

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-graduação em Química

**“ESTUDO E APLICAÇÃO DE ELETRODO
MODIFICADO COM HEXACIANO FERRATO DE
ÓXIDO DE RUTÊNIO PARA A DETECÇÃO
SELETIVA DE SULFITO”**

RODRIGO HENRIQUE DE OLIVEIRA MONTES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Orientador

PROF. DR. RODRIGO ALEJANDRO ABARZA MUNOZ

Uberlândia

Julho de 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-graduação em Química

**“ESTUDO E APLICAÇÃO DE ELETRODO
MODIFICADO COM HEXACIANO FERRATO DE
ÓXIDO DE RUTÊNIO PARA A DETECÇÃO
SELETIVA DE SULFITO”**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação do Instituto de Química
da Universidade Federal de Uberlândia,
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Química

Aluno: Rodrigo Henrique de Oliveira Montes

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Munoz

Área de concentração: Química Analítica

Uberlândia

Julho de 2013



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 173/COPGQ.

DATA: 26/07/2013

DISCENTE: Rodrigo Henrique de Oliveira Montes

MATRÍCULA: 11122QMI004

TÍTULO DO TRABALHO: Estudo e aplicação de eletrodo modificado com hexacianoferrato de óxido de rutênio para a detecção seletiva de sulfito.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Eletroquímica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento, caracterização e aplicação de sensores eletroquímicos para análises ambientais.

Às quatorze horas do dia vinte e seis de julho do ano dois mil e treze, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández-Terrones do Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Tiago Luiz Ferreira, da Universidade Federal de São Paulo, Regina Massako Takeuchi, da Faculdade de Ciências Integradas do Pontal/ UFU, e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, do Instituto de Química da UFU, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 01/2010/COPGQ. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será mantido.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 16 horas e 10 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Tiago Luiz Ferreira – UNIFESP

Profª Dra. Regina M. Takeuchi – FACIP/UFU

Orientador(a): Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz – IQUFU

*"NAS GRANDES BATALHAS DA VIDA, O PRIMEIRO PASSO
PARA A VITÓRIA É O DESEJO DE VENCER."*

MAHATMA GANDHI

AGRADECIMENTOS

- Primeiramente gostaria de agradecer muito à Deus pelas energias positivas do dia-a-dia e por todas as oportunidades que aparecem em minha vida.

- Aos meus pais (Weliton e Zélia) que tanto me apoiaram nessa batalha, sempre em tudo que precisei e em todos os momentos da minha vida, são meus maiores amigos e com quem eu tenho certeza que sempre poderei contar. Aos meus irmãos (Leonardo e Gustavo) pelo apoio que sempre recebo em cada momento especial de minha vida.

- À minha namorada (Maria Clara) que sempre tão paciente comigo, me apoia em tudo sempre procurando o nosso melhor, sempre pensando no nosso futuro, obrigado por passar por várias “provas de resistência” nos dias que nem tudo deu certo comigo e você sempre sorriu para mim.

- Ao meu orientador (Rodrigo Munoz) por ser um grande amigo e companheiro acima de tudo, pelos muitos ensinamentos concedidos, e pela enorme paciência e verdadeira orientação que sempre serei muito grato, presente nestes 4 anos trabalhando juntos. Com certeza é um grande orientador, pessoa que respeito muito.

- Ao professor Eduardo Richter pelos ensinamentos e apoio sempre concedidos com boa vontade, forte presença e disposição para fazer um grupo de pesquisa cada vez mais forte.

- A todos meus amigos do NuPE que faz o trabalho ser sempre agradável, mesmo nos dias em que os experimentos não dão certo, com várias piadinhas sem graça, em especial ao: Rafael Pisquilha (meu irmão de laboratório), Mariana (desastrada), Polyanas, Luiz André (Sô), David (marruco), Monike, Helieder, Jéssica, Rafael Melo, Ana Paula, Michelle e Denise. Ao professor Flávio Damos e a Jussara da UFVJM pela grande ajuda em algumas análises. Eu não poderia esquecer claro meu amigo Rodrigo Amorim (Cabeça), que foi uma pessoa que me ensinou muito e sou bastante grato. Com certeza torço por um futuro brilhante de sucesso que está sendo construído para todos vocês.

- A todos meus amigos Moacir, Guidim, Richard, Abílio, Vitor (pão de queijo), Filipe, Renata (LAFIP), Tininha (LAFIP), Joyce, Sabrina, 17, Gabriel (minhoca), Diego (grilou), Bruno (boi), André (primo), Natan, Jiló, Flor, Cazeca, Robert, Renatão, pH, Michell, Krebs, Léo (Bambi), Débora, entre tantos outros que não foram esquecidos na memória.

- Aos órgãos de fomento (FAPEMIG, CAPES e CNPq) pelas bolsas de IC e de mestrado, pelos auxílios financeiros nos projetos e congressos em que participei.

SÚMARIO

LISTA DE FIGURAS.....	I
LISTA DE TABELA.....	IV
RESUMO.....	V
ABSTRACT.....	VII
LISTA DE ABREVIACÕES.....	IX
TRABALHOS DESENVOLVIDOS NO PERÍODO.....	X

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS DO TRABALHO	1
1.1 ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS	2
1.1.1 HEXACIANO FERRATOS	4
1.2 ESPÉCIES ANALÍTICAS ESTUDADAS	7
1.2.1 SULFITO	7
1.2.1.1 DETERMINAÇÃO DE SULFITO	9
1.2.2 ÁCIDO ASCÓRBICO	11
1.2.3 DETERMINAÇÃO DE SULFITO E ÁCIDO ASCÓRBICO.....	12
1.3 TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS	13
1.3.1 VOLTAMETRIA CÍCLICA	15
1.3.2 AMPEROMETRIA	17
1.4 ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO	19
1.5 MICROBALANÇA ELETROQUÍMICA DE CRISTAL DE QUARTZO	21

1.6 OBJETIVOS	23
1.6.1 OBJETIVO GERAL	23
1.6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	24
2.1 REAGENTES E SOLUÇÕES	25
2.2 ELETRODEPOSIÇÃO DE FILME DE RuOHCF EM ELETRODO DE CV ..	25
2.3 ELETRODEPOSIÇÃO DE FILME DE AP EM ELETRODO DE CV	26
2.4 INSTRUMENTAÇÃO	27
2.4.1 ELETRODO DE TRABALHO	27
2.4.2 ELETRODO DE REFERÊNCIA	28
2.4.3 ELETRODO AUXILIAR	28
2.4.4 SISTEMA FIA	28
2.4.5 MICROBALANÇA ELETROQUÍMICA DE CRISTAL DE QUARTZO	
.....	31
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
3.1 CRESCIMENTO ELETROQUÍMICO DO FILME DE RuOHCF.....	33
3.1.1 MICROBALANÇA ELETROQUÍMICA A CRISTAL DE	
QUARTZO.....	36
3.2 ESTUDO DO COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE SULFITO EM	
ELETRODO DE RuOHCF	39
3.2.1 VOLTAMOGRAMA CÍCLICO NA PRESENÇA DE SULFITO	40
3.2.2 ESTUDO DO MECANISMO DE TRANSPORTE DE MASSA DE	
SULFITO	43
3.2.3 ESTUDO DO PH E VOLTAMOGRAMA HIDRODINÂMICO	46

