pico e a concentração desse íon dentro do intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com um limite de detecção igual a $1,151 \pm 0,091 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de quantificação igual a $3,838 \pm 0,091 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Para a determinação do NO_3^- , também foi observado uma relação linear entre corrente de pico e concentração desse analito dentro do intervalo estudado, que foi de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O limite de detecção encontrado foi $4,839 \pm 0,275 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e o limite de quantificação $16,131 \pm 0,275 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. A determinação sequencial de nitrito e nitrato foi avaliada dentro do intervalo de concentração de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para NO_3^- e $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $4,50 \times 10^{-5}$ para NO_2^- . Para ambos os casos, a relação entre corrente de pico *versus* concentração do analito foi linear. Para a determinação sequencial os limites de detecção são $16,177 \pm 0,794 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para NO_3^- e $2,243 \pm 0,179 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para NO_2^- e os limites de quantificação são $53,922 \pm 0,794 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para o NO_3^- e $7,476 \pm 0,179 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para o NO_2^- . Os limites de detecção, os limites de quantificação e demais parâmetros estatísticos apresentados nesse trabalho, foram obtidos a partir de cálculos baseados em procedimentos descritos em Miller⁶⁸ e Silva⁶⁹.

Palavras-chave: nitrato, nitrito, ultramicroeletrodo

ABSTRACT

MACHADO, G.C. **Sequential determination of nitrate and nitrite by differential pulse voltammetry using a gold ultramicroelectrode**. 2010. 88f. Dissertation (Masters) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

This work describes the development of an electroanalytical method for sequential determination of nitrite (NO_2^-) and nitrate (NO_3^-), using as a technique, differential pulse voltammetry. The method is based on the electrochemical reduction of nitrate ions on a gold ultramicroelectrode modified *in situ* by underpotential deposition of cadmium, and subsequently, the removal of cadmium monolayer and the electrochemical oxidation of nitrite on ultramicroelectrode unmodified. The voltammetric analysis for quantitative determination of nitrate and nitrite were carried out in NaClO_4 0.1 mol L^{-1} + HClO_4 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 3.3$) prepared with ultrapure water. Using the optimized experimental conditions and voltammetric parameters, analytical curves were constructed for determination of nitrite and nitrate separately and for sequential determination of the two analytes. The relationship between peak current and concentration of NO_2^- were found to be linear in the concentration range between $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ and $1.1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, with a detection limit of $1.151 \pm 0.091 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ and quantification limit of $3.838 \pm 0.091 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. For determination of NO_3^- was also observed a linear relationship between peak current and concentration of analyte within the concentration range studied, which was from $2.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ to $2.50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. The detection limit was $4.839 \pm 0.275 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ and the quantification limit was $16.131 \pm 0.275 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. The sequential determination of nitrite and nitrate was assessed within concentration range from $5.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ to $2.50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ for NO_3^- and from $1.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ to 4.50×10^{-5} for NO_2^- . In both cases, the relationship between peak current *versus* analyte concentration were found to be linear. The detection limits for sequential determination are $16.177 \pm 0.794 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ for NO_3^- and $2.243 \pm 0.179 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ for NO_2^- and the quantification limits are $53.922 \pm 0.794 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ for NO_3^- and $7.476 \pm 0.179 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ for NO_2^- . The detection and quantification limits and other statistical parameters presented in this work were obtained from calculations based on procedures described in Miller and Miller⁶⁸ and Silva⁶⁹.

Keywords: nitrate, nitrite, ultramicroelectrode

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – (a) deposição eletroquímica do metal (**A**) no potencial de Nernst. (b) deposição de uma camada do metal (**A**) sobre o substrato (**S**) que é um metal diferente do metal (**A**). Se na situação (b) o metal (**A**) deposita em um potencial mais positivo do que o potencial reversível de Nernst, ocorre a deposição em regime de subtensão. A camada depositada em subtensão é estável no intervalo de potenciais entre E_{DRS} e E_{Nernst} .⁵⁴ 24
- Figura 2** – Representação esquemática da célula eletroquímica utilizada..... 30
- Figura 3** – Representação esquemática de um UME de Au embutido em resina. 31
- Figura 4** – Voltamograma cíclico de estado estacionário para o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em $\text{H}_2\text{SO}_4\ 0,10\ \text{molL}^{-1}$ obtido após sucessivos ciclos de potenciais. $E_i = 0,0\ \text{V}$; $E_{\text{inv}} = 1,7\ \text{V}$ e $E_f = 0,0\ \text{V}$. Velocidade de varredura $0,10\ \text{V s}^{-1}$ 40
- Figura 5** – (a) Voltamograma cíclico de estado estacionário para o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em uma solução contendo $6,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ preparada em $\text{H}_2\text{SO}_4\ 0,10\ \text{molL}^{-1}$. Velocidade de varredura de $0,010\ \text{V s}^{-1}$. (b) Mudança no perfil voltamétrico com a variação da velocidade de varredura: (---) $0,10\ \text{V s}^{-1}$ e (---) $1,0\ \text{V s}^{-1}$ 41
- Figura 6** – Voltamograma cíclico do UME de Au ($\varnothing = 10\ \mu\text{m}$) em $\text{H}_2\text{SO}_4\ 0,10\ \text{molL}^{-1}$ na ausência (---) e na presença (---) de $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_2^- . $E_i = 0,0\ \text{V}$; $E_{\text{inv}} = 1,7\ \text{V}$ e $E_f = 0,0\ \text{V}$. Velocidade de varredura $0,10\ \text{V s}^{-1}$ 43
- Figura 7** – (a) Voltamograma linear para o UME de Au ($\varnothing = 10\ \mu\text{m}$), antes e após 15 minutos de eletrólise. (b) Voltamograma linear para o UME de Au ($\varnothing = 10\ \mu\text{m}$) obtido no $t = 0\ \text{min}$ e após $t = 15\ \text{min}$ em solução não eletrolisada - (Parâmetros para as voltametrias: $E_i = 0,68\ \text{V}$; $E_f = 1,10\ \text{V}$ e velocidade de varredura de $0,10\ \text{V s}^{-1}$). (c) cronoamperograma obtido para eletrólise do NO_2^- em meio ácido utilizando um eletrodo de Au com $1,0\ \text{cm}^2$ de área. $E_1 = 0,73\ \text{V}$ e $E_2 = 1,06\ \text{V}$. (A solução utilizada nos 3 ensaios foi uma solução $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_2^- preparada em $\text{H}_2\text{SO}_4\ 0,10\ \text{molL}^{-1}$). 46
- Figura 8** – Voltamograma cíclico do UME de Au ($\varnothing = 10\ \mu\text{m}$) em tampão fosfato ($\text{pH} = 6,60$) na ausência (---) e na presença (---) de $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_2^- . $E_i = 0,0\ \text{V}$; $E_{\text{inv}} = 1,5\ \text{V}$ e $E_f = 0,0\ \text{V}$. Velocidade de varredura $0,10\ \text{V s}^{-1}$ 47
- Figura 9** – Voltamograma linear para o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em diferentes eletrólitos contendo $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_2^- . Velocidade de varredura de $0,10\ \text{V s}^{-1}$ 48
- Figura 10** – Voltamograma de pulso diferencial para o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em diferentes eletrólitos contendo $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_2^- . Velocidade de varredura $= 0,020\ \text{V s}^{-1}$ 48
- Figura 11** – (a) Voltamogramas de pulso diferencial para a oxidação do NO_2^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em diferentes concentrações. (b) Curva analítica construída a partir dos dados obtidos da figura 11a. Eletrólito: $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1} + \text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ ($\text{pH} = 3,3$). $\Delta E = 50\ \text{mV}$; $t_p = 40\ \text{ms}$, $\tau = 250\ \text{ms}$ e $v = 20\ \text{mV s}^{-1}$ 51
- Figura 12** – (a) Voltamogramas de pulso diferencial para a oxidação do NO_2^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em amostra de água de rio contendo $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1} + \text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ ($\text{pH} = 3,3$). (b) Curva analítica construída a partir dos dados obtidos da figura 12a. $\Delta E = 50\ \text{mV}$; $t_p = 40\ \text{ms}$, $\tau = 250\ \text{ms}$ e $v = 20\ \text{mV s}^{-1}$ 54
- Figura 13** – (a) Voltamogramas de pulso diferencial para a oxidação do NO_2^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em amostra de água de rio sem adição de eletrólito. (b) Curva analítica construída a partir dos dados obtidos da figura 13a. $\Delta E = 50\ \text{mV}$; $t_p = 40\ \text{ms}$, $\tau = 250\ \text{ms}$ e $v = 20\ \text{mV s}^{-1}$ 54

- Figura 14** – Curvas analíticas para determinação de NO_2^- utilizando um UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em: eletrólito- $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$; água de rio + eletrólito e água de rio sem adição de eletrólito. 56
- Figura 15** – Voltamograma cíclico para o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ (pH = 3,3) na ausência (---) e na presença (---) de $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$. $E_i = 1,6\ \text{V}$; $E_{\text{inv}} = -0,30\ \text{V}$ e $E_f = 1,6\ \text{V}$. Velocidade de varredura $0,10\ \text{V s}^{-1}$ 59
- Figura 16** – Voltamogramas linear para oxidação do Cd depositado em regime de subtensão sobre UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) após polarização do eletrodo em $-0,20\ \text{V}$, variando o tempo de deposição entre 1s e 30 s. Concentração de Cd na solução = $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$. $E_i = -0,20\ \text{V}$ e $E_f = 1,6\ \text{V}$. Velocidade de varredura $0,10\ \text{V s}^{-1}$ 60
- Figura 17** – Voltamograma cíclico para redução de NO_3^- mediada por Cd depositado em regime de subtensão sobre UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em solução contendo: (---) o eletrólito $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ (pH = 3,3); (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd e (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd + $4,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_3^- . $E_i = 1,6\ \text{V}$; $E_{\text{inv}} = -0,70\ \text{V}$ e $E_f = 1,6\ \text{V}$. Velocidade de varredura $0,10\ \text{V s}^{-1}$ 61
- Figura 18** – Voltamograma de pulso diferencial para a redução do NO_3^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em solução contendo: (---) o eletrólito: $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ (pH = 3,3); (---) eletrólito + $2,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_3^- ; (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd e (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd + $2,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_3^- 62
- Figura 19** – Voltamogramas de pulso diferencial para a redução do NO_3^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) modificado pela DRS de Cd. Eletrólito: $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ (pH = 3,3). Concentração de Cd no meio = $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$. $\Delta E = 50\ \text{mV}$; $t_p = 40\ \text{ms}$, $\tau = 250\ \text{ms}$ e $v = 20\ \text{mV s}^{-1}$ 64
- Figura 20** – (a) Voltamogramas de pulso diferencial para a redução do NO_3^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) modificado pela DRS de Cd (após subtração do branco). (b) Curva analítica construída a partir dos dados obtidos da figura 21a. Eletrólito: $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ (pH = 3,3). Concentração de Cd no meio = $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$. $\Delta E = 50\ \text{mV}$; $t_p = 40\ \text{ms}$, $\tau = 250\ \text{ms}$ e $v = 20\ \text{mV s}^{-1}$ 65
- Figura 21** – Voltamograma cíclico para redução de NO_3^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) mediada pela DRS de Cd e detecção do NO_2^- formado na redução do NO_3^- . Solução: eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd + $4,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_3^- . $E_i = 0,20\ \text{V}$; $E_{\text{inv}} = -0,70\ \text{V}$ e $E_f = 1,6\ \text{V}$. Velocidade de varredura $800\ \text{mV s}^{-1}$ 67
- Figura 22** – Voltamograma cíclico para redução de NO_3^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) mediada pela DRS de Cd e detecção do NO_2^- formado na redução do NO_3^- variando-se a velocidade de varredura entre 100 a $2000\ \text{mV s}^{-1}$. Solução: eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd + $4,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_3^- . $E_i = 0,20\ \text{V}$; $E_{\text{inv}} = -0,70\ \text{V}$ e $E_f = 1,6\ \text{V}$ 68
- Figura 23** – Voltamograma cíclico para redução do NO_3^- mediada pela DRS de Cd sobre UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) antes e após adições de NO_2^- ao meio. Eletrólito $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ (pH = 3,3). Concentração de Cd = $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$. $E_i = 1,6\ \text{V}$; $E_{\text{inv}} = -0,70\ \text{V}$ e $E_f = 1,6\ \text{V}$. Velocidade de varredura $0,10\ \text{V s}^{-1}$ 69
- Figura 24** – Voltamograma de pulso diferencial para a redução do NO_3^- e NO_2^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em solução contendo: (---) eletrólito: $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd + $2,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_2^- e (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd + $2,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_3^- 70
- Figura 25** – Voltamograma de pulso diferencial para a oxidação do NO_2^- e NO_3^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em solução contendo: (---) o eletrólito: $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd + $2,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_3^- e (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd + $2,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_2^- 71

Figura 26 – Voltamogramas de pulso diferencial para: (a) redução do NO_3^- (na presença de NO_2^-) sobre o UME de Au modificado com Cd depositado em regime de subtenção. (b) oxidação do NO_2^- (na presença de NO_3^-) sobre o UME de Au não modificado. Eletrólito: NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ (pH = 3,3). Concentração de Cd = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ $\Delta E = 50 \text{ mV}$; $t_p = 40 \text{ ms}$, $\tau = 250 \text{ ms}$ e $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ 73

Figura 27 – (a) Curva analítica para redução do NO_3^- (na presença de NO_2^-), construída a partir dos dados obtidos dos voltamogramas de pulso diferencial apresentados na fig 27a. (b) Curva analítica para oxidação do NO_2^- (na presença de NO_3^-), construída a partir dos dados obtidos dos voltamogramas de pulso diferencial apresentados na fig 27b. 74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Teores máximos de NO_3^- e NO_2^- permitidos em água para consumo humano --	18
Tabela 2 – Procedência e pureza dos reagentes utilizados -----	27
Tabela 3 – Concentrações e pH das soluções -----	28
Tabela 4 – Parâmetros de voltametria de pulso diferencial estudados para determinação de NO_2^- -----	50
Tabela 5 – Parâmetros estatísticos obtidos para o método proposto para determinação de NO_2^- sobre o UME de Au em eletrólito NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ (pH = 3,3).-----	52
Tabela 6 – Parâmetros estatísticos obtidos para o método proposto para determinação de NO_2^- sobre o UME de Au em água de rio com e sem a adição do eletrólito NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ (pH = 3,3). -----	55
Tabela 7 – Parâmetros estatísticos obtidos para o método proposto para determinação de NO_3^- sobre o UME de Au modificado por meio da DRS de Cd em NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$.-----	66
Tabela 8 – Parâmetros estatísticos obtidos para o método proposto para determinação sequencial de NO_3^- e NO_2^- em NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ (pH = 3,3). -----	75
Tabela 9 – Parâmetros estatísticos obtidos para o método proposto para determinação individual e sequencial de NO_3^- e NO_2^- em NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ (pH = 3,3).-----	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CoTSPc	ftalocianina tetrasulfonada de cobalto (II)
CuTSPc	ftalocianina tetrasulfonada de cobre (II)
CV	coeficiente de variação
DDB	eletrodo de diamante dopado com boro
DISP2	mecanismo de desproporcionamento do tipo 2
DRS	deposição em regime de subtensão
EPA	Environmental Protection Agency
FeT4MPyP	tetra-(N-metil-4-piridil)-porfirina de ferro (III)
GMEME	Grupo de Materiais Eletroquímicos e Métodos Eletroanalíticos
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde
P.A	pureza analítica
RDS	desvio padrão relativo
SPE	screen-printed electrode
UE	União Européia
UME	ultramicroeletrodo
UPD	underpotential depositon

LISTA DE SÍMBOLOS

a	intercepto da curva analítica no eixo y
A	Área do eletrodo
b	tangente da curva analítica
C_0^*	concentração da espécie eletroativa no seio da solução
D_0	coeficiente de difusão
E	potencial
E_f	potencial final
E_i	potencial inicial
ΔE	amplitude de potencial de pulso aplicado
F	constante de Faraday ($96.487 \text{ C mol}^{-1}$)
I_d	corrente difusional
I_p	corrente de pico
n	número de experimentos realizados
<i>n</i>	número de elétrons
ΔN	Variação do número de moles de substância eletrolisada
ΔQ	carga transferida durante a eletrólise
r	coeficiente de correlação produto-momento
r_0	raio do eletrodo
s	Segundo
<i>s</i>	desvio padrão
S_a	desvio padrão do intercepto
S_b	desvio padrão da tangente
S_B	desvio padrão do branco
S_{LD}	desvio padrão do limite de detecção

S_{LQ}	desvio padrão do limite de quantificação
$S_{y/x}$	desvio padrão estimado de cada ponto do gráfico
t	parâmetro de Student
t	Tempo
t_p	tempo de duração do pulso
τ	intervalo de pulso
V	Volt
v	velocidade
x	concentração dos padrões
$\bar{x}$	média aritmética dos valores de x
y	resposta do instrumento (sinal analítico)
$\bar{y}$	média aritmética dos valores de y
y_B	sinal do 'branco' ou da 'linha de base'
π	constante numérica (3,1414)
$\varnothing$	Diâmetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Efeitos Tóxicos	16
1.2 Legislação	17
1.3 Métodos para determinação de NO_2^- e NO_3^- (Revisão Bibliográfica)	18
1.3.1 Métodos para determinação de NO_2^-	19
1.3.2 Métodos para determinação de NO_3^-	21
1.3.3 Determinação simultânea NO_2^- e NO_3^-	22
1.4 Modificação da superfície eletródica pela deposição em regime de subtensão (DRS)	23
1.5 Ultramicroeletrodos	25
1.6 Objetivo	26
2 PARTE EXPERIMENTAL	27
2.1 Reagentes	27
2.2 Soluções	28
2.3 Instrumentação	29
2.4 Célula Eletroquímica e eletrodos	29
2.5 Metodologia	30
2.5.1 Confeção e caracterização do ultramicroeletrodo de ouro	30
2.5.2 Limpeza e condicionamento da superfície do ultramicroeletrodo de ouro antes dos ensaios voltamétricos	32
2.5.3 Estudos da oxidação eletroquímica dos íons NO_2^- sobre o ultramicroeletrodo de ouro	32
2.5.4 Estudos da redução dos íons NO_3^- sobre o ultramicroeletrodo de ouro modificado com cádmio depositado em regime de subtensão (DRS)	33
2.5.5 Determinação sequencial dos íons NO_3^- e NO_2^- sobre o ultramicroeletrodo de ouro modificado in situ com cádmio depositado em DRS	34
2.5.6 Tratamento estatístico dos dados analíticos	35
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
3.1 Caracterização do Ultramicroeletrodo de Ouro	40
3.2 Estudo da oxidação eletroquímica do NO_2^- sobre UME de Au	43
3.2.1 Escolha do eletrólito suporte	43
3.2.2 Estudos dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial	50
3.2.3 Curva analítica para oxidação do NO_2^- sobre UME de Au	51
3.2.4 Determinação de NO_2^- em água de rio utilizando o UME de Au	53
3.3 Estudo da redução eletroquímica do NO_3^- sobre o UME de Au modificado pela DRS de Cd	57

3.3.1 Escolha do eletrólito suporte -----	57
3.3.2 Estudos dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial -----	58
3.3.3 DRS de Cd sobre Au -----	58
3.3.4 Redução do NO_3^- mediada pela DRS de Cd sobre o UME de Au -----	60
3.3.5 Curva Analítica para redução do NO_3^- sobre UME de Au modificado por meio da DRS de Cd -----	63
3.3.6 Determinação sequencial de NO_2^- e NO_3^- -----	67
3.3.7 Curva Analítica para determinação sequencial de NO_2^- e NO_3^- -----	72
4 CONCLUSÃO-----	78
5 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS -----	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	80

1 INTRODUÇÃO

O crescimento contínuo da população mundial trouxe a necessidade de um aumento constante na produção de alimentos, assim como, de uma conservação mais eficiente dos mesmos. Como consequência, o número de substâncias poluentes, que são incorporadas ao meio ambiente e/ou ingeridas diariamente na dieta humana tem aumentado a cada dia. Dentre essas substâncias, os nitritos (NO_2^-) e nitratos (NO_3^-) tem sido considerados contaminantes ambientais importantes dos solos e de águas naturais (subterrâneas e superficiais)¹.

Nas últimas décadas, o homem tem alterado o ciclo do nitrogênio aumentando a disponibilidade desses compostos inorgânicos nitrogenados no meio ambiente. Isso tem ocorrido por meio da emissão de gases tóxicos na atmosfera, despejos de efluentes industriais e domésticos em águas naturais e principalmente, devido ao aumento do uso de fertilizantes nitrogenados nas atividades agrícolas. A utilização de fertilizantes na agricultura é fundamental para manter a produção de alimentos em quantidades adequadas para suprir a demanda da população mundial, entretanto, o abuso no uso dos fertilizantes nitrogenados juntamente com a má utilização dos recursos naturais, pode além de comprometer o ecossistema, provocar efeitos adversos à saúde do homem e impactos na economia^{2,3}.

Os íons NO_3^- e NO_2^- além de estarem presentes naturalmente no meio ambiente fazendo parte do ciclo do nitrogênio, também fazem parte dos sistemas fisiológicos dos seres humanos. Por exemplo, o nitrito e nitrato aparecem como produtos finais da via metabólica do óxido nítrico (NO), uma molécula que desempenha papéis importantes no nosso organismo, agindo como neurotransmissor, vasodilatador, entre outros. A medida da concentração de NO_3^- e NO_2^- no sangue pode ser usada como um indicador da síntese de NO no corpo humano^{4,5}.

Esses íons ainda estão presentes na indústria, onde são empregados em diversos processos, como na fabricação de fogos de artifício, na indústria de fertilizantes e na indústria de alimentos, onde são utilizados como aditivos, na forma de seus sais de sódio e potássio, durante a fabricação de conservas, embutidos (salame, presunto, salsicha, etc.), queijos e na cura de carnes^{3,6}. Suas principais

funções como aditivos são: dar cor e sabor aos alimentos, além de, inibir o crescimento da bactéria *Clostridium botulinum* (responsável por um tipo de intoxicação alimentar conhecida como botulismo)^{6,7}. Entretanto, não é somente nos alimentos industrializados que nitrito e nitrato estão presentes, pois muitos alimentos contêm esses íons em sua composição devido a processos naturais. O NO_3^- , por exemplo, encontra-se presente naturalmente em vegetais e hortaliças, pois as plantas o absorvem como fonte de nitrogênio para o seu crescimento⁶.

A versatilidade desses íons é inegável, porém o aumento da disponibilidade juntamente com a potencial toxicidade deles ao meio ambiente e a saúde humana tem sido o foco da preocupação em relação à exposição a essas substâncias³.

1.1 Efeitos Tóxicos

Segundo Camargo e Alonso², os maiores problemas devido à contaminação do meio ambiente, particularmente dos ecossistemas aquáticos por compostos nitrogenados, tais como NO_3^- e NO_2^- , estão relacionados ao aumento da proliferação de algas resultando na eutrofização desses ecossistemas e também à toxicidade desses íons para os animais aquáticos, prejudicando assim à sobrevivência, crescimento e reprodução dos mesmos.

Já a preocupação com a exposição do homem a nitrato e/ou nitrito se deve ao fato desses íons serem precursores de doenças, sendo que as principais fontes de exposição dos seres humanos a NO_3^- e/ou NO_2^- estão relacionadas com a ingestão de água e alimentos que contenham essas substâncias^{8,9}.

O excesso de NO_3^- nos alimentos ou na água para consumo humano não é a causa direta de doenças. O problema é que o NO_3^- pode ser convertido a NO_2^- por processos enzimáticos que podem ocorrer tanto em alimentos como no sistema digestivo. O NO_2^- por sua vez, quer seja ingerido diretamente ou proveniente da redução do NO_3^- , pode então causar danos à saúde^{7,9}.

Nitritos podem formar nitrosaminas ao reagir com aminas secundárias e terciárias presentes em alguns alimentos e também no corpo humano. As nitrosaminas são compostos conhecidos por serem potencialmente carcinogênicos

aos seres humanos. Alguns estudos têm associado o aumento na incidência de câncer de estômago à ingestão de água e alimentos que contenham excesso de nitrato e nitrito^{8,10}.

O nitrito pode também oxidar o Fe (II) da hemoglobina a Fe (III), gerando a sua forma oxidada conhecida como metemoglobina. Esse composto não é capaz de transportar oxigênio para as células, logo uma elevada concentração de metemoglobina no corpo humano pode levar à morte por insuficiência respiratória. A doença causada por excesso de metemoglobina no sangue é conhecida como “metemoglobinemia”, ou, “síndrome do bebê azul”, pois os bebês que sofrem desse mal podem apresentar uma coloração azulada na pele e mucosas devido à deficiência na absorção e transporte de oxigênio para as células^{10,11}. As crianças são mais suscetíveis do que adultos à formação de metemoglobina devido a diversos fatores, tais como: (1) a ingestão total de líquidos por kg de peso corporal é cerca de 3 vezes maior que a de um adulto; (2) o pH estomacal de crianças fica entre 5 e 7, permitindo assim a adaptação de bactérias redutoras de NO_3^- ; (3) crianças tem uma grande quantidade de hemoglobina fetal (hemoglobina F), que é mais facilmente convertida a metemoglobina do que a hemoglobina adulta (hemoglobina A); (4) os adultos têm enzimas que são capazes de reduzir a metemoglobina a sua forma original, enquanto que a deficiência de algumas enzimas em crianças não possibilitam esse processo¹¹.

Vários casos de metemoglobinemia já foram relatados em todo mundo, a maioria dos quais foram associados com a ingestão de água de poço com altas concentrações de nitrato^{2,11}.

1.2 Legislação

A fim de controlar os efeitos nocivos que os íons NO_3^- e NO_2^- podem provocar na saúde humana, alguns órgãos governamentais e agências reguladoras em todo mundo têm estabelecido limites máximos para teores desses íons em água para o consumo humano. No Brasil estes limites são definidos pelo Ministério da Saúde (MS)¹² através da Portaria Nº. 518 de 25 de março de 2004 e também pela Resolução Nº. 357 de 17 de março de 2005 do Conselho Nacional do Meio

Ambiente (CONAMA)¹³. Já nos Estados Unidos, os padrões de água potável são estabelecidos pela Agência de Proteção Ambiental (EPA) (do inglês *Environmental Protection Agency*)¹⁴, enquanto na Europa, os parâmetros relativos à qualidade da água destinada ao consumo humano constam na Diretiva 98/83/CE estabelecidos pela União Européia (UE)¹⁵. A Organização Mundial de Saúde (OMS) também recomenda que haja limites máximos de nitrato e nitrito na água potável¹⁶.

Os teores máximos de nitrato e nitrito permitidos em água para consumo humano nessas legislações encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Teores máximos de NO_3^- e NO_2^- permitidos em água para consumo humano

Órgão Governamental ou Agência Reguladora	Limite Máximo de NO_3^- (mgL^{-1})	Limite Máximo de NO_2^- (mgL^{-1})
MS (Brasil)	10,0	1,00
CONAMA (Brasil)	10,0	1,00
EPA (Estados Unidos)	10,0	1,00
UE (Europa)	50,0	0,50
OMS	50,0	3,00

1.3 Métodos para determinação de NO_2^- e NO_3^- (Revisão Bibliográfica)

Devido ao aumento das quantidades NO_3^- e NO_2^- que estão chegando às águas superficiais e subterrâneas, provocando a contaminação dos ambientes aquáticos, e as consequências que isso pode trazer ao meio ambiente e à saúde dos seres humanos, um aumento significativo no interesse por métodos analíticos para determinação desses íons em diferentes matrizes tem ocorrido nas últimas décadas.

Nesse sentido, vários métodos, empregando técnicas analíticas diferentes, têm sido desenvolvidos. Dentre eles estão os métodos espectroscópicos^{1,17,18,19,20}, cromatográficos^{5,21,22,23}, eletroforéticos^{4,24,25}, métodos que empregam sistemas de análise em fluxo^{26,27,28,29} e os métodos eletroanalíticos^{30,31,32,33,34}.

Métodos utilizando técnicas eletroanalíticas têm se mostrado uma interessante alternativa para determinação de grande variedade de analitos em diferentes matrizes, pois essas técnicas são capazes de fornecer baixos limites de detecção e ainda várias informações que caracterizam e descrevem eletroquimicamente determinados sistemas, já que as medidas eletroquímicas são frequentemente específicas para um estado de oxidação particular de um elemento. A principal vantagem das técnicas eletroanalíticas é a possibilidade de análise direta das amostras sem a necessidade de etapa de separação ou pré-tratamento das mesmas. Além disto, a utilização de métodos eletroanalíticos possibilita a análise de soluções coloridas ou com partículas sólidas suspensas. Uma outra vantagem é que a sua instrumentação é relativamente barata quando comparada a outros equipamentos, como os utilizados em cromatografia, por exemplo³⁵.

Nesta revisão são apresentados alguns trabalhos desenvolvidos nos últimos cinco anos relacionados à determinação de nitrito, nitrato, assim como a determinação simultânea deles utilizando técnicas eletroanalíticas.

1.3.1 Métodos para determinação de NO₂⁻

Karousos *et al.*³⁶ desenvolveram um método para determinação de nitrito em água de rio e água do mar, utilizando um eletrodo descartável do tipo SPE (do inglês screen-printed electrode). O SPE utilizado consistiu de um sistema com dois eletrodos: carbono (1,0 mm² de área) como eletrodo de trabalho e uma pasta de Ag/AgCl como referência suportados sobre uma base de 3,0 cm X 0,5 cm. O nitrito foi determinado indiretamente por meio de uma reação de derivatização com o composto floroglucinol, após a adição de alíquotas das amostras contendo NO₂⁻ a uma solução contendo 20,0 mmolL⁻¹ de floroglucinol preparada em tampão Britton-Robinson (pH=3,0). O grupo nitro, do derivado do fluoroglucinol formado, é

posteriormente reduzido eletroquimicamente a um grupo amino sobre a superfície do SPE. O potencial de pico correspondente a essa redução é -0,19 V. O nitrito foi determinado em amostras de água numa faixa linear de 2-500 μmolL^{-1} pelo método de adição padrão empregando a voltametria de varredura linear. As medidas foram realizadas em triplicata e o limite de detecção encontrado para o método proposto foi de 1,0 μmolL^{-1} . Segundo os autores a utilização desses eletrodos descartáveis é bastante interessante nas análises de campo, sendo tecnologicamente e economicamente viável para fins de exploração comercial. O método é versátil pois permite que a reação de derivatização e a determinação sejam realizadas *in situ*. Além disso, os derivados que são eletroquimicamente detectáveis se inserem dentro de uma região de potenciais onde existem poucos processos eletródicos concorrentes.

Santos *et al.*³⁷ desenvolveram um sensor amperométrico para determinação de nitrito utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com camadas alternadas de tetra-(N-metil-4-piridil)-porfirina de ferro(III) (FeT4MPyP) e ftalocianina tetrasulfonada de cobalto(II) (CoTSPc). Segundo os autores, o eletrodo modificado mostrou uma excelente atividade catalítica e estabilidade para a oxidação de nitrito diminuindo o potencial de pico em cerca de 200 mV para valores menos positivos e valores de corrente de pico muito superiores aos obtidos com um eletrodo de carbono vítreo não modificado. A faixa linear de resposta para a determinação dos íons NO_2^- em amostras de água natural utilizando esse sensor foi de 0,2 a 8,6 μmolL^{-1} e o limite de detecção foi de 0,04 μmolL^{-1} . Estudos com interferentes comumente presentes em águas naturais, tais como Na^+ , NH_4^+ , Cl^- , SO_3^{2-} , SO_4^{2-} e H_2PO_4^- , mostraram que o sensor desenvolvido é seletivo em relação a esses íons e que portanto eles não interferem nos resultados obtidos. Em trabalho mais recente, Santos *et al.*³⁸ determinaram NO_2^- em amostras de salsicha e vegetais em conserva utilizando um sensor muito semelhante ao descrito anteriormente, porém na modificação foi utilizado um complexo de cobre - ftalocianina tetrasulfonada de cobre (CuTSPc) - ao invés do complexo de cobalto (CoTSPc). O limite de detecção obtido foi de 0,1 μmolL^{-1} .

Um eletrodo de filme de cobalto, obtido por meio da eletrodeposição de cobalto sobre um substrato de cobre, foi utilizado por Soropogui, Sigaud e Vittori³⁹ para determinação de NO_2^- em águas naturais. O filme de cobalto foi depositado

sobre o eletrodo de cobre imerso em uma solução contendo $0,05 \text{ molL}^{-1}$ de $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (preparada em $0,01 \text{ molL}^{-1}$ de H_3BO_3) após polarização em um potencial de $-0,966 \text{ V}$ por 10 min, utilizando cronoamperometria. De acordo com os autores o método proposto permitiu determinar NO_2^- em baixas concentrações, obtendo assim um limite de detecção de $0,2 \text{ }\mu\text{molL}^{-1}$.

A utilização de voltametria de onda quadrada associada ao uso de ultrassom na determinação eletroanalítica de NO_2^- sobre um eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) foi proposto por Oliveira *et al.*⁴⁰ O potencial de pico para a oxidação dos íons NO_2^- sobre o DDB em tampão Britton-Robinson (pH= 2,0) foi em $1,0 \text{ V}$ (*versus* Ag/AgCl). A resposta voltamétrica para a oxidação do NO_2^- na presença do ultrasom foi cinco vezes maior quando comparada à mesma determinação na ausência do ultrasom. O limite de detecção foi $0,782 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$ de NO_2^- (utilizando o ultrasom) e $6,44 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$ de NO_2^- (sem utilização do ultrasom), o que corresponde a $1,70 \times 10^{-8} \text{ molL}^{-1}$ e $1,40 \times 10^{-7} \text{ molL}^{-1}$ respectivamente.

1.3.2 Métodos para determinação de NO_3^-

Alguns trabalhos na literatura mostram a eletro-redução de nitrato em eletrodos metálicos tais como a Pt, Cu, Bi, entre outros^{41,42,43}. Entretanto em muitos trabalhos publicados, os eletrodos empregados são modificados, podendo citar como exemplo os eletrodos bimetálicos^{44,45}. Nesse caso a superfície de um metal (substrato) é modificada pela deposição de outro metal a fim de melhorar a atividade catalítica e a seletividade na redução dos íons NO_3^- . Algumas vezes esse tipo de modificação é realizada *in situ* simplificando assim o preparo da superfície catalítica. Soropogui, Sigaud e Vittori⁴⁶ estudaram a redução de NO_3^- sobre eletrodos de paládio (Pd), cobre (Cu) e eletrodo de paládio com cobre eletrodepositado (Pd/Cu) para utilização no monitoramento *in situ* desses íons em águas naturais. Uma boa linearidade na resposta de corrente em relação ao aumento da concentração de NO_3^- no meio foi observada em um potencial de $-1,5 \text{ V}$, utilizando os três eletrodos. Segundo os autores, os eletrodos de Pd, Cu e Pd/Cu foram capazes de detectar uma variação de 2 ppm de NO_3^- em amostras de águas naturais durante os testes

de monitoramento. Contudo o eletrodo de paládio (Pd) foi apontado como o melhor eletrodo para o objetivo proposto, pois além de ser capaz de detectar NO_3^- apresentando uma resposta linear, este eletrodo não apresentou qualquer influência com relação aos interferentes estudados (SO_4^{2-} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , NH_4^+ e Cl^-) e ainda não requer manutenção constante, uma vez que os eletrodos de Pd não são facilmente oxidados.

Paixão, Cardoso e Bertotti ⁴⁷, propuseram um novo método para determinar NO_3^- em água mineral e salsichas utilizando um eletrodo de cobre (Cu). Segundo os autores o diferencial do método está na renovação contínua da superfície eletródica utilizando um pré-tratamento que permite que cada determinação seja realizada em uma superfície nova e reprodutível. Essa superfície renovável foi obtida através da dissolução anódica do eletrodo de Cu ($\varnothing = 3 \text{ mm}$) aplicando um potencial de +0,50 V por 10 s, seguido de subsequente redeposição dos íons cobre que permaneceram na camada de difusão ao aplicar um potencial de -0,25 V por 15 s. Uma curva analítica para redução de NO_3^- sobre o eletrodo modificado pelo método proposto foi construída e boa linearidade entre a corrente de pico e a concentração de NO_3^- (intervalo de concentração: 0,1 a 2,5 mmolL^{-1}) foi observada. O limite de detecção e de quantificação do método foi estimado em 11,6 e 38,7 μmolL^{-1} , respectivamente. Em trabalho mais recente, Gamboa *et al.* ⁴⁸ utilizaram o eletrodo de cobre modificado pelo método de dissolução/redeposição de cobre decrito acima como detector amperométrico em um sistema de análise por injeção de fluxo para determinação de NO_3^- em amostras de água mineral e refrigerante. O método apresentou linearidade na faixa de concentração estudada (0,1 a 2,5 mmolL^{-1} de NO_3^-) com limite de detecção de 4,2 μmolL^{-1} .

1.3.3 Determinação simultânea NO_2^- e NO_3^-

A maioria dos métodos para determinação simultânea de nitrato e nitrito utiliza técnicas como espectrofotometria, cromatografia, entre outras. Contudo há poucos relatos na literatura de métodos utilizando técnicas eletroanalíticas para determinar NO_3^- e NO_2^- simultaneamente e/ou sequencialmente.

Um método voltamétrico para determinar simultaneamente íons NO_3^- e NO_2^- foi desenvolvido por Kaminskaya, Zakharova e Slepchenko⁴⁹. Primeiramente, o NO_2^- foi determinado sobre um eletrodo de grafite após polarização anódica em meio de Na_2SO_4 . Em seguida, foi adicionado ácido ascórbico e CuSO_4 a célula eletroquímica e o pH foi então ajustado com H_2SO_4 . O cobre foi então depositado sobre o eletrodo de grafite *in situ* e, sobre essa superfície modificada o NO_3^- foi determinado em um potencial de -0,5 V. O cobre foi redissolvido posteriormente para a solução. O método mostrou resposta linear para NO_2^- numa faixa de concentração de 0,2 a 10,0 mgL^{-1} e para o NO_3^- 0,5 a 5,0 mgL^{-1} . Segundo os autores os íons NO_3^- não interferem na determinação de NO_2^- . O método foi aplicado em amostras de águas naturais e outros íons comumente encontrados em águas tais como Ca^{2+} , Al^{3+} , K^+ e Na^+ não interferiram na determinação. Os autores relataram ainda que o método é simples e de rápida execução, uma vez que a análise em triplicata de uma amostra de água não leva mais que uma hora.

Esta revisão bibliográfica mostra as vantagens de aplicação de técnicas eletroanalíticas na determinação de NO_2^- e NO_3^- , destacando principalmente a possibilidade de determinação em diversas matrizes (águas naturais, alimentos industrializados, etc.), a aplicação em análises de campo, a baixa sensibilidade a interferentes e os baixos limites de detecção obtidos. Conforme foi apresentado, vários tipos de eletrodos, modificados ou não, podem ser utilizados nessas determinações. Entretanto os eletrodos modificados são muitas vezes empregados visando melhorar a atividade catalítica e seletividade da superfície eletródica.

1.4 Modificação da superfície eletródica pela deposição em regime de subtensão (DRS)

O principal objetivo de se modificar uma superfície eletródica é alterar sua reatividade e seletividade, favorecendo assim, a obtenção de eletrodos com propriedades diferenciadas para aplicações específicas.

Uma maneira bastante adequada de se obter uma modificação controlada da natureza dos sítios ativos da superfície de um eletrodo é por meio da deposição em regime de subtensão (DRS) (do inglês *Underpotential Deposition* (UPD))⁵⁰.

O fenômeno da DRS já é conhecido e estudado há muitos anos^{51,52,53} e está relacionado com a possibilidade de se depositar uma monocamada de um ad-átomo originado de um íon metálico com uma carga z^+ (M^{z+}), sobre uma superfície (substrato) distinta do metal que se deposita⁵⁴. Isso ocorre em uma região de potenciais mais positiva do que o potencial de equilíbrio (ou de Nernst) do par M^{z+}/M . O motivo desta deposição diferenciada é a quantidade extra de energia envolvida na ligação de um átomo metálico a um substrato diferente ($S-M_{ads}$), em relação à deposição do mesmo átomo em um substrato de igual natureza ($M-M_{ads}$). Esta energia de ligação é independente do equilíbrio na interface metal-eletrólito e, consequentemente, do potencial do eletrodo no qual a deposição ocorre^{50,52}. Na Figura 1 é mostrado um esquema ilustrativo da deposição de um ad-átomo de um íon metálico no potencial de Nernst (a) e a deposição em regime de subtensão (b).

Figura 1 – (a) deposição eletroquímica do metal (**A**) no potencial de Nernst. (b) deposição de uma camada do metal (**A**) sobre o substrato (**S**) que é um metal diferente do metal (**A**). Se na situação (b) o metal (**A**) deposita em um potencial mais positivo do que o potencial reversível de Nernst, ocorre a deposição em regime de subtensão. A camada depositada em subtensão é estável no intervalo de potenciais entre E_{DRS} e E_{Nernst} .⁵⁴

Pela possibilidade única de fazer com que a superfície eletródica seja modificada de maneira controlada pela DRS, as aplicações deste processo são numerosas, podendo ser utilizada para catalisar a reação de redução de oxigênio⁵⁵ no estudo de oxidação eletroquímica de pequenas moléculas orgânicas⁵⁶, na análise

de traços (por exemplo, determinação de Pb)⁵⁷, no estudo da redução de íons nitrato^{58,59}, dentre outros.

A DRS pode ser realizada em eletrodos de tamanhos variados, uma vez que esse tipo de modificação não depende da área geométrica da superfície a ser modificada. Pode, por exemplo, ser utilizada para modificar a superfície de ultramicroeletrodos e obter um eletrodo seletivo e ainda com as propriedades únicas e características desses eletrodos de tamanhos tão pequenos.

1.5 Ultramicroeletrodos

Um ultramicroeletrodo (UME) é um eletrodo que apresenta ao menos uma das suas dimensões da ordem de micrometros, sendo o transporte de massa controlado predominantemente por difusão esférica semi-infinita^{60,61}.

As propriedades vantajosas dos UMEs são conhecidas há muitos anos, porém somente a partir dos anos 70, as pesquisas nessa área se intensificaram⁶⁰. Devido a algumas características peculiares desses eletrodos, áreas da eletroanalítica e da cinética eletródica, antes experimentalmente inacessíveis com a utilização de eletrodos convencionais, tornaram-se objeto de numerosos estudos, tais como: análise *in vivo*⁶², *in natura* ou em soluções sem eletrólito suporte^{30,63}, voltametria em altas velocidades de varredura e em eletrólitos pouco condutores⁶⁴.

As dimensões de um ultramicroeletrodo são da mesma ordem que as da respectiva camada de difusão e isso lhes confere um comportamento eletroquímico peculiar e propriedades vantajosas frente a eletrodos convencionais, tais como: a) alta velocidade no transporte de massa (facilitando o estudo de reações eletródicas rápidas sob condição de estado estacionário); baixa sensibilidade à queda ôhmica (permitindo a realização de estudos eletroquímicos na ausência de eletrólito suporte e em meios com elevada resistência) e baixa influência da corrente capacitiva (possibilitando estudos voltamétrico em altas velocidades de varredura sem ocorrência de distorção do perfil voltamétrico)^{60,65,66}.

A utilização de técnicas eletroanalíticas associadas ao uso de um ultramicroeletrodo, por exemplo, é uma alternativa interessante, pois se tem ainda

vantagens como: a possibilidade de se trabalhar com um sistema eletroquímico mais simples, com a utilização de apenas dois eletrodos; a miniaturização do sistema facilitando a aplicação em análises de campo; entre outros.

1.6 Objetivo

Diante da importância de conhecer e controlar as concentrações de NO_3^- e NO_2^- no meio ambiente e da escassez de trabalhos empregando técnicas eletroanalíticas na determinação simultânea e/ou sequencial de NO_3^- e NO_2^- , este trabalho teve como objetivo desenvolver um método eletroanalítico para determinação sequencial de íons nitrito e nitrato utilizando um ultramicroeletrodo de ouro modificado *in situ* com ad-átomos de cádmio depositado em DRS.

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Reagentes

Os reagentes utilizados nesse trabalho foram de pureza analítica (P.A) .Na Tabela 2 encontram-se listados todos os reagentes utilizados, a procedência e pureza dos mesmos.

Tabela 2 – Procedência e pureza dos reagentes utilizados

Reagente	Procedência	Pureza (%)
Ácido clorídrico (HCl)	Merck [®]	37,0
Ácido fosfórico (H ₃ PO ₄)	Merck [®]	85,0
Ácido perclórico (HClO ₄)	Merck [®]	70,0
Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄)	J. T Baker [®]	96,4
Cloreto de potássio (KCl)	J. T Baker [®]	99,8
Fosfato de sódio dibásico (Na ₂ HPO ₄)	J. T Baker [®]	99,6
Fosfato de sódio monobásico (NaH ₂ PO ₄)	Mallinckrodt [®]	98,0
Hexacianoferrato (III) de potássio (K ₃ [Fe(CN) ₆])	J. T Baker [®]	99,4
Nitrato de prata (AgNO ₃)	Merck [®]	99,8
Nitrato de sódio (NaNO ₃)	Sigma Aldrich [®]	99,0
Nitrito de sódio (NaNO ₂)	Sigma Aldrich [®]	99,0
Perclorato de sódio (NaClO ₄)	Sigma Aldrich [®]	98,0
Sulfato de cádmio octahidratado (CdSO ₄ .8H ₂ O)	Merck [®]	95,0
Sulfato de sódio (Na ₂ SO ₄)	Merck [®]	99,0

2.2 Soluções

Todas as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura (resistividade 18,2 MΩ) proveniente de um sistema de purificação Milli-Q da Millipore Inc.

Foram preparadas soluções estoque de H_2SO_4 , NaNO_3 , NaNO_2 , NaClO_4 , $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, e Na_2SO_4 . As demais soluções utilizadas foram obtidas pela diluição das soluções estoque correspondente. Foram preparadas também as seguintes soluções tampão: tampão fosfato e tampão Britton-Robinson (BR).

Na Tabela 3 encontra-se listados as soluções estoque preparadas, as respectivas concentrações e valores de pH.

Tabela 3 – Concentrações e pH das soluções

Soluções	Concentração (molL^{-1})	pH
Ácido perclórico (HClO_4)	1,00	—
Ácido sulfúrico (H_2SO_4)	1,00	—
Nitrato de sódio (NaNO_3^-)	$1,0 \times 10^{-2}$	—
Nitrito de sódio (NaNO_2^-)	$1,0 \times 10^{-2}$	—
Perclorato de Sódio (NaClO_4)	0,10	—
Sulfato de cádmio octahidratado ($\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$)	$1,0 \times 10^{-2}$	—
Sulfato de sódio (Na_2SO_4)	0,10	—
Tampão Britton-Robinson	0,10	6,60
Tampão Fosfato	0,10	6,60

2.3 Instrumentação

Os ensaios eletroquímicos foram realizados em um potenciostato/galvanostato Autolab[®] modelo PGSTAT 30, interfaciado a um microcomputador, dotado com o programa GPES[®] (*General Purpose Electrochemical System*), versão 4.9 da Eco Chemie B. V., para aquisição dos dados experimentais e também em um potenciostato/galvanostato EG & G PARC modelo 283 acoplado a um microcomputador dotado com o software M283 da PARC para aquisição dos dados.

Os dados obtidos foram tratados e disponibilizados na forma de gráficos utilizando o programa Origin 7.5 da Microcal[®].

As pesagens foram feitas em balança analítica Mettler Toledo da Micronal S/A modelo AL 204 e os valores de pH das soluções foram obtidos em um pH-metro Qualxtron modelo 8010.

2.4 Célula Eletroquímica e eletrodos

As medidas eletroquímicas foram realizadas em uma cela de compartimento único com volume total de 30 mL, confeccionada em vidro de borosilicato, provida de tampa de Teflon[®] contendo orifícios para desoxigenação da amostra com N_{2(g)} e também para fixação dos eletrodos.

O sistema de eletrodos empregado nos ensaios eletroquímicos foi composto por: um eletrodo de platina (utilizado como eletrodo auxiliar), um ultramicroeletrodo (UME) de ouro (Au) com 25 µm de diâmetro (eletrodo de trabalho) e um eletrodo de referência Ag/AgCl_(s) (KCl 3 molL⁻¹).

Na Figura 2 é mostrado um esquema da célula eletroquímica utilizada.

Figura 2 – Representação esquemática da célula eletroquímica utilizada

2.5 Metodologia

2.5.1 Confeção e caracterização do ultramicroeletrodo de ouro

Os ultramicroeletrodos (UMEs) utilizados nesse trabalho foram confeccionados no Grupo de Materiais Eletroquímicos e Métodos Eletroanalíticos (GMEME) do Instituto de Química de São Carlos - SP.

Eles foram obtidos pelo embutimento de um micro fio de ouro com diâmetro de 25 μm (marca: Alpha Aesar) dentro de um tubo de vidro de borosilicato. A junção do fio de ouro com o contato externo (fio de cobre) foi realizada utilizando solda de ponto⁶⁷.

Após a soldagem, o micro fio foi posicionado dentro do tubo de vidro, o qual foi preenchido com resina epóxi incolor. A resina ficou secando durante 24 horas. Após esse período foi feito um corte perpendicular ao eixo do micro fio expondo então a

superfície eletródica. Na Figura 3 é apresentado o esquema de um UME de Au embutido em resina epóxi.

Figura 3 – Representação esquemática de um UME de Au embutido em resina.

Para atestar o perfeito funcionamento dos ultramicroeletrodos confeccionados, primeiramente a superfície eletródica foi submetida a um polimento mecânico, utilizando lixa com as seguintes granulações: 600, 1200 e 2000. Após o polimento os UMEs foram enxaguados abundantemente com água ultrapura. Em seguida, foram submetidos a condicionamento eletroquímico em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ (previamente desaerada por 5 minutos) por meio de experimentos de voltametria cíclica variando o potencial entre $E_i = 0,0 \text{ V}$, $E_{\text{inversão}} = 1,7 \text{ V}$ e $E_f = 0,0 \text{ V}$ durante vários ciclos a $1,0 \text{ V s}^{-1}$, a $0,5 \text{ V s}^{-1}$ e por último a $0,1 \text{ V s}^{-1}$. A solução foi trocada e desaerada entre cada mudança na velocidade de varredura.

A caracterização dos UMEs confeccionados foi demonstrada por meio de experimentos de voltametria cíclica utilizando uma solução contendo o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$, para obtenção de uma resposta voltamétrica característica dos ultramicroeletrodos, ou seja, uma curva sigmóide com a corrente limite de difusão proporcional à concentração dos íons em solução, em diferentes velocidades de varredura⁶⁷.

2.5.2 Limpeza e condicionamento da superfície do ultramicroeletrodo de ouro antes dos ensaios voltamétricos

Antes de cada série de medida, o UME de ouro a ser utilizado, foi polido com lixas de granulações 1200 e 2000, sendo em seguida enxaguado abundantemente com água ultrapura. Finalmente o UME foi submetido a um condicionamento eletroquímico em H_2SO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ através de experimentos de voltametria cíclica variando o potencial entre $E_i = 0,0 \text{ V}$, $E_{\text{inversão}} = 1,7 \text{ V}$ e $E_f = 0,0 \text{ V}$ durante 100 ciclos a $1,0 \text{ V s}^{-1}$, 50 ciclos a $0,5 \text{ V s}^{-1}$ e por último 10 ciclos a $0,1 \text{ V s}^{-1}$, sendo a solução trocada e desaerada por 5 minutos entre cada mudança na velocidade de varredura.

2.5.3 Estudos da oxidação eletroquímica dos íons NO_2^- sobre o ultramicroeletrodo de ouro

Primeiramente, foi realizado estudos do comportamento eletroquímico dos íons NO_2^- sobre o ultramicroeletrodo de ouro (não modificado) em diferentes eletrólitos: H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$; NaClO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$; Na_2SO_4 $0,05 \text{ molL}^{-1}$; NaClO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ ($\text{pH}=3,3$); Na_2SO_4 $0,05 \text{ molL}^{-1}$ + H_2SO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ ($\text{pH}=3,1$); tampão fosfato ($\text{pH}=6,60$), e tampão Britton-Robinson-(BR) ($\text{pH}=6,60$). Esses estudos foram realizados a fim de escolher o eletrólito suporte e as condições de análise mais adequadas para os estudos de oxidação dos íons NO_2^- . Nesses ensaios foram empregadas as técnicas de voltametria de varredura linear, voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial.

Foi também realizada uma eletrólise, por meio de um ensaio cronoamperométrico, para calcular o número de elétrons transferidos na reação de oxidação do NO_2^- em meio ácido (H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$). Nesse caso o eletrodo de trabalho utilizado foi um eletrodo de Au com área geométrica igual a 1 cm^2 .

Para a determinação quantitativa dos íons NO_2^- , a técnica empregada foi a voltametria de pulso diferencial, sendo necessário para isso, um estudo prévio de

parâmetros como: amplitude de potencial de pulso aplicado (ΔE), tempo de duração do pulso (t_p), intervalo de pulso (τ) e velocidade de varredura (v). Esses estudos foram realizados a fim de obter voltamogramas com uma boa relação entre resolução e sensibilidade.

Após a otimização dos parâmetros que envolvem a voltametria de pulso diferencial e demais condições experimentais, foi realizado um ensaio voltamétrico a fim de se observar o efeito da variação da corrente para oxidação eletroquímica do NO_2^- sobre o UME de Au, após adições sucessivas de diferentes concentrações de NO_2^- à célula eletroquímica contendo 10,0 mL de NaClO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ (pH=3,3). Relacionando a corrente de pico (I_p) vs. concentração de NO_2^- na solução, foi possível construir a curva analítica.

Foi também realizada a determinação dos íons NO_2^- em uma amostra de água de rio coletada no município de São Carlos. A amostra foi armazenada em frasco de polietileno sob refrigeração. Não foi necessário realizar etapas de pré-tratamento na amostra antes de utilizá-la nos ensaios eletroquímicos.

2.5.4 Estudos da redução dos íons NO_3^- sobre o ultramicroeletrodo de ouro modificado com cádmio depositado em regime de subtensão (DRS)

Inicialmente, foi realizada uma DRS de Cd sobre o UME de Au em NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ (pH = 3,3) utilizando a voltametria cíclica. Por meio do voltamograma obtido foi possível analisar o perfil voltamétrico do UME de Au após a modificação de sua superfície e verificar então, os potenciais onde ocorrem a deposição e a oxidação do cádmio.

Foi também realizado um estudo para verificar se a deposição do cádmio sobre esse ultramicroeletrodo, poderia ser influenciada pela variação de tempo de polarização do eletrodo no potencial de deposição. Para isso, o eletrodo foi polarizado em -0,20 V, variando o tempo de deposição, e em seguida o potencial foi varrido de -0,20 V a 0,06 V para observar a variação na corrente de oxidação do Cd decorrente de sua remoção da superfície do UME de Au.

Ensaio utilizando a técnica de voltametria cíclica foram realizados para mostrar o efeito catalítico do cádmio na redução dos íons NO_3^- .

Já a determinação quantitativa dos íons NO_3^- , foi também realizada por voltametria de pulso diferencial. Para isso o UME de Au foi imerso em uma solução contendo 10,0 mL do eletrólito e $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Cd^{2+} . O UME foi então polarizado em -0,20 V por 5 s para deposição do cádmio, e em seguida, durante uma varredura no sentido negativo iniciando em $E_i = -0,20 \text{ V}$ até $E_f = -0,55 \text{ V}$, os íons NO_3^- foram reduzidos. O efeito da variação da corrente para redução do NO_3^- sobre o UME de Au modificado com DRS de Cd, após adições sucessivas de diferentes concentrações de NO_3^- à cela eletroquímica foi observado. A partir dos valores obtidos de corrente de pico (I_p) vs. concentração de NO_3^- na solução, foi possível construir a curva analítica.

Os parâmetros: amplitude de potencial de pulso aplicado (ΔE), tempo de duração do pulso (t_p), intervalo de pulso (τ) e velocidade de varredura (v), também foram previamente otimizados.

2.5.5 Determinação sequencial dos íons NO_3^- e NO_2^- sobre o ultramicroeletrodo de ouro modificado in situ com cádmio depositado em DRS

Os estudos iniciais para determinação sequencial dos íons NO_2^- e NO_3^- foram conduzidos a fim de verificar a influência do NO_2^- na redução do NO_3^- (vice-versa) e também a possibilidade de detecção do NO_2^- como produto formado da redução do NO_3^- nas condições experimentais estudadas (eletrólito: NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 3,3). Para esses estudos utilizou-se a voltametria cíclica.

Para determinação quantitativa sequencial dos íons NO_2^- e NO_3^- , a técnica empregada foi a voltametria de pulso diferencial. Para isso o UME de Au foi imerso em uma solução contendo 10,0 mL do eletrólito e $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Cd^{2+} . Primeiramente, o UME de Au foi polarizado em -0,20 V por 5 s para deposição do cádmio, e em seguida, durante uma varredura no sentido negativo iniciando em $E_i = -0,20 \text{ V}$ até $E_f = -0,55 \text{ V}$, os íons NO_3^- foram reduzidos sobre a superfície modificada. Terminada a varredura no sentido negativo, o eletrodo foi então polarizado a 0,5 V

por 5 s para remoção da monocamada de Cd e, iniciou-se em seguida a varredura no sentido positivo ($E_i = 0,50$ V e $E_f = 0,95$ V). Nesse sentido os íons NO_2^- foram então oxidados sobre a superfície do UME de Au não modificada.

Após este ciclo, as concentrações de NO_2^- e NO_3^- na célula eletroquímica foram variadas e a seqüência de procedimentos descritos acima foi novamente executada.

A partir dos valores obtidos de I_p vs. concentração de NO_3^- (na presença do NO_2^-) e I_p vs. concentração de NO_2^- (na presença do NO_3^-), foi possível construir as curvas analíticas para essa determinação sequencial.

2.5.6 Tratamento estatístico dos dados analíticos

Os cálculos de limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), assim como todo tratamento estatístico dos dados analíticos desse trabalho foram realizados com base em procedimentos estatísticos descrito por Miller e Miller⁶⁸. Procedimentos estes, que também foram utilizados anteriormente por Silva⁶⁹ em um estudo estatístico do desempenho analítico de técnicas eletroquímicas para a redução do herbicida paraquat em UME-Au.

A correlação linear entre o sinal analítico obtido (nesse caso I_p), e a concentração da espécie estudada (nesse caso, concentração de NO_2^- e NO_3^- na solução), foi estimada a partir do cálculo do coeficiente de correlação produto-momento (r), também conhecido apenas como coeficiente de correlação. O r , é dado pela Equação 1:

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}} \quad \text{Equação 1}$$

O $\bar{x}$ e o $\bar{y}$ são as médias aritméticas de todos os valores de x e de y , respectivamente. A posição $(\bar{x}, \bar{y})$ define a centróide da reta.

Para obter a curva de regressão de y em x (também conhecida como equação da reta), que indica como y varia quando x é colocado nos valores escolhidos, e que é dada por: $y = a + bx$, foi necessário calcular o valor de intercepto no eixo y (**a**) e a tangente da curva de regressão (**b**). Os valores de **b** e de **a** foram calculados utilizando as Equações 2 e 3, respectivamente:

$$b = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad \text{Equação 2}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad \text{Equação 3}$$

Foram calculados também, o desvio padrão para a tangente (S_b) e para o intercepto (S_a). As equações empregadas nesses cálculos são as Equações 4 e 5, respectivamente:

$$s_b = \frac{s_{y/x}}{\left\{ \sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right\}^{\frac{1}{2}}} \quad \text{Equação 4}$$

$$s_a = s_{y/x} \left\{ \frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{\frac{1}{2}} \quad \text{Equação 5}$$

O parâmetro estatístico $S_{y/x}$ que aparece nas equações acima, é o desvio padrão estimado de cada ponto do gráfico (incluindo o ponto do 'branco'), com uma variação de erros normalmente distribuídas apenas na direção y (os procedimentos

descritos, assumem que todos os erros estão na direção (y) e que as concentrações padrão (x), estão livres de erro). O $S_{y/x}$ foi calculado por meio da seguinte equação:

$$s_{y/x} = \left\{ \frac{\sum_i (y_i - \hat{y})^2}{n-2} \right\}^{\frac{1}{2}} \quad \text{Equação 6}$$

A Equação 6 utiliza os valores residuais de y ($\hat{y}$), que são os pontos na curva de regressão calculada que correspondem aos valores individuais de x , isso é, os valores ajustados de y . Esses valores são facilmente calculados com a equação da reta.

A partir dos valores obtidos para (S_b) e para (S_a), foram estimados os limites de confiança para a tangente (**b**) e o intercepto (**a**). Os limites de confiança delimitam o intervalo de confiança, que trata-se de um intervalo dentro do qual se pode afirmar, com certo grau de confiança, que o valor verdadeiro da propriedade de interesse esteja contido. Os limites de confiança para **b** e para **a** são dados por:

$$b \pm t_{(n-2)} \times S_b \quad \text{Equação 7}$$

$$a \pm t_{(n-2)} \times S_a \quad \text{Equação 8}$$

O t é o parâmetro de Student (valor tabelado) e $(n-2)$ é o grau de liberdade, sendo n o número de experimentos realizados. Para os cálculos realizados nesse trabalho, o valor de t foi tomado no nível de confiança de 95 %.

Para o cálculo do limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram utilizadas as Equações 9 e 10, respectivamente. O LD, pode ser descrito como aquela concentração de um analito que dá um sinal (y) igual ao sinal do 'branco' ou da 'linha de base' (y_B), mais 3 vezes o desvio padrão do branco (S_B) e o LQ é o menor limite para uma medida quantitativa precisa⁶⁸.

$$LD = y_B + 3 S_B \quad \text{Equação 9}$$

$$LQ = y_B + 10 S_B \quad \text{Equação 10}$$

Nas equações acima, y_B é o valor do sinal do 'branco' e S_B é o desvio padrão do 'branco'. O valor do intercepto da equação da reta (a), pode ser utilizado para estimar o valor de y_B , o que deve ser uma estimativa mais precisa do que o único valor medido do 'branco'. Já o S_B pode ser estimado pelo desvio padrão do intercepto (S_a).

Os limites de confiança para LD e para LQ são dados por:

$$LD \pm t_{(n-2)} \times S_{LD} \quad \text{Equação 11}$$

$$LQ \pm t_{(n-2)} \times S_{LQ} \quad \text{Equação 12}$$

Os valores de S_{LD} e S_{LQ} são calculados a partir de S_a e S_b , conforme a Equação 13, abaixo:

$$S_{LD} = S_{LQ} = (S_a^2 + S_b^2)^{1/2} \quad \text{Equação 13}$$

Por fim, foram obtidas a reprodutibilidade e a repetibilidade das medidas. A reprodutibilidade está associada a precisão da medida, ou seja, ao grau de dispersão dos valores medidos (erros aleatórios), enquanto a repetibilidade está associada a exatidão da medida, ou seja, os erros sistemáticos. Esses dois parâmetros foram obtidos por meio do cálculo do coeficiente de variação (CV), também conhecido como desvio padrão relativo (RDS), que é dado pela Equação 14:

$$RSD = \frac{100s}{\bar{X}} \quad \text{Equação 14}$$

O s (desvio padrão) e o $\bar{x}$ (valor médio das medidas) são dados por:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_j (X_j - \bar{X})^2}{n-1}} \quad \text{Equação 15}$$

$$\bar{X} = \frac{\sum_j X_j}{n} \quad \text{Equação 16}$$

Para determinar a reprodutibilidade, foram tomadas 3 medidas, obtidas a partir de 3 ensaios realizados em dias diferentes, porém, com as mesmas condições de análise. Já para a repetibilidade, foram tomadas 10 medidas sucessivas, realizadas na mesma solução e no mesmo dia.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do Ultramicroeletrodo de Ouro

Antes da utilização nos estudos eletroanalíticos, os UMEs de ouro confeccionados foram submetidos a polimento mecânico seguido de tratamento eletroquímico em H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$ e caracterização em uma solução contendo $6,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ preparada em meio de H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$ (conforme metodologia descrita no item 2.5.1).

O voltamograma cíclico do UME de ouro em H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$ é apresentado na Figura 4 e mostra o perfil característico desse UME em meio ácido, onde pode ser observada a formação de óxidos superficiais entre os potenciais 1,1 V e 1,3 V, e a posterior redução desses óxidos com um máximo de corrente em aproximadamente 0,83 V.

Figura 4 – Voltamograma cíclico de estado estacionário para o UME de Au ($\varnothing=25 \mu\text{m}$) em H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$ obtido após sucessivos ciclos de potenciais. $E_i = 0,0 \text{ V}$; $E_{\text{inv}} = 1,7 \text{ V}$ e $E_f = 0,0 \text{ V}$. Velocidade de varredura $0,10 \text{ V s}^{-1}$.

Nas Figuras 5a e 5b estão apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos para o UME de Au em uma solução contendo o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ preparada em meio ácido (H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$).

Figura 5 – (a) Voltamograma cíclico de estado estacionário para o UME de Au ($\varnothing=25 \mu\text{m}$) em uma solução contendo $6,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ preparada em H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$. Velocidade de varredura de $0,010 \text{ V s}^{-1}$. (b) Mudança no perfil voltamétrico com a variação da velocidade de varredura: (---) $0,10 \text{ V s}^{-1}$ e (---) $1,0 \text{ V s}^{-1}$.

Em baixas velocidades de varredura o voltamograma obtido apresenta uma forma sigmoidal característica do estado estacionário (Figura 5a), onde a corrente difusional é limitada pela difusão esférica semi-infinita das espécies eletroativas do seio da solução até a superfície eletródica. A partir de velocidades mais altas observa-se a mudança no perfil voltamétrico do UME (Figura 5b), que tende a um comportamento semelhante à de um eletrodo de tamanho convencional (com tamanhos da ordem de milímetros). Esse comportamento pode ser melhor explicado por meio da equação abaixo⁷⁰:

$$I_d = \frac{nFAD_0^{1/2}C_0^*}{\pi^{1/2}t^{1/2}} + \frac{nFAD_0C_0^*}{r_0} \quad \text{Equação 17}$$

Esta equação escrita somente em função do primeiro termo da direita da equação, é conhecida como equação de Cottrell e descreve como a corrente limitada por difusão varia com o tempo após a aplicação de um potencial a um eletrodo planar desde um valor onde não ocorre o processo faradaico, até um potencial onde todas as espécies eletroativas que alcançam o eletrodo reagem imediatamente.

No caso de um eletrodo esférico, deve-se considerar um campo de difusão esférico, então é necessária uma correção, para a equação de Cottrell satisfazer essa condição. Isto é proporcionado pela inclusão do segundo termo apresentado na Equação 17.

Num experimento utilizando um ultramicroeletrodo e baixas velocidades, ou seja, tempo longos, a condição de estado estacionário é facilmente alcançada, uma vez que a espessura da camada de difusão atinge valores muito maiores que o raio (r_0) do eletrodo. Nesse caso predomina a difusão esférica, portanto, o segundo termo da equação acima se torna importante. Porém para velocidades altas, ou seja, tempos curtos, a espessura da camada de difusão é pequena comparada com o raio do eletrodo (r_0), logo, a corrente, mesmo nos UMEs, segue a equação de Cottrell e uma difusão linear pode ser aplicada. Assim o segundo termo da equação acima pode ser desprezado. Como a difusão nesse caso tende a ser linear, o perfil voltamétrico tende a um comportamento semelhante a eletrodos com áreas maiores^{61,70}.

3.2 Estudo da oxidação eletroquímica do NO_2^- sobre UME de Au

3.2.1 Escolha do eletrólito suporte

A utilização de um UME em eletroanalítica possibilita a realização de medidas na ausência de eletrólito suporte, principalmente devido às pequenas correntes que fluem por ele. No entanto, neste trabalho optou-se pela utilização de eletrólito suporte nos estudos iniciais realizados em água ultrapura, uma vez que este pode promover uma melhora no perfil dos voltamogramas obtidos. Entretanto, para aplicação do método nas amostras de água de rio, foram obtidos voltamogramas com e sem a presença de eletrólito.

Assim, os experimentos iniciais foram realizados a fim de avaliar o comportamento do NO_2^- no meio reacional e então escolher o melhor eletrólito para o estudo da oxidação desse íon sobre o UME de Au.

O primeiro eletrólito estudado foi o H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$. Na Figura 6 é apresentado o voltamograma cíclico para o UME de Au em H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$ e a mudança no perfil voltamétrico após a adição de uma solução de NaNO_2 a célula eletroquímica.

Figura 6 – Voltamograma cíclico do UME de Au ($\varnothing = 10 \mu\text{m}$) em H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$ na ausência (---) e na presença (---) de $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ de NO_2^- . $E_i = 0,0 \text{ V}$; $E_{\text{inv}} = 1,7 \text{ V}$ e $E_f = 0,0 \text{ V}$. Velocidade de varredura $0,10 \text{ V s}^{-1}$.

Uma resposta voltamétrica bem definida pode ser observada com o surgimento de uma onda a partir do potencial 0,85 V, correspondente à oxidação eletroquímica do NO_2^- em meio ácido.

Segundo Alves⁷¹, a oxidação do NO_2^- em meio ácido é explicada por um mecanismo do tipo DISP2, onde a primeira etapa corresponde a uma transferência eletrônica (Equação 19)^{71,72} - que se deve ao ácido nitroso (HNO_2) formado no meio ácido (Equação 18)^{71,72} - seguida por uma reação de dimerização (Equação 20)⁷¹ e finalmente, uma reação de desproporcionamento devido a reação do dímero formado (N_2O_4) com o NO_2 (Equações 21 e 22)⁷¹.

ou

Com o intuito de calcular o número de elétrons transferidos na primeira etapa da reação (Equação 19) e confirmar o mecanismo exposto acima, foi realizada uma eletrólise em solução contendo NO_2^- preparada em meio ácido (H_2SO_4 0,10 molL⁻¹).

A eletrólise foi realizada por meio de um ensaio cronoamperométrico, que trata-se do estudo da variação da resposta da corrente, como função do tempo, ao se aplicar um potencial constante no eletrodo de trabalho⁶¹. Esse ensaio foi realizado partindo-se de um potencial inicial (E_i) igual a 0,73 V, seguido pela aplicação de um salto de potencial (E_f) a 1,06 V para oxidação do NO_2^- , durante um tempo de 15 minutos. A variação do número de moles de NO_2^- durante a eletrólise ($\Delta N_{\text{eletrólise}}$), foi calculada relacionando a corrente limite de oxidação do NO_2^- com o número de moles de NO_2^- presentes na solução antes e após a eletrólise, sendo que essas correntes limite foram obtidas por voltametria de varredura linear partindo de um $E_i = 0,68$ V até um $E_f = 1,10$ V. Para a eletrólise foi utilizado um eletrodo de ouro

com área de 1cm^2 e para as medidas voltamétricas o eletrodo de trabalho foi um UME de Au ($\varnothing = 10\ \mu\text{m}$). Durante todo o experimento manteve-se uma atmosfera livre de oxigênio por meio da utilização de um fluxo de $\text{N}_2(\text{g})$ sobre a solução. Ambos ensaios, cronoamperométrico e voltamétrico, foram realizados numa célula eletroquímica de compartimento único.

Para o cálculo do número de elétrons utilizou-se a equação de Faraday (Equação 23), que relaciona: o número de moles de elétrons (n) na reação de interesse, com o número de moles de substância eletrolisada (ΔN), com a carga que é transferida quando certa quantidade de corrente flui numa célula eletroquímica por um determinado tempo (ΔQ), e com uma constante F (constante de Faraday) que corresponde à carga de um mol de elétrons, cujo valor é $96.487\ \text{C mol}^{-1}$.⁷³

$$\Delta Q = nF\Delta N \quad \text{Equação 23}$$

O número de elétrons calculado por meio da Equação 23, a partir do valor de carga obtido no experimento ($\Delta Q = 10,52 \times 10^{-3}\ \text{C}$) e um $\Delta N_{\text{eletrólise}} = 2,94 \times 10^{-7}\ \text{mol}$, foi muito inferior a 1.

De acordo com a literatura⁷⁴, a oxidação do NO_2^- em meio ácido (pH inferior a 5) pode apresentar problemas devido a perdas por decomposição, pois o HNO_2 que se forma devido à condição ácida do meio, é um composto instável e decompõe-se espontaneamente (Equação 24)⁷⁴.

Essa decomposição interfere na eletrólise e consequentemente na determinação do número de elétrons transferidos na reação. Assim, o valor do $\Delta N_{\text{eletrólise}}$ calculado acima, é na verdade a soma da variação do número de moles de NO_2^- durante a eletrólise, mais a variação do número de moles de NO_2^- devido a decomposição espontânea. Os resultados experimentais evidenciaram essa decomposição espontânea, que foi observada devido a uma diminuição na corrente de oxidação do NO_2^- ao deixar a solução em repouso por 15 minutos (mesmo tempo de duração da eletrólise).

Nas Figuras 7a e 7b são mostrados os voltamogramas linear obtidos antes e após a eletrólise e, antes e após o repouso da solução durante o mesmo tempo de duração da eletrólise, respectivamente. Já na Figura 7c é apresentado o cronoamperograma referente à eletrólise do NO_2^- em H_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 7 – (a) Voltamograma linear para o UME de Au ($\varnothing = 10 \mu\text{m}$), antes e após 15 minutos de eletrólise. (b) Voltamograma linear para o UME de Au ($\varnothing = 10 \mu\text{m}$) obtido no $t = 0 \text{ min}$ e após $t = 15 \text{ min}$ em solução não eletrolisada - (Parâmetros para as voltametrias: $E_i = 0,68 \text{ V}$; $E_f = 1,10 \text{ V}$ e velocidade de varredura de $0,10 \text{ V s}^{-1}$). (c) cronoamperograma obtido para eletrólise do NO_2^- em meio ácido utilizando um eletrodo de Au com $1,0 \text{ cm}^2$ de área. $E_1 = 0,73 \text{ V}$ e $E_2 = 1,06 \text{ V}$. (A solução utilizada nos 3 ensaios foi uma solução $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de NO_2^- preparada em H_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$).

O cálculo correto do número de elétrons transferidos na primeira etapa da reação de oxidação do NO_2^- em H_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (Equação 19), só foi possível levando-se em consideração a variação do número de moles devido a decomposição espontânea do HNO_2 ($\Delta N_{\text{decomposição}}$), que foi obtida das variações das correntes limites dos voltamogramas da Figura 7b, sendo encontrado um valor de

$1,75 \times 10^{-7}$ mol. Subtraindo o $\Delta N_{\text{eletrolise}}$ do $\Delta N_{\text{decomposição}}$ obteve-se um $\Delta N = 1,19 \times 10^{-7}$ mol, que corresponde à quantidade de substância que foi realmente eletrolisada. Substituindo esse valor na equação de Faraday (Equação 23), juntamente com o valor da carga obtido no experimento, $\Delta Q = 10,52 \times 10^{-3}$ C e a constante de Faraday, $F = 96.487 \text{ C mol}^{-1}$, foi encontrado um valor experimental de 0,92 elétrons, que está de acordo com o número de elétrons transferidos na primeira etapa da reação de oxidação do NO_2^- em meio ácido, conforme o mecanismo proposto.

O problema de decomposição espontânea do NO_2^- em meio ácido deve ser considerado no desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para a determinação de nitrito caso seja necessário utilizar esse tipo eletrólito na determinação desse analito.

Diante disso, a oxidação do NO_2^- sobre o UME de Au foi estudada também em outros eletrólitos, tais como: soluções tampão: fosfato e BR, ambas com valor de $\text{pH} = 6,60$; Na_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$; NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; Na_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=3,1$) e NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Na Figura 8 é apresentado o voltamograma cíclico para a oxidação do NO_2^- em tampão fosfato.

Figura 8 – Voltamograma cíclico do UME de Au ($\varnothing = 10 \mu\text{m}$) em tampão fosfato ($\text{pH} = 6,60$) na ausência (---) e na presença (-.-) de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de NO_2^- . $E_i = 0,0 \text{ V}$; $E_{\text{inv}} = 1,5 \text{ V}$ e $E_f = 0,0 \text{ V}$. Velocidade de varredura $0,10 \text{ V s}^{-1}$.

O voltamograma da Figura 8 mostra que a oxidação do NO_2^- não pode ser distinguida da formação dos óxidos superficiais na superfície do ouro, pois os dois processos parecem ocorrer no mesmo potencial. Isso dificulta a determinação quantitativa dos íons NO_2^- nesse meio. Os resultados obtidos para o tampão BR foram semelhantes a esses obtidos em tampão fosfato, logo a possibilidade de trabalhar em um meio tamponado foi descartada.

Nas Figuras 9 e 10, são apresentados o voltamograma linear e voltamograma de pulso diferencial, respectivamente, nos demais eletrólitos estudados.

Figura 9 – Voltamograma linear para o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em diferentes eletrólitos contendo $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_2^- . Velocidade de varredura de $0,10\ \text{V s}^{-1}$.

Figura 10 – Voltamograma de pulso diferencial para o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em diferentes eletrólitos contendo $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_2^- . Velocidade de varredura = $0,020\ \text{V s}^{-1}$.

No voltamograma de varredura linear, uma onda bem definida correspondente à oxidação do NO_2^- pode ser observada em H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$ e também em $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$ ($\text{pH}=3,1$), porém, a corrente limite de difusão apresenta valores inferiores àqueles observados nos outros eletrólitos. Em Na_2SO_4 $0,05 \text{ molL}^{-1}$ e $\text{NaClO}_4 + \text{HClO}_4$ ($\text{pH}=3,3$) a oxidação do NO_2^- e o início da formação dos óxidos superficiais na superfície do UME de Au ocorrem em potenciais próximos, por isso não é possível observar uma onda muito bem definida nesses eletrólitos, no entanto, os valores de corrente são maiores. Já em solução de NaClO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$, a oxidação do NO_2^- e o início da formação dos óxidos superficiais na superfície do UME de ouro se dá em potenciais tão próximos que não é possível distinguir os dois processos.

Utilizando a voltametria de pulso diferencial pode-se observar que em NaClO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$ ocorre o mesmo problema observado para a voltametria de varredura linear, ou seja, não é possível distinguir a oxidação do NO_2^- da oxidação da superfície de ouro. Em Na_2SO_4 $0,05 \text{ molL}^{-1}$, apesar da intensidade de corrente ser a maior, a separação dos dois processos não é completa. No entanto nos demais eletrólitos, H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$, $\text{NaClO}_4 + \text{HClO}_4$ ($\text{pH}=3,3$) e $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$ ($\text{pH}=3,1$), fica evidente que a oxidação do NO_2^- é distinta da formação dos óxidos na superfície do UME de Au, sendo a intensidade de corrente maior para o $\text{NaClO}_4 + \text{HClO}_4$ ($\text{pH}=3,3$), que é portanto o mais indicado a ser utilizado para fins analíticos.

Contudo, para os três eletrólitos (H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$, $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$ ($\text{pH}=3,1$)) e $\text{NaClO}_4 + \text{HClO}_4$ ($\text{pH}=3,3$)), onde se tem uma boa diferença de potenciais entre a oxidação do NO_2^- e a formação dos óxidos na superfície do ouro, os valores de pH são inferiores a 5, o que levaria a formação do HNO_2 e consequentemente sua decomposição, conforme discutido anteriormente. Contudo essa decomposição não foi evidenciada para oxidação do NO_2^- em $\text{NaClO}_4 + \text{HClO}_4$ ($\text{pH}=3,3$) em estudos semelhantes aqueles realizados para de decomposição do NO_2^- em H_2SO_4 $0,10 \text{ molL}^{-1}$.

3.2.2 Estudos dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial

Nos estudos realizados até aqui para escolha do eletrólito e estudos do mecanismo de reação, foram utilizadas técnicas de varredura, como por exemplo, a voltametria de varredura linear e a cíclica. Essas técnicas baseadas na variação linear do potencial aplicado ao eletrodo de trabalho com o tempo, são comumente usadas para adquirir informações qualitativas sobre os processos eletroquímicos, entretanto, não são técnicas muito sensíveis para aplicações quantitativas³⁵.

As técnicas de pulso, baseadas na medida de potencial/corrente, são mais sensíveis comparadas às técnicas de varredura, pois à forma com que a corrente é medida aumenta a relação corrente faradaica/corrente capacitiva. Essas técnicas fornecem curvas em forma de pico (cuja altura máxima é diretamente proporcional a concentração), que oferece maior segurança na medida da corrente, além de maior intensidade de corrente, possibilitando a obtenção de limites de detecção da ordem de $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, sendo por isso, mais adequada para fins analíticos³⁵. Portanto, para a determinação quantitativa dos íons NO_2^- optou-se por utilizar uma técnica de pulso, no caso, a voltametria de pulso diferencial.

A fim de obter voltamogramas com boa relação entre resolução e sensibilidade para determinação do íon NO_2^- utilizando a voltametria de pulso diferencial, parâmetros como: amplitude de potencial de pulso aplicado (ΔE), tempo de duração do pulso (t_p), intervalo de pulso (τ) e velocidade de varredura (v) foram otimizados. A Tabela 4 apresenta os parâmetros estudados para a voltametria de pulso diferencial e os valores selecionados para cada parâmetros.

Tabela 4 – Parâmetros de voltametria de pulso diferencial estudados para determinação de NO_2^-

Parâmetros	Faixa estudada	Valor selecionado
τ (ms)	150-300	250
t_p (ms)	10-60	40
ΔE (mV)	40-80	50
v (mV s^{-1})	10-50	20

3.2.3 Curva analítica para oxidação do NO_2^- sobre UME de Au

Após a otimização dos parâmetros que envolvem a voltametria de pulso diferencial e demais condições experimentais, foi realizado um ensaio voltamétrico para determinação de NO_2^- por meio de sua oxidação eletroquímica sobre a superfície do UME de Au.

Os voltamogramas foram obtidos pela de adições sucessivas da solução estoque de NaNO_2 a uma solução preparada com água ultra pura, contendo somente o eletrólito escolhido, nesse caso, o NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ (pH = 3,3).

Foi observado um aumento proporcional da corrente de pico em função do aumento da concentração de NO_2^- no meio, dentro do intervalo de concentração estudado, que foi de $1,0 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ a $1,1 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$.

Na Figura 11a são apresentados os voltamogramas de pulso diferencial obtidos a partir das adições sucessivas de NO_2^- à célula eletroquímica e na Figura 11b é apresentada a curva analítica construída para oxidação do NO_2^- sobre o UME de Au.

Figura 11 – (a) Voltamogramas de pulso diferencial para a oxidação do NO_2^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25 \mu\text{m}$) em diferentes concentrações. (b) Curva analítica construída a partir dos dados obtidos da figura 11a. Eletrólito: NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ (pH = 3,3). $\Delta E = 50 \text{ mV}$; $t_p = 40 \text{ ms}$, $\tau = 250 \text{ ms}$ e $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

A curva analítica apresentada na Figura 11b, foi construída relacionando-se a concentração de NO_2^- estudada (eixo x) com os respectivos valores de corrente de pico obtidos para oxidação eletroquímica desse íon (eixo y), sendo esses valores tomados após a análise dos voltamogramas apresentados na Figura 11a. Os valores de concentração de NO_2^- e corrente de pico, também foram utilizados para calcular o coeficiente angular da reta (**b**) e o intercepto (**a**), possibilitando assim, a obtenção da curva de regressão de y em x, conhecida também como equação da reta. Foram ainda calculados os parâmetros estatísticos: coeficiente de correlação (**r**), limite de detecção (LD) e limite quantificação (LQ).

Os intervalos de confiança, tanto para equação da reta, quanto para o LD e o LQ, foram estabelecidos a partir dos cálculos dos limites de confiança. Para isso foi utilizado um valor de $t = 2,31$ ⁶⁸. O t é o parâmetro de Student (valor tabelado), e para esse experimento, foi tomado a um nível de confiança de 95 %, sendo o grau de liberdade (n-2) igual a 8.

Para os cálculos mencionados acima foram empregadas às equações que estão descritas no item 2.5.6 da parte experimental.

A equação da reta, e os demais parâmetros estatísticos calculados para a determinação de NO_2^- sobre o UME de Au encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 – Parâmetros estatísticos obtidos para o método proposto para determinação de NO_2^- sobre o UME de Au em eletrólito NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ (pH = 3,3).

Parâmetros	Oxidação do NO_2^-
Equação da reta	$I_p = (0,1666 \pm 0,0917)\text{nA} + (0,1034 \pm 0,0029)\text{nA}/\mu\text{molL}^{-1} [\text{NO}_2^-]$
Coeficiente de correlação (r)	0,9994
LD (μmolL^{-1})	$1,1513 \pm 0,0917 \mu\text{molL}^{-1}$
LQ (μmolL^{-1})	$3,8377 \pm 0,0917 \mu\text{molL}^{-1}$
Sensibilidade	$0,1034 \pm 0,0029 \text{ nA}/\mu\text{molL}^{-1}$
Reprodutibilidade (%)	8,976
Repetibilidade (%)	1,071

O fato do valor de r obtido ser bem próximo de 1, mostra que existe uma correlação linear entre corrente de pico (I_p) e concentração de NO_2^- estudada.

Os valores de LD e LQ encontrados, se multiplicados pela massa molecular do NO_2^- ($46,01 \text{ g mol}^{-1}$) fornecem: $\text{LD} = 52,97 \pm 4,22 \mu\text{g L}^{-1}$ e $\text{LQ} = 176,57 \pm 4,22 \mu\text{g L}^{-1}$. Esses valores são inferiores ao limite máximo de NO_2^- para água potável recomendado por órgãos governamentais e agências reguladoras como: UE¹⁵ ($0,50 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$ de NO_2^-); OMS¹⁶ ($3,00 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$ de NO_2^-); MS¹², CONAMA¹³ e EPA¹⁴ ($1,00 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$ de NO_2^-).

A reprodutibilidade do método foi avaliada tomando-se 3 medidas de I_p , obtidas a partir de 3 ensaios para determinação de NO_2^- sobre UME de Au, realizados em dias diferentes, porém, nas mesmas condições experimentais. Os valores de corrente avaliados correspondem a $4,50 \mu\text{mol}^{-1}$ de NO_2^- na solução. Já a repetibilidade foi avaliada tomando-se 10 medidas sucessivas de I_p , realizadas na mesma solução, contendo também $4,50 \mu\text{mol}^{-1}$ de NO_2^- na solução.

A sensibilidade do método é dada pela tangente da curva de regressão.

3.2.4 Determinação de NO_2^- em água de rio utilizando o UME de Au

Foram também realizados ensaios voltamétricos para determinação de NO_2^- por meio de sua oxidação eletroquímica sobre a superfície do UME de Au em uma amostra de água de rio coletada no município de São Carlos.

Os ensaios foram realizados em: 1) solução contendo o eletrólito NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 3,3$) preparada com a água de rio; e 2) água de rio sem adição do eletrólito suporte. Os voltamogramas foram obtidos por meio de adições sucessivas da solução estoque de NaNO_2 a essas soluções. Não foi necessário realizar nenhuma etapa de pré-tratamento nas amostras antes de sua utilização nas análises.

Para os dois casos, o aumento da corrente de pico em função do aumento da concentração de NO_2^- no meio, foi observado ser linear dentro do intervalo de concentração estudado, que foi de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Na Figura 12a são apresentados os voltamogramas obtidos em solução contendo o eletrólito preparada com a água de rio a partir das adições sucessivas de NO_2^- e na Figura 12b é apresentada a curva analítica construída para oxidação do NO_2^- nessas condições. Já na Figura 13a são apresentados os voltamogramas em água de rio sem adição do eletrólito, enquanto a Figura 13b mostra a curva analítica construída nessas condições.

Figura 12 – (a) Voltamogramas de pulso diferencial para a oxidação do NO_2^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em amostra de água de rio contendo $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ ($\text{pH} = 3,3$). (b) Curva analítica construída a partir dos dados obtidos da figura 12a. $\Delta E = 50\ \text{mV}$; $t_p = 40\ \text{ms}$, $\tau = 250\ \text{ms}$ e $v = 20\ \text{mV s}^{-1}$.

Figura 13 – (a) Voltamogramas de pulso diferencial para a oxidação do NO_2^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em amostra de água de rio sem adição de eletrólito. (b) Curva analítica construída a partir dos dados obtidos da figura 13a. $\Delta E = 50\ \text{mV}$; $t_p = 40\ \text{ms}$, $\tau = 250\ \text{ms}$ e $v = 20\ \text{mV s}^{-1}$.

As curvas analíticas apresentadas nas Figuras 12b e 13b foram construídas relacionando-se a concentração de NO_2^- com os respectivos valores de corrente de pico obtidos para oxidação eletroquímica desse íon, após a análise dos voltamogramas apresentados nas Figuras 12a e 13a, respectivamente. A partir das curvas analíticas, foram calculados os parâmetros estatísticos: coeficiente de correlação (r), limite de detecção aparente (LD^*) e limite quantificação aparente (LQ^*). Foram também obtidas as equações da reta.

Para os cálculos dos limites de confiança nesse estudo, também foi utilizado um valor de $t = 2,31$ ⁶⁸. Esse valor, foi tomado a um nível de confiança de 95 %, sendo o grau de liberdade ($n-2$) para esse experimento também igual a 8.

Para os cálculos mencionados acima também foram empregadas às equações que estão descritas no item 2.5.6 da parte experimental.

A equação da reta, e os demais parâmetros estatísticos calculados para a determinação de NO_2^- sobre o UME de Au em água de rio com e sem adição de eletrólito encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6 – Parâmetros estatísticos obtidos para o método proposto para determinação de NO_2^- sobre o UME de Au em água de rio com e sem a adição do eletrólito NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 3,3$).

Parâmetros	Oxidação do NO_2^- em água de rio + eletrólito
Equação da reta	$I_p = (0,1453 \pm 0,1508)\text{nA} + (0,0811 \pm 0,0049)\text{nA}/\mu\text{mol L}^{-1} [\text{NO}_2^-]$
Coeficiente de correlação (r)	0,9973
$\text{LD}^* (\mu\text{mol L}^{-1})$	$2,4167 \pm 0,1509 \mu\text{mol L}^{-1}$
$\text{LQ}^* (\mu\text{mol L}^{-1})$	$8,0558 \pm 0,1509 \mu\text{mol L}^{-1}$
Sensibilidade	$0,0811 \pm 0,0049 \text{ nA}/\mu\text{mol L}^{-1}$
Parâmetros	Oxidação do NO_2^- em água de rio sem adição de eletrólito
Equação da reta	$I_p = (-0,0868 \pm 0,2224)\text{nA} + (0,1017 \pm 0,0072)\text{nA}/\mu\text{mol L}^{-1} [\text{NO}_2^-]$
Coeficiente de correlação (r)	0,9963
$\text{LD}^* (\mu\text{mol L}^{-1})$	$2,8395 \pm 0,2225 \mu\text{mol L}^{-1}$
$\text{LQ}^* (\mu\text{mol L}^{-1})$	$9,4652 \pm 0,2225 \mu\text{mol L}^{-1}$
Sensibilidade	$0,1017 \pm 0,0072 \text{ nA}/\mu\text{mol L}^{-1}$

LD^* e LQ^* são maiores que os limites de detecção e quantificação reais, devido à influência dos componentes da matriz.

Os valores de LD e LQ encontrados, se multiplicados pela massa molecular do NO_2^- ($46,01 \text{ g mol}^{-1}$) fornecem: $\text{LD} = 111,19 \pm 6,94 \mu\text{g L}^{-1}$ e $\text{LQ} = 370,65 \pm 6,94 \mu\text{g L}^{-1}$ para determinação de nitrito em água de rio com adição de eletrólito e $\text{LD} = 130,65 \pm 10,24 \mu\text{g L}^{-1}$ e $\text{LQ} = 435,49 \pm 10,24 \mu\text{g L}^{-1}$ para determinação sem adição de eletrólito. Esses valores também são inferiores ao limite máximo de NO_2^- para água potável recomendado por alguns órgãos governamentais e agências reguladoras¹²⁻¹⁶.

Foi possível observar uma pequena diminuição de sensibilidade para o método proposto quando aplicado para determinar NO_2^- em água de rio. Na Figura 14 é mostrado as curvas analíticas para determinação de NO_2^- em eletrólito NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; água de rio + eletrólito e água de rio sem adição de eletrólito.

Figura 14 – Curvas analíticas para determinação de NO_2^- utilizando um UME de Au ($\varnothing=25 \mu\text{m}$) em: eletrólito- NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; água de rio + eletrólito e água de rio sem adição de eletrólito.

Essa variação na inclinação das curvas analíticas obtidas nas determinações de NO_2^- em água de rio, deve-se provavelmente a substâncias orgânicas presentes na amostra, por exemplo, ácidos húmicos, que podem adsorver especificamente na superfície do UME e provocar então essa variação. Entretanto, como esses interferentes provocam a diminuição do sinal analítico, porém não inibem

completamente a resposta do eletrodo, se a concentração NO_2^- for determinada a partir da curva analítica construída na própria amostra de trabalho, esse efeito da matriz é levando em consideração e a quantificação pode ser realizada com segurança dentro dos intervalos de confiança estabelecidos.

3.3 Estudo da redução eletroquímica do NO_3^- sobre o UME de Au modificado pela DRS de Cd

3.3.1 Escolha do eletrólito suporte

Como a redução do NO_3^- sobre o UME de Au é mediada pela DRS de Cd, procurou-se escolher um eletrólito que fosse adequado tanto para a realização da DRS de Cd, quanto para redução dos íons NO_3^- . Considerando também a determinação sequencial que se dará por meio da oxidação do NO_2^- sobre o UME de Au e da redução de NO_3^- sobre essa superfície modificada com cádmio, os estudos foram conduzidos com o intuito de verificar a possibilidade de utilização do NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, uma vez que este eletrólito já foi o escolhido para a determinação dos íons NO_2^- .

Em estudos anteriores, Xing e Scherson⁵⁸ relatam que a DRS de Cd sobre Au exibe atividade eletrocatalítica para a redução do NO_3^- exclusivamente em eletrólitos ácidos. Nesse sentido foram estudados 2 eletrólitos para redução do NO_3^- mediada por Cd depositado em subtensão: o Na_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (pH=3,1) e NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (pH=3,3).

Os resultados com o Na_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (pH=3,1) não foram satisfatórios, pois não foi possível obter voltamogramas bem definidos para a redução do NO_3^- . Isso se deve provavelmente a maior capacidade dos íons SO_4^{2-} de se adsorverem especificamente sobre a superfície de Au do que os íons ClO_4^- .

Assim, como para determinação do NO_2^- , o NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (pH=3,3), mostrou ser também o eletrólito mais adequado para a

determinação do NO_3^- . Além disso, estudos anteriores também mostraram que a redução de nitrato catalisada por DRS de Cd em $\text{NaClO}_4 + \text{HClO}_4$ (pH=3,3) tem como único produto da redução o nitrito^{58,75,76}. Logo, a escolha desse eletrólito é bastante adequada, pois favorece também o entendimento do mecanismo de reação e a determinação quantitativa sequencial dos íons NO_3^- e NO_2^- .

3.3.2 Estudos dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial

Os parâmetros da voltametria de pulso diferencial escolhidos para determinação de NO_2^- , mostraram ser também adequados para obtenção dos voltamogramas para redução do NO_3^- .

3.3.3 DRS de Cd sobre Au

A deposição em regime de subtensão de Cd sobre substratos de Au é um tema bastante estudado. Diante disso, estudos sobre a formação da monocamada, mecanismo de deposição, influência de adsorção de ânions, já foram bastante discutidos por vários autores^{77,78,79,80,81}.

Em trabalhos anteriores, Santos⁸² e Cabral⁵⁴ utilizando a microbalança eletroquímica de cristal de quartzo (MECQ), verificaram que a DRS de Cd sobre Au ocorre com a formação de aproximadamente 0,10 monocamada de Cd sobre Au, transferência de 2 elétrons e ocupação de um sítio ativo de Au por ad-átomo de Cd. Os estudos da DRS de Cd sobre Au realizados em diferentes eletrólitos, mostram que as características desse processo são dependentes apenas da interação Cd/Au e portanto, não sofreram influência dos diferentes eletrólitos já estudados^{54,82}.

Nesse trabalho, conforme discutido no item 3.3.1 desse capítulo, foi escolhido realizar a DRS de Cd sobre o UME de Au em NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ (pH = 3,3). O voltamograma obtido está apresentado na Figura 15.

Figura 15 – Voltamograma cíclico para o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1} + \text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ (pH = 3,3) na ausência (---) e na presença (---) de $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$. $E_i = 1,6\ \text{V}$; $E_{\text{inv}} = -0,30\ \text{V}$ e $E_f = 1,6\ \text{V}$. Velocidade de varredura $0,10\ \text{V s}^{-1}$.

No voltamograma da Figura 15 é possível observar a mudança no perfil voltamétrico após a adição de Cd^{2+} na célula eletroquímica. O processo observado entre $0,00$ e $-0,30\ \text{V}$ com um máximo de corrente em $-0,12\ \text{V}$ (na varredura no sentido negativo), é associado à DRS de Cd sobre Au. Durante a varredura reversa observa-se um máximo de corrente em aproximadamente $-0,08\ \text{V}$, que corresponde à oxidação da DRS de Cd.

O primeiro estudo de DRS de Cd sobre o UME de Au nesse trabalho, foi realizado para verificar se a deposição do Cd sobre esse ultramicroeletrodo poderia ser influenciada pelo tempo de polarização do eletrodo no potencial de deposição. Para isso, a deposição foi realizada mantendo o potencial do eletrodo polarizado em $-0,20\ \text{V}$, durante vários tempos de deposição, até a estabilização do perfil voltamétrico para a dissolução do Cd (entre $-0,20\ \text{V}$ e $0,06\ \text{V}$). Entretanto, para a DRS de Cd sobre o UME de Au nas condições estudadas, não foi observado qualquer alteração no processo de dissolução do Cd devido ao tempo de

polarização. Então foi escolhido realizar a DRS de Cd sobre o UME de Au, aplicando um potencial de -0,20 V por 5 s.

A Figura 16 mostra os voltamogramas lineares para a oxidação da monocamada de Cd depositada sobre o UME de Au após polarização do eletrodo em -0,20 V por diferentes tempos de deposição.

Figura 16 – Voltamogramas linear para oxidação do Cd depositado em regime de subtensão sobre UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) após polarização do eletrodo em -0,20 V, variando o tempo de deposição entre 1s e 30 s. Concentração de Cd na solução = $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$. $E_i = -0,20\ \text{V}$ e $E_f = 1,6\ \text{V}$. Velocidade de varredura $0,10\ \text{V s}^{-1}$.

3.3.4 Redução do NO_3^- mediada pela DRS de Cd sobre o UME de Au

O cádmio é relatado na literatura como sendo catalítico para redução de íons NO_3^- ^{-58,59,17}. Em alguns trabalhos de determinação simultânea de NO_3^- e NO_2^- por métodos espectrofotométricos, por exemplo, uma coluna redutora, tendo como agente redutor o Cd ou Cd/Cu, é utilizada para reduzir os íons NO_3^- a NO_2^- e determinar então a concentração de nitrato na amostra, onde inicialmente se analisa a quantidade de NO_2^- e depois da redução do NO_3^- na coluna redutora de Cd,

repete-se a análise e a quantidade de NO_3^- na amostra é obtida por diferença^{17,26}. A redução eletroquímica de NO_3^- também é catalisada por cádmio que geralmente é depositado sobre a superfície de outros metais como Ag e Au⁵⁸.

Tendo em vista essa propriedade catalítica do cádmio em relação ao NO_3^- e a necessidade de uma superfície que seja em determinado momento catalítica somente para NO_3^- e em determinado momento, somente para NO_2^- , optou-se nesse trabalho pela DRS de cádmio sobre ouro, devido a vantagem de poder ser realizada *in situ* e também por se tratar de um tema bastante estudado na literatura, o que permite uma melhor compreensão dos processos que envolvem esse tipo de modificação.

Na Figura 17 é apresentado o voltamograma cíclico para a redução do NO_3^- sobre o UME de Au modificado por DRS de Cd.

Figura 17 – Voltamograma cíclico para redução de NO_3^- mediada por Cd depositado em regime de subtenção sobre UME de Au ($\varnothing=25\text{ }\mu\text{m}$) em solução contendo: (---) o eletrólito NaClO_4 $0,1\text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3}\text{ molL}^{-1}$ ($\text{pH} = 3,3$); (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\text{ molL}^{-1}$ de Cd e (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\text{ molL}^{-1}$ de Cd + $4,0 \times 10^{-3}\text{ molL}^{-1}$ de NO_3^- . $E_i = 1,6\text{ V}$; $E_{\text{inv}} = -0,70\text{ V}$ e $E_f = 1,6\text{ V}$. Velocidade de varredura $0,10\text{ V s}^{-1}$.

Os voltamogramas da Figura 17 mostram o comportamento do íon NO_3^- sobre o UME de Au antes e após a modificação da superfície por Cd depositado em regime de subtensão, evidenciando o efeito catalítico do Cd na redução do íon NO_3^- .

Não se observa nenhuma corrente de redução referente ao NO_3^- sobre a superfície de Au não modificada, porém, ao adicionar cádmio à cela eletroquímica um apreciável aumento na corrente pode ser observado a partir de -0,30 V.

Os resultados apresentados na Figura 17, obtidos por voltametria cíclica deixam claro que a redução de NO_3^- sobre Au só é possível após a modificação da superfície com cádmio, contudo, para a determinação quantitativa de nitrato para fins analíticos, a técnica empregada foi também a voltametria de pulso diferencial, como na determinação do NO_2^- . Dessa forma, foi obtido um voltamograma de pulso diferencial abrangendo a região de potenciais da DRS de Cd e da redução NO_3^- antes e após a adição de Cd ao meio. Esses resultados estão apresentados na Figura 18.

Figura 18 – Voltamograma de pulso diferencial para a redução do NO_3^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25 \mu\text{m}$) em solução contendo: (---) o eletrólito: NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ ($\text{pH} = 3,3$); (---) eletrólito + $2,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ de NO_3^- ; (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ de Cd e (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ de Cd + $2,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ de NO_3^- .

A Figura 18 mostra o comportamento do íon NO_3^- sobre o UME de Au antes e após a adição de Cd à célula eletroquímica. Assim como observado nos estudos realizados por voltametria cíclica, o Cd catalisa a redução do NO_3^- , que é evidenciada pelo aumento da corrente a partir de -0,30 V, ou seja, posteriormente ao processo de deposição do Cd sobre o Au (entre 0,00 V e -0,30V). A redução do NO_3^- catalisada pelo Cd tem um máximo de corrente em aproximadamente -0,47 V.

3.3.5 Curva Analítica para redução do NO_3^- sobre UME de Au modificado por meio da DRS de Cd

Com as condições experimentais já otimizadas, foi realizado um ensaio voltamétrico para determinação de NO_3^- por meio de sua redução sobre a superfície do UME de Au modificada *in situ* pela DRS de Cd, empregando como técnica a voltametria de pulso diferencial.

Os voltamogramas foram obtidos por meio de adições sucessivas da solução estoque de NaNO_3 a uma solução contendo o eletrólito (NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$) e $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ de Cd.

Foi observado um aumento proporcional da corrente de pico em função do aumento da concentração de NO_3^- no meio, dentro do intervalo de concentração estudado, $2,00 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ a $2,50 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$.

Na Figura 19 estão apresentados os voltamogramas de pulso diferencial obtidos a partir das adições sucessivas de NO_3^- a célula eletroquímica.

Figura 19 – Voltamogramas de pulso diferencial para a redução do NO_3^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) modificado pela DRS de Cd. Eletrólito: $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ ($\text{pH} = 3,3$). Concentração de Cd no meio = $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$. $\Delta E = 50\ \text{mV}$; $t_p = 40\ \text{ms}$, $\tau = 250\ \text{ms}$ e $v = 20\ \text{mV s}^{-1}$.

Para obter os valores de corrente de pico relacionados à redução do NO_3^- e construir a curva analítica, cada voltamograma da Figura 19, referente a essa redução, foi subtraído do voltamograma correspondente a DRS de Cd, o qual foi tomado como sendo o branco da medida.

Nas Figuras 20a estão apresentados os voltamogramas de pulso diferencial obtidos após subtração do branco e na Figura 20b é apresentada a curva analítica construída para redução do NO_3^- sobre o UME de Au modificado com DRS de Cd a partir da Figura 20a.

Figura 20 – (a) Voltamogramas de pulso diferencial para a redução do NO_3^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) modificado pela DRS de Cd (após subtração do branco). (b) Curva analítica construída a partir dos dados obtidos da figura 21a. Eletrólito: $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{mol L}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{mol L}^{-1}$ (pH = 3,3). Concentração de Cd no meio = $1,0 \times 10^{-4}\ \text{mol L}^{-1}$. $\Delta E = 50\ \text{mV}$; $t_p = 40\ \text{ms}$, $\tau = 250\ \text{ms}$ e $v = 20\ \text{mV s}^{-1}$.

A curva analítica apresentada na Figura 20b, foi construída relacionando-se a concentração de NO_3^- estudada (eixo x) com os respectivos valores de corrente de pico obtidos para redução desse íon (eixo y), sendo esses valores tomados após a análise dos voltamogramas apresentados na Figura 20a. Os valores de concentração de NO_3^- e corrente de pico, também foram utilizados para calcular o coeficiente angular da reta (b) e o intercepto (a), possibilitando assim, a obtenção da equação da reta.

Foram também calculados o coeficiente de correlação (r), o limite de detecção (LD) e o limite quantificação (LQ).

Para os cálculos dos limites de confiança foi utilizado um valor de $t = 2,36$ ⁶⁸. Esse valor foi tomado a um nível de confiança de 95 %, sendo o grau de liberdade ($n-2$) para esse experimento igual a 7.

Todos os cálculos foram realizados empregando-se às equações descritas no item 2.5.6 da parte experimental.

A equação da reta, e os demais parâmetros estatísticos calculados para a determinação de NO_3^- sobre o UME de Au modificado por meio DRS de Cd encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7 – Parâmetros estatísticos obtidos para o método proposto para determinação de NO_3^- sobre o UME de Au modificado por meio da DRS de Cd em NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Parâmetros	Redução do NO_3^-
Equação da reta	$I_p = (0,7970 \pm 0,2746)nA + (0,0721 \pm 0,0024)nA / \mu\text{mol L}^{-1} [\text{NO}_3^-]$
Coeficiente de correlação (r)	0,9993
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	$4,8392 \pm 0,2746 \mu\text{mol L}^{-1}$
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	$16,1306 \pm 0,2746 \mu\text{mol L}^{-1}$
Sensibilidade	$0,0721 \pm 0,0024 \text{ nA} / \mu\text{mol L}^{-1}$
Reprodutibilidade (%)	5,011
Repetibilidade (%)	1,032

O valor de r bem próximo de 1, mostra que existe uma correlação linear entre corrente de pico e concentração de NO_3^- .

Os valores de LD e LQ encontrados, se multiplicados pela massa molecular do NO_3^- ($62,01 \text{ g mol}^{-1}$) fornecem: $\text{LD} = 0,30 \times 10^3 \pm 17,03 \mu\text{g L}^{-1}$ e $\text{LQ} = 1,00 \times 10^3 \pm 17,03 \mu\text{g L}^{-1}$. Esses valores são inferiores ao limite máximo de NO_3^- para água potável recomendado por órgãos governamentais e agências reguladoras como: UE¹⁵ e OMS¹⁶ ($10,0 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$ de NO_3^-); MS¹², CONAMA¹³ e EPA¹⁴ ($50,0 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$ de NO_3^-).

A reprodutibilidade do método foi avaliada tomando-se 3 medidas de I_p , obtidas a partir de 3 ensaios para determinação de NO_3^- sobre UME de Au modificado com cádmio depositado em regime de subtensão, realizados em dias diferentes, porém, nas mesmas condições experimentais. Os valores de corrente avaliados correspondem a $150,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_3^- na solução. Já a repetibilidade foi avaliada tomando-se 10 medidas sucessivas de I_p , realizadas na mesma solução, contendo também $150,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_3^- na solução.

A sensibilidade do método é dada pela tangente da curva de regressão.

3.3.6 Determinação sequencial de NO_2^- e NO_3^-

Como já discutido anteriormente, a redução do NO_3^- depende fortemente da natureza do eletrodo e pH do eletrólito, e ainda que a redução de NO_3^- em meio de $\text{NaClO}_4 + \text{HClO}_4$ (pH=3,3) sobre eletrodo de ouro policristalino catalisada pela DRS de Cd, fornece NO_2^- como único produto da reação de redução^{58,75,76}.

Diante disso, foi realizado um ensaio cíclico voltamétrico para verificar a possibilidade de detecção do NO_2^- formado na redução do NO_3^- mediada pela DRS de Cd. O resultado obtido está apresentado na Figura 21.

Figura 21 – Voltamograma cíclico para redução de NO_3^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) mediada pela DRS de Cd e detecção do NO_2^- formado na redução do NO_3^- . Solução: eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd + $4,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_3^- . $E_i = 0,20\ \text{V}$; $E_{\text{inv}} = -0,70\ \text{V}$ e $E_f = 1,6\ \text{V}$. Velocidade de varredura $800\ \text{mV s}^{-1}$.

A Figura 21 mostra que ao varrer o potencial no sentido negativo, o Cd foi depositado *in situ* sobre o UME de Au e em seguida o NO_3^- foi reduzido. Quando o sentido da varredura foi invertido, o Cd foi oxidado, sendo então removido da superfície do UME de Au. A partir de 0,80 V é possível observar a formação de uma pequena onda, na mesma região de potenciais de oxidação do NO_2^- em $\text{NaClO}_4 + \text{HClO}_4$ (pH=3,3). Como nenhuma quantidade de NO_2^- foi adicionada à célula eletroquímica, é provável que essa onda observada a partir de 0,80 V seja devido à oxidação do NO_2^- formado na redução do NO_3^- .

Conforme se aumenta a velocidade de varredura é possível obter um sinal mais bem definido nessa região de oxidação dos íons NO_2^- , porém, a partir de 800 mV s^{-1} , a formação dos óxidos superficiais no UME de Au começa a se sobrepor a onda referente a oxidação do NO_2^- tornando difícil a distinção dos dois processos e a detecção do NO_2^- como produto da redução do NO_3^- . Esses resultados estão apresentados na Figura 22.

Figura 22 – Voltamograma cíclico para redução de NO_3^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25 \mu\text{m}$) mediada pela DRS de Cd e detecção do NO_2^- formado na redução do NO_3^- variando-se a velocidade de varredura entre 100 a 2000 mV s^{-1} . Solução: eletrólito + $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Cd + $4,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NO_3^- . $E_i = 0,20 \text{ V}$; $E_{\text{inv}} = -0,70 \text{ V}$ e $E_f = 1,6 \text{ V}$.

Foi estudado também a influência dos íons NO_2^- na redução do NO_3^- e vice-versa. Esses ensaios foram conduzidos por voltametria cíclica. Na Figura 23 é apresentado o voltamograma para redução de NO_3^- e oxidação do NO_2^- , ambos adicionados a célula eletroquímica.

Figura 23 – Voltamograma cíclico para redução do NO_3^- mediada pela DRS de Cd sobre UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) antes e após adições de NO_2^- ao meio. Eletrólito $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1} + \text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ ($\text{pH} = 3,3$). Concentração de Cd = $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$. $E_i = 1,6\ \text{V}$; $E_{\text{inv}} = -0,70\ \text{V}$ e $E_f = 1,6\ \text{V}$. Velocidade de varredura $0,10\ \text{V s}^{-1}$.

É possível observar que ao adicionar NO_2^- ao meio ocorre uma diminuição na corrente de redução dos íons NO_3^- . Essa diminuição pode ser atribuída a uma adsorção específica competitiva entre os íons $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$. O NO_2^- provavelmente se adsorve aos sítios ativos da superfície eletródica provocando assim uma diminuição na corrente de redução dos íons NO_3^- . Quanto maior a concentração de NO_2^- no meio, mais espécies são adsorvidas e maior a diminuição observada na corrente de redução do NO_3^- . Por outro lado, estudo semelhante a esse, realizado para verificar a influência dos íons NO_3^- na corrente de oxidação do NO_2^- , mostraram que a

presença de NO_3^- no meio não provoca qualquer alteração na corrente de oxidação do NO_2^- .

Para mostrar que o NO_2^- e NO_3^- não são reduzidos no mesmo potencial e que essa interferência do NO_2^- na corrente de redução do NO_3^- deve-se apenas à adsorção específica competitiva entre os dois ânions, foram obtidos voltamogramas na região de potenciais de redução do NO_3^- e oxidação do NO_2^- . Primeiramente, os ensaios foram realizados em soluções contendo somente NO_3^- e depois em soluções contendo somente o NO_2^- .

Na Figura 24 é apresentado um voltamograma de pulso diferencial abrangendo a região de potencial da DRS de Cd sobre o Au e a região de potencial da redução do NO_3^- .

Figura 24 – Voltamograma de pulso diferencial para a redução do NO_3^- e NO_2^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25 \mu\text{m}$) em solução contendo: (---) eletrólito: NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ + $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ de Cd (---) eletólito + $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ de Cd + $2,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ de NO_2^- e (---) eletólito + $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ de Cd + $2,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ de NO_3^- .

Pode ser observado na Figura 24 que quando o NO_3^- está presente no meio, aparece uma corrente catódica após a DRS de Cd sobre o UME de Au com um máximo de corrente em aproximadamente -0,47 V, que é referente a redução do

NO_3^- . Entretanto nenhum processo faradaico foi observado nessa mesma região de potenciais quando somente o NO_2^- estava presente. Porém, a partir de -0,50 V, ou seja, em potenciais mais negativos que o potencial de redução do NO_3^- , aparece um outro processo faradaico. Isso pode ser observado quando temos somente o NO_3^- na solução, e também quando há somente NO_2^- em solução. Segundo Xing e Scherson⁵⁸, o NO_2^- também é reduzido em soluções contendo Cd, porém a redução ocorre em potenciais aproximadamente 200 mV mais negativos do que para a redução do NO_3^- . Então é provável esse processo observado na Figura 24 a partir do potencial -0,50 V seja referente à redução do NO_2^- . No caso onde se tem apenas NO_3^- no meio, esse processo de redução observado a partir de -0,50 V, se deve, a redução do produto formado na redução do NO_3^- , ou seja, o NO_2^- .

Na Figura 25 é apresentado um voltamograma de pulso diferencial para a região de potencial de oxidação do NO_2^- .

Figura 25 – Voltamograma de pulso diferencial para a oxidação do NO_2^- e NO_3^- sobre o UME de Au ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) em solução contendo: (---) o eletrólito: $\text{NaClO}_4\ 0,1\ \text{molL}^{-1}$ + $\text{HClO}_4\ 1,0 \times 10^{-3}\ \text{molL}^{-1}$ (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd + $2,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_3^- e (---) eletrólito + $1,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de Cd + $2,0 \times 10^{-4}\ \text{molL}^{-1}$ de NO_2^- .

Assim como no caso do NO_3^- , na região de oxidação do NO_2^- , somente o processo faradaico associado à oxidação desse íon pode ser observado. Nenhum processo faradaico referente ao NO_3^- ou ao cádmio foi observado nesse intervalo de potenciais.

Esses estudos foram também importantes para verificar a possibilidade de determinação quantitativa sequencial de NO_2^- e NO_3^- por voltametria de pulso diferencial, uma vez que se observou que tanto a redução quanto a oxidação desses íons não ocorre no mesmo potencial.

3.3.7 Curva Analítica para determinação sequencial de NO_2^- e NO_3^-

As condições experimentais utilizadas para determinação sequencial dos íons NO_2^- e NO_3^- , foram as mesmas utilizadas nesse trabalho para determinação desse íons separadamente.

Para construir a curvas analíticas referentes a determinação sequencial dos dois analitos, foram primeiramente obtidos voltamogramas tanto para a redução do NO_3^- quanto para oxidação do NO_2^- após concentrações conhecidas dos dois íons serem adicionadas ao mesmo tempo na célula eletroquímica.

Foi observado um aumento proporcional da corrente de pico em função do aumento da concentração de NO_3^- e NO_2^- no meio, dentro do intervalo de concentração estudado, que foi de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para NO_3^- e $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $4,50 \times 10^{-5}$ para NO_2^- .

Nas Figuras 26a e 26b estão apresentados os voltamogramas obtidos para a determinação sequencial de NO_3^- e NO_2^- em diferentes concentrações de cada analito.

Figura 26 – Voltamogramas de pulso diferencial para: (a) redução do NO_3^- (na presença de NO_2^-) sobre o UME de Au modificado com Cd depositado em regime de subtenção. (b) oxidação do NO_2^- (na presença de NO_3^-) sobre o UME de Au não modificado. Eletrólito: NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 3,3). Concentração de Cd = $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. $\Delta E = 50 \text{ mV}$; $t_p = 40 \text{ ms}$, $\tau = 250 \text{ ms}$ e $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

A determinação sequencial de nitrato e nitrito, iniciou-se com a polarização do UME de Au em $-0,20 \text{ V}$ por 5 s para deposição do Cd, seguida de varredura no sentido negativo iniciando em $E_i = -0,20 \text{ V}$ até $E_f = -0,55 \text{ V}$ para redução dos íons NO_3^- . Terminada a varredura no sentido negativo, o eletrodo foi polarizado a $0,5 \text{ V}$ também por 5 s para remoção da monocamada de Cd e, iniciou-se então a varredura no sentido positivo ($E_i = 0,50 \text{ V}$ e $E_f = 0,95 \text{ V}$). Nesse sentido os íons NO_2^- foram então oxidados sobre a superfície do UME de Au.

Nas Figuras 27a e 27b, são apresentadas as curvas analítica para redução de NO_3^- na presença de NO_2^- e oxidação de NO_2^- na presença de NO_3^- , respectivamente.

Figura 27 – (a) Curva analítica para redução do NO_3^- (na presença de NO_2^-), construída a partir dos dados obtidos dos voltamogramas de pulso diferencial apresentados na fig 27a. (b) Curva analítica para oxidação do NO_2^- (na presença de NO_3^-), construída a partir dos dados obtidos dos voltamogramas de pulso diferencial apresentados na fig 27b.

As curvas analíticas apresentadas nas Figuras 27a e 27b foram construídas a partir dos voltamogramas apresentados nas Figuras 26a e 26b, respectivamente.

A partir da curva analítica foi calculado o coeficiente angular da reta (**b**) e o intercepto (**a**), possibilitando assim, a obtenção da equação da reta tanto para a redução do NO_3^- quanto para oxidação do NO_2^- . Foram também calculados os coeficientes de correlação (**r**), limites de detecção (LD) e limites quantificação (LQ) para ambas as determinações.

Para os cálculos dos limites de confiança foi utilizado um valor de $t = 2,36$ ⁶⁸. Esse valor foi tomado a um nível de confiança de 95 %, sendo o grau de liberdade (n-2) para esse experimento igual a 7.

Nos cálculos mencionados acima foram empregadas às equações que estão descritas no item 2.5.6 da parte experimental.

A equação da reta, e os parâmetros estatísticos calculados para a determinação sequencial de NO_3^- e NO_2^- encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8 – Parâmetros estatísticos obtidos para o método proposto para determinação sequencial de NO_3^- e NO_2^- em NaClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 3,3).

Parâmetros	Redução do NO_3^- (na presença de NO_2^-)
Equação da reta	$I_p = (-0,2851 \pm 0,7942)nA + (0,0624 \pm 0,0057)nA/\mu\text{mol L}^{-1} [\text{NO}_3^-]$
Coeficiente de correlação (r)	0,9949
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	$16,1767 \pm 0,7942 \mu\text{mol L}^{-1}$
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	$53,9224 \pm 0,7942 \mu\text{mol L}^{-1}$
Sensibilidade	$0,0624 \pm 0,0057 \text{ nA}/\mu\text{mol L}^{-1}$
Reprodutibilidade (%)	5,983
Repetibilidade (%)	1,206
Parâmetros	Oxidação do NO_2^- (na presença de NO_3^-)
Equação da reta	$I_p = (0,1283 \pm 0,1790)nA + (0,1014 \pm 0,0064)nA/\mu\text{mol L}^{-1} [\text{NO}_2^-]$
Coeficiente de correlação (r)	0,9975
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	$2,2427 \pm 0,1791 \mu\text{mol L}^{-1}$
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	$7,4756 \pm 0,1791 \mu\text{mol L}^{-1}$
Sensibilidade	$0,1014 \pm 0,0064 \text{ nA}/\mu\text{mol L}^{-1}$
Reprodutibilidade (%)	8,272
Repetibilidade (%)	1,111

Os valores de r obtidos para a determinação sequencial de NO_3^- e NO_2^- foram bem próximos de 1, mostrando assim, que existe uma correlação linear entre a corrente de pico medidas (I_p) e as respectivas concentrações de cada analito.

Os limites de detecção e quantificação obtidos em $\mu\text{g L}^{-1}$, são: LD = $1,00 \times 10^3 \pm 49,25 \mu\text{g L}^{-1}$ e LQ = $3,34 \times 10^3 \pm 49,25 \mu\text{g L}^{-1}$ para redução do NO_3^- (na presença de NO_2^-) e LD = $103,19 \pm 8,24 \mu\text{g L}^{-1}$ e LQ = $343,95 \pm 8,24 \mu\text{g L}^{-1}$ para oxidação do NO_2^- (na presença de NO_3^-). Esses valores também são inferiores aos limites

máximos de NO_3^- e NO_2^- em água potável recomendado pelos órgãos governamentais e agências reguladoras¹²⁻¹⁶.

A reprodutibilidade do método foi avaliada a partir de 3 medidas de I_p , obtidas em 3 ensaios para determinação sequencial de NO_3^- e NO_2^- , realizados em dias diferentes, porém, nas mesmas condições experimentais. Os valores de corrente avaliados correspondem a $150,0 \mu\text{mol}^{-1}$ de NO_3^- e $4,50 \mu\text{mol}^{-1}$ de NO_2^- na solução. Já a repetibilidade foi avaliada tomando-se 10 medidas sucessivas de I_p , realizadas na mesma solução, contendo também $150,0 \mu\text{mol}^{-1}$ de NO_3^- e $4,50 \mu\text{mol}^{-1}$ de NO_2^- na solução. A sensibilidade do método é dada pela tangente da curva de regressão.

Na Tabela 9 é apresentada uma síntese dos resultados obtidos nesse trabalho tanto para determinação individual como para determinação sequencial de NO_2^- e NO_3^- .

Tabela 9 – Parâmetros estatísticos obtidos para o método proposto para determinação individual e sequencial de NO_3^- e NO_2^- em NaClO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ + HClO_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ (pH = 3,3).

Parâmetros	Determinação individual do NO_2^-	Determinação sequencial do NO_2^-
LD (μmolL^{-1})	$1,1513 \pm 0,0917 \mu\text{molL}^{-1}$	$2,2427 \pm 0,1791 \mu\text{molL}^{-1}$
LQ (μmolL^{-1})	$3,8377 \pm 0,0917 \mu\text{molL}^{-1}$	$7,4756 \pm 0,1791 \mu\text{molL}^{-1}$
Reprodutibilidade (%)	8,976	8,272
Repetibilidade (%)	1,071	1,111
Parâmetros	Determinação individual do NO_3^-	Determinação sequencial do NO_3^-
LD (μmolL^{-1})	$4,8392 \pm 0,2746 \mu\text{molL}^{-1}$	$16,1767 \pm 0,7942 \mu\text{molL}^{-1}$
LQ (μmolL^{-1})	$16,1306 \pm 0,2746 \mu\text{molL}^{-1}$	$53,9224 \pm 0,7942 \mu\text{molL}^{-1}$
Reprodutibilidade (%)	5,011	5,983
Repetibilidade (%)	1,032	1,206

De acordo com a Tabela 9, os limites de detecção e quantificação obtidos para as determinações individuais de NO_2^- e NO_3^- foram menores que para determinação sequencial dos dois analitos. No entanto, a diferença entre a determinação individual e a sequencial, foi mais significativa para a redução dos íons NO_3^- . Isso se deve provavelmente aos problemas de adsorção competitiva entre os dois íons, conforme discutido anteriormente. Contudo a reprodutibilidade do método, assim como a repetibilidade, foi semelhante tanto nas determinações individuais, quanto na determinação sequencial.

4 CONCLUSÃO

Os estudos realizados nesse trabalho mostraram a possibilidade de determinação sequencial de nitrato e nitrito empregando um ultramicroeletrodo de ouro modificado *in situ* com cádmio depositado em regime de subtensão, utilizando como técnica a voltametria de pulso diferencial.

A modificação *in situ* da superfície do ultramicroeletrodo de ouro por meio da DRS de cádmio foi fundamental para obter uma superfície que fosse, em determinado momento catalítica somente para a redução dos íons NO_3^- e depois somente para a oxidação dos íons NO_2^- , possibilitando assim a determinação sequencial desse íons.

Comparando os resultados obtidos na determinação de nitrato e nitrito individualmente, com aqueles obtidos na determinação sequencial dos dois analitos, pode-se observar que para o nitrito não houve diferença significativa nos resultados tanto na determinação individual quanto na sequencial, o que indica que não houve interferência dos íons nitrato durante a determinação do nitrito. No entanto o mesmo não aconteceu quando comparamos a determinação sequencial com a determinação individual dos íons nitrato. Foi constatado que na determinação do nitrato na presença de íons nitrito, há uma diminuição na corrente de redução de aproximadamente 30%. Isso foi atribuído a uma adsorção específica competitiva entre nitrato e nitrito, onde o nitrito, que reduz em um potencial mais negativo que o nitrato estaria se adsorvendo preferencialmente na superfície eletródica inibindo os sítios ativos e provocando uma diminuição na corrente de redução do nitrato.

O mecanismo de reação para a oxidação do nitrito foi discutido com base em eletrólises a potenciais controlados, onde foi possível determinar o número de elétrons transferidos na reação e compará-los com dados da literatura.

O método proposto é rápido e simples de ser executado se comparado a outras técnicas como espectrofotometria e cromatografia, por exemplo. Entretanto, para aplicação em amostras e realização de análises em campo é necessário ainda a comparação do método proposto com um outro procedimento de referência para atestar a confiabilidade do método.

5 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Como perspectivas para trabalhos futuros pode-se destacar, a comparação do método proposto com outros procedimentos de referência e sua aplicação na determinação de NO_2^- e NO_3^- em águas e alimentos. Pode-se ainda, aperfeiçoar o método para ser utilizado em um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) automatizado, o qual permitirá a realização de análises mais rápidas. Outra possibilidade é melhorar a sensibilidade do método, utilizando conjuntos de ultramicroeletrodos com diferentes modificações na superfície. Um estudo sobre o mecanismo de redução do NO_3^- sobre o UME de Au modificado pela DRS de Cd por meio de técnicas como a microbalança eletroquímica de cristal de quartzo (MECQ), pode também ser objeto de trabalhos futuros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 BISWAS, S.; CHOWDHURY, B.; RAY, B. C. A novel spectrofluotimetric method for the ultra trace analysis of nitrite and nitrate in aqueous medium and its application to air, water, soil and forensic samples. **Talanta**, v. 64, n. 2, p. 308-312, 2004.
- 2 CAMARGO, J. A; ALONSO, A. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. **Environment International**, v. 32, n. 6, p. 831-849, 2006.
- 3 MOORCROFT, M. J.; DAVIS, J.; COMPTON, R. G. Detection and determination of nitrate and nitrite: a review. **Talanta**, v. 54, n. 5, p. 785-803, 2001.
- 4 GÁSPÁR, A.; JUHÁSZ, P.; BÁGYI, K. Application of capillary zone electrophoresis to the analysis and to a stability study of nitrite and nitrate in saliva. **Journal of Chromatography A**, v. 1065, n. 2, p. 327-331, 2005.
- 5 JOBGEN, W. S.; JOBGEN, S. C.; LI, H.; MEININGER, C. J.; WU, G. Analysis of nitrite and nitrate in biological samples using high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, v. 851, p. 71-82, 2007.
- 6 RAYMUNDO, Melissa dos Santos. **Avaliação da quantificação de nitritos e antioxidantes em alimentos por técnicas voltamétricas**. 2007. 215f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2007.
- 7 AZEREDO, H. M. C. Métodos de conservação de alimentos. In: Fundamentos de estabilidade de alimentos. Fortaleza: Embrapa Agroindustrial Tropical, 2004. p. 126-128.
- 8 JAKSZYN, P.; GONZÁLEZ, A. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: A systematic review of the epidemiological evidence. **World Journal of Gastroenterology**, v. 12, n. 27, p. 4296-4303, 2006.
- 9 MANASSARAM, D. M.; BACKER, L. C; MOLL, D. M. A Review of nitrates in drinking water: Maternal exposure and adverse reproductive and developmental outcomes. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 3, p. 320-327, 2006.

10 COLIN, B. A química das águas naturais. In: Química ambiental. Porto Alegre: Bookman, 2002. p. 459-463.

11 FERNÍCOLA, N. G. G.; AZEVEDO, F. A. Metemoglobinemia e nitrato nas águas. **Revista Saúde Pública**, v.15, p.242-248, 1981.

12 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 518 de 25 de março de 2004. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de março de 2004. Seção 1, p. 266.

13 BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. CONAMA. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 de março de 2005. Seção 1, p. 58-63.

14 ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Disponível em: <http://www.epa.gov/safewater/contaminants/index.html#inorganic>>. Acesso em: 27 abr. 2009.

15 CONSELHO DA UNIÃO EUROPEIA. Directiva 98/83/CE de 3 de novembro de 1998. **Jornal Oficial das Comunidades Europeias**, 5 de dezembro de 1998. L 330, p. 32-54. Disponível em: http://eur-lex.europa.eu/RECH_legislation.do>. Acesso em: 27 jan. 2010.

16 ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Guidelines for Drinking Water Quality, 3 rd ed., vol. 1, Geneva, 2008. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/en/index.html>. Acesso em: 27 jan. 2010.

17 ABBAS, M. N.; MOSTAFA, G. A. Determination of traces of nitrite and nitrate in water by solid phase spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 410, p. 185-192, 2000.

18 NAGARAJA, P.; KUMAR, M. S. H. Spectrophotometric determination of nitrate in polluted water using a new coupling reagent. **Analytical Sciences**, v. 18, p. 355-357, 2002.

19 AYDIN, A.; ERCAN, O.; TASCIOGLU, S. A novel method for the spectrophotometric determination of nitrite in water. **Talanta**, v. 66, n. 5, p. 1181-1186, 2005.

20 AL-OKAB, R. A.; SYED, A. A. Novel reactions for simple and sensitive spectrophotometric determination of nitrite. **Talanta**, v. 72, n. 4, p. 1239-1247, 2007.

21 ITO, K.; TAKAYAMA, Y.; MAKABE, N.; MITSUI, R.; HIROKAWA, T. Ion chromatography for determination of nitrite and nitrate in seawater using monolithic ODS columns. **Journal of Chromatography A**, v. 1083, p.63-67, 2005.

22 AKYÜZ, M.; ATA, S. Determination of low level nitrite and nitrate in biological, food and environmental samples by gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography with fluorescence detection. **Talanta**, v. 79, n. 3, p. 900-904, 2009.

23 KODAMATANI, H.; YAMAZAKI, S.; SAITO, K.; TOMIYASU, T.; KOMATSU, Y. Selective determination method for measurement of nitrite and nitrate in water samples using high-performance liquid chromatography with post-column photochemical reaction and chemiluminescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 3163-3167, 2009.

24 OKEMGBO, A. A.; HILL, H. H.; SIEMS, W.F; METCALF, S. G. Reverse polarity capillary zone electrophoretic analysis of nitrate and nitrite in natural water samples. **Analytical Chemistry**, v. 71, n. 14, p. 2725-2731, 1999.

25 MIYADO, T.; TANAKA, Y.; NAGAI, H.; TAKEDA, S.; SAITO, K.; FUKUSHI, K.; YOSHIDA, Y.; WAKIDA, S.; NIKI, E. Simultaneous determination of nitrate and nitrite in biological fluids by capillary electrophoresis and preliminary study on their determination by microchip capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 1051, p. 185-191, 2004.

26 BURAKHAM, R.; OSHIMA, M.; GRUDPAN, K.; MOTOMIZU, S. Simple flow-injection system for the simultaneous determination of nitrite and nitrate in water samples. **Talanta**, v. 64, n. 5, p. 1259-1265, 2004.

27 MELCHERT, W. R.; ROCHA, F. R. P. A green analytical procedure for flow-injection determination of nitrate in natural waters. **Talanta**, v. 65, n. 2, p. 461–465, 2005.

28 SOMNAM, S.; JAKMUNEE, J.; GRUDPAN, K.; LENGHOR, N. MOTOMIZU, S. Determination of nitrite and nitrate in water samples by an automated hydrodynamic sequential injection method. **Analytical Sciences**, v. 24, p. 1599-1603, 2008.

- 29 PASQUALI, C. E. L.; GALLEGÓ-PICÓ, A.; HERNANDO, P. F.; VELASCO, M.; ALEGRÍA, J. S. D. Two rapid and sensitive automated methods for determination of nitrite and nitrate in soil samples. **Microchemical Journal**, v. 94, n. 1, p. 79-82, 2010.
- 30 SILVA, S. M.; MAZO, L. H. Differential pulse voltammetric determination of nitrite with gold ultramicroelectrode. **Electroanalysis**, v. 10, n. 17, p. 1200-1203, 1998.
- 31 SIMPSON, B. K.; JOHNSON, D. C. Electrocatalysis of nitrate reduction at copper-nickel alloy electrodes in acidic media. **Electroanalysis**, v. 16, n. 7, p. 532-538, 2004.
- 32 YANG, C.; LU, Q.; HU, S. A novel nitrite amperometric sensor and its application in food analysis. **Electroanalysis**, v. 18, n. 22, p. 2188-2193, 2006.
- 33 JIANG, Y. N.; LUO, H. Q.; LI, N. B. Determination of nitrite with a nano-gold modified glassy carbon electrode by cyclic voltammetry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 87, n. 4, p. 295-306, 2007.
- 34 KIM, D.; GOLDBERG, I. B.; JUDY, J. W. Microfabricated electrochemical nitrate sensor using double-potential-step chronocoulometry. **Sensors and Actuators B**, v. 135, n. 2, p. 618-624, 2009.
- 35 SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Química eletroanalítica. In: *Princípios de análise instrumental*. Porto Alegre: Bookman, 2002. p. 501-595.
- 36 KAROUSOS, N.; CHONG, L. C.; EWEN, C.; LIVINGSTONE, C.; DAVIS, J. Evaluation of a multifunctional indicator for the electroanalytical determination of nitrite. **Electrochimica Acta**, n.50, p. 1879–1884, 2005.
- 37 SANTOS, W. J.R.; SOUSA, A. L.; LUZ, R. C. S.; DAMOS, F. S.; KUBOTA, L. T.; TANAKA, A. A.; TANAKA, S. M.C.N. Amperometric sensor for nitrite using a glassy carbon electrode modified with alternating layers of iron(III) tetra-(*N*-methyl-4-pyridyl)-porphyrin and cobalt(II) tetrasulfonated phthalocyanine. **Talanta**, v. 70, n. 3, p. 588–594, 2006.
- 38 SANTOS, W. J.R.; LIMA, P. R.; TANAKA, A. A.; TANAKA, S. M.C.N.; KUBOTA, L. T. Determination of nitrite in food samples by anodic voltammetry using a modified electrode. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1206–1211, 2009.
- 39 SOROPOGUI, K.; SIGAUD, M.; VITTORI, O. A Cobalt Film Electrode for Nitrite Determination in Natural Water. **Electroanalysis**, v. 19, n. 24, p. 2559– 2564, 2007.

- 40 OLIVEIRA, R. T. S.; GARBELLINI, G. S.; SALAZAR-BANDA, G. R.; AVACA, L. A. The use of ultrasound for the analytical determination of nitrite on diamond electrodes by square wave voltammetry. **Analytical Letters**, v. 40, n. 14, p. 2673–2682, 2007.
- 41 GROOT, M. T.; KOPER, M. T.M. The influence of nitrate concentration and acidity on the electrocatalytic reduction of nitrate on platinum. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 562, n. 1, p. 81-94, 2004.
- 42 BAE, S. E.; STEWART, K. L.; GEWIRTH, A. A. Nitrate adsorption and reduction on Cu(100) in acidic solution. **Journal of American Chemical Society**, v. 129, n. 33, p.10171-10180, 2007.
- 43 DORTSIOU, M.; KYRIACOU, G. Electrochemical reduction of nitrate on bismuth cathodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 630, p. 69–74, 2009.
- 44 HWANG, S.; LEE, J.; KWAK, J. Nitrate reduction catalyzed by nanocomposite layer of Ag and Pb on Au(111). **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 579, p. 143-152, 2005.
- 45 PRONKIN, S. N.; SIMONOV, P. A.; ZAIKOVSKII, V. I.; SAVINOVA, E. R. Model Pd-based bimetallic supported catalysts for nitrate electroreduction. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 265, p. 141-147, 2007.
- 46 SOROPOGUI, K.; SIGAUD, M.; VITTORI, O. Alert Electrodes for Continuous Monitoring of Nitrate Ions in Natural Water. **Electroanalysis**, v. 18, n. 23, p. 2354–2360, 2006.
- 47 PAIXÃO, T. R. L. C.; CARDOSO, J. L.; BERTOTTI, M. Determination of nitrate in mineral water and sausage samples by using a renewable in situ copper modified electrode. **Talanta**, v. 71, n. 1, p. 186–191, 2007.
- 48 GAMBOA, J. C. M.; PEÑA, R. C.; PAIXÃO, T. R. L. C.; BERTOTTI, M. A renewable copper electrode as an amperometric flow detector for nitrate determination in mineral water and soft drink samples. **Talanta**, v. 80, n. 2, p. 581–585, 2009.
- 49 KAMINSKAYA, O. V.; ZAKHAROVA, E. A.; SLEPCHENKO, G. B. Simultaneous Voltammetric Determination of Nitrites and Nitrates in Waters. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 59, n. 11, p. 1091–1096, 2004.

50 SANTOS, M. C.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Estudos da eletrodeposição de metais em regime de subtenção. **Química Nova**, v. 23, n. 3, p. 392-399, 2000.

51 KOLB, D. M.; PRZASNYSKI, M.; GERISCHER, H. Underpotential deposition of metals and work function differences. **Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 54, n.1, p. 25-38, 1974.

52 SWATHIRAJAN, S.; BRUCKENSTEIN, S. Thermodynamics and kinetics of underpotential deposition of metal monolayers on polycrystalline substrates. **Electrochimica Acta**, v. 28, n. 7, p. 865-877, 1983.

53 SZABÓ, S. Underpotential deposition of metals on foreign metal substrates. **International Reviews in Physical Chemistry**, v. 10, n. 2, p. 207-248, 1991.

54 CABRAL, Murilo Feitosa. **Estudos voltamétricos e microgravimétricos da deposição em subtenção de cádmio e chumbo sobre filmes finos de selênio**. 2008. 137f. Tese (Doutorado em Ciências - Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

55 JUTTNER, K. Oxygen reduction electrocatalysis by underpotential deposited metal atoms at different single crystal faces of gold and silver. **Electrochimica Acta**, v. 29, n. 11, p. 1597-1604, 1984.

56 ADZIC, R. R.; SIMIC, D. N.; DESPIC, A. R.; DRAZIC, D. M. Electrochemical oxidation of formic acid at noble metals: Catalytic Effects of Foreign Metal Monolayers. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 80, p. 81, 1977.

57 VIYANNALAGE, L. T.; BLIZNAKOV, S.; DIMITROV, N. Electrochemical method for quantitative determination of trace amounts of lead. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 6, p. 2042-2049, 2008.

58 XING, X.; SCHERSON, D. A.; MAK, C. The electrocatalytic reduction of nitrate mediated by underpotential-deposited cadmium on gold and silver electrodes in acid media. **Journal of Electrochemical Society**, v. 137, n. 7, p.2166-2175, 1990.

59 HSIEH, S. J.; GEWIRTH, A. A. Nitrate reduction catalyzed by underpotentially deposited Cd on Au(111): Identification of the electroactive surface structure. **Langmuir**, v. 16, n. 24, p. 9501-9512, 2000.

60 WIGHTMAN, R. M.; WIPF, D. O. Voltammetry at ultramicroelectrodes. In: BARD, A.J. (Ed.). **Electroanalytical chemistry**: a series of advances. New York and Basel: Marcel Dekker, Inc., 1989. v. 15, p.267-353.

61 BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. **Electroquímica** : princípios, métodos e aplicações. Coimbra: Livraria Almedina, 1996. 471 p.

62 BRODERICK, P. A.; PACIA, S. V.; DOYLE, W. K.; DEVINSKY, O. Monoamine neurotransmitters in resected hippocampal subparcellations from neocortical and mesial temporal lobe epilepsy patients: In situ microvoltametric studies. **Brain Research**, v. 878, p. 48-63, 2000.

63 MIGNANO, L.; PERDISCAKIS, M.; BESSIERE, J. Ultramicroelectrode study without deliberately added electrolyte: application to the analysis of liquid-liquid extraction processes in dichloromethane. **Analytica Chimica Acta**, v. 305, p. 137-145, 1995.

64 WIPF, D. O.; WIGHTMAN, R. M. Voltammetry with microvoltammetric electrodes in resistive solvents under linear diffusion conditions. **Analytical Chemistry**, v. 62, n. 2, p. 98-102, 1990.

65 CORREIA, A. N.; MASCARO, L. H.; MACHADO, S. A. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A. Ultramicroeletrodos. Parte I: Revisão Teórica e Perspectivas. **Química Nova**, v. 18, n. 5, p. 475-480, 1995.

66 SOUZA, Djenaine. **Utilização de ultramicroeletrodos na quantificação dos pesticidas paraquat e diclorvos em diferentes matrizes por voltametria de onda quadrada**. 2004. 168 f. Tese (Doutorado em Ciências – Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

67 SILVA, S. M.; ALVES, C. R.; CORREIA, A. N.; MARTINS, R. M.; NOBRE, A. L. R.; MACHADO, S. A. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A. Ultramicroeletrodos. Parte II: Construção e aplicações. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 78-85, 1998.

68 MILLER, J. C.; MILLER, J. N. **Estadística y quimiometría para química analítica**. Madrid: Pearson Educación S.A, 2002. 296 p.

69 SILVA, Osmair Benedito. **Estudo estatístico do desempenho analítico das técnicas eletroquímicas VPD, VOQ e MVOQ para a redução do herbicida paraquat em UME-Au e sua análise e quantificação em águas puras e naturais.** 2008. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

70 BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods** - fundamentals and applications. New York: John Wiley, 1980. 718 p.

71 ALVES, Carlucio Roberto. **Oxidação eletroquímica de nitrito sobre ouro em soluções aquosas neutras e ácidas.** 1993. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1993.

72 GUIDELLI, R.; PERGOLA, F.; RASPI, G. Voltammetric behavior of nitrite ion on platinum in neutral and weakly acidic media. **Analytical Chemistry**, v. 44, n. 4, p. 745-755, 1972.

73 SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Eletrólise completa: eletrogravimetria e coulometria. In: Fundamentos de química analítica. In: São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2006. p. 596-626.

74 WETTERS, J. H.; UGLUM, K. L. Direct spectrophotometric simultaneous determination of nitrite and nitrate in the ultraviolet. **Analytical Chemistry**, v. 42, n. 3, p. 335-340, 1970.

75 XING, X.; SCHERSON, D. A. Rotating Ring-Disk electrode method for the quantitative determination of nitrate ions in aqueous solutions in the submicromolar range. **Analytical Chemistry**, v. 59, n. 7, p. 962-964, 1987.

76 HUANG, H.; ZHAO, M.; XING, X.; BAE, I. T.; SCHERSON, D. A. In-situ infrared studies of the Cd-UPD mediated reduction of nitrate on gold. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 293, p. 279-284, 1990.

77 DEAKIN, M. R.; MELROY, O. Underpotential metal deposition on gold, monitored in situ with a quartz microbalance. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 239, p. 321-331, 1988.

78 NIECE, B. K.; GEWIRTH, A. A. Potential-step chronocoulometric and quartz crystal microbalance investigation of coadsorbed cadmium and sulfate on Au(111) electrodes. **Langmuir**, v. 13, n. 23, p. 6302-6309, 1997.

79 SANTOS, M. C.; MACHADO, S.A.S. Electrochemical deposition of the first Cd monolayer on polycrystalline Pt and Au electrodes. An Upd study. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 9, n. 3, p. 211-218, 1998.

80 VIDU, R.; HARA, S. Surface alloying at the Cd | Au(100) interface in the upd region. Electrochemical studies and in situ EC-AFM observation. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 475, p. 171-180, 1999.

81 INZELT, G.; HORÁNYI, G. On the alloy formation in the course of upd of Cd on gold. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 491, p. 111-116, 2000.

82 SANTOS, Mauro Coelho. **Estudo da deposição em regime subtensão de Cd, Se e Te e da formação de monocamadas atômicas ordenadas de CdSe e CdTe sobre diferentes substratos em meios ácidos**. 2001. 227 f. Tese (Doutorado em Ciências - Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.