**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS**

Fernando Campanhã Vicentini

***Avaliação da potencialidade de eletrodos
compósitos à base de grafite/poliuretana
modificados com hexacianoferratos de Cu(II), Co(II)
e Fe(III) para fins analíticos***

São Carlos

2009

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

***Avaliação da potencialidade de eletrodos
compósitos à base de grafite/poliuretana
modificados com hexacianoferratos de Cu(II), Co(II)
e Fe(III) para fins analíticos***

Fernando Campanhã Vicentini

Dissertação apresentada ao Instituto de Química
de São Carlos, da Universidade de São Paulo,
como parte dos requisitos para a obtenção do
título de Mestre em Química

Orientador: Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavaleiro

São Carlos

2009

Dedico este trabalho,

Aos meus pais Luiz Gonzaga e Alda Maria; aos meus irmãos Josy, Marcelo, Renata, Luiza, Luiz Gonzaga e à minha avó Maria Joana. Vocês são a razão do meu viver. Amo muito todos vocês!

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro, pela orientação, oportunidade, incentivo, por toda confiança e amizade durante esses anos.
- Ao Prof. Dr. Gilberto Chierice, pela imensa receptividade e bom humor.
- Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello-Filho, pela amizade, pelas sugestões e discussões.
- À Cá, que mesmo distante, sempre esteve em todos os meus pensamentos.
- Aos meus pais, por estarem sempre ao meu lado e por me darem toda educação e respeito para que pudesse ser o homem que sou hoje.
- Aos meus irmãos e cunhados, por todos os momentos de descontração durante os poucos fins de semana em que estivemos juntos.
- Ao meu irmão Marcelo, pelos desenhos no AUTOCAD.
- Ao Toni, por toda força durante esses anos, e principalmente durante as nove segundas-feiras do último carnaval fazendo café de meia em meia hora!
- Às minhas amigas, Bärbie e Rita, pela amizade e pelos momentos de muita risada.
- A todos do lab: Puff, Ivana, Royal, Priscila, Rafael, Carol, Gilbert, Mariá, Tio Lu, Glimaldo, Graziela, Toninho, Gisele, Salvador, Tácia, Márcio, Marli, Luiz, Amanda, Felipe.
- Aos outros três vértices do quadrado mágico: Luiz Humberto, Gabriel e Bruno.
- Aos meus amigos da UFSCar: 24, Lúcio, Geiser, Cabelo, Cyber, Inara, Bia, Ju Shiki, Beliza, Maria Carolina.

- Aos meus “pais científicos”: Luiz e Vivi por toda amizade, discussões, sugestões, além de todo incentivo científico.
- Ao meu grande amigo Ronir, por todos esses anos de convivência e grande amizade.
- Ao Nardoni, pela amizade e convivência diária.
- Ao Vítor, Marcão e Levi, pelos ensaios que ajudaram a aliviar a tensão.
- Aos professores do IQSC, pelos ensinamentos transmitidos e experiências de vida.
- Aos funcionários, da oficina mecânica e de vidraria que cansaram de me ver levando eletrodos para serem desbastados.
- À Andréia e Silvia por toda atenção, e a todas as secretárias da biblioteca, sempre muito eficientes.
- Ao IQSC, pela excelente infra-estrutura oferecida (R.U., entre outros).
- À música, que esteve comigo na grande maioria do tempo, fazendo com que eu me sentisse sempre muito bem.
- A todos que me apoiaram e de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.
- Ao CNPq pela bolsa concedida.

RESUMO

VICENTINI, F. C. **Avaliação da potencialidade de eletrodos compósitos à base de grafite/poliuretana modificados com hexacianoferratos de Cu(II), Co(II) e Fe(III), para fins analíticos.** 2009. 96f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

Eletrodos compósitos à base de grafite/poliuretana foram preparados contendo diferentes quantidades de hexacianoferratos de cobre(II), cobalto(II) e ferro(III). Os complexos foram preparados de acordo como procedimentos descritos na literatura e caracterizados por análise elementar, análise térmica e espectrometria na região do infra-vermelho. A análise térmica mostrou que há 10 moléculas de água de hidratação no hexacianoferrato de cobre(II), 11 no hexacianoferrato de cobalto(II) e 16 no hexacianoferrato de ferro(III). Após desidratação ocorre decomposição exotérmica violenta dos complexos. No caso do cobre a decomposição se dá com formação de CuO seguida da degradação do Fe(CN)_3 com formação de Fe_2O_3 . Para o hexacianoferrato de cobalto(II) e o hexacianoferrato de ferro(III) a mistura de $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{Fe}_2\text{O}_3$ e o Fe_2O_3 , respectivamente, se formaram após uma única etapa de decomposição. Apenas os eletrodos preparados com os complexos de cobalto e cobre apresentaram sinais voltamétricos, enquanto que o complexo de ferro não respondeu, provavelmente devido à sua baixa solubilidade em água. As condições de preparação dos eletrodos, tais como composição, ordem de adição de reagentes, pH, eletrólito suporte e intervalo de potenciais foram otimizadas. Um mecanismo para explicar a não estabilização do sinal voltamétrico, mesmo após ciclagem de potencial foi proposto com base na baixa solubilidade dos sais em água e a sua imobilização no eletrodo sólido a qual dificulta a formação do filme de hexacianoferrato na superfície. Finalmente um método analítico para a determinação de piridoxina, usando o eletrodo de grafite/poliuretana modificado com hexacianoferrato de cobre(II) foi proposto, com base na redução de sinal do complexo, na presença do analito. Neste caso foi observada uma resposta linear entre $1,08 \times 10^{-6}$ a $1,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $8,78 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ($3 \times \text{S/N}$) e o método foi aplicado na determinação de piridoxina em duas formulações comerciais. Coeficientes de recuperação entre 98-120% foram observados sem interferência dos componentes das formulações e sem necessidade de renovação da superfície do eletrodo.

ABSTRACT

VICENTINI, F. C. **Evaluation of the analytical potentialities of composites electrodes based on graphite/polyurethane modified with hexacyanoferrates of Cu (II), Co (II) and Fe (III).** 2009. 96 f. Dissertation (Masters) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

Graphite-polyurethane solid composite electrodes were prepared containing different amounts of copper(II), cobalt(II) and iron(III) hexacyanoferrates. The complexes were synthesized according to procedures previously described and characterized using elemental analysis, infrared spectrometry and the thermal analytical techniques: thermogravimetry/derivative thermogravimetry and differential thermal analysis. The thermal analysis revealed that there are 10 hydration water molecules in the copper(II) hexacyanoferrate, 11 in the cobalt(II) and 16 in the iron(III) complexes. After dehydration, a strong exothermal degradation occurred in all cases. The copper complex decomposed in two steps with generation of CuO, followed by degradation of the $\text{Fe}(\text{CN})_3$ and formation of Fe_2O_3 . The cobalt(II) and iron(III) hexacyanoferrates decomposed in a single step with generation of $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{Fe}_2\text{O}_3$ mixture and Fe_2O_3 as residues respectively. Only the electrodes prepared with copper and cobalt complexes presented voltammetric signals, while the iron complexes did not responded, probably due to its very low solubility in water. The conditions for the electrode preparation such as composition, order of addition of the components supporting electrolyte, pH and useful potential window were optimized. A mechanism to explain the non-stabilization of the voltammetric signal even after 200 cycles has been proposed on the basis of the complexes solubility in water as well as the immobilization of the complex in the solid electrode that turns difficult the formation of the hexacyanoferrate film on the electrode surface. Finally, a graphite polyurethane electrode modified with the Cu(II) hexacyanoferrate has been used in the voltammetric determination of pyridoxine, based on the diminution of the voltammetric signal of the modifier in the presence of the analyte. In this case a linear dynamic range of 1.08×10^{-6} to $1.07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, with a detection limit of $8.78 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ($3 \times \text{S/N}$). The proposed electrode was used in the determination of pyridoxine in two solid pharmaceutical formulations with recoveries of 98 – 120% without interference of the other substances present in the formulation and no adsorption on the electrode surface.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Estrutura cristalina do hexacianoferrato (III) de cobre (II) em solução contendo íons sódio	28
Figura 1.2: Formas da vitamina B ₆ mais comuns encontradas.....	31
Figura 3.1: Representação esquemática da célula eletroquímica usada nas medidas voltamétricas: Eletrodo de referência (Eletrodo de calomelano saturado – KCl 3,0 mol L ⁻¹); Eletrodo de trabalho (M-HCF); Contra-eletrodo (Pt) e Nitrogênio.....	37
Figura 3.2: Representação esquemática da prensa manual utilizada na preparação dos compósitos grafite-poliuretana (grafite, m/m).....	41
Figura 3.3: Esquema do eletrodo compósito grafite-poliuretana.....	42
Figura 4.1: Espectros de infravermelho para os complexo Cu ₃ [Fe(CN ₆)] ₂ .10H ₂ O, Co ₃ [Fe(CN ₆)] ₂ .11H ₂ O e Fe ₄ [Fe(CN ₆)] ₃ .16H ₂ O em pastilhas de KBr 1:100 (m/m).....	53
Figura 4.2: Curva TG/DTG para o complexo Cu ₃ [Fe(CN ₆)] ₂ .10H ₂ O. Massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra de α-alumina, aberto, razão de aquecimento de 10°C min ⁻¹ , atmosfera de ar com vazão de 100 mL min ⁻¹	55
Figura 4.3: Curva TG-DTA para o complexo Cu ₃ [Fe(CN ₆)] ₂ .10H ₂ O. Massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra de α-alumina, aberto, razão de aquecimento de 10°C min ⁻¹ , atmosfera de ar com vazão de 100 mL min ⁻¹	56
Figura 4.4: Curva TG/DTG para o complexo Co ₃ [Fe(CN ₆)] ₂ .11H ₂ O. Massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra de α-alumina, aberto, razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ , atmosfera de ar com vazão de 100 mL min ⁻¹	58
Figura 4.5: Curva TG-DTA para o complexo Co ₃ [Fe(CN ₆)] ₂ .11H ₂ O. Massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra de α-alumina, aberto, razão de aquecimento de 10°C min ⁻¹ , atmosfera de ar com vazão de 100 mL min ⁻¹	58

Figura 4.6: Curva TG/DTG para o complexo $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$. Massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra de α -alumina, aberto, razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, atmosfera de ar com vazão de 100 mL min^{-1}	60
Figura 4.7: Curva TG-DTA para o complexo $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$. Massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra de α -alumina, aberto, razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, atmosfera de ar com vazão de 100 mL min^{-1}	60
Figura 4.8: Voltamogramas obtidos para os eletrodos de grafite/poliuretana modificados com diferentes porcentagens de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ em solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) e velocidade de varredura 50 mV s^{-1}	62
Figura 4.9: Voltamogramas obtidos para os eletrodos de grafite/poliuretana modificados com diferentes porcentagens de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (poliuretana 40,0%, <i>m/m</i>) em solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) e velocidade de varredura 50 mV s^{-1}	63
Figura 4.10: Efeito da porcentagem de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ na resposta voltamétrica dos eletrodos de grafite/poliuretana modificados, em solução KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) e velocidade de varredura 50 mV s^{-1}	64
Figura 4.11: Efeito da porcentagem de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ na resposta voltamétrica dos eletrodos de grafite/poliuretana modificados, em solução KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) e velocidade de varredura 50 mV s^{-1}	65
Figura 4.12: Voltamogramas cíclicos obtidos com os eletrodos de grafite/poliuretana modificado com 10,0% (<i>m/m</i>) de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ em diferentes ordens de adição dos componentes: A – [(Resina poliuretana + $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ homogeneizados por 2 minutos) + grafite homogeneizados por 10 minutos], B – [(Grafite + $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ homogeneizados por 10 minutos) + Resina poliuretana homogeneizados por 10 minutos] e C – (Resina poliuretana + grafite + $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ homogeneizados por 10 minutos), em solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,5) e velocidade de varredura de 50 mV s^{-1}	66

Figura 4.13: Efeito do contra-íon contido no eletrólito suporte. Concentração dos eletrólitos suporte 0,20 mol L ⁻¹ (pH 3,0) e velocidade de varredura 50 mV s ⁻¹	68
Figura 4.14: Efeito do pH na resposta voltamétrica do eletrodo de grafite/poliuretana modificado com 12,5% (<i>m/m</i>) de Cu ₃ [Fe(CN) ₆] ₂ .10H ₂ O em solução KCl 0,5 mol L ⁻¹	69
Figura 4.15: Voltamogramas obtidos para os eletrodos de grafite/poliuretana modificados com diferentes porcentagens de Cu ₃ [Fe(CN) ₆] ₂ .10H ₂ O em solução de KNO ₃ 0,2 mol L ⁻¹ (pH 5,8) e velocidade de varredura 50 mV s ⁻¹	70
Figura 4.16: Efeito da porcentagem de Cu ₃ [Fe(CN) ₆] ₂ .10H ₂ O na resposta voltamétrica dos eletrodos de grafite/poliuretana modificados, em solução KNO ₃ 0,2 mol L ⁻¹ (pH 5,8) e velocidade de varredura 50 mV s ⁻¹	72
Figura 4.17: Voltamogramas cíclicos obtidos em velocidades de varredura entre 5 e 100 mV s ⁻¹ utilizando o eletrodo modificado com Cu ₃ [Fe(CN) ₆] ₂ .10H ₂ O 20,0% (<i>m/m</i>) em solução KNO ₃ 0,20 mol L ⁻¹ pH 6,1	73
Figura 4.18: Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando os eletrodos modificados com Cu ₃ [Fe(CN) ₆] ₂ .10H ₂ O, Co ₃ [Fe(CN) ₆] ₂ .11H ₂ O e Fe ₄ [Fe(CN) ₆] ₃ .16H ₂ O, 20,0% (<i>m/m</i>) respectivamente, em solução KCl 0,5 mol L ⁻¹ e velocidade de varredura 100 mV s ⁻¹	75
Figura 4.19: Voltamograma cíclico obtido utilizando o eletrodo modificado com Cu ₃ [Fe(CN) ₆] ₂ .10H ₂ O 20,0% (<i>m/m</i>) em solução tampão acetato 0,05 mol L ⁻¹ contendo KCl 0,05 mol L ⁻¹ (pH 5,0), velocidade de varredura 100 mV s ⁻¹	76
Figura 4.20: Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando o eletrodo modificado com Cu ₃ [Fe(CN) ₆] ₂ .10H ₂ O 20,0% (<i>m/m</i>) em solução tampão acetato 0,05 mol L ⁻¹ contendo KCl 0,05 mol L ⁻¹ (pH 5,0), velocidade de varredura 100 mV s ⁻¹	78
Figura 4.21: Mecanismo proposto para a formação de filme durante o processo de ciclagem do eletrodo compósito de grafite/poliuretana modificado com Cu ₃ [Fe(CN) ₆] ₂ .10H ₂ O	79

- Figura 4.22:** Determinação voltamétrica de piridoxina em solução tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ contendo KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0), velocidade de varredura de potencial de 50 mV s^{-1} a 25°C . (A) Eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) na ausência de piridoxina e (B) Eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) na presença de piridoxina $6,26 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ 80
- Figura 4.23:** Mecanismo proposto para a oxidação eletrocatalítica de piridoxina por $\text{Fe}^{3+/2+}$ do núcleo metálico do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 81
- Figura 4.24:** Curva analítica obtida para o eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) em solução tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ contendo KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0), velocidade de varredura 100 mV s^{-1} , no intervalo de potenciais de 0,2 V à 1,2 V..... 84
- Figura 4.25:** Curva obtida pelo método de adição múltipla de padrões para a determinação de piridoxina em uma amostra comercial de Profol[®] (Medley), empregando um eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) em solução tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ contendo KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0), a 25°C 86
- Figura 4.26:** Curva obtida pelo método de adição múltipla de padrões para a determinação de piridoxina em uma amostra comercial de Dramin[®] B6 (Nycomed), empregando um eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) em solução tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ contendo KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0), a 25°C 87

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1: Resultados experimentais (exp) e calculados (calc) de análise elementar para os elementos carbono, nitrogênio e hidrogênio, presentes nos complexos sintetizados.....	51
Tabela 4.2: Principais bandas de absorção no infravermelho dos complexos $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$	53
Tabela 4.3: Determinação de piridoxina em formulações farmacêuticas empregando-se o método voltamétrico proposto.....	87

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	II
AGRADECIMENTOS.....	III
RESUMO.....	V
ABSTRACT.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE TABELAS.....	XI
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Apresentação.....	16
1.2 Trabalhos anteriores sobre eletrodos compósitos modificados....	17
1.3 Resina poliuretana.....	22
1.4 Revisão bibliográfica sobre eletrodos compósitos de grafite/poliuretana.....	24
1.5 Hexacianoferratos.....	27
1.6 Piridoxina (vitamina B₆).....	31
CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS.....	34
CAPÍTULO 3 – PARTE EXPERIMENTAL.....	36
3.1 Instrumentação básica.....	36
3.1.1 Balança analítica.....	36
3.1.2 pHmetro e eletrodo combinado de vidro.....	36
3.1.3 Medidas voltamétricas.....	36
3.1.4 Micromoinho de rotor vertical com facas móveis e fixas.....	37
3.1.5 Peneiras redondas para análises granulométricas.....	37

3.2 Síntese dos complexos.....	38
3.2.1 Síntese do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	38
3.2.2 Síntese do $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$	38
3.2.3 Síntese do $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$	38
3.3 Caracterização do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$.....	39
3.3.1 Análise elementar.....	39
3.3.2 Espectrometria vibracional na região do infravermelho.....	39
3.3.3 Termogravimetria – análise térmica diferencial (TG-DTA).....	40
3.4 Preparação do eletrodo grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.....	40
3.4.1 Construção do eletrodo de trabalho.....	40
3.4.1.1 Escolha da melhor composição de eletrodo.....	42
3.4.1.2 Efeito da ordem de adição dos componentes.....	44
3.4.1.3 Efeito do tamanho das partículas.....	45
3.5 Tratamento mecânico.....	46
3.6 Determinação voltamétrica de piridoxina utilizando um eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.....	47
3.6.1 Reagentes e soluções.....	47
3.6.1.1 Soluções estoque.....	47
3.6.1.2 Preparo e análise das amostras.....	47
3.6.1.3 Método comparativo.....	48

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
4.1 Caracterização do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$.....	51
4.1.1 Análise elementar.....	51
4.1.2 Espectrometria vibracional na região do infravermelho.....	52
4.1.3 Termogravimetria – análise térmica diferencial (TG-DTA).....	54
4.2 Construção do eletrodo grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.....	61
4.2.1 Efeito da composição.....	61
4.2.2 Efeito da ordem de adição dos componentes.....	66
4.3 Efeito do contra-íon do eletrólito suporte.....	67
4.4 Efeito da acidez do meio.....	68
4.5 Efeito da composição – novas proporções.....	70
4.6 Efeito da velocidade de varredura de potenciais.....	72
4.7 Efeito do tamanho das partículas.....	74
4.8 Comportamento voltamétrico do eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.....	76
4.8.1 Estudos sobre a possibilidade de determinação de piridoxina com o eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	79
4.8.2 Curva analítica.....	83
4.8.3 Aplicação.....	84
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÃO.....	90
Propostas de trabalhos futuros.....	91
REFERÊNCIAS	93

Capítulo 1 – Introdução

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação

A literatura apresenta diversas estratégias para a preparação de eletrodos a base de carbono, sendo exemplos clássicos os eletrodos de grafite pirolítico, de carbono vítreo, de fibras de carbono, além das pastas de carbono utilizando diversos compostos orgânicos como aglutinantes. Todos apresentam vantagens e desvantagens, as quais também são descritas na literatura [1]. Entre estas estratégias podem-se destacar os eletrodos compósitos à base de grafite.

Tallman e Petersen definiram um eletrodo compósito como sendo um material constituído de pelo menos uma fase condutora aglutinada por pelo menos uma fase isolante [2].

Dentre os compósitos destacam-se pelo volume de uso as pastas de carbono, nas quais o grafite é aglutinado por líquidos orgânicos [3]. Entretanto, também têm sido usados compósitos sólidos, nos quais os compostos orgânicos na fase líquida são substituídos, geralmente por polímeros. A principal vantagem desta substituição reside na estabilidade, especialmente em solventes não aquosos e aplicações em fluxo, além da resistência mecânica de tais arranjos. As pastas de carbono apresentam, em adição, problemas de reprodutibilidade de sinal, quando submetidas à renovação de superfície.

Algumas das principais vantagens do eletrodo compósito sólido em relação às pastas com aglutinantes líquidos são:

- 1) melhora da relação sinal/ruído, com conseqüente ganho nos limites de detecção;

- 2) alta resistência mecânica e estabilidade para aplicações em fluxo;
- 3) relativa simplicidade de renovação de superfície;
- 4) possibilidade de uso em solventes não aquosos;

Os principais problemas decorrem da baixa reprodutibilidade de área superficial, devido aos diferentes métodos de preparação e diferenças na renovação da superfície do eletrodo. Os principais métodos de preparação de compósitos sólidos se baseiam [2]:

- 1) na termomoldagem de uma mistura homogênea dos sólidos envolvidos;
- 2) na compressão mecânica de uma mistura de pós, para obtenção de pastilhas;
- 3) na polimerização “*in situ*” do monômero devidamente misturado com o grafite;
- 4) na liquefação (fusão) da carga, homogeneização dos componentes do sistema e resfriamento da mistura ou ainda
- 5) na dissolução do polímero em um solvente adequado, dispersando-se o grafite na solução e evaporando-se o solvente.

1.2 Trabalhos anteriores sobre eletrodos compósitos modificados

Além da incorporação do grafite ao polímero podem-se preparar eletrodos modificados por diversas substâncias, com diferentes propriedades e aplicações, conforme se observa nos exemplos a seguir:

SANMANTÍAS *et al.*, [4], propôs um eletrodo compósito de grafite/polímeros sobre uma superfície de óxido de estanho e índio, que pode ser

modificado com filmes de Nafion[®] contendo uma pequena quantidade de substâncias eletroativas dispersadas, como as ftalocianinas, com resposta eletroanalítica. Os resultados para esse tipo de eletrodo modificado foram baseados em dados de voltametria, mostrando que a dispersão de metilviologênio no Nafion[®], facilita o transporte eletrônico através da membrana.

TRIJUQUE *et al.*, [5], estudaram o efeito da queda ôhmica em eletrodos de grafite/epóxi contendo azul da prússia. A dependência dos voltamogramas com a proporção de grafite foi relacionada com a queda ôhmica. A melhor relação de grafite encontrada foi a de 62% que coincide com estudos anteriores efetuados por outras técnicas, pelos mesmos autores [6].

GUO e GUADALUPE, [7], apresentaram um novo procedimento para preparar eletrodos compósitos grafite/sol-gel. Tal procedimento usa como surfactante bis(2-etilhexil)sulfocinato. Ftalocianina de cobalto, difeniltiocarbazona e glicose oxidase/ferroceno, foram encapsuladas durante a preparação da superfície, para estudar a utilidade desses compósitos em superfícies catalíticas e sensores bioquímicos. O sensor de glicose foi utilizado na concentração de 30 mmol L⁻¹ apresentando tempo de resposta de 10s. A difeniltiocarbazona foi aplicada para determinação de chumbo. A superfície modificada com ftalocianina de cobalto foi cataliticamente ativa em glutatona reduzida, diminuindo o potencial de redução desta em até 400mV. A fabricação de eletrodos “*screen-printed*”, por esse método possibilitou a aplicação eletroanalítica em solventes aquosos e não-aquosos.

ALBERTÚS *et al.*, [8], descreveram a preparação de um novo eletrodo compósito de carbono, constituído de uma mistura de grafite/PVC. O desempenho do eletrodo foi avaliado utilizando a técnica de voltametria cíclica com hexacianoferrato (III) em HCl 1mol L⁻¹. Catecol e hidroquinona também foram

utilizados para estudos com esses eletrodos. O compósito de PVC/grafite exibiu qualidades favoráveis com respeito a resistência mecânica, custo, simplicidade de preparação e facilidade de renovação da superfície do eletrodo. Os resultados mostram uma atividade superficial intensa, com uma pequena corrente residual, além de sinais relativamente reprodutíveis.

TAKAMASA *et al.*, [9], desenvolveram um eletrodo impermeável à base de um compósito grafite/carbono vítreo, como um novo detector eletroquímico. A impermeabilidade e o comportamento eletroquímico do eletrodo foram estudados por voltametria cíclica em solução de H_2SO_4 , na qual a janela de potencial útil foi de +1,6V a -1,3V (em relação ao eletrodo de calomelano saturado), similar à de carbono vítreo. O pico de corrente da reação redox de ferrocianeto e ferricianeto foi proporcional a concentração dos íons ferro/ferricianeto. Não foi observada alteração da resposta para os íons ferro/ferricianeto em solução de KCl, mesmo depois de 100 dias de uso. O eletrodo apresentou uma resposta estável e uma boa reprodutibilidade, segundo os autores.

WANG e NASER, [10], fabricaram um eletrodo compósito modificado quimicamente de carbono/cera, incorporando quantidades apropriadas de modificadores na mistura: cera fundida/pó de grafite, e a sua posterior solidificação. Esse método resulta numa dispersão homogênea do modificador e numa superfície mecanicamente rígida. A compatibilidade de diferentes modificadores com grafite/cera foi acompanhada por voltametria cíclica. Determinação de níquel e cobre foram realizadas utilizando como modificador dimetilglioxima e resinas de troca catiônica, e ainda foi monitorado a atividade eletrocatalítica de hidrazinas, ácido oxálico com ftalocianina de cobalto como modificador.

TOMMASO *et al.*, [11] e [12], prepararam um eletrodo quimicamente modificado de óxido de níquel, pó de grafite e cloreto de polivinila (PVC) e um outro de óxido de cobre(I), pó de grafite e PVC, utilizados na oxidação catalítica de aldíóis como xilitol, sorbitol, manitol, etc., em soluções alcalinas. A faixa de resposta foi de 50 mmol L⁻¹ e o limite de detecção foi de 20 µmol L⁻¹, 50 µmol L⁻¹ e 80 µmol L⁻¹ para xilitol, dulcitol e manitol, respectivamente. A melhor sensibilidade com uma baixa corrente residual foi observada para uma proporção de 50% (*m/m*) para o eletrodo de óxido de cobre(I). O desempenho dos sensores foi avaliado por sua estabilidade e seletividade.

FERNADEZ *et al.* [13] e [14], descreveram a aplicação de eletrodo compósito à base de grafite/poli(tetrafluoretileno), na detecção amperométrica de herbicidas tiram e disulfiram. Limites de detecção de $4,3 \times 10^{-8}$ e $2,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ foram encontrados para tiram e disulfiram respectivamente. Foram analisadas também algumas espécies que podem estar presentes nesses herbicidas: como ziram, fenol e Zn(II).

NAVARRO *et al.*, [15], estudaram eletrodos compósitos de grafite/epóxi, em função do conteúdo de grafite. Voltamogramas de ferri/ferrocianeto mostram a relação entre a proporção de grafite e o processo de adsorção. A constante elétrica devido à impedância espectroeletroquímica medida do eletrodo compósito, é máxima quando a proporção de grafite é de 60%. De acordo com os autores, age como um multi-microeletrodo próximo a essa proporção.

LUQUE *et al.*, [16], descreveram um novo eletrodo compósito de grafite/PVC para determinação de proprilgalato, octilgalato, terc-butilhidroxianisol, usados como antioxidantes em alimentos, através de detecção amperométrica em sistemas de injeção de fluxo. O eletrodo apresenta propriedades favoráveis com

respeito à resistência mecânica, baixo custo, facilidade de preparação e superfície facilmente renovável.

Considerando as referências apresentadas como exemplo, nota-se que o desenvolvimento de compósitos com possível utilização em eletroanalítica é de importância e de interesse atual na literatura internacional.

Nosso grupo vinha utilizando resinas epóxi que, em alguns casos podem não ser totalmente impermeáveis levando a problemas de “inchamento”, provocado pela percolação de água, após uso prolongado do eletrodo naquele solvente, o que poderia ser controlado, em parte, pelo uso da resina à base de óleo vegetal, com alto grau de hidrofobicidade.

Estudos já realizados mostraram que esta hipótese é correta e a preparação, caracterização física e o uso dos compósitos a base de grafite/poliuretana se mostraram úteis como material eletródico, conforme trabalho de mestrado de MENDES [17], o trabalho de doutorado de CERVINI [18] e foram apresentados na literatura [19-25].

A aplicação eletroanalítica destes compósitos depende da composição do material e respostas eletroquímicas satisfatórias foram observadas para composições contendo entre 50 e 70 % de grafite (*m/m*), com melhor desempenho para 60 %, em termos de intensidade de corrente.

1.3 Resina poliuretana

WURTZ *et al.*¹ (1848 apud BAYER, W. G., 1987, p. 432) descobriram o uretano (ou uretana), produto da reação química entre um grupo isocianato e um grupo hidroxila, conforme Equação 1.1.

No entanto, esta descoberta somente teve aplicação comercial nos anos 40, quando BAYER [26] desenvolveu, na Alemanha, os primeiros polímeros à base de poliuretana [27].

A polimerização dos uretanos ocorre quando se reage um composto com dois ou mais isocianatos com um polioli, ou seja, um álcool polifuncional, conforme Equação 1.2.

Na fabricação dos poliuretanos utiliza-se principalmente di ou poli-isocianatos e os compostos de polioli. Além dessas matérias-primas são

¹ WURTZ, A.; LIEBIGS, J. **Analytical Chemistry**, v. 71, p. 236, 1849.

normalmente usados os agentes de cura, extensores de cadeia, agentes de expansão, catalisadores, agentes tensoativos, aditivos, cargas, entre outros [28].

Os isocianatos podem ser aromáticos, alifáticos, ciclo-alifáticos ou policíclicos. No mercado são encontrados diversos tipos de isocianatos alifáticos e aromáticos.

Na fabricação de poliuretanos utiliza-se uma grande variedade de polióis, como os polióis poliéteres, polióis poliésteres, óleo de mamona, polibutadieno líquido com terminação hidroxílica, entre outros. Cerca de 90% dos polióis utilizados na indústria de poliuretanos são poliéteres hidroxilados [29].

A resina poliuretana utilizada neste trabalho foi desenvolvida pelo Grupo de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros (GQATP) – USP – São Carlos. Essa resina é derivada do óleo de mamona, conhecido também como óleo de rícino, ou, em inglês, “castor oil”, que é uma matéria prima renovável e de origem natural [27,28], contendo cerca de 95 % (*m/m*) de ácido ricinoleico.

As principais vantagens do uso da resina poliuretana de origem vegetal são:

- (a) Redução da agressão ao meio ambiente;
- (b) Processo de cura a temperatura ambiente;
- (c) Alta hidrofobicidade;
- (d) Bicomponente, o que confere facilidade na preparação;
- (e) Facilidade de renovação da superfície (polimento c/ lixa);
- (f) Possibilidade de incorporação de modificadores, por simples homogeneização;
- (g) Resistência a alguns solventes orgânicos, possibilitando o uso em solventes não aquosos;

- (h) Extensa usinabilidade, pois apresenta fácil manuseio, podendo ser preparada em diferentes geometrias e diferentes composições;
- (i) Redução de custo e dependência tecnológica, por ser produzida no Brasil.

1.4 Revisão bibliográfica sobre eletrodos compósitos de grafite/poliuretana

O uso da poliuretana obtida a partir do óleo de rícino como a fase isolante para os eletrodos compósitos teve início em 2002, quando sua composição, proporções, intervalo útil de potencial e de pH foram avaliados por MENDES *et al.* [19]. A resposta desse eletrodo foi investigada para ferricianeto, hidroquinona, catecol e Cd^{2+} por voltametria cíclica e/ou voltametria de pulso diferencial.

TOLEDO *et al.* investigaram o comportamento da dopamina por voltametria cíclica e a determinaram em líquido cérebro-espinhal sintético usando tampão Britton-Robinson pH 7,4 aplicando-se voltametria de onda quadrada. Os limites de detecção e de quantificação foram de $6,4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ($12,1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) e $5,2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,9 \text{ mg L}^{-1}$), respectivamente [30].

MALAGUTTI e colaboradores apresentaram um estudo comparativo sobre o comportamento eletroquímico do flavonóide rutina utilizando-se um eletrodo compósito a base de grafite/poliuretana e um eletrodo de carbono vítreo. Foi desenvolvido um método para determinação de rutina em amostras de infusão de chá verde usando o eletrodo compósito e aplicando-se voltametria de onda quadrada [31].

TOLEDO *et al.* determinaram imipramina em tampão Britton-Robinson pH 7,0, onde o limite de detecção encontrado foi de $4,60 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ ($1,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) e o de quantificação de $3,04 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ($96 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$). O método proposto foi usado na

determinação de uma amostra comercial. A recuperação foi de 97,60 %. O estudo do mecanismo de oxidação eletroquímica da imipramina também foi proposto [32].

MENDES *et al.* realizaram determinação de hidroquinona em reveladores fotográficos, empregando tampão acetato pH 4,5, utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial. O eletrodo de grafite/poliuretana (60% grafite, *m/m*) apresentou estabilidade e repetibilidade adequadas. A faixa linear de resposta foi de 66-530 nmol L⁻¹. Não houve necessidade de preparo das amostras uma vez que o *p*-metilaminofenilsulfato (metol) presente na formulação da amostra não interferiu nas medidas [20].

TOLEDO e VAZ determinaram ácido indol-3-acético em amostras de solo empregando soluções de H₃PO₄ pH 1,6 através da voltametria de onda quadrada. As amostras de solo não passaram por nenhum tratamento prévio e não houve graves interferências nos constituintes do solo [33].

CERVINI *et al.* utilizaram o eletrodo de grafite/poliuretana na determinação de atenolol em amostras comerciais usando tampão universal pH 10,0. Voltametria de pulso diferencial foi utilizada e a curva analítica foi linear no intervalo de 4-100 µmol L⁻¹. Não houve necessidade de renovação da superfície entre medidas sucessivas. Os resultados do método proposto concordaram com HPLC (método comparativo) dentro de um intervalo de confiança de 95% [23]. Os autores também estudaram o uso do eletrodo compósito como detector amperométrico utilizando hidroquinona como sonda. Após otimização do sistema, a concentração mínima detectável de hidroquinona em reveladores fotográficos foi de 100 µmol L⁻¹ com uma frequência analítica de 81 determinações por hora [22].

CERVINI e CAVALHEIRO utilizaram hidroquinona como sonda para uma melhor caracterização do eletrodo compósito grafite-poliuretana como um

sensor voltamétrico, seu desempenho foi avaliado em voltametria de onda quadrada. O limite de detecção foi $0,28 \mu\text{mol L}^{-1}$, com recuperações entre 99,1 e 101,5% [21]. Também avaliaram um eletrodo compósito de grafite/poliuretana como detector amperométrico para análise em fluxo, na determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas. A curva analítica foi obtida com região linear entre $5,00 \times 10^{-5}$ e $5,00 \times 10^{-3} \text{mol L}^{-1}$, com um limite de detecção de $18,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e 180 determinações por hora. Foi observada interferência de ácido ascórbico [24]. Avaliaram ainda um eletrodo compósito de grafite/poliuretana como detector amperométrico para análise em fluxo, na determinação de atenolol em formulações farmacêuticas, na qual a região linear da curva analítica foi de 0,2-3,0 mmol L^{-1} , limite de detecção de $18,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ e 90 determinações por hora. Foram observadas interferências de propranolol e furosemida, mas não dos outros componentes do comprimido [25].

SEMAAN *et al.* utilizaram um eletrodo de grafite/poliuretana para a determinação de furosemida, em amostras farmacêuticas por oxidação anódica. Voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica foram utilizados para caracterizar o processo de eletrooxidação em 1,0 V em relação ao eletrodo de calomelano saturado em uma ampla faixa de pH. Não houve adsorção do analito ou produtos. Voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada foram utilizadas para quantificação. Quatro diferentes tipos de amostras comerciais foram analisadas [34].

Uma aplicação de eletrodo compósito de poliuretana modificado quimicamente é apresentada por TEIXEIRA *et al.*, na qual o compósito de grafite/poliuretana é usado como suporte para uma fina película de oxovanádio-Salen para a determinação de *L*-dopa em um sistema de análise em fluxo. O

intervalo linear de resposta foi de $1,0 \times 10^{-6}$ - $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $8,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e frequência analítica de 90 determinações por hora. Para uma concentração de $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de L-dopa o desvio padrão relativo foi de 3,7% (nove medidas consecutivas) [35].

De forma geral, pode-se concluir que o compósito proposto como material de eletrodo apresenta versatilidade, não apenas pela sua ampla faixa de pH de trabalho, como também pela sua larga janela de potencial e possibilidade de modificação de superfície ou mesmo preparação com diferentes formas e tamanhos, o que geraria alterações diretas e proporcionais em sensibilidade.

Neste trabalho foi realizado um estudo do efeito da modificação de todo o compósito constituinte do corpo do eletrodo e não apenas da superfície do compósito. A vantagem desta estratégia de modificação, em relação aos eletrodos modificados somente na superfície reside principalmente no fato de que, com este tipo de modificação, pode-se renovar a superfície do eletrodo sempre que for necessário, sem perder a porção modificada, não sendo necessário depositar ou imobilizar quimicamente o modificador a cada renovação de superfície.

1.5 Hexacianoferratos

Os hexacianometalados de metais, também conhecidos como complexos de valência mista possuem a fórmula geral $M^A_x[M^B(CN)_6]_y$, em que M^A e M^B são metais com diferentes números de oxidação [36] e têm como exemplo o hexacianoferrato (II) de ferro (III), Azul da Prússia.

Os hexacianoferratos metálicos apresentam propriedades interessantes de óxido-redução, que são acompanhadas pela mudança das

propriedades de troca iônica e eletrocatalítica, sendo as suas reações eletroquímicas baseadas em duas características:

- a presença de um par redox ativo de íons metálicos como $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$. A Figura 1.1 mostra o $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ acoplado a unidade do hexacianoferrato, e o Cu^{2+} estabilizado pela coordenação com o nitrogênio;
- a presença de canais ou cavidades que podem alojar íons metálicos como Na^+ , K^+ , Ag^+ e Fe^{3+} . Esses íons podem difundir através da estrutura cristalina do hexacianoferrato (transferidos de uma solução aquosa), devido à capacidade de redução no centro redox, para manter o equilíbrio de cargas na estrutura. Quando o centro redox é oxidado esses íons são expelidos [37].

Figura 1.1 – Estrutura cristalina do hexacianoferrato (III) de cobre (II) em solução contendo íons sódio.

Existe, na literatura, um número grande de trabalhos envolvendo a modificação de eletrodos com hexacianoferratos. A seguir, apresenta-se uma descrição de alguns destes trabalhos.

WANG *et al.* [38] construíram um eletrodo de pasta de carbono modificado com *glicose oxidase* e hexacianoferrato de cobre (II) para a determinação de glicose. O mecanismo do eletrodo é baseado nas propriedades eletrocatalíticas do complexo, que permite a redução do peróxido de hidrogênio gerado pela reação enzimática em uma região de potencial próxima a 0 V.

SHANKARAN e NARAYANAN [39] também imobilizaram o hexacianoferrato de cobalto (II) em um eletrodo de pasta de carbono, para a detecção amperométrica de glutatona. A oxidação eletrocatalítica da glutatona utilizando o EPCM permitiu uma estável resposta linear no intervalo de concentração de glutatona entre $4,0 \times 10^{-5}$ e $5,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹.

VILAS-BOAS *et al.* [40] utilizaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com um filme de azul da prússia para a determinação amperométrica de ácido ascórbico em um sistema de análise por injeção em fluxo. Os resultados obtidos com este sensor foram bastante positivos em termos de sensibilidade, estabilidade e reprodutibilidade. A curva analítica para o ácido ascórbico foi linear no intervalo de $5,0 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $2,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

MORTIMER *et al.* [41] modificaram a superfície de um eletrodo de carbono vítreo com hexacianoferrato de níquel(II) expondo a superfície do eletrodo a repetitivos ciclovoltamogramas em meio de uma solução contendo K₃Fe(CN)₆/NaNO₃/Ni(NO₃)₂ e utilizaram este sensor para a determinação potenciométrica de íons potássio. O eletrodo modificado exibiu uma resposta linear para o intervalo de concentração entre $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ e $2,0$ mol L⁻¹ com uma resposta nernstiana entre 45 e 49 mV por década.

SUAREZ *et al.* [42] utilizaram um eletrodo de pasta de carbono modificado com hexacianoferrato(III) de cobre(II), em que o comportamento eletrocatalítico para a oxidação de N-acetilcisteína foi investigado. A técnica de voltametria de varredura linear foi utilizada. A melhor resposta voltamétrica foi observada para uma composição de 20% (*m/m*) de hexacianoferrato(III) de cobre(II) em solução de tampão acetato pH 6,0 como o eletrólito e velocidade de varredura de 10mVs^{-1} . A resposta voltamétrica linear para N-acetilcisteína foi obtida no intervalo de concentração de $1,2 \times 10^{-4}$ a $8,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $6,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

BONIFACIO *et al.* [43] realizaram a determinação de isoprenalina em amostras farmacêuticas, usando um eletrodo de pasta de carbono modificado com hexacianoferrato(III) de cobre(II). A técnica de voltametria cíclica foi utilizada. Os parâmetros estudados para a otimização do sensor foram a composição do eletrodo, composição da solução eletrolítica, efeito do pH e da velocidade de varredura. As melhores condições encontrados foram composição de 15% (*m/m*) de hexacianoferrato(III) de cobre(II) em solução de tampão acetato $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0. A curva analítica para isoprenalina foi linear no intervalo de concentração de $1,96 \times 10^{-4}$ a $1,07 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, com um limite de detecção de $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. O desvio padrão relativo foi de 1,2% para uma solução de isoprenalina $1,96 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 5$).

DE OLIVEIRA *et al.* [44] utilizaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com um filme de azul da prússia para a determinação amperométrica de persulfato em um sistema de análise por injeção em fluxo. A detecção foi obtida pela técnica de cronoamperometria. Foi utilizado cloreto de potássio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como

solução transportadora a um fluxo de $4,0 \text{ mL min}^{-1}$. O limite de detecção foi de $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e a sensibilidade calculada foi de $3,6 \times 10^3 \text{ } \mu\text{A L mol}^{-1}$.

1.6 Piridoxina (vitamina B₆)

A vitamina B₆ é um dos componentes do complexo B, sendo amplamente encontrada na natureza. A vitamina B₆ pode ser encontrada nas formas de piridoxina, piridoxal e piridoxamina (Figura 1.2), que são normalmente interconvertidas no organismo [45,46].

Figura 1.2 – Formas da vitamina B₆ mais comuns encontradas.

Suas principais fontes de obtenção são o fígado, atum fresco, farelo de cereais, nozes, avelãs, levedura, melaço bruto de cana, germen de trigo, legumes e verduras frescas [45,46].

A vitamina B₆ é absorvida no intestino delgado, sendo excretada na urina sob forma de ácido xantirênico. Para maior absorção, recomenda-se ingestão juntamente com outras vitaminas do complexo B (B₁, B₂ e B₅), vitamina C, magnésio, ácido linoléico, potássio e zinco [47].

A carência de vitamina B₆ pode induzir irritabilidade e depressão, anemia, artrite, fraqueza, queda de cabelos e deficiência de aprendizagem. Por

outro lado, sua ingestão excessiva pode causar deficiência das outras vitaminas do complexo B. Para que tal complexo seja melhor utilizado pelo organismos deve haver balanceamento entre seus componentes. Por ser hidrossolúvel, excessos de vitamina B₆ são excretados pela urina, não representando maiores riscos [47].

Existem diversos procedimentos, para a determinação de piridoxina, descritos na literatura. Exemplos representativos destes procedimentos incluem espectrofotometria em sistema por injeção em fluxo [48,49], cromatografia líquida de alta eficiência [50], potenciometria [51], entre outros.

Entretanto, poucos trabalhos sobre a determinação de piridoxina em formulações farmacêuticas têm utilizado técnicas voltamétricas. SODERHJELM e LINDQUIST [52] foram os primeiros a estudar a determinação voltamétrica de vitamina B₆ usando um eletrodo de pasta de carbono. A oxidação de piridoxina e compostos relacionados em tampão amônia foi avaliada por voltametria cíclica.

TEIXEIRA *et al.* [53] estudaram a resposta voltamétrica de um eletrodo de pasta de carbono modificados com [VO(Salen)] para a determinação de piridoxina. Em outro trabalho realizado, TEIXEIRA e colaboradores [54] utilizaram um eletrodo de pasta de carbono modificado com o complexo de hexacianoferrato(III) de cobre(II) na determinação eletroanalítica de piridoxina (vitamina B₆) usando voltametria cíclica.

QC *et al.* [55] um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono para a determinação voltamétrica de piridoxina.

A determinação simultânea de vitamina C, B₆ e PP em produtos farmacêuticos, foi realizada por BARTHUS *et al.* [56] utilizando um eletrodo de carbono vítreo, voltametria de pulso diferencial e calibração multivariada.

Capítulo 2 – Objetivos

CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é avaliar a potencialidade da aplicação de hexacianoferratos de cobre(II), cobalto(II) e ferro(III) como modificadores de eletrodos compósitos sólidos à base de grafite/poliuretana para fins analíticos na determinação voltamétrica de espécies com interesse farmacológico.

Capítulo 3 – Parte Experimental

CAPÍTULO 3 – PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Instrumentação básica

3.1.1 Balança analítica

Todas as pesagens foram feitas utilizando-se uma balança analítica Sartorius, modelo BP 121 S com precisão de $\pm 0,1$ mg.

3.1.2 pHmetro e eletrodo combinado de vidro

As medidas de pH das soluções foram realizadas utilizando-se um pHmetro Corning, modelo 430, acoplado a um eletrodo combinado de vidro Digimed, com um eletrodo de referência interno de Ag/AgCl, contendo uma solução de KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$.

3.1.3 Medidas voltamétricas

As medidas voltamétricas foram realizadas em uma cela eletroquímica com capacidade total para 25,0 mL (Figura 3.1) contendo o eletrodo de trabalho (grafite/poliuretana modificado), o eletrodo de referência Hg/Hg₂Cl₂ (Eletrodo de calomelano saturado – KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e o eletrodo auxiliar de platina conectados a um Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT-30 (Ecochemie), gerenciado por um programa computacional GPES 4.9.

Figura 3.1 – Representação esquemática da célula eletroquímica usada nas medidas voltamétricas: Eletrodo de referência (Eletrodo de calomelano saturado – $\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$); Eletrodo de trabalho (M-HCF); Contra-eletrodo (Pt) e Nitrogênio.

3.1.4 Micromoinho de rotor vertical com facas móveis e fixas

Para triturar os modificadores imobilizados em resina poliuretana, foi utilizado um micromoinho de rotor vertical com facas móveis e fixas Marconi, modelo MA 048 e peneiras mesh 10, 20 e 30 em aço inoxidável AISI304.

3.1.5 Peneiras redondas para análises granulométricas

Para selecionar o tamanho das partículas dos modificadores a serem imobilizados na resina poliuretana, utilizou-se peneiras redondas da Bertel Indústria Metalúrgica LTDA, de aro rígido em aço inox, com oito centímetros de diâmetro e abertura de 48, 60 e 100 MESH.

3.2 Síntese dos complexos

3.2.1 Síntese do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$

O complexo $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ foi preparado de acordo com o procedimento descrito por AYRAULT *et al.* [57]. Este composto foi obtido por precipitação direta a partir de mistura de uma solução de hexacianoferrato (III) de potássio (Spectrum) $0,125 \text{ mol L}^{-1}$ e uma solução de sulfato de cobre (II) pentahidratado (Synth) $0,375 \text{ mol L}^{-1}$. O precipitado formado foi filtrado a vácuo, lavado com água deionizada e seco em estufa a vácuo a 35°C por dois dias.

3.2.2 Síntese do $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$

O complexo $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ foi preparado de acordo com o procedimento descrito por SHI *et al.* [58]. Este composto foi obtido por precipitação direta a partir de mistura de uma solução de hexacianoferrato (III) de potássio (Spectrum) $0,400 \text{ mol L}^{-1}$ e uma solução de cloreto de cobalto (II) hexahidratado (Mallinckrodt) $0,800 \text{ mol L}^{-1}$. O precipitado formado foi filtrado a vácuo, lavado com água deionizada e seco em estufa a vácuo a 35°C por dois dias.

3.2.3 Síntese do $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$

O complexo $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ foi preparado de acordo com o procedimento descrito por GOTOH *et al.* [59]. Este composto foi obtido por precipitação direta a partir de mistura de uma solução de hexacianoferrato (II) de

potássio trihidratado (Mallinckrodt) $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ e uma solução de cloreto de ferro (III) hexahidratado (Mallinckrodt) $1,337 \text{ mol L}^{-1}$. O precipitado formado foi filtrado a vácuo, lavado com água deionizada e seco estufa a vácuo a $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por dois dias.

3.3 Caracterização do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$

3.3.1 Análise elementar

A análise elementar foi utilizada para se determinar as porcentagens de hidrogênio (moléculas de água de hidratação), carbono e nitrogênio presentes nas estruturas do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$. O analisador utilizado foi um CHNS-O, modelo EA-1110, da CE instruments.

3.3.2 Espectrometria vibracional na região do infravermelho

A técnica de espectrometria vibracional na região do infravermelho foi utilizada para se obter o espectro do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$. Os espectros foram obtidos utilizando um espectrofotômetro 5 SXC FT-IR Spectrometer, da Nicolet, na região entre 4000 e 300 cm^{-1} , utilizando-se os complexos e KBr (Merck) na proporção $1/100 \text{ (m/m)}$ para se obter a pastilha.

3.3.3 Termogravimetria – análise térmica diferencial (TG-DTA)

Foi feito o estudo termogravimétrico do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ utilizando-se uma massa de amostra próxima de 5,0 mg, suporte de amostra e referência de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$, razão de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, sob atmosfera de ar seco e vazão de 100 mL min^{-1} . O intervalo de temperatura utilizado foi de 25-1100 $^\circ\text{C}$. O módulo termogravimétrico utilizado foi o SDT Q600 da TA Instruments controlado pelo software Thermo Advantage Release 4.2.1.

3.4 Preparação do eletrodo grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

3.4.1 Construção do eletrodo de trabalho

O compósito foi preparado pela mistura de pó de grafite (1-2 μm de tamanho de partícula - Aldrich), modificador e resina poliuretana (Poliquil), a qual foi preparada misturando-se 0,8 partes do poliol (B-471) e 1,0 parte do pré-polímero (A-249), de acordo com instruções do fabricante. Essa mistura foi homogeneizada por 10 minutos e compactada em uma prensa manual (Figura 3.2) com extrusor de 3 mm de diâmetro. Todo esse processo foi realizado em um tempo total de 15 minutos, acima do qual a resina começa a curar, tornando o material muito viscoso, o que dificulta o trabalho.

Figura 3.2 – Representação esquemática da prensa manual utilizada na preparação dos compósitos grafite-poliuretano (grafite, m/m).

Após a cura total da resina, que ocorre em torno de 24 horas à temperatura ambiente, de acordo com o fabricante, os tarugos foram cortados em peças com 1,0 cm de comprimento. A seguir, foram conectados a um fio de cobre com auxílio de epóxico de prata (EPO-TEK 410E, Epoxy Technology).

Após 48 horas, o conjunto compósito/fio de cobre foi inserido em um tubo de vidro de 6,0 mm de diâmetro e 9,0 cm de comprimento. Para preenchimento, adicionou-se resina epóxi (SILAEX) ao tubo de vidro com o auxílio de uma pipeta de Pasteur (Figura 3.3). O processo de cura durou outras 24 horas.

Figura 3.3 – Esquema do eletrodo composto grafite-poliuretana.

3.4.1.1 Escolha da melhor composição de eletrodo

O estudo do efeito da composição do eletrodo na resposta voltamétrica foi realizado conforme trabalho de mestrado de MENDES [17] e o trabalho de doutorado de CERVINI [18], os quais estão reportados na literatura [19-25], nos quais foram observadas respostas eletroquímicas satisfatórias para composições contendo entre 50 e 70 % de grafite (*m/m*), com melhor desempenho para 60 %, em termos de intensidade de corrente e resistência mecânica para compósitos a base de grafite/poliuretana.

Sendo assim, utilizou-se a composição de 60% de grafite (*m/m*) e 40% de resina poliuretana (*m/m*) como ponto de partida para se realizar a adição de modificador.

Portanto, foram homogeneizados em um almofariz de vidro os três componentes: resina poliuretana (Poliquil), pó de grafite (1-2 μm de tamanho de partícula - Aldrich) e o modificador ($\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$). A resina poliuretana foi

preparada misturando-se 0,8 partes do poliol (B-471) e 1,0 parte do pré-polímero (A-249).

O estudo do efeito da composição foi realizado de duas maneiras. A primeira foi feita variando-se a proporção de grafite e poliuretana, para porções crescentes de modificador. Já na segunda, a proporção de resina poliuretana foi mantida constante em 40% (*m/m*) enquanto se variava a proporção de grafite para obter o teor desejado de modificador, conforme se descreve a seguir.

Resina poliuretana variando

Uma vez definidas as quantidades de modificador, os eletrodos foram preparados adicionando-se uma quantidade de resina poliuretana e grafite, de modo a se obter as massas desejadas de mistura, descontando-se das massas de grafite e resina poliuretana quantidades iguais proporcionais à metade da quantidade de modificador, conforme se descreve abaixo.

Sendo assim, os eletrodos compósitos foram preparados nas seguintes proporções (em massa) dos componentes:

- a) 5,00% modificador; 57,50% grafite e 37,50% resina poliuretana;
- b) 7,50% modificador; 56,25% grafite e 36,25% resina poliuretana;
- c) 10,00% modificador; 55,00% grafite e 35,00% resina poliuretana;
- d) 12,50% modificador; 53,75% grafite e 33,75% resina poliuretana.

Resina poliuretana fixa em 40,0% (m/m)

Em outra estratégia de preparação, os eletrodos modificados foram preparados mantendo-se a porcentagem em massa de resina poliuretana em 40% e sendo quantidade adequada de grafite substituída por quantidade equivalente de modificador, conforme descrito a seguir.

Os eletrodos foram preparados nas seguintes proporções (em massa) dos componentes:

- a) 5,00% modificador; 55,00% grafite e 40,00% resina poliuretana;
- b) 7,50% modificador; 52,50% grafite e 40,00% resina poliuretana;
- c) 10,00% modificador; 50,00% grafite e 40,00% resina poliuretana;
- d) 12,50% modificador; 47,50% grafite e 40,00% resina poliuretana.

3.4.1.2 Efeito da ordem de adição dos componentes

Durante o desenvolvimento dos eletrodos foi observado que a ordem de adição dos componentes (resina poliuretana, grafite e $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), influencia na resposta do eletrodo.

Sendo assim, preparou-se os eletrodos seguindo três ordens de adição dos componentes:

- a) A primeira consistiu em homogeneizar as proporções de resina poliuretana e modificador por dois minutos. Posteriormente adicionou-se a proporção correspondente de grafite e essa mistura final foi homogeneizada por mais 10 minutos até ser compactada na prensa manual e extrusada.

- b) A segunda caracterizou-se em homogeneizar as proporções de modificador e grafite por 10 minutos. Em seguida foi adicionada a proporção correspondente de resina poliuretana e essa mistura final foi homogeneizada por mais 10 minutos até compactação e extrusão.
- c) Na terceira, homogeneizou-se as proporções de grafite, resina poliuretana e modificador todas ao mesmo tempo por 10 minutos para assim ser compactada na prensa manual e finalmente extrusada.

3.4.1.3 Efeito do tamanho das partículas

Esse estudo foi realizado na tentativa de se aumentar o tamanho das partículas de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ e assim conseguir uma maior exposição dos modificadores na superfície do eletrodo para que a reação entre modificador e analito fosse facilitada.

Para isso, os modificadores foram previamente imobilizados em resina poliuretana 50,0% (*m/m*) e posteriormente moídos utilizando-se um moinho de facas. Com o auxílio de peneiras para análise granulométricas Bertel, selecionou-se partículas entre 60 e 48 MESH, entre 100 e 60 MESH e ainda partículas menores do que 100 MESH.

Os compósitos modificados foram preparados retirando-se metade da porcentagem em massa de grafite e de resina poliuretana para adicionar os modificadores imobilizados em resina poliuretana.

A porcentagem utilizada dos modificadores imobilizados foi de 20,0% (*m/m*), a de grafite foi de 50,0% (*m/m*) e a de resina poliuretana foi de 30,0% (*m/m*),

ou seja, a porcentagem real dos componentes nos compósitos foi: 10,0% (*m/m*) de modificador, 50,0% (*m/m*) de grafite e 40,0% (*m/m*) de resina poliuretana.

Para comparação, foram preparados eletrodos nos quais os modificadores não foram imobilizados em resina poliuretana e a porcentagem dos mesmos no compósito foi de 20,0% (*m/m*), sendo que o tamanho das partículas selecionado foi menor do que 100 MESH.

3.5 Tratamento mecânico

O tratamento mecânico consistiu de abrasão em lixa d'água 600 SiC, para eliminar o excesso de resina poliuretana na superfície e expor o compósito. Em seguida, o compósito foi polido com suspensão de alumina 1 μm (Arotec), que foi efetuado em uma lixadeira politriz motorizada modelo APL-02 (Arotec). Então, o eletrodo foi imerso em isopropanol e submetido ao ultra-som em um banho USC 1400 (Unique), por 5 minutos, antes de cada medida. O mesmo procedimento foi feito em água, para a retirada de possíveis partículas da superfície do eletrodo.

3.6 Determinação voltamétrica de piridoxina utilizando um eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$

3.6.1 Reagentes e soluções

3.6.1.1 Soluções estoque

Para as medidas em voltametria linear, utilizou-se solução de tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0. A solução tampão acetato foi preparada com soluções de ácido acético $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (Mallinckrodt) e hidróxido de potássio $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ (Mallinckrodt). Um litro de solução de ácido acético $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparado pela adição de 3,0 g de ácido acético concentrado. A esta solução foram adicionados 3,73 g de KCl (Mallinckrodt), obtendo-se uma concentração final de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com relação ao íon potássio. Ajustes de pH foram realizados por adições de soluções de HCl (Synth) e KOH (Mallinckrodt) em soluções aproximadamente $2,0 \text{ mol L}^{-1}$.

Soluções estoque de piridoxina $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foram preparadas diariamente dissolvendo-se 0,0103g de piridoxina em 50 mL de solução tampão acetato pH = 5,0.

3.6.1.2 Preparo e análise das amostras

Duas amostras comerciais contendo piridoxina como princípio ativo foram adquiridas em farmácias da cidade de São Carlos e seu teor verificado pelo método proposto: Profol[®] (Medley), Dramin[®] B6 (Nycomed).

Cinco comprimidos foram triturados até a obtenção de um pó fino e massas exatamente determinadas em balança analítica, foram transferidas para balões volumétricos de 50 mL e o volume completado com uma solução de tampão acetato (pH 5,0) contendo KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Excipientes insolúveis contidos na amostra foram removidos por decantação.

Alíquotas adequadas foram tomadas e diluídas em tampão acetato para as determinações analíticas.

A análise da amostra foi feita pelo método de adição múltipla de padrões. Inicialmente foram adicionados 20 μL da solução da amostra na célula voltamétrica, contendo 20,0 mL de tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5), contendo KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, para obtenção de um voltamograma de varredura linear. Com auxílio de uma micropipeta foram adicionados volumes sucessivos da solução padrão de piridoxina e registraram-se as variações de corrente para cada volume adicionado por meio dos voltamogramas de varredura linear.

3.6.1.3 Método comparativo

Os resultados obtidos empregando-se o método proposto foram comparados com os resultados obtidos empregando o procedimento espectrofotométrico na região do UV-visível descrito na farmacopéia brasileira [60]. Nesse procedimento, a quantificação de piridoxina foi realizada em 290 nm. Para análise das amostras, pesou-se e pulverizou-se 20 comprimidos. A quantidade de pó equivalente a 25,0 mg de piridoxina adicionou-se 50,0 mL de ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e aqueceu-se em banho-maria por 15 minutos. Aguardou-se até que a solução atingisse a temperatura ambiente e diluiu-se para um balão volumétrico de

100,0 mL com ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ e filtrou-se descartando os primeiros 20,0 mL. Em um balão volumétrico de 100,0 mL diluiu-se 5,0 mL do filtrado com ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹. Preparou-se uma solução padrão de piridoxina na mesma concentração utilizando-se o mesmo solvente. Utilizou-se ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ para ajuste do branco. Calculou-se o teor de piridoxina nos comprimidos comparando-se os resultados obtidos com as leituras da solução padrão.

Capítulo 4 – Resultados e Discussão

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$

A caracterização dos complexos $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ foi realizada utilizando-se análise elementar, espectrometria vibracional na região do infravermelho e termogravimetria.

4.1.1 Análise elementar

A análise elementar foi utilizada para se determinar as porcentagens de carbono, nitrogênio e hidrogênio presentes nos complexos sintetizados. Os resultados estão apresentados na Tabela 4.1. Pequenas variações podem ser justificadas pelo fato das moléculas de água adsorvidas aos complexos.

Tabela 4.1 – Resultados experimentais (exp) e calculados (calc) de análise elementar para os elementos carbono, nitrogênio e hidrogênio, presentes nos complexos sintetizados

Complexo	Cor	Elemento / exp (calc)%		
		C	N	H
$\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	Verde	17,36 (18,14)	19,86 (21,15)	2,90 (2,54)
$\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$	Roxo	17,42 (18,04)	20,09 (21,04)	3,07 (2,77)
$\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$	Azul	18,29 (18,84)	20,63 (21,98)	3,08 (2,82)

Os resultados obtidos neste trabalho são concordantes com os valores calculados.

4.1.2 Espectrometria vibracional na região do infravermelho

A caracterização dos complexos $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ por espectrometria vibracional na região do infravermelho foi feita baseando-se nas bandas características dos complexos nos respectivos espectros apresentados na Figura 4.1.

Segundo NAKAMOTO [61], a absorção característica para este tipo de complexos se apresenta na região entre $2200\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$, na forma de bandas intensas relacionadas ao estiramento da ligação carbono-nitrogênio $\nu(\text{C-N})$. Essa ligação, por estar compartilhada por íons metálicos diferentes, pode se apresentar como um dubleto [59].

A banda intensa em torno de 1600 cm^{-1} foi atribuída à deformação axial $\nu(\text{H-O-H})$ o que indica a existência de água de hidratação dos complexos. As bandas intensas que aparecem em torno de 3400 cm^{-1} foram atribuídas à deformação axial simétrica $\nu(\text{O-H})$, devido à presença de água de hidratação nos complexos.

As bandas referentes à ligação metal-cianeto, nos complexos, aparecem na região entre $600\text{-}400\text{ cm}^{-1}$. Tais observações, associadas à análise elementar e aos dados termoanalíticos descritos a seguir confirmam que os compostos foram obtidos e apresentam elevado grau de hidratação.

Figura 4.1 – Espectros de infravermelho para os complexos $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ em pastilhas de KBr 1:100 (m/m).

A Tabela 4.2 reúne as bandas observadas para as ligações C-N, O-H, H-O-H e M-CN.

Tabela 4.2 – Principais bandas de absorção no infravermelho dos complexos $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$

Complexo	$\nu(\text{H-O-H}) / \text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C-N}) / \text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{O-H}) / \text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{M-CN}) / \text{cm}^{-1}$
$\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	3451	2097	1605	594 e 486
$\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$	3417	2116	1605	589 e 539
$\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$	2894	2075	1601	600 e 499

4.1.3 Termogravimetria – análise térmica diferencial (TG-DTA)

As curvas termoanalíticas (TG/DTG e DTA) dos complexos $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ foram obtidas com o propósito de avaliar o seu grau de hidratação, seu comportamento térmico e caracterizá-los quanto à composição em metal, estão apresentadas a seguir.

Nas curvas TG, cada etapa está relacionada a uma perda de massa do composto dentro de um intervalo de temperatura. Para o processo de decomposição do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, estão envolvidas três etapas, segundo a curva TG/DTG, a qual está apresentada na Figura 4.2.

A primeira perda de massa ocorre entre temperatura 25,0-125,0°C, e corresponde a perda de 10 moléculas de água (TG.: 23,00%; calc.: 22,64%), representado por uma endoterma entre 50,0-125,0°C na curva DTA (Figura 4.3).

Após a desidratação inicia-se um processo rápido de decomposição, observado na curva TG/DTG entre 125,0-211,8°C, acompanhado de um pico exotérmico agudo na curva DTA em 201,4°C. Este processo foi atribuído à decomposição do complexo com formação de óxido de cobre, cianeto de ferro e liberação de três cianetos na forma de óxido de carbono e nitrogênio (TG.: 16,52%; calc.: 17,63%), de acordo com a Equação 4.1:

Nessa equação supõe-se que os cianetos possam sair na forma de CN ou como óxidos de carbono e nitrogênio, uma vez que não foi feita uma caracterização dos gases evoluídos.

Em seguida o cianeto de ferro se decompõe gerando óxido de ferro (Fe_2O_3) entre 211,8-600,0°C (TG.: 11,20%; calc.: 13,60%).

O resíduo a 600°C seria uma mistura de óxido de ferro (Fe_2O_3) e de cobre (CuO) (TG.: 49,17%; calc.: 50,12% total, ou 30,03% para CuO mais 20,09 para Fe_2O_3).

Figura 4.2 – Curva TG/DTG para o complexo $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$. Massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra de α -alumina, aberto, razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, atmosfera de ar com vazão de 100 mL min^{-1} .

Figura 4.3 – Curva TG-DTA para o complexo $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$. Massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra de α -alumina, aberto, razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, atmosfera de ar com vazão de 100 mL min^{-1} .

Já para o processo de decomposição do $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$, estão envolvidas duas etapas de perda de massa como pode ser observada na curva TG/DTG (Figura 4.4). A primeira perda de massa ocorre entre $25,0$ - $165,0^\circ\text{C}$, correspondendo à perda de 11 moléculas de água (exp.: 24,65%; calc.: 24,81%) associado ao processo endotérmico com pico em $125,6^\circ\text{C}$ na curva DTA (Figura 4.5).

Após a desidratação do complexo, ocorre a decomposição representada por uma única etapa, sendo o composto anidro estável até $260,0^\circ\text{C}$. A decomposição ocorre entre $260,0$ - $594,0^\circ\text{C}$ apresentando uma perda de massa de 24,39% associada ao pico exotérmico com máximo em $281,0^\circ\text{C}$. A perda de massa calculada para obter os óxidos de Fe_2O_3 e Co_3O_4 é de 25,0%; com saída de 12 cianetos.

O perfil de decomposição do complexo de cobalto entre 250,0-320,0°C é típico de eventos altamente exotérmicos, como os processos oxidativos, por exemplo, a combustão. Nota-se ao final da curva TG um resfriamento da zona de amostra, que apresenta temperatura maior que a do forno durante o evento térmico.

O processo é de tal intensidade que o pico DTA acha-se inclinado em relação ao eixo das ordenadas devido a este aquecimento local.

Quando a curva TG foi obtida a 20°C min⁻¹ (não apresentada), observou-se um ganho de massa antes da decomposição, mostrando oxidação dos centros metálicos mesmo antes da decomposição.

Talvez essa intensidade do processo exotérmico de oxidação do cobalto forneça energia suficiente para adiantar o processo de oxidação do ferro, explicando por que a decomposição se dá em uma etapa única.

Como produto final do processo de decomposição do complexo de cobalto, obteve-se uma mistura de óxidos de ferro (Fe₂O₃) e de cobalto (Co₃O₄) gerando um resíduo de 50,56% (calculado para Fe₂O₃ + Co₃O₄ = 50,13%). O óxido de cobalto Co₃O₄ se reduz CoO a partir de 900°C nestas condições, conforme trabalho apresentado na literatura por EL-SHOBAKY [62].

Figura 4.4 – Curva TG/DTG para o complexo $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$. Massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra de α -alumina, aberto, razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, atmosfera de ar com vazão de 100 mL min^{-1} .

Figura 4.5 – Curva TG-DTA para o complexo $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$. Massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra de α -alumina, aberto, razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, atmosfera de ar com vazão de 100 mL min^{-1} .

O processo de decomposição do $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ é semelhante ao do $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$, pois também estão envolvidas duas etapas de perda de massa, como pode ser observada na curva TG/DTG (Figura 4.6). A primeira perda de massa ocorre entre 25,0-175,4°C, correspondendo à perda de 16 moléculas de água (exp.: 24,19%; calc.: 25,12%) associado ao processo endotérmico com pico em 134,2°C na curva DTA (Figura 4.7). O teor de água é concordante com a análise elementar.

Após a desidratação do complexo, ocorre a decomposição representada por uma única etapa entre 175,4-490,27°C apresentando uma perda de massa de 25,87% associada ao pico exotérmico com máximo em 266,0°C. A perda de massa calculada para obter o Fe_2O_3 é de 25,87%; com saída de 18 cianetos.

Como produto final do processo de decomposição do complexo de ferro, obteve-se o óxido de ferro (Fe_2O_3) gerando um resíduo de 48,53% (calculado para $\text{Fe}_2\text{O}_3 = 48,70\%$).

A curva DTA mostra um processo exotérmico intenso de decomposição para o qual são válidas as mesmas observações e comentários do caso anterior.

Figura 4.6 – Curva TG/DTG para o complexo $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$. Massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra de α -alumina, aberto, razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, atmosfera de ar com vazão de 100 mL min^{-1} .

Figura 4.7 – Curva TG-DTA para o complexo $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$. Massa de amostra em torno de 5,0 mg, suporte de amostra de α -alumina, aberto, razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, atmosfera de ar com vazão de 100 mL min^{-1} .

4.2 Construção do eletrodo grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$

4.2.1 Efeito da composição

Estudos anteriores realizados por MENDES [17] e CERVINI [18] mostraram que a melhor composição para o eletrodo compósito grafite/poliuretana é de 60,0% de grafite (*m/m*) e 40,0% de resina poliuretana (*m/m*) e foram apresentados na literatura [19-25]. Para introdução do modificador foi necessário alterar esta proporção. Isto foi feito usando-se $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, conforme as estratégias descritas a seguir.

A) Eletrodos preparados variando as porcentagens de resina e grafite

Foram preparados eletrodos modificados com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, nas quais as porcentagens de modificador (*m/m*) adicionadas foram de 5,0; 7,5; 10,0 e 12,5%. Para isso, substituiu-se a metade da porcentagem em massa de grafite e de resina poliuretana ao adicionar o modificador.

Estudos envolvendo voltametria cíclica foram realizados para avaliação do comportamento dos eletrodos resultantes em solução de KCl 0,5mol L⁻¹.

A Figura 4.8 apresenta os voltamogramas cíclicos para eletrodos de grafite/poliuretana modificados com diferentes proporções de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, em meio de KCl 0,5 mol L⁻¹ (pH 3,0).

Figura 4.8 – Voltamogramas obtidos para os eletrodos de grafite/poliuretana modificados com diferentes porcentagens de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ em solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) e velocidade de varredura 50 mV s^{-1} .

Os resultados serão comentados posteriormente.

B) Eletrodos preparados com resina poliuretana fixa em 40,0% (m/m)

Também foram preparados eletrodos modificados com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, nas quais as porcentagens de modificador (*m/m*) adicionadas foram de 5,0; 7,5; 10,0 e 12,5%. Para isso, manteve-se a porcentagem de resina poliuretana fixa em 40,0% (*m/m*) e substituiu-se quantidades correspondentes de grafite para se adicionar o modificador.

Estudos envolvendo voltametria cíclica foram realizados para avaliação do comportamento dos eletrodos resultantes em solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

A Figura 4.9 apresenta os voltamogramas cíclicos para eletrodos de grafite/poliuretana (poliuretana 40,0%, *m/m*) modificados com diferentes proporções de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, em meio de KCl 0,5 mol L⁻¹ (pH 3,0).

Figura 4.9 – Voltamogramas obtidos para os eletrodos de grafite/poliuretana modificados com diferentes porcentagens de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (poliuretana 40,0%, *m/m*) em solução de KCl 0,5 mol L⁻¹ (pH 3,0) e velocidade de varredura 50 mV s⁻¹.

Os eletrodos preparados conforme os dois procedimentos descritos apresentaram perfis voltamétricos bem definidos, além de apresentarem um comportamento reversível, já bem conhecido na literatura. No entanto, aqueles preparados conforme o procedimento **A** apresentaram maior intensidade de corrente se comparados àqueles preparados conforme o procedimento **B**, além de perfis voltamétricos melhor definidos. Deste modo, selecionou-se o procedimento **A** como sendo o mais adequado para a confecção dos eletrodos.

Dentre os eletrodos testados (5,0; 7,5; 10,0 e 12,5%) segundo o procedimento **A**, o que apresentou um maior incremento de corrente foi o que

contém 12,5% de modificador, o qual foi selecionado para testes posteriores. Os resultados para maiores quantidades de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ serão apresentados no item 4.5.

A Figura 4.10 mostra a variação nas correntes de pico, em função da porcentagem de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ sobre a corrente de pico anódica dos eletrodos modificados, descontando-se as correntes para o eletrodo de grafite/poliuretana não modificado.

Figura 4.10 – Efeito da porcentagem de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ na resposta voltamétrica dos eletrodos de grafite/poliuretana modificados, em solução KCl 0,5 mol L⁻¹ (pH 3,0) e velocidade de varredura 50 mV s⁻¹.

A Figura 4.11 mostra a variação nas correntes de pico, em função da porcentagem de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ sobre a corrente de pico catódica dos eletrodos modificados, descontando-se as correntes para o eletrodo de grafite/poliuretana não modificado.

Figura 4.11 – Efeito da porcentagem de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ na resposta voltamétrica dos eletrodos de grafite/poliuretana modificados, em solução KCl 0,5 mol L^{-1} (pH 3,0) e velocidade de varredura 50 mV s^{-1} .

Quando há variação na quantidade de grafite e de resina poliuretana observa-se um aumento exponencial nas correntes de pico, devido à maior quantidade de reagente eletroativo no composto.

Entretanto, quando a resina poliuretana foi fixada em 40,0% (*m/m*), o sinal não variou significativamente, sugerindo que a diminuição na quantidade de grafite provoca diminuição na corrente, proporcional ao aumento causado pela proporção de modificador.

Considerando-se o ganho de sinal optou-se pela preparação de eletrodos com composição de grafite e resina poliuretana variável.

4.2.2 Efeito da ordem de adição dos componentes

Estudos envolvendo voltametria cíclica foram usados para avaliação do comportamento dos diferentes eletrodos em solução de KCl 0,5 mol L⁻¹.

A Figura 4.12 apresenta os voltamogramas cíclicos para eletrodos de grafite/poliuretana modificados e preparados seguindo diferentes ordens de adição dos três componentes (grafite, resina poliuretana e Cu₃[Fe(CN)₆]₂·10H₂O, em meio de KCl 0,5 mol L⁻¹ (pH 5,5).

Figura 4.12 – Voltamogramas cíclicos obtidos com os eletrodos de grafite/poliuretana modificado com 10,0% (*m/m*) de Cu₃[Fe(CN)₆]₂·10H₂O em diferentes ordens de adição dos componentes: **A** – [(Resina poliuretana + Cu₃[Fe(CN)₆]₂·10H₂O homogeneizados por 2 minutos) + grafite homogeneizados por 10 minutos], **B** – [(Grafite + Cu₃[Fe(CN)₆]₂·10H₂O homogeneizados por 10 minutos) + Resina poliuretana homogeneizados por 10 minutos] e **C** – (Resina poliuretana + grafite + Cu₃[Fe(CN)₆]₂·10H₂O homogeneizados por 10 minutos), em solução de KCl 0,5 mol L⁻¹ (pH 5,5) e velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.

Essa curva mostra que a ordem de adição dos componentes do compósito afetou significativamente a resposta eletródica. O melhor procedimento foi

obtido incorporando-se o modificador à resina em uma primeira etapa e, em seguida a grafite.

A diminuição no sinal de corrente observada quando a ordem de adição foi diferente da escolhida (B e C na Figura 4.12) foi atribuída a uma possível blindagem das partículas do modificador por parte do pó de grafite. Fato semelhante foi observado por PEREIRA e FATIBELLO-FILHO [63] ao imobilizar $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ para preparar reatores em fase sólida.

4.3 Efeito do contra-íon do eletrólito suporte

O comportamento voltamétrico do eletrodo modificado foi também avaliado em função do cátion metálico contido no eletrólito suporte. Observa-se que o perfil voltamétrico do eletrodo de grafite/poliuretana modificado é bastante afetado, com diminuição da magnitude da corrente de pico à medida que varia o raio iônico do contra-íon utilizado. Este efeito da resposta em termos de corrente e potencial de pico demonstra a habilidade do cátion em entrar e sair dos interstícios da célula unitária do complexo o que define o perfil voltamétrico observado. A Figura 4.13 apresenta o efeito do contra-íon no comportamento voltamétrico do eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

Figura 4.13 – Efeito do contra-íon contido no eletrólito suporte. Concentração dos eletrólitos suporte $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) e velocidade de varredura 50 mV s^{-1} .

Diversos artigos sugerem o uso do íon potássio como eletrólito suporte [64-66]. Os resultados obtidos nesse trabalho concordam com o que foi observado em estudos anteriores. Aqui foi usado um eletrodo modificado com 12,5% de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (*m/m*).

A mudança de potencial induzido pela substituição dos cátions dos metais alcalinos no eletrólito suporte foi também observada em outros hexacianoferratos metálicos [67-69].

Como conclusão, o cloreto de potássio foi escolhido como eletrólito suporte para estudos posteriores.

4.4 Efeito da acidez do meio

A resposta do eletrodo de grafite/resina poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (12,5% *m/m*) foi investigada em um intervalo de pH de 2 a 7 na

ausência de analito usando voltametria cíclica. A Figura 4.14 mostra o efeito da acidez do meio sobre a corrente de pico anódico do eletrodo modificado, para a diferença entre as correntes na ausência de analito.

Figura 4.14 – Efeito do pH na resposta voltamétrica do eletrodo de grafite/poliuretana modificado com 12,5% (*m/m*) de $Cu_3[Fe(CN)_6]_2 \cdot 10H_2O$ em solução KCl 0,5 mol L^{-1} .

Apesar de não haver mudança significativa na intensidade de corrente de pico, observa-se no intervalo de pH estudado, correntes mais baixas em pH entre 2 – 3. A corrente aumenta entre pH 3 – 6, tendendo a uma estabilização em pH 7.

Alguns autores afirmam que em pH maior do que 7 ocorre a hidrólise do modificador o que explicaria a limitação de corrente [70].

Desta forma pode-se concluir que não há diferença significativa em usar pH entre 4-7 considerando as correntes de pico.

4.5 Efeito da composição – novas proporções

Após otimizar a composição de cada componente no eletrodo, ordem de adição, eletrólito suporte e pH de trabalho, foram feitos novos testes para avaliar se maior quantidade de modificador iria produzir aumento na resposta voltamétrica do eletrodo resultante.

Voltamogramas obtidos com 15, 20 e 25% de modificador são apresentados na Figura 4.15.

Figura 4.15 – Voltamogramas obtidos para os eletrodos de grafite/poliuretana modificados com diferentes porcentagens de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ em solução de KNO_3 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,8) e velocidade de varredura 50 mV s^{-1} .

Os eletrodos preparados conforme estas proporções apresentaram perfis voltamétricos bem definidos e maior intensidade de corrente se comparados com as proporções anteriores (5,0; 7,5; 10,0 e 12,5%).

Dentre os eletrodos testados (15,0; 20,0 e 25,0%), o que apresentou um maior incremento de corrente foi o eletrodo que contém 25,0% de modificador.

Como o aumento de corrente foi diretamente proporcional ao aumento da quantidade de modificador no eletrodo, se esperaria que o eletrodo contendo 25% (*m/m*) de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ fosse melhor, pois nele haveria uma maior corrente de pico. No entanto, obteve-se uma grande diferença de corrente entre eletrodos com a mesma proporção de 25% (*m/m*) $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, o que fica bem caracterizado na Figura 4.16. Isso se deve ao fato da dificuldade de homogeneização do material, já que a quantidade de resina nessa composição é bastante reduzida.

Além disso, a presença de grande quantidade de modificador também provocou grande incremento na corrente capacitiva, o que poderia ser prejudicial em métodos analíticos.

A Figura 4.16 mostra o efeito da porcentagem de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ sobre a corrente de pico anódica dos eletrodos modificados, para a diferença entre as correntes na ausência de analito, para dois eletrodos distintos (A e B), com mesma composição.

Figura 4.16 – Efeito da porcentagem de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ na resposta voltamétrica dos eletrodos de grafite/poliuretana modificados, em solução KNO_3 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,8) e velocidade de varredura 50 mV s^{-1} .

Deste modo, decidiu-se que a melhor proporção foi para os eletrodos preparados com 20% (*m/m*) de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, pois foram mais reprodutíveis e, além disso, apresentaram uma melhor resposta analítica.

4.6 Efeito da velocidade de varredura de potenciais

O efeito da velocidade de varredura de potenciais sobre a resposta voltamétrica do eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) foi investigado em solução de KNO_3 $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,1) na ausência de analito, variando-se a velocidade de varredura entre 5 e 100 mV s^{-1} . Os voltamogramas estão representados na Figura 4.17.

Figura 4.17 – Voltamogramas cíclicos obtidos em velocidades de varredura entre 5 e 100 mV s^{-1} utilizando o eletrodo modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (m/m) em solução KNO_3 0,20 mol L^{-1} pH 6,1.

A velocidade de varredura parece não provocar distorção na forma dos voltamogramas do modificador, havendo aumento tanto na corrente faradaica, como na corrente capacitiva.

Não há surgimento de novos picos, que pudessem sugerir ocorrência de outros eventos eletroquímicos neste eletrodo. Isso indica que o complexo obtido apresenta estabilidade, pois não se observa nenhum processo referente ao Cu(II) quando a janela do potencial é expandida para potenciais negativos (voltamograma não apresentado). NARAYANAN e SCHOLZ [71] reportam na literatura que dependendo da maneira como o complexo é obtido, um par redox referente ao processo $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ pode ser observado em torno de 0,2 V, o que não ocorreu no presente caso.

4.7 Efeito do tamanho das partículas

O efeito do tamanho das partículas do modificador usadas na confecção dos eletrodos também foi avaliado.

Uma vez que os hexacianoferratos são pós muito finos, uma imobilização em resina poliuretana para tentar aumentar a granulometria das partículas ativas foi feita.

Para tanto, o modificador foi misturado com resina poliuretana. Após a cura, as peças foram moídas e as partículas separadas por tamanho: 60-48 MESH, 100-60 MESH e < 100 MESH.

Entretanto, a imobilização dos modificadores em resina provocou o desaparecimento dos picos referentes ao modificador e esta estratégia foi abandonada.

Isso indica que a resina poliuretana deve bloquear o sinal do modificador, pois quando os modificadores são previamente imobilizados, ficam envolvidos pela resina poliuretana e ao preparar os compósitos utilizando esses modificadores, a oxidação/redução do par redox é impossibilitada.

Sendo assim, os eletrodos de trabalho selecionados foram aqueles contendo 20,0% (*m/m*) de $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$, em que o modificador não foi imobilizado em resina poliuretana. A Figura 4.18 mostra os voltamogramas obtidos para eletrodos modificados com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$, 20,0% (*m/m*) respectivamente em meio de KCl 0,5 mol L⁻¹, nos quais o modificador foi adicionado diretamente ao compósito sem ser imobilizado previamente em resina poliuretana.

Figura 4.18 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando os eletrodos modificados com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$, 20,0% (m/m) respectivamente, em solução KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e velocidade de varredura 100 mV s^{-1} .

Dos três hexacianoferratos utilizados como modificadores, o $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ apresentou melhores resultados em termos de definição de resposta e sensibilidade, portanto, foi utilizado em todos os estudos.

4.8 Comportamento voltamétrico do eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$

O comportamento eletroquímico do eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ foi investigado por voltametria cíclica em solução tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0), contendo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. O voltamograma cíclico é apresentado na Figura 4.19. Nessa figura pode ser observado um par redox, com um pico anódico em $0,74 \text{ V}$ em relação ao eletrodo de calomelano saturado, atribuído ao processo $\text{Fe(II)}/\text{Fe(III)}$ e um pico anódico em $0,49 \text{ V}$, atribuído ao processo $\text{Fe(III)}/\text{Fe(II)}$.

Figura 4.19 – Voltamograma cíclico obtido utilizando o eletrodo modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) em solução tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ contendo KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0), velocidade de varredura 100 mV s^{-1} .

De acordo com KONCHIKI [72] o voltamograma cíclico dos hexacianoferratos apresentam um pico, abaixo de 0,5V que é definido ao processo redox reversível do sistema $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4+/3+}$.

Os hexacianoferratos têm a capacidade de formar filmes na superfície dos eletrodos, a qual tem sido usada em eletroanalítica [73]. Entretanto, a possibilidade de modificar o corpo do eletrodo compósito, apresenta a vantagem de não perder o modificador a cada renovação de superfície.

No presente caso, o hexacianoferrato apresentou picos que sugerem a presença do processo redox. Porém, não foi possível estabilizar o sinal de corrente mesmo após 200 ciclos de potencial entre 0,2-1,2 V em relação ao eletrodo de calomelano saturado, quando aparentemente havia tendido a uma estabilidade.

Em adição, após deixar o eletrodo em repouso após ciclagem, observou-se novo aumento de corrente ao retomar as medidas. A Figura 4.20 mostra a evolução dos voltamogramas para o $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ até 100 ciclos sucessivos, como exemplo.

Figura 4.20 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando o eletrodo modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) em solução tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ contendo KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0), velocidade de varredura 100 mV s^{-1} .

Fato semelhante já havia sido observado na determinação de piridoxina usando eletrodo de pasta de carbono modificado com $[\text{VO}(\text{Salen})]$, o qual também forma filmes ao ser ciclado entre certos intervalos de potencial [53].

Esse fato poderia ser justificado pela dificuldade de abastecer a superfície do eletrodo com espécies $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4/3+}$ em quantidade suficientemente para formação do filme, pois os sais são pouco solúveis ($K_{ps} = 10^{-40}$) e não estariam em solução, em quantidade suficiente.

Seria necessário que o sal se dissolvesse, reagisse com outras partículas e formasse o filme. Entretanto, no eletrodo sólido não há liberdade de migração das partículas o que, aliado à baixa solubilidade faz com que o processo seja muito lento.

Ao desligar a cela e deixá-la em repouso haveria aumento do número de espécies na interface, que se reduziria/oxidaria prontamente, causando o aumento de corrente observado. A Figura 4.21 poderia representar o fenômeno.

Figura 4.21 – Mecanismo proposto para a formação de filme durante o processo de ciclagem do eletrodo composto de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

A forma encontrada para contornar esse problema, ao menos em parte, foi inicialmente submeter os eletrodos a 100 ciclos de potencial a 100 mV s^{-1} entre 0,2 e 1,2 V em relação ao eletrodo de calomelano saturado, a 25°C e sob atmosfera de nitrogênio, após borbulhar o gás por no mínimo 10 minutos. Assim era obtida uma superfície reprodutível para uso eletroanalítico.

Dos três hexacianoferratos utilizados como modificadores, o $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ apresentou melhores resultados em termos de definição de resposta e sensibilidade, portanto, foi usado na determinação de piridoxina.

4.8.1 Estudos sobre a possibilidade de determinação de piridoxina com o eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$

A Figura 4.22 mostra voltamogramas lineares típicos obtidos para o eletrodo modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) em solução tampão

acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ contendo KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0) na ausência e na presença de piridoxina $6,26 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

O complexo de cobre foi escolhido por apresentar os melhores perfis voltamétricos em todos os casos.

Figura 4.22 – Determinação voltamétrica de piridoxina em solução tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ contendo KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0), velocidade de varredura de potencial de 50 mV s^{-1} a 25°C . (A) Eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) na ausência de piridoxina e (B) Eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) na presença de piridoxina $6,26 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Observa-se que, ao adicionar a piridoxina na solução, ocorre uma diminuição do sinal de corrente do modificador. Isso não era esperado, sendo a piridoxina uma espécie eletroativa, oxidável a piridoxal [74], segundo a Equação 4.2:

Era esperada uma etapa química na qual o analito reduziria o Fe^{3+} presente no núcleo metálico promovendo um aumento na corrente de oxidação do complexo, segundo o mecanismo da Figura 4.23:

Figura 4.23 – Mecanismo proposto para a oxidação eletrocatalítica de piridoxina por $Fe^{3+/2+}$ do núcleo metálico do $Cu_3[Fe(CN)_6]_2 \cdot 10H_2O$.

Entretanto, se esse mecanismo fosse válido para o presente caso, haveria aumento na corrente de oxidação do eletrodo.

Uma vez que ocorre diminuição da mesma é possível supor que haja interação entre a vitamina B₆ e o centro metálico bloqueando os sítios ativos do modificador.

Como há proporcionalidade nesta supressão de sinal, ela foi usada na quantificação da vitamina B₆ pelo eletrodo compósito modificado.

As interações entre piridoxina e íons metálicos são conhecidas e formam-se complexos estáveis. A estrutura do complexo de Fe³⁺ foi descrita por SABIROV *et al.* [75] que lembra que metais aceleram a oxidação de piridoxina a piridoxal. AGRANOVICH *et al.* [76] estudou a formação de complexos de ferro(III) com piridoxina em meio fisiológico.

Também são conhecidos complexos de piridoxina com cobre(II), [77,78]. Desta forma seria plausível supor que a diminuição de corrente no eletrodo modificado com Cu₃[Fe(CN)₆]₂.10H₂O se deve às interações do analito com o íon metálico coordenado ou com o cobre(II). Entretanto, se isso fosse correto, a diminuição da corrente seria observada também no eletrodo de pasta de carbono.

Além da interação entre o analito e o metal, descartada acima, a diminuição do sinal de corrente, quando se adicionam quantidades crescentes de piridoxina podem ser explicadas, também por adsorção de produtos de oxidação que também poderia bloquear os sítios ativos na superfície do compósito modificado.

Uma vez que na pasta de carbono ocorre exatamente o oposto, isso é, a corrente aumenta com a concentração de piridoxina [54], deve-se crer que os sítios ativos são na verdade diferentes na pasta e no compósito. No compósito eles devem envolver o modificador e os grupos funcionais da poliuretana presentes no entorno do complexo, enquanto na pasta de carbono tais grupos não existem. Assim, os grupos funcionais da poliuretana devem alterar o comportamento do complexo metálico por interação com os cátions ou podem interagir com o analito e/ou seus produtos de oxidação.

Interações entre a poliuretana e o complexo foram evidenciadas pela diferença de potencial de pico observadas no processo de oxidação do $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$.

4.8.2 Curva analítica

Após otimizar as melhores condições de trabalho para o eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de +0,2 a + 1,2V (contra o eletrodo de calomelano saturado), em diferentes concentrações de piridoxina, a fim de se obter uma curva analítica.

Foram obtidas duas regiões lineares. Uma vez que a primeira apresentou-se mais sensível do que a segunda, ela foi utilizada na determinação de piridoxina. Essa mudança de sensibilidade é típica de sistemas nos quais ocorrem saturação irreversível de sítios ativos da superfície do eletrodo.

A curva analítica foi obtida medindo-se as correntes de pico decrescentes obtidas de voltamogramas para cinco concentrações diferentes, medidas em triplicata. A curva foi linear no intervalo de concentrações de piridoxina entre $1,08 \times 10^{-6}$ a $1,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ com coeficiente de correlação linear (R) de 0,991 ($n = 5$), obedecendo a seguinte Equação 4.3:

$$I_{pa} (\mu\text{A}) = (3,5 \pm 0,4) \times 10^{-6} + 1,23 \pm (0,06) [\text{piridoxina}] (\text{mol L}^{-1}) \quad (4.3)$$

no qual I_{pa} é a corrente de pico em A e [piridoxina] é a concentração de piridoxina em mol L^{-1} . A curva pode ser observada na Figura 4.24.

Figura 4.24 – Curva analítica obtida para o eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) em solução tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ contendo KCl 0,05 mol L⁻¹ (pH 5,0), velocidade de varredura 100 mV s⁻¹, no intervalo de potenciais de 0,2 V à 1,2 V.

Da região linear da curva analítica foi determinado o Limite de Detecção (LD) para a piridoxina de $8,78 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. O LD foi obtido calculado como três vezes o desvio padrão do branco (S_d) dividido pelo coeficiente angular da reta (b), conforme a Equação 4.4 [79]:

$$\text{LD} = 3 S_d / b \quad (4.4)$$

4.8.3 Aplicação

O eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) foi aplicado na determinação de piridoxina em duas amostras

comerciais: Profol[®] (Medley) e Dramin[®] B6 (Nycomed), as quais contém vitamina B₆ associadas.

A análise das amostras foi feita pelo método de adições sucessivas de padrão, com a finalidade de minimizar o efeito de matriz. Inicialmente foram adicionados 20,0 mL da solução de tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ contendo 0,05 mol L⁻¹ de KCl, na cela eletroquímica. A solução foi desaerada com nitrogênio por cerca de 10 minutos. Em seguida, adicionou-se 25 µL da amostra contendo [piridoxina] = $9,73 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e obteve-se o voltamograma cíclico.

Foram adicionados volumes sucessivos da solução padrão do analito e registraram-se as variações de corrente crescente em cada voltamograma cíclico, para cada volume adicionado. Com os valores de variação das correntes de pico construíram-se gráficos que, por extrapolação, permitiram determinar as concentrações das amostras. As Figuras 4.25 e 4.26 apresentam resultados obtidos para as amostras dos fármacos Profol[®] (Medley) e Dramin[®] B6 (Nycomed), respectivamente.

Figura 4.25 – Curva obtida pelo método de adição múltipla de padrões para a determinação de piridoxina em uma amostra comercial de **Profol® (Medley)**, empregando um eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) em solução tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $\text{KCl } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0), a 25°C .

Figura 4.26 – Curva obtida pelo método de adição múltipla de padrões para a determinação de piridoxina em uma amostra comercial de **Dramin® B6 (Nycomed)**, empregando um eletrodo de grafite/poliuretana modificado com $\text{Cu}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 20,0% (*m/m*) em solução tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $\text{KCl } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0), a 25°C .

Os resultados obtidos empregando-se o procedimento voltamétrico desenvolvido e o método comparativo [60] são apresentados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Determinação de piridoxina em formulações farmacêuticas empregando-se o método voltamétrico proposto.

Amostras	Piridoxina (mg / comprimido)				
	Rotulado	Comparativo	Proposto	E1 (%)	E2 (%)
Profol® (Medley)	20	$19,7 \pm 0,3$	$20,7 \pm 0,2$	6,6 %	5,0 %
Dramin® B6 (Nycomed)	10	$10,7 \pm 0,1$	$10,4 \pm 0,3$	-2,8 %	4,0 %

$E1 = 100 \times (\text{método proposto} - \text{comparativo}) / \text{comparativo}$

$E2 = 100 \times (\text{método proposto} - \text{valor rotulado}) / \text{valor rotulado}$

Os erros relativos, ainda que aparentemente elevados, expressam a comparação entre o valor calculado usando o presente método e o rotulado. Sendo a piridoxina relativamente instável é coerente e esperado que os fabricantes adicionem excesso de fármaco na formulação.

Considerando-se os desvios padrão determinados na Tabela 4.3, tem-se que, para o Profol[®] (Medley) o valor determinado e o rotulado concordam entre si com 95% de confiança segundo o teste *t*-Student [80]. Para o Dramin[®] B6 (Nycomed), a concordância também foi da ordem de 95% segundo o mesmo critério.

Uma vez que a amostra Profol[®] (Medley) contém os coadjuvantes cloridrato de buziclina, cloridrato de lisina, triptofana, cianocobalamina e que a amostra Dramin[®] B6 (Nycomed) contém dimenidrinato, fica evidente que eventuais interferências dessas espécies no procedimento analítico de determinação de vitamina B₆ usando o eletrodo de grafite/poliuretana modificado com Cu₃[Fe(CN)₆]₂.10H₂O, podem ser contornadas com o procedimento de adição de padrão.

Não foi necessário polir o eletrodo entre cada medida, o que mostra ausência de adsorção do analito ou de seus produtos de oxidação sobre o eletrodo.

Os testes de adição e recuperação foram realizados em ambas as amostras tendo sido de 96,2-111,6% no caso do Dramin[®] B6 (Nycomed) e da ordem de 97,6-106,9% no Profol[®] (Medley).

O eletrodo se mostrou estável e robusto, já que um único eletrodo foi utilizado em todos os experimentos aqui descritos. Não foi necessário renovar a superfície do eletrodo entre medidas sucessivas.

Capítulo 5 – Conclusão

CAPÍTULO 5 – CONCLUSÃO

Foi possível preparar e caracterizar eletrodos compósitos à base de grafite/poliuretana modificados com hexacianoferratos de cobre(II), cobalto(II) e ferro(III). Entretanto somente o de cobre(II) e cobalto(II) ofereceram resposta voltamétrica. Não foi observado resposta voltamétrica para o complexo de ferro(III), provavelmente devido à sua baixíssima solubilidade em água. Os melhores perfis foram observado em meio de tampão acetato em KCl em pH = 5,0.

A estabilidade de sinal voltamétrico não pôde ser obtida usando voltametria cíclica, mesmo após 200 ciclos de varreduras o que foi atribuído a baixa solubilidade dos hexacianoferratos, além da sua imobilização no eletrodo sólido.

A análise térmica mostrou elevado grau de hidratação e decomposição exotérmica intensa para todos os sais, com formação de óxidos misto como resíduo para os hexacianoferratos de cobre(II) e cobalto(II), e formação de óxido de ferro para o complexo de ferro(III).

Foi possível usar o $\text{Cu}_3[(\text{Fe}(\text{CN})_6)_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}]$ na determinação de piridoxina em voltametria de varredura linear com base na redução do sinal voltamétrico do modificador na presença do analito. Isso foi relacionado com a interação entre a piridoxina e os complexos.

Neste caso, foi possível propor um método para determinação da vitamina B₆ em formas farmacêuticas sólidas (comprimidos). O procedimento de adição de padrão permitiu controlar a interferência dos demais componentes das formulações e o limite de detecção foi da ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Propostas de trabalhos futuros

- Verificar resposta voltamétrica em solventes não aquosos, para observar a estabilização do sinal.
- Testar outros analitos que reagissem com o modificador via redox e observar eventual processo eletrocatalítico.
- Realizar as determinações analíticas usando técnicas de varredura linear e pulso, como voltametria de pulso diferencial e de onda quadrada para melhorar a sensibilidade do método analítico e observar seu efeito na estabilidade da resposta voltamétrica.
- Modificar os eletrodos com outros complexos metálicos e/ou hexacianoferratos de outros metais.
- Realizar medidas de piridoxina em amostras mais complexas aproveitando o fato de não haver interferência significativa na resposta observada.

Referências

- [1] KISSINGER, P. T.; HEINEMAN, W. R. (Eds.) **Laboratory techniques in eletroanalytical chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996. 986 p.
- [2] TALLMAN, D. E.; PETERSEN, S. L. Composite electrodes for electroanalysis – principles and applications. **Electroanalysis**, v. 2, n. 7, p. 499-510, 1990.
- [3] SVANCARA, I.; VYTRAS, K.; KALCHER, K.; WALCARIUS, A.; WANG, J. Carbon paste electrodes in facts, numbers, and notes: a review on the occasion of the 50-years jubilee of carbon paste in electrochemistry and electroanalysis. **Electroanalysis**, v. 21, n. 1, p. 7-28, 2009.
- [4] SANMANTÍAS, A.; BENITO, D.; BASTOS, J. A.; NAVARRO-LABOULAIS, J.; GARCÍA-GALEÑO, J. J.; VICENTE, F. Electrochemical behaviour of Nafion[®]+cupromeronic phthalocyanines films. **International Journal of Inorganic Materials**, v. 1, n. 5-6, p. 361-370, 1999.
- [5] TRIJUEQUE, J.; GARCÍA-GALEÑO, J. J.; NAVARRO-LABOULAIS, J.; SANMANTÍAS, A.; VICENTE, F. Ohmic drop of Prussian-blue/graphite plus epoxy electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 45, n. 4-5, p. 789-795, 1999.
- [6] NAVARRO-LABOULAIS, J.; TRIJUEQUE, J.; GARCÍA-GALEÑO, J. J.; VICENTE, F. Ohmic drop effect on the voltammetric behaviour of graphite plus polyethylene composite electrodes. **Journal of Eletroanalytical Chemistry**, v. 422, n. 1-2, p. 91-97, 1997.
- [7] GUO, Y.; GUADALUPE, A. R. Screen-printable surfactant-induced sol-gel graphite composites for electrochemical sensors. **Sensors and Actuators B**, v. 46, n. 3, p. 213-219, 1998.
- [8] ALBERTÚS, F.; LLERENA, A.; ALPÍZAR, J.; CERDÁ, V.; LUQUE, M.; RÍOS, A.; VALCÁRCEL, M. A PVC-graphite composite electrode for electroanalytical use. Preparation and some applications. **Analytica Chimica Acta**, v. 355, n.1, p. 23-32, 1997.
- [9] TAKAMASA, K.; SUDA, Y.; NEGISHI, A.; HANEKO, H. Carbon electrodes using graphite/carbon composites. **Carbon**, v. 34, n. 3, p. 433, 1996.
- [10] WANG, J.; NASER, N. Modified carbon-wax composite electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 316, n. 2, p. 253-259, 1995.

- [11] TOMMASO, R.; CATALDI, I.; CENTONZE, D. Development of a carbon composite electrode made from polyethylene and graphite powder modified with copper(I) oxide. **Analytica Chimica Acta**, v. 326, n. 1-3, p. 107-115, 1996.
- [12] TOMMASO, R.; CATALDI, I.; CENTONZE, D. Nickel oxide dispersed in a graphite/poly(vinyl chloride) composite matrix for an electrocatalytic amperometric sensor of alditols in flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 307, n. 1, p. 43-48, 1995.
- [13] FERNÁNDEZ, C.; REVIEJO, A. J.; PINGARRÓN, J. M. Graphite-poly(tetrafluorethylene) electrodes as electrochemical detectors in flowing systems. **Analytica Chimica Acta**, v. 314, n. 1-2, p. 13-22, 1995.
- [14] FERNÁNDEZ, C.; REVIEJO, A. J.; PINGARRÓN, J. M. Development of graphite-poly(tetrafluorethylene) electrodes. Voltammetric determination of the herbicides thiran and disulfiran. **Analytica Chimica Acta**, v. 305, n. 1-3, p. 192-199, 1995.
- [15] NAVARRO, J.; ROIG, A.; NOGUEIRA, P.; VICENTE, F.; VILAPLANA, J.; LOPEZ, J. Electrochemical behaviour and electrical percolation in graphite-epoxy electrodes. **Journal of Materials Science**, v. 29, n. 17, p. 4604-4610, 1994.
- [16] LUQUE, M.; RÍOS, A.; VALCÁRCEL, M. A poly(vinyl chloride) graphite composite electrode for flow-injection amperometric determination of antioxidants. **Analytica Chimica Acta**, v. 395, n. 1-2, p. 217-223, 1999.
- [17] MENDES, R.K. **Desenvolvimento e aplicação de eletrodos compósitos poluretana/grafite**. 2002. 91 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002.
- [18] CERVINI, P. **Aplicação de eletrodos compósitos a base de poliuretana-grafite**. 2005. 185 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- [19] MENDES, R. K.; CLARO-NETO, S.; CAVALHEIRO, E. T. G. Evaluation of a new rigid carbon-castor oil polyurethane composite as an electrode material. **Talanta**, v. 57, n. 5, p. 909-917, 2002.
- [20] MENDES, R. K.; CERVINI, P.; CAVALHEIRO, E. T. G. The use of a graphite-castor oil polyurethane composite electrode for the determination of hydroquinone in photographic developers. **Talanta**, v. 68, n. 3, p. 708-712, 2006.

- [21] CERVINI, P.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determination of hydroquinone in a square wave voltammetry procedure using a graphite-polyurethane composite electrode. **Eclética Química**, v. 31, n. 4, p. 59-62, 2006.
- [22] CERVINI, P.; RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, E. T. G. Possibilities of using a new graphite-castor oil polyurethane composite electrode as an amperometric flow detector. **Analytical Chemistry: An Indian Journal**, v. 2, n. 5, p. 187-194, 2006.
- [23] CERVINI, P.; RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determination of atenolol at a graphite-polyurethane composite electrode. **Talanta**, v. 72, n. 1, p. 206-209, 2007.
- [24] CERVINI, P.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determination of paracetamol at a graphite-polyurethane composite electrode as an amperometric flow detector. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 5, p. 836-841, 2008.
- [25] CERVINI, P.; CAVALHEIRO, E. T. G. Graphite-polyurethane composite electrode as an amperometric flow detector in the determination of atenolol. **Analytical Letters**, v. 41, n. 10, p. 1867-1877, 2008.
- [26] BAYER, W.G. **The ICI polyurethane book**. New York: John Willey, 1987. p. 432.
- [27] CLARO-NETO, S. **Caracterizações físico-químicas de um poliuretano derivado de óleo de mamona utilizado para implantes ósseos**. 1997. 153f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.
- [28] BRUINS, P. F. **Polyurethane technology**. New York: Interscience Publishers, 1969. p. 289.
- [29] VILAR, W.D. **Química e tecnologia dos poliuretanos**. Rio de Janeiro: Vilar Consultoria Técnica, 1999. p. 340.
- [30] TOLEDO, R. A.; SANTOS, M. C.; CAVALHEIRO, E. T. G.; MAZO, L. H. Determination of dopamine in synthetic cerebrospinal fluid by SWV with a graphite - polyurethane composite electrode. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 381, n. 6, p. 1161-1166, 2005.

- [31] MALAGUTTI, A. R.; ZUIN, V. G.; CAVALHEIRO, E. T. G.; MAZO, L. H. Determination of rutin in green tea infusions using square-wave voltammetry with a rigidcarbon-polyurethane composite electrode. **Electroanalysis**, v. 18, n. 10, p. 1028-1034, 2006.
- [32] TOLEDO, R. A.; SANTOS, M. C.; HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F.; CAVALHEIRO, E. T. G.; MAZO, L. H. Use o graphite - polyurethane composite electrode for imipramine oxidation - mechanism proposal and electroanalytical determination. **Analytical Letters**, v. 39, n. 3, p. 507-520, 2006.
- [33] TOLEDO, R. A.; VAZ, C. M. P. Use of a graphite - polyurethane composite electrode for electroanalytical determination of índole - 3 - acetic acid in soil samples. **Microchemical Journal**, v. 86, n. 2, p. 161-165, , 2007.
- [34] SEMAAN, F. S.; PINTO, E. M.; CAVALHEIRO, E. T. G.; BRETT, C. M. A. A graphite-polyurethane composite electrode for the analysis of furosemide. **Electroanalysis**, v. 20, n. 21, p. 2287-2293, 2008.
- [35] TEIXEIRA, M. F. S.; MARCOLINO-JÚNIOR, L. H.; FATIBELLO - FILHO, O.; DOCKAL, E. R., BERGAMINI, M. F. An electrochemical sensor for L - DOPA based on oxovanadium -Salen thin film electrode applied flow injection system. **Sensors and Actuators B**, v. 122, n. 2, p. 549-555, 2007.
- [36] SHARPE, A. G. **The chemistry of cyano complexes of the transition metals**. New York: Academic Press, 1976. 302 p.
- [37] MARCOLINO-JUNIOR, L. H. **Eletrodos voltamétricos e amperométricos para a determinação de espécies de interesse farmacêutico**. 2007. 166 f. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.
- [38] WANG, J.; ZHANG, X.; PRAKASH, M. Glucose microsensors based on carbon paste enzyme electrodes modified with cupric hexacyanoferrate. **Analytica Chimica Acta**, v. 395, n. 1-2, p. 11-16, 1999.
- [39] SHANKARAN, D. R.; NARAYANAN, S. S. Amperometric sensor for glutathione based on a mechanically immobilized cobalt hexacyanoferrate modified electrode. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 75, p. 501-505, 2002.

- [40] VILAS-BOAS, M.; FREIRE, C.; CASTRO, B.; HILLMAN, A. R. Electrochemical characterization of a novel salen-type modified electrode. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 102, n. 43, p. 8533-8540, 1998.
- [41] MORTIMER, R. J.; BARBEIRA, P. J. S.; SENE, A. F. B.; STRADIOTTO, N. R. Potentiometric determination of potassium cations using a nickel(II) hexacyanoferrate-modified electrode. **Talanta**, v. 49, n. 2, p. 271-275, 1999.
- [42] SUAREZ, W. T.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; FATIBELLO-FILHO, O. Voltammetric determination of N-acetylcysteine using a carbon paste electrode modified with copper(II) hexacyanoferrate(III). **Microchemical Journal**, v. 82, p. 163-167, 2006.
- [43] BONIFÁCIO, V. G.; MARCOLINO-JUNIOR, L.H.; TEIXEIRA, M. F. S.; FATIBELLO-FILHO, O. Voltammetric determination of isoprenaline in pharmaceutical preparations using a copper(II) hexacyanoferrate(III) modified carbon paste electrode. **Microchemical Journal**, v. 78, p. 55-59, 2004.
- [44] DE OLIVEIRA, M. F.; SACZK, A. A.; NETO, J. A. G.; ROLDAN, P. S.; STRADIOTTO, N. R. Flow injection amperometric determination of persulfate in cosmetic products using a Prussian Blue film-modified electrode. **Sensors**, v. 3, p. 371-380, 2003.
- [45] KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. **Química farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1982. p.655, 664-666.
- [46] AUGUSTIN, J.; **Vitamin analysis**. In: NIELSEN, S. S. (Ed.). Introduction to the Chemical Analysis of Foods. Boston: Jones and Bartlett Publ., 1994. p. 251-260.
- [47] PALLAORO, H. T. M.; ARAUJO, M. A. O.; SILVESTRIM, R. L.; LIPPEL, W. G.; VIDAL, Z. R. D. L.; SILVA, E. R. M.; COSTA, E. A.; FURLANETTO, N. T. C.; STURMER, J. S.; BEM, M. L. **Nutrição molecular: melhorando a qualidade de vida**. Petrópolis: Vozes, 1999. 117p.
- [48] ANICETO, C.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação espectrofotométrica por injeção em fluxo de vitamina B6 (piridoxina) em formulações farmacêuticas. **Química Nova**, v. 22, n. 6, p. 805-809, 1999.
- [49] CANADA, M. J. A.; REGUERA, M. I. P.; DIAZ, A. M. selective determination of pyridoxine in the presence of hydrosoluble vitamins using a continuous-flow solid

phase sensing device with UV detection. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 202, p. 113-120, 2000.

[50] BERGAENTZLE, M.; ARELLA, F.; BOURGUIGNON, J. B.; HASSELMANN, C. Determination of vitamin B6 in foods by HPLC – a collaborative study. **Food Chemistry**, v. 52, p. 81-86, 1995.

[51] ZANG, Z. R.; LI, Y. X.; MAO, D. Y.; COSOFRET, V. V. Sensitive membrane electrodes for the determination of vitamin B₁ and vitamin B₆. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, v. 8, n. 4, p. 385-388, 1990.

[52] SODERHJELM, P.; LINDQUIST, J. Voltammetric determination of pyridoxine by use of a carbon paste electrode. **Analyst**, v. 100, p. 349-354, 1975.

[53] TEIXEIRA, M. F. S.; MARINO, G.; DOCKAL, E. R.; CAVALHEIRO, E. T. G. Voltammetric determination of pyridoxine (vitamin B₆) at a carbon paste electrode modified with vanadyl(IV)–salen complex. **Analytica Chimica Acta**, v. 508, p. 79-85, 2004.

[54] TEIXEIRA, M. F. S.; SEGNINI, A.; MORAES, F. C.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; FATIBELLO-FILHO, O.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determination of vitamin B₆ (pyridoxine) in pharmaceutical preparations by cyclic voltammetry at a copper(II) hexacyanoferrate(III) modified carbon paste electrode. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 316-321, 2003.

[55] QC, W.; WU, K.; HU, S. Voltammetric determination of pyridoxine (Vitamin B₆) by use of a chemically-modified glassy carbon electrode. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 36, p. 631-635, 2004.

[56] BARTHUS, R. C.; MAZO, L. H.; POPPI, R. J.; Simultaneous determination of vitamins C, B6 and PP in pharmaceuticals using differential pulse voltammetry with a glassy carbon electrode and multivariate calibration tools. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, p. 94-99, 2005.

[57] AYRAULT, S.; JIMENEZ, B.; GARNIER, E.; FEDOROFF, M.; JONES, D. J.; LOSS-NESKOVIC, C. Sorption mechanisms of cesium on Cu^{II}₂Fe^{II}(CN)₆ and Cu^{II}₃[Fe^{III}(CN)₆]₂ hexacyanoferrates and their relation to the crystalline structure. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 475-485, 1998.

[58] SHI, L. H.; WU, T.; WANG, M. J.; LI, D.; ZHANG, Y. J.; LI, J. H. Molecule-based cobalt hexacyanoferrate nanoparticle: synthesis, characterization, and its

electrochemical properties. **Chinese Journal of Chemistry**, v. 23, n. 2, p. 149-154, 2005.

[59] GOTOH, A.; UCHIDA, H.; ISHIZAKI, M.; SATOH, T.; KAGA, S.; OKAMOTO, S.; OHTA, M.; SAKAMOTO, M.; KAWAMOTO, T.; TANAKA, H.; TOKUMOTO, M.; HARA, S.; SHIOZAKI, H.; YAMADA, M.; MIYAKE, M.; KURIHARA, M. Simple synthesis of three primary colour nanoparticle inks of prussian blue and its analogues. **Nanotechnology**, v. 18, n. 32, p. 1-6, 2007.

[60] **FARMACOPEIA Brasileira**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 227.

[61] NAKAMOTO, K. **Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds**. New York: John Wiley, 1986. 484 p.

[62] EL-SHOBAKY, G. A.; AHMAD, A. S.; AL-NOAIMI, A. N.; EL-SHOBAKY, H. G. Thermal decomposition of basic cobalt and copper carbonates. **Journal of Thermal Analysis**, v. 46, n. 6, p. 1801-1808, 1996.

[63] PEREIRA, A. V.; FATIBELLO-FILHO, O. Flow injection spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in pharmaceutical formulations with on-line solid-phase reactor containing copper (II) phosphate. **Analytica Chimica Acta**, v. 366, n. 1-3, p. 55-62, 1998.

[64] GARCÍA-JAREÑO, J. J.; SANMATÍAS, A.; BENITO, D.; NAVARRO-LABOULAIS, J.; VICENTE, F. The role of inner counterions within PB films during electrochemical processes. **International Journal of Inorganic Materials**, v. 1, n. 5-6, p. 343-349, 1999.

[65] WANG, P.; JING, X.; ZHANG, W.; ZHU, G. Renewable manganous hexacyanoferrate-modified graphite organosilicate composite electrode and its electrocatalytic oxidation of L-cysteine. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 5, n. 6, p. 369-374, 2001.

[66] CUI, X.; HONG, L.; LIN, X. Electrochemical preparation, characterization and application of electrodes modified with hybrid hexacyanoferrates of copper and cobalt. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 526, n. 1-2, p. 115-124, 2002.

[67] KULESZA, P. J.; MALIK, M. A.; BERRETTONI, M.; GIORGETTI M.; ZAMPONI, S.; SCHMIDT, R.; MARASSI, R. Electrochemical charging, counterion accommodation, and spectrochemical identity of microcrystalline solid cobalt

hexacyanoferrate. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 102, n. 11, p. 1870-1876, 1998.

[68] KULESZA, P. J.; MALIK, M. A.; SCHMIDT, R.; SMOLINSKA, A.; MIECZNIKOWSKI, K.; ZAMPONI, S.; CZERWINSKI, A.; BERRETTONI, M.; MARASSI, R. Electrochemical preparation and characterization of electrodes modified with mixed hexacyanoferrates of nickel and palladium. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 487, n. 1, p. 57-65, 2000.

[69] VITTAL, R; GOMATHI, H; RAO, GP Influence of a cationic surfactant on the modification of electrodes with nickel hexacyanoferrate surface films. **Electrochimica Acta**, v. 45, n. 13, p. 2083-2093, 2000.

[70] SHANKARAN, D. R.; NARAYANAN, S. S.; Mechanically immobilized copper hexacyanoferrate modified electrode for electrocatalysis and amperometric determination of glutathione. **Bulletin of The Korean Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 816-820, 2001.

[71] NARAYANAN, S. S.; SCHOLZ, F.; A comparative study of the electrocatalytic activities of some metal hexacyanoferrates for the oxidation of hydrazine. **Electroanalysis**, v. 11, n. 7, p. 465-469, 1999.

[72] KONCKI, R. Chemical sensors and biosensors based on prussian blues. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 32, N. 1, p. 79-96, 2002.

[73] CASTRO, S. S. L. **Estudo do desenvolvimento de sensores amperométricos utilizando eletrodos quimicamente modificados com hexacianoferratos de metais**. 2000. 124 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.

[74] CLEMENTS, J. E.; ANDERSON, B. B. Pyridoxine (pyridoxamine) phosphate oxidase activity in the red cell. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 613, p. 401-405, 1980.

[75] SABIROV, V. Kh.; PORAI-KOSHITZ, M. A. Structure of the dimeric complex of iron(III) chloride with pyridoxine. **Acta Crystallographica**, v. 49, p. 1611-1614, 1993.

[76] AGRANOVICH, A. M.; BORISOVA, A. P.; DOBRYNINA, N. A.; GLADKIKH, S. P. Study of iron(III) chloride complex-formation with pyridoxine in physiological solution. **Zhurnal Neorganicheskoi Khimi**, v. 29, n. 7, p. 1763-1766, 1984.

[77] MATHEWS, I. I.; RAO, S. P. S.; NETHAJI, M. X-ray crystal-structure of a ternary copper(II) vitamin-B6 complex, hydroxo (2,2'-bipyridyl)(pyridoxinato) copper(II) monohydrate – a rare example of monodentate coordination of copper(II) by the hydroxyl ion. **Polyhedron**, v. 11, p. 1397-1401, 1992.

[78] KHUDAIBERDIEV, E. K.; ALYAVIYA, M. K. Coordination-compounds of iron(II), iron(III), copper(II) with pyridoxine, asparagines and para-aminosalicyclic acids. **Koordinatsionnaya Khimiya**, v. 10, n. 8, p. 1072-1075, 1984.

[79] MILLER, J. C.; MILLER, J. N. **Estatística para química analítica**. 2. ed. Delaware: Addison-Wesley, 1993. 211 p.

[80] SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de química analítica**. São Paulo: Thomson Learning, 2007. 999 p.