3.2.4 DETERMINAÇÃO AMPEROMÉTRICA DE SULFITO	49
3.3 SISTEMA FIA	51
3.3.1 OTIMIZAÇÕES	51
3.3.2 ANÁLISE DE AMOSTRAS DE SUCO CONCENTRADO	52
3.4 DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE SULFITO E AA	55
4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	60
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ilustração esquemática do princípio de atuação de um mediador redox imobilizado à superfície de um EQM usado para eletrocatalise	3
Figura 2. Representação esquemática de um experimento de voltametria cíclica. Ei potencial inicial; Ef: potencial final, Es: potencial de inversão; ET: eletrodo de trabalho; ER: eletrodo de referência; EA: eletrodo auxiliar.....	16
Figura 3. (A) Disposição dos componentes de um sistema FIA típico de linha única. (B) Esquema do gradiente de concentração das amostras (ou padrões) criado em distintos momentos no fluxo transportador com os (C) sinais analíticos obtidos	20
Figura 4. Esquema FIA utilizado nas análises e a foto da célula ampliada. ET: eletrodo de trabalho; ER: eletrodo de referência; EA: eletrodo auxiliar.....	30
Figura 5. Esquema do sistema FIA usado. ET: eletrodo de trabalho; ER: eletrodo de referência; EA: eletrodo auxiliar.....	30
Figura 6. Desenho esquemático de um cristal de quartzo com depósitos metálicos em ambos os lados	31
Figura 7. Voltamogramas cíclicos (1º, 10º, 20º, 30º, 40º, 50º e 60º ciclos) registrados durante o crescimento eletroquímico de filmes RuOHCF no eletrodo de carbono vítreo imerso em uma solução contendo 1 mmol L ⁻¹ de K ₃ [Fe(CN) ₆], 1 mmol L ⁻¹ de RuCl ₃ , 0,5 mol L ⁻¹ de KCl/0,25 mol L ⁻¹ de HCl. Velocidade de varredura: 100 mV s ⁻¹ . Os números 1, 2 e 3 indicam diferentes pares de picos	33
Figura 8. Voltamogramas cíclicos (60º, 120º e 180º ciclos) registrados durante o crescimento eletroquímico de filmes de RuOHCF no eletrodo de carbono vítreo imerso	

em uma solução contendo 1 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 1 mmol L^{-1} de RuCl_3 , $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{KCl}/0,25 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl . Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1}35

Figura 9. Voltamogramas cíclicos (parte superior) e voltamassogramas cíclicos (parte inferior) registrados durante o crescimento eletroquímico de filmes RuOHCF em superfície de ouro em uma solução contendo 1 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 1 mmol L^{-1} de RuCl_3 e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 . Velocidade de varredura: 20 mV s^{-1}37

Figura 10. Voltamogramas cíclicos (____) e voltamassogramas cíclicos (----) em diferentes etapas da formação do filme de RuOHCF (4º e 8º ciclos extraídos da Figura 9)38

Figura 11. Voltamogramas cíclicos para $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de sulfito em eletrodo de CV não modificado (A) e modificado com RuOHCF (B). Eletrólito: $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}/0,25 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . Linhas cinzas representam a resposta do branco41

Figura 12. Voltamogramas cíclicos para a $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de sulfito em não modificado (A) e eletrodo modificado com RuOHCF de CV (B). Eletrólito: $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}/0,25 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . Linhas cinzas representam a resposta de base42

Figura 13. Voltamogramas cíclicos para a $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de sulfito no eletrodo modificado com RuOHCF em (a-f) $10\text{-}60 \text{ mV s}^{-1}$. (A) e (B) correspondem ao primeiro e segundo ciclos, respectivamente. Eletrólito: $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}/0,25 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$ 43

Figura 14. Voltamograma de 1 mmol L^{-1} de sulfito em eletrodo de CV não modificado (●) e modificado com RuOHCF (■). Eletrólito: $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}/0,25 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$ 46

Figura 15. Voltamogramas cíclicos para adições de 1 mmol L^{-1} de sulfito em diferentes concentrações de HClO_4 : (---) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, (----) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, (....) $0,25 \text{ mol L}^{-1}$47

Figura 16. Gráfico de corrente (●) e do potencial (■) versus a concentração de HClO_4 obtidos de voltamogramas cíclicos de 1 mmol L^{-1} de sulfito	48
Figura 17. (A) Amperograma obtido para adições sucessivas de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito de sódio (Na_2SO_3) com a solução sob agitação constante. Eletrólito suporte: HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $E = -0,2 \text{ V}$. (B) Curva de calibração para adições de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de Na_2SO_3 e adições de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico, citrato, frutose e glicose, respectivamente. Equação da reta: $i = 0,76442 + 0,04147 * [\text{Na}_2\text{SO}_3]$	50
Figura 18. Estudo da vazão (■) em $1, 2, 3$ e 4 mL min^{-1} e do volume injetado (○) em $50, 100, 150, 200$ e $300 \text{ } \mu\text{L}$ pelos seus respectivos valores de corrente. Eletrólito suporte: HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. No estudo da vazão, o volume foi mantido constante em $200 \text{ } \mu\text{L}$. No estudo do volume, a vazão foi fixada em 4 mL min^{-1}	51
Figura 19. Amperograma para adições de soluções padrão de $100, 75, 50, 25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito e adições de amostras de sucos (A, B e C) diluídas em 10 vezes	53
Figura 20. Amperograma para adições de amostras de suco (10 vezes diluídas) não dopadas e dopadas com $50, 100$ e $150 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito, respectivamente	54
Figura 21. Voltamogramas hidrodinâmicos para a oxidação de ácido ascórbico e sulfito ($100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de cada analito)	56
Figura 22. Amperogramas de múltiplos pulsos com injeções de soluções em triplicata contendo $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito, de AA e da mistura, respectivamente. O amperograma em $0,0 \text{ V} / 60 \text{ ms}$ não foi apresentado	57
Figura 23. Amperogramas de múltiplos pulsos após 10 injeções consecutivas de $300 \text{ } \mu\text{L}$ de uma solução contendo simultaneamente AA e sulfito ($100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de ambos)	58
Figura 24. Resposta amperométrica em fluxo com injeções em triplicata de soluções contendo $50, 100, 200, 300, 400$ e $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ da mistura de AA e sulfito e sua	

respectiva curva analítica de AA (■) e sulfito (○). Equação da reta para AA e sulfito, respectivamente: $i = 0,07588 + 0,00999 \cdot [AA]$ e $i = 6,13405 + 0,11162 \cdot [Na_2SO_3]$, ambos com $R = 0,998$ 59

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Valores de concentração de sulfito em 3 amostras de suco concentrado obtidos pelos métodos amperométricos empregando curva analítica e adição de padrão54

RESUMO

Esta dissertação apresenta o estudo eletroquímico de eletrodo modificado com filme de hexacianoferrato de óxido de rutênio visando à detecção e quantificação seletiva e sensível de sulfito em amostra de sucos. Primeiramente, estudos eletroquímicos do crescimento do filme de hexacianoferrato de óxido de rutênio em um eletrodo de carbono vítreo (eletrodo de trabalho) por voltametria cíclica e microbalança eletroquímica de cristal de quartzo foram realizados. O comportamento eletroquímico de sulfito no eletrodo modificado foi investigado e verificou-se que a redução eletroquímica da molécula ocorreu em baixos potenciais (próximo de 0,0 V vs Ag/AgCl/KCl 3 mol L⁻¹), o que não ocorreu em eletrodo não modificado ou mesmo modificado com azul da Prússia (hexacianoferrato de ferro), sendo este um indicativo clássico de eletrocatalise do filme podendo ser aplicado como sensor seletivo para sulfito. Estudos do mecanismo de transporte de massa de sulfito durante o processo de redução no eletrodo modificado foram realizados e os resultados apontam para processos mistos de transporte de massa, ou seja, além do transporte difusional do seio da solução, verificou-se o aprisionamento de sulfito no interior do filme modificador do eletrodo. Desta forma, a redução eletroquímica de sulfito no interior do filme é a causa provável da diminuição dos valores de potenciais para valores próximos de 0,0 V.

O eletrodo modificado foi aplicado para o monitoramento amperométrico em potencial constante de -0,2 V usando sistema em batelada sob agitação constante. Este sistema apresentou sensibilidade de 41,5 nA L / μmol (R = 0,996), limite de detecção de 20 μmol L⁻¹ e mostrou-se livre de interferências de ácido ascórbico,

citrato, frutose e glicose. Posteriormente, o mesmo eletrodo foi adaptado em célula eletroquímica do tipo “wall-jet” para análises por injeção em fluxo (FIA), aplicando o potencial constante de -0,2 V, para a determinação de sulfito em amostras de suco concentrado. Também em sistema FIA, avaliou-se a técnica de amperometria de múltiplos pulsos para a determinação simultânea de sulfito e ácido ascórbico. Uma sequência de pulsos de potencial foi otimizada (+0,4 V / 300 ms: oxidação do ácido ascórbico, 0,0 V / 60 ms: limpeza eletroquímica ou manutenção da superfície do eletrodo, -0,2 V / 60 ms: redução do sulfito) para determinação simultânea de sulfito e ácido ascórbico de forma seletiva. O método FIA apresentou repetibilidade satisfatória (desvio padrão relativo para ácido ascórbico e sulfito de 2,9% e 2,7%, respectivamente) e elevada frequência analítica (120 injeções h⁻¹). A curva analítica de ambos analitos apresentaram aceitáveis valores de coeficientes de correlação (R = 0,998) e baixos limites de detecção e quantificação (para o sulfito de 2,9 e 9,6 µmol L⁻¹ e para ácido ascórbico de 7,6 e 25 µmol L⁻¹, respectivamente).

ABSTRACT

This dissertation presents the electrochemical study of modified electrode with a ruthenium oxide hexacyanoferrate film aiming the selective and sensitive detection and quantification of sulfite in juice samples. First, electrochemical studies of the growth of ruthenium oxide hexacyanoferrate film on a glassy carbon electrode (working electrode) by cyclic voltammetry and electrochemical quartz crystal microbalance were performed. The electrochemical behavior of sulfite at the modified electrode was investigated and it was found that the electrochemical reduction of the molecule occurred at low potential (near to 0.0 V vs. Ag / AgCl / 3 mol L⁻¹ KCl), which did not occurs at the unmodified electrode or even at a Prussian-blue modified electrode (iron hexacyanoferrate), which is indicative of classic electrocatalysis by the film and then it could be applied as a selective sensor for sulfite. Studies of the mechanism of mass transport of sulfite during the process of reduction at the modified electrode were conducted and the results indicate mixed processes for mass transport, in addition to the diffusional transport of sulfite from the bulk solution, it was found sulfite trapping inside the electrode film modifier. Thus, the electrochemical reduction of sulfite inside of the film is the likely cause of the decrease of the potential values close to 0.0 V.

The modified electrode was applied for the amperometric monitoring at constant potential of -0.2 V using a batch system under constant stirring. This system provided a sensitivity of 41.5 nA L / mol ($R = 0.996$), a detection limit of 20 mmol L⁻¹ and was free of interference from ascorbic acid, citrate, fructose and glucose. Subsequently, the same electrode was adapted into an electrochemical cell of "wall-

jet" type for flow injection analysis (FIA), applying the constant potential of -0.2 V, for the determination of sulfite in concentrated juice samples. Also in the FIA system, it was evaluated the multiple pulse amperometry technique for the simultaneous determination of sulfite and ascorbic acid. A sequence of potential pulses was optimized (+0.4 V / 300 ms: oxidation of ascorbic acid; 0.0 V / 60 ms: electrochemical cleaning or maintenance of the electrode surface; -0.2 V / 60 ms: reduction of sulfite) was used for the simultaneous and selective determination of sulfite and ascorbic acid. The FIA method presented satisfactory repeatability (relative standard deviation for ascorbic acid and sulfite were 2.9% and 2.7%, respectively) and high analytical frequency (120 injections h⁻¹). The analytical curve of both analytes presented acceptable correlation coefficient values ($R = 0.998$) and low limits of detection and quantification (2.9 and 9.6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ for sulfite and 7.6 and 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ for AA, respectively).

LISTA DE ABREVIATÖES

EQM - Eletrodo quimicamente modificado

HCF - Hexacianoferrato

AP - Azul da prússia

RuOHCF - Hexacianoferrato de óxido de rutênio

AA - Ácido ascórbico

FIA - Análise por injeção em fluxo

LD - Limite de detecção

CV - Carbono vítreo

MECQ - Microbalança eletroquímica a cristal de quartzo

NC - Nanotubos de carbono

PAH - Hidrocloroeto de polialilamina

VOQ - Voltametria de onda quadrada

AMP - Amperometria por múltiplos pulsos

ET - Eletrodo de trabalho

ER - Eletrodo de referência

EA - Eletrodo auxiliar

VPD - voltametria por pulso diferencial

VV - Velocidade de varredura

LQ - Limite de quantificação

TRABALHOS DESENVOLVIDOS NO PERÍODO

Silva, R. A. B., R. H. O. Montes, E. M. Richter, R. A. A. Munoz, *Rapid and selective determination of hydrogen peroxide residues in milk by batch injection analysis with amperometric detection*. Food Chemistry, 2012. **133**(1): p. 200-204.

Montes, R. H. O, E. M. Richter, R. A. A. Munoz, *Low-potential reduction of sulfite at a ruthenium-oxide hexacyanoferrate modified electrode*. Electrochemistry Communications, 2012. **21**: p. 26-29.

Stefano, J. S., A. P. Lima, R. H. O. Montes, E. M. Richter, R. A. A. Munoz, *Fast determination of naproxen in pharmaceutical formulations by batch injection analysis with pulsed amperometric detection*, J. Braz. Chem. Soc., 2012. **23**(10): p. 1834-1838.

Fernandes. D. M., R. H. O. Montes, E. S. Almeida, A. N. Nascimento, P. V. Oliveira, E. M. Richter, R. A. A. Munoz. *Storage stability and corrosive character of stabilised biodiesel exposed to carbon and galvanised steels*. Fuel, 2013. **107**: p. 609-614.

Lima, A. B., E. O. Faria, R. H. O. Montes, R. R. Cunha, E. M. Richter, R. A. A. Munoz, W. T. P. Santos, *Electrochemical Oxidation of Ibuprofen and Its Voltammetric Determination at a Boron-Doped Diamond Electrode*. Electroanalysis, 2013. Aceito para publicação.

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS DO TRABALHO

1.1 ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS

O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM) foi inicialmente utilizado na eletroquímica por Moses e colaboradores [1] em 1975 para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, convenientemente imobilizadas em suas superfícies, com o objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução. A modificação do eletrodo normalmente confere a este as características físico-químicas (reatividade, seletividade, etc.) do modificador, possibilitando assim o desenvolvimento de dispositivos com respostas adequadas para vários propósitos e aplicações desde a catálise de reações orgânicas e inorgânicas até a transferência de elétrons em moléculas de interesse [1]. O primeiro exemplo de uma modificação deliberada da superfície de um eletrodo foi o trabalho de Lane e Hubbard [2]. Estes pesquisadores adsorveram na superfície de eletrodos de platina várias olefinas funcionalizadas, explorando a propensão de grupos alceno quimisorverem-se sobre este metal. Neste trabalho pioneiro foram feitas observações importantes. Por exemplo, foi verificada a capacidade do ácido 3-alil-salicílico coordenar ferro seletivamente, em função do potencial aplicado. Este fato foi a primeira indicação da utilidade analítica de EQMs, pois demonstrou a capacidade de um grupo imobilizado complexar um íon metálico, e também a possibilidade de direcionar a coordenação através da escolha do potencial aplicado.

A partir destes trabalhos pioneiros, o preparo e utilização de EQMs têm se expandido de forma bastante acentuada, como pode ser inferido do expressivo número de artigos publicados sobre este tema nos últimos anos. Além da eletroanálise, que tem se destacado como uma das áreas mais ativas neste campo, os

EQMs têm sido utilizados para fins outros que não analíticos, incluindo estudos básicos de eletrocatalise, de cinética de transferência de elétrons, de permeação de membranas, síntese eletroorgânica e fotoeletroquímica [3].

A grande maioria das aplicações analíticas de EQMs envolve técnicas voltamétricas ou amperométricas. Entretanto, também são descritos na literatura alguns casos de aplicação de EQMs como eletrodos íon seletivos [3].

Do ponto de vista analítico a sensibilidade e/ou a seletividade de uma determinação deve aumentar com a utilização de um EQM para que seu uso seja justificado. Isto pode ser obtido por meio de um ou mais dos seguintes fenômenos: pré-concentração, eletrocatalise e exclusão de interferentes. Em geral a obtenção de sensibilidades mais altas ocorre por pré-concentração da espécie de interesse ou por eletrocatalise, sendo que a aplicação de qualquer destes princípios resulta em inerente aumento da seletividade. A Figura 1 ilustra esquematicamente o princípio da ação de um mediador imobilizado à superfície de um EQM, em um processo de redução de um substrato, análogo ao processo de oxidação do mediador também.

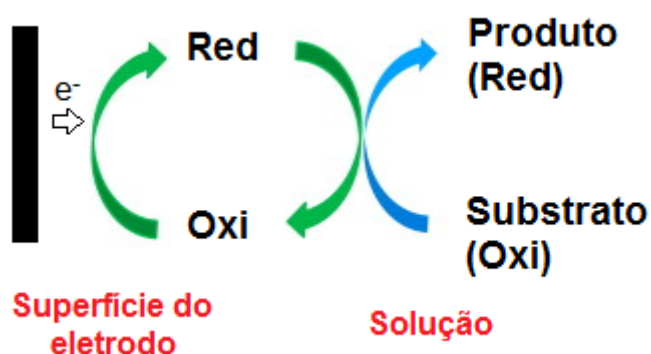


Figura 1. Ilustração esquemática do princípio de atuação de um mediador redox imobilizado à superfície de um EQM usado para eletrocatalise.

1.1.1. HEXACIANO FERRATOS

Os eletrodos modificados com materiais inorgânicos praticamente formam uma nova categoria dos EQMs. Várias matrizes inorgânicas têm sido usadas como agentes modificadores de eletrodos convencionais. Destes, destacam-se os filmes de hexacianoferrato (HCF)[4].

A história da química dos HCF teve início no ano de 1704 com o descobrimento do azul da Prússia (AP-hexacianoferrato de ferro). No entanto, somente recentemente informações mais detalhadas sobre as características eletroquímicas dos HCFs e seus análogos vêm sendo disponibilizadas na literatura, como suas propriedades eletrocromáticas, eletrocatalíticas e espectroscópicas [5]. O acesso a estas informações vem aumentando o número de aplicações do material.

Uma das principais aplicações de sensores modificados com AP é a determinação catalítica de peróxido de hidrogênio em um potencial aplicado relativamente baixo (0,0 V vs Ag/AgCl/KCl sat.) [6]. A detecção em baixo potencial de H_2O_2 contribui para eliminar possíveis interferentes eletroativos que podem ser encontradas em amostras reais. A seleção de tampão de fosfato (pH 7,2) e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl como eletrólito foi relacionado com o melhor desempenho do eletrodo modificado por Karyakin e colaboradores [7]. Devido à elevada seletividade fornecida pelos eletrodos modificados com AP para detecção de H_2O_2 , tais sensores eletroquímicos foram denominados 'Peroxidase artificial'[7].

Amorim e colaboradores [8] apresentam resultados de determinação de H_2O_2 utilizando eletrodos compósitos modificados com AP em baixo potencial (0,0 V) em

amostras de enxaguante bucal e amostras de leite com limite de detecção igual a 0,8 e 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente [6, 8].

Peróxido de hidrogênio é uma importante molécula a ser determinada, pois é utilizada em diversas aplicações, como em processos oxidativos avançados para a degradação de poluentes, agente branqueador nas indústrias de papel e celulose, têxteis e produtos de higiene bucal [9, 10].

A configuração mais utilizada para a montagem de biossensores amperométricos enzimáticos é a que envolve o uso de uma enzima oxidase. Esta classe de enzimas atua através da oxidação do substrato e, em seguida, volta ao seu estado original ativo através da transferência de elétrons para o oxigênio molecular, de modo que os produtos finais destas enzimas são a forma oxidada do substrato e, como um produto secundário, o peróxido de hidrogênio [11]. Tanto a medição do consumo de oxigênio [12] e a produção de peróxido de hidrogênio [13-15] podem fornecer informações sobre a concentração inicial do substrato da enzima.

Métodos baseados na medição do peróxido de hidrogênio foram grandemente preferidos nos últimos anos para os que se baseiam na redução do oxigênio. No entanto, uma grande desvantagem é representada pelo elevado potencial necessário para a oxidação de peróxido de hidrogênio (0,7 V vs Ag/AgCl) em que muitas substâncias eletroativas (por exemplo, ácido ascórbico, ácido úrico, etc) que estão geralmente presentes em amostras reais, podem também ser oxidadas resultando em sinais de interferência [11].

Por esta razão, na última década, os mediadores eletroquímicos inorgânicos [16-18], que catalisam a oxidação ou a redução do peróxido de hidrogênio, têm sido preferidos e utilizados para a montagem de biossensores baseados em oxidase. Isso

resulta em uma diminuição do potencial aplicado e consequentemente um menor número de interferentes detectáveis.

Análogo ao AP, o hexacianoferrato de óxido de rutênio (RuOHCF), composto de estudo deste trabalho, teve suas propriedades eletrocatalíticas exploradas para a determinação de aminoácidos contendo enxofre (cisteína, metionina e cistina) [19], ácido ascórbico (AA) [20], desoxiguanosina [21] e H_2O_2 [22].

Shaidarova e colaboradores [19] apresentam a utilização de eletrodo de grafite modificado com hexacianoferrato de rutênio para a determinação eletrocatalítica de cisteína, metionina e cistina. O EQM apresentou diminuição dos potenciais de oxidação em relação ao eletrodo puro, para a cisteína, metionina e cistina, em 0,25, 0,15 e 0,60 V, e limites de detecção (LD) igual a 4,0, 5,0 e 9,0 nmol L^{-1} , respectivamente.

A oxidação do ácido ascórbico em um eletrodo modificado com RuOHCF foi caracterizada por voltametria cíclica utilizando sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) por Paixão e colaboradores [20]. Nesta superfície modificada, o processo permite a determinação eletrocatalítica de AA em 0,0 V e pH 6,9, com um LD de 2,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Em outro trabalho, Paixão e colaboradores [21] mostraram a determinação de desoxiguanosina em eletrodo de carbono vítreo (CV) modificado com RuOHCF. Utilizando voltametria cíclica é possível ver um pico anódico em torno de 1,1 V com a adição do analito, mostrando uma evidência de oxidação eletrocatalítica de desoxiguanosina no eletrodo modificado. A eficiência catalítica do eletrodo modificado com RuOHCF para a oxidação de desoxiguanosina foi estimada pela comparação de sinais obtidos com o eletrodo modificado e o eletrodo puro, obtendo um aumento de 9 vezes de corrente para o modificado.

Este mesmo eletrodo também foi usado por Paixão e colaboradores [22] para detecção amperométrica de H_2O_2 . O processo eletrocatalítico permite a determinação de peróxido de hidrogênio a 0,0 V, com um LD de $1,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ e ampla faixa linear ($10\text{-}500 \mu\text{mol L}^{-1}$) em uma análise acoplada a sistema FIA.

O filme de RuOHCF já foi estudado quanto à influência da composição do eletrólito suporte no perfil voltamétrico do filme, quanto ao efeito do pH, tal que, quanto maior a acidez do meio, maior é o deslocamento dos quatro picos para potenciais mais positivos (faixa de pH entre 0,5 e 3,0). Apesar dos mecanismos de formação do filme de RuOHCF não serem bem conhecidos, suas propriedades eletrocatalíticas são significativas [23].

O sulfito é uma molécula de grande interesse na indústria alimentícia, sendo usado como conservante para prevenir processos oxidativos, inibir crescimento bacteriano e preservar a vitamina C. Apesar das grandes vantagens trazidas à indústria alimentícia, o sulfito é tóxico e sua concentração em alimentos deve ser, portanto, monitorada [24].

1.2 ESPÉCIES ANALÍTICAS ESTUDADAS

1.2.1 SULFITO

O sulfito e suas diversas formas são adicionados em alimentos por diversas razões, dentre as quais o controle do escurecimento enzimático e não-enzimático nos alimentos, por sua ação antimicrobiana, antioxidante, redutora e clarificante [25, 26].

Sulfito tem sido largamente utilizado como um conservante nas indústrias de alimentos devido à sua capacidade para reduzir ou prevenir o crescimento de bactérias e de oxidação durante a preparação, distribuição e armazenagem de vários produtos alimentares [27].

Existem oito compostos nos quais os sulfitos são encontrados como conservantes: dióxido sulfúrico (SO_2), sulfito de sódio (Na_2SO_3), bissulfito sódico (NaHSO_3), bissulfito de potássio (KHSO_3), metabissulfito sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$), metabissulfito de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$) e bissulfito de cálcio ($\text{Ca}(\text{HSO}_3)_2$). Os sulfitos, bissulfitos e metabissulfitos são formas químicas derivadas do gás anidrido sulfuroso [28].

Devido às suas múltiplas funções, os sulfitos são usados em vários produtos, como licores, frutas secas, hortaliças desidratadas (exceto cebola e alho), frutas e legumes frescos, sucos de frutas, bebidas carbonatadas, produtos cárneos como salsichas, peixes e linguiças, e vinhos [29-36]. A adição de sulfito em alimentos é objeto de debate devido à certas observações que sugerem riscos potenciais à saúde. Efeitos tóxicos têm sido relatados, assim, a agência reguladora de alimentos e drogas dos Estados Unidos (FDA) exige a inserção de etiquetas de advertência nas embalagens de alimentos que contenham concentrações de sulfito acima de 10 ppm [27, 37]. Certos indivíduos apresentam sensibilidade quando expostos a esta substância, especialmente os asmáticos, que podem apresentar graves espasmos bronquiais; uma segunda preocupação se refere aos efeitos carcinogênicos e mutagênicos desta substância [38].

A ingestão pode causar irritação gástrica por liberação de ácido sulfuroso. Pode ocorrer reação asmática após a ingestão. Grandes doses podem resultar em náusea,

vômito, diarreia, dores abdominais e depressão do sistema nervoso central. Dose fatal estimada: acima de 5000 ppm. A inalação causa irritação do trato respiratório. Os sintomas podem incluir tosse e coriza. Pode causar reação alérgica em pessoas sensíveis. O contato com a pele pode causar irritação de pele. Os sintomas incluem avermelhamento, coceira e dor [39].

1.2.1.1 DETERMINAÇÃO DE SULFITO

O uso de conservantes e outros aditivos alimentares em diferentes países é limitado por legislações específicas, estabelecidas com base na segurança de uso e necessidade tecnológica. O Brasil, assim como outros países, segue as recomendações do JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) na utilização segura dos aditivos em alimentos [40].

O sulfito geralmente é determinado em alimentos e bebidas por métodos espectrofotométricos [41], quimioluminescentes [42], métodos de titulação iodométrica direta [43] e por titulação coulométrica [44], além de métodos enzimáticos [45] e amperométrico [46] como alternativas mais convenientes.

Outros métodos de determinação de sulfito incluem sensores eletroquímicos [47-49] e uso de microbalança eletroquímica de cristal de quartzo (MECQ) [50].

Sistemas eletroquímicos têm oferecido uma solução para analisar muitas espécies, devido ao baixo custo da instrumentação, rapidez nas análises e sensibilidade satisfatória.

García e colaboradores [24] desenvolveram um trabalho utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com AP na determinação eletroquímica da oxidação de sulfito em amostras de vinho. Utilizando técnicas voltamétricas com este sensor notou-se uma diminuição em 330 mV em relação ao eletrodo puro de CV obtendo um LD $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ para sulfito [24].

A oxidação eletrocatalítica de sulfito tem sido estudada por eletrodo de pasta de carbono contendo nanotubos de carbono (NC) modificados com ácido ferrocenocarboxílico. Verificou-se que sob a condição ideal (pH 7,0) em voltametria cíclica, a oxidação do sulfito ocorreu a um potencial de cerca de 350 mV menos positivo do que eletrodo não modificado. Utilizando voltametria por pulso diferencial (VPD) obteve-se LD igual a $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ [51].

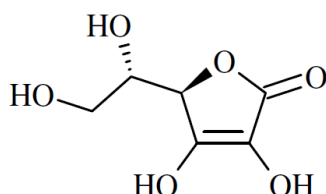
Sartori e colaboradores utilizaram eletrodo de carbono vítreo (CV) modificado com NC funcionalizado com filme de hidrocloreto de polialilamina (PAH) para determinação voltamétrica de sulfito. O potencial de pico anódico para oxidação de sulfito em um CV/PAH/NCs foi de 0,41 V enquanto a CV/PAH e CV, os potenciais de pico foram de 0,96 e 0,89 V, respectivamente. Utilizando voltametria de onda quadrada (VOQ) o LD foi de $4,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ com eletrodo de CV/PAH/NCs [52].

A maioria dos trabalhos encontrados na literatura para determinação eletroquímica de sulfito explora potenciais positivos promovendo a oxidação de sulfito, mas em amostras de bebidas geralmente possuem alguns interferentes nestes potenciais, como AA, glicose, ácido cítrico, dentre outros. Assim há certa necessidade de investigar processos eletroquímicos de sulfito em potenciais negativos em que ocorre a sua redução.

Davis e colaboradores [53] investigaram a eletrorredução de sulfito utilizando eletrodo de carbono vítreo em 0,05 mol L⁻¹ de ácido sulfúrico realizando a determinação de sulfito em potencial igual a -0,6 V [53].

1.2.2 ÁCIDO ASCÓRBICO

O AA, também conhecido como vitamina C, é produzido sinteticamente e extensivamente usado na indústria de alimentos pela ação antioxidante [54].



Em muitos alimentos é adicionado como suplemento (sucos de frutas, por exemplo), sendo usado na medicina na forma de pílulas como componente de tabletes multivitamínicos [55].

A vitamina C funciona no interior do corpo humano, encaixando-se em ambos os lados da reação de óxido-redução, que acrescenta ou retira átomos de hidrogênio de uma molécula. Quando se oxida forma o ácido desidroascórbico pela retirada, por agentes oxidantes, de dois átomos de hidrogênio. Reduz-se pelo acréscimo de dois átomos de hidrogênio, formando novamente o AA [56]. O AA administrado em altas doses, após atingir concentração máxima nos tecidos, sofre eliminação do excesso pelos rins. Os principais metabólitos do AA excretados na urina, além do AA inalterado, são o ácido desidroascórbico, o ácido oxálico e o ácido 2,3-dicetogulônico, sendo que

seus teores na urina acham-se relacionados com as espécies animais, e também com o teor de AA administrado [57].

Altas concentrações de AA no sistema nervoso explicam-se pela provável necessidade de ascorbato (forma ionizada do AA) na síntese de neurohormônios e de noradrenalina. A vitamina C participa no metabolismo do triptofano e dos neurotransmissores, serotonina e dopamina [58].

1.2.3 DETERMINAÇÃO DE SULFITO E ÁCIDO ASCÓRBICO

Vários métodos estão disponíveis na literatura para a determinação simultânea de sulfito e AA, dois antioxidantes comumente utilizados em indústrias de bebidas, como por exemplo, cerveja [59] e sucos comerciais [60], por cromatografia de íons [61, 62] cromatografia líquida de alta eficiência [59], potenciometria indireta [63] e VOQ utilizando eletrodo modificado [60].

Estes aditivos inibem o crescimento de bactérias, e controlam as reações enzimáticas e não-enzimáticas, melhorando a aparência e sabor dos alimentos e bebidas durante o processamento e armazenamento. Adicionalmente, o AA tem muitos benefícios enquanto sulfitos são utilizados para preservar AA em alimentos e bebidas, pois AA é susceptível a degradação enzimática e oxidação química [64, 65]. O desenvolvimento de metodologias rápidas, de baixo custo, com sensibilidade e seletividade satisfatória e de fácil execução são de grande importância para a determinação de sulfito e AA. Desta forma, técnicas eletroquímicas se destacam nessas análises por se mostrarem uma ferramenta útil com tais vantagens.

Há apenas um trabalho publicado na literatura para determinação eletroquímica simultânea de sulfito e AA, apresentado por Fatibello-Filho e colaboradores [60]. Neste trabalho, utiliza-se eletrodo de carbono vítreo modificado com NC em filme de PAH com determinação voltamétrica de ambos analitos. Os potenciais de pico anódicos de AA e de sulfito foram selecionados em 0,005 V e 0,327 V (vs. Ag / AgCl (3,0 M KCl)), respectivamente através de voltametria cíclica. Utilizando uma técnica de voltametria de varredura linear, as curvas analíticas obtidas foram lineares para AA e sulfito em intervalo de concentração de 5,0-200,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LD de 3,0 e 3,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AA e de sulfito, respectivamente.

Neste âmbito, a análise por injeção em fluxo associada amperometria por múltiplos pulsos (AMP) representa uma ferramenta útil na busca por resultados mais satisfatórios.

1.3 TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS

As técnicas eletroanalíticas estão sendo cada vez mais utilizadas nas mais diversas áreas do conhecimento, com o objetivo de se obter informações fundamentais sobre propriedades intrínsecas das substâncias. Estudos de processos de oxidação e redução em vários meios, de adsorção em superfícies e de mecanismo de transferência de elétrons, exemplificam algumas das aplicações das técnicas eletroanalíticas.

Existem três formas pelo qual o transporte de massa pode ocorrer em uma célula eletroquímica: difusão, migração e convecção [66]. A difusão é criada pela

diferença de concentração entre as espécies próximas à superfície do eletrodo e o seio da solução; a migração deve-se à movimentação de espécies iônicas devido à ação de um campo elétrico e a convecção consiste na movimentação de espécies iônicas ou neutras devido à agitação mecânica da solução (sistemas hidrodinâmicos) ou em função de um gradiente de temperatura (normalmente desprezível).

Dois tipos de processos podem conduzir correntes através da interface eletrodo/solução: a corrente faradaica e a corrente não faradaica ou capacitiva [67]. A origem da corrente faradaica está na transferência de elétrons entre o eletrodo de trabalho e as espécies eletroativas da solução. Este processo obedece à lei de Faraday, a qual determina a corrente proporcional a quantidade de reagentes formados ou consumidos no eletrodo. A corrente capacitiva é gerada pela dupla camada elétrica formada na interface eletrodo/solução devido a uma variação de potencial ou até mesmo a potencial constante, caso a capacitância do eletrodo estiver mudando por alguma razão, que pode ser pela mudança de área do eletrodo ou pela variação de temperatura. Esta corrente não depende de nenhuma reação química.

As técnicas eletroanalíticas oferecem uma série de vantagens, tais como: seletividade das determinações resultantes do processo redox das espécies analíticas de interesse em função do potencial aplicado; seletividade decorrente dos processos redox do analito em eletrodo de trabalho feito com material específico; grande sensibilidade e baixos LD resultante das técnicas de pré-concentração e modos de aquisição de sinal que proporciona ambiente com baixo sinal de fundo [68].

1.3.1 VOLTAMETRIA CÍCLICA

Na voltametria cíclica, uma varredura triangular de potencial com velocidade conhecida e constante é aplicada a um eletrodo de trabalho estacionário e com a solução mantida em repouso, onde, quando se alcança o potencial final desejado, a direção da varredura é invertida em direção ao potencial inicial, obtendo-se como resposta à tal perturbação um gráfico de corrente vs. potencial, conhecido como voltamograma [69]. A voltametria cíclica é o experimento inicial de estudos que desejem avaliar o comportamento eletroquímico de um composto ou a superfície de um eletrodo [70] já que permite verificar o comportamento redox de um sistema em um intervalo de potencial.

O controle do potencial é feito no eletrodo de trabalho. Para que este controle seja possível, uma diferença de potencial é aplicada entre o eletrodo de trabalho (ET) e um eletrodo de referência (ER) cujo potencial é conhecido e constante. Para que o potencial se mantenha constante no ER durante os experimentos, a corrente gerada pelo sistema flui entre o ET e auxiliar (EA) (arranjo eletrônico).

Os parâmetros eletroquímicos mais importantes em voltametria cíclica são os potenciais de pico catódico e anódico (E_{pc} e E_{pa}) e as correntes de pico catódica e anódica (I_{pc} e I_{pa}) e os potenciais de meia onda ($E_{1/2}$), essenciais para caracterizar o processo eletródico ocorrido.

Testes diagnósticos realizados a partir da observação da dependência da intensidade de corrente com o potencial aplicado em relação à velocidade de varredura (VV) permitem obter informações relevantes sobre reversibilidade ou

irreversibilidade do processo de transferência de elétrons, ocorrência de reações químicas acopladas, fenômenos catalíticos e adsorção [71].

Para que a relação entre o sinal eletroquímico medido e concentração da espécie analítica de interesse seja linear é indispensável que a velocidade do transporte de massa nesta camada seja constante (migração deve ser constante). O artifício usado para atingir este objetivo é o uso de um eletrólito inerte cuja concentração seja pelo menos 50 vezes superior ao das espécies analíticas de interesse, sendo que este eletrólito deve estar presente nas amostras e nas soluções padrão.

Os principais atributos responsáveis pela popularização, em diversas áreas de aplicação, dessa técnica são: facilidade de utilização e versatilidade. É uma técnica em que, uma célula voltamétrica apropriada quando submetida a uma varredura de potencial cíclico e linear, se estuda a relação potencial-corrente (Figura 2).

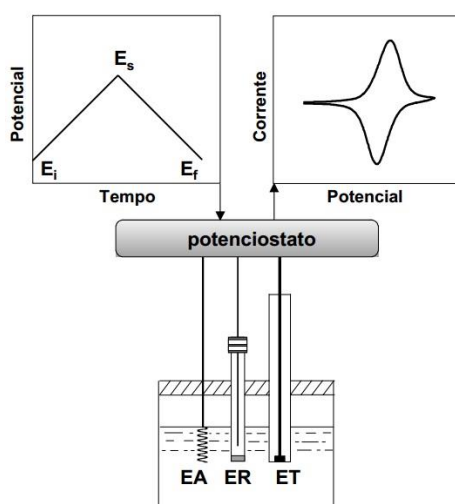


Figura 2. Representação esquemática de um experimento de voltametria cíclica. Ei: potencial inicial; Ef: potencial final, Es: potencial de inversão; ET: eletrodo de trabalho; ER: eletrodo de referência; EA: eletrodo auxiliar[72].

1.3.2 AMPEROMETRIA

O desenvolvimento da instrumentação eletroanalítica desencadeou o crescimento da utilização de técnicas de detecção eletroquímicas, tais como: a VOQ, a VPD e a amperometria, com as quais é possível a aquisição de dados com sensibilidade comparável à obtida com o emprego de técnicas cromatográficas de separação com detecção espectrofotométrica [73].

Na amperometria convencional, o ET é normalmente mantido num potencial constante adequado, no qual ocorre a oxidação ou redução eletroquímica de compostos eletroativos de interesse. Esses detectores apresentam maior sensibilidade, sendo que a medição de correntes baixíssimas (e, portanto de baixas concentrações) está associada à virtual ausência de corrente capacitiva e menor efeito na contaminação da superfície do eletrodo de trabalho devido ao menor tempo de contato da amostra e dos produtos do processo redox com o eletrodo (comparando aos processos estacionários) [74]. Com isso uma maior estabilidade na resposta do detector pode ser alcançada, proporcionando alta reprodutibilidade nos resultados obtidos.

A amperometria também é muito utilizada em eletroanálise, principalmente em aplicações envolvendo titulações amperométricas, sensores amperométricos e medições em fluxo. Quando associada a métodos de análise com alta velocidade, tais como FIA e análise por injeção em batelada, esta técnica torna-se ainda mais atraente em eletroanalítica.

Alguns problemas em relação a esta técnica estão relacionados com processos adsorptivos de alguns analitos na superfície do eletrodo durante as análises. A

contaminação da superfície do eletrodo pode afetar a taxa de transferência de carga entre o eletrodo e o analito, como também pode produzir sinais eletroquímicos devido aos produtos adsorvidos, que interferem no sinal desejado.

Uma das desvantagens/limitações de técnicas amperométricas é a baixa seletividade. Se a análise é realizada em potenciais extremos (positivos ou negativos), promove-se a oxidação ou a redução de todas as espécies que são eletroativas em potenciais abaixo do valor estabelecido. Portanto, é aconselhável empregar valores mínimos de potencial, mesmo quando esses não estão no máximo de corrente de oxidação/redução do analito.

A detecção amperométrica acoplada a sistemas em fluxo também pode ser implementada no modo pulsado, onde pulsos de potenciais são aplicados ao eletrodo de trabalho sequencialmente e continuamente, em função do tempo. A AMP permite que a reposta do eletrodo apresente estabilidade por um período de tempo maior devido à periódica limpeza eletroquímica realizada durante o experimento, evitando ou diminuindo a contaminação da superfície do eletrodo [75]. Nesta técnica, utilizando determinados softwares, é possível a aquisição simultânea de sinais amperométricos (ou amperogramas) da alíquota da solução amostra (ou padrão) injetada em até 10 potenciais diferentes, ou seja, permite a determinação simultânea direta ou indireta de compostos eletroativos.

1.4 ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO (FIA, DO INGLÊS "FLOW INJECTION ANALYSIS")

Sistemas de análise em fluxo, particularmente os sistemas FIA têm sido utilizados principalmente para a mecanização/automação de análises químicas. Empregando estes sistemas é possível a implementação de todas as etapas envolvidas no processo de análise química (amostragem, separações, diluições, pré-concentrações, etc.).

Entretanto, embora pouco explorados neste sentido os sistemas também apresentam grande potencialidade para a determinação de parâmetros físico-químicos, tais como coeficiente de difusão, viscosidade, capacidade complexante de ligantes, parâmetros cinéticos e estequiometria de reações [76].

A técnica FIA foi divulgada pela primeira vez em 1975 por Ruzicka e Hansen. Estes autores propuseram um sistema onde era possível realizar análises químicas de maneira contínua, de forma que as medidas fossem realizadas de forma rápida e com menor manipulação de amostras. Nesta técnica, realiza-se a injeção de uma amostra líquida em um fluxo transportador contínuo, que é constituído por uma solução adequada. A amostra injetada forma uma zona que posteriormente atravessa uma célula em fluxo, onde um detector medirá continuamente o parâmetro físico desejado [77].

Resultados reprodutíveis e confiáveis podem ser obtidos em FIA, desde que as condições iniciais (vazão, volume injetado e dimensões do sistema) permaneçam inalteradas até o final do experimento.

O processo de análise por injeção em fluxo pode ser dividido em três partes: propulsão dos fluidos, injeção da amostra e detecção. Na Figura 3 é apresentado o esquema geral de um sistema FIA de linha única e o perfil dos sinais analíticos obtidos.

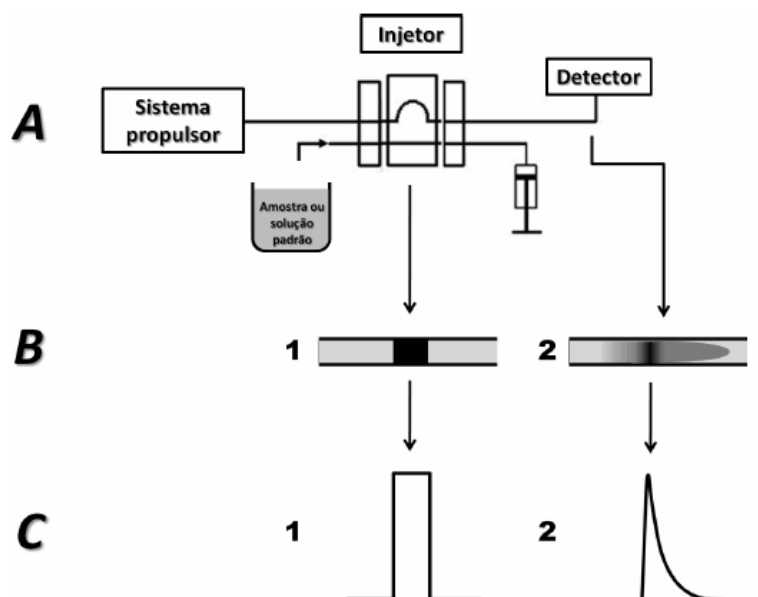


Figura 3. (A) Disposição dos componentes de um sistema FIA típico de linha única. (B) Esquema do gradiente de concentração das amostras (ou padrões) criado em distintos momentos no fluxo transportador com os (C) sinais analíticos obtidos.

Propulsores de bomba de pistão, propulsão a gás, fluxo gravitacional e bombas peristálticas são alguns sistemas possíveis para movimentar a solução transportadora em uma tubulação. Porém, a bomba peristáltica é o propulsor mais utilizado, devido a maior versatilidade relativa (vazão constante gerada, controle da vazão por sistemas computadorizados, controle da vazão em várias tubulações simultaneamente, etc.). No entanto, as vazões produzidas pelas bombas peristálticas são pulsadas, o que pode gerar ruídos nos detectores, principalmente nos eletroquímicos. A fim de diminuir

ruídos causados pela pulsação da bomba, comumente utiliza-se amortecedores de pulsos [78].

O injetor (Figura 3) introduz a amostra ou solução padrão no sistema em fluxo. Normalmente, nos sistemas FIA convencionais, volumes injetados são normalmente da ordem de 50 a 300 μL . O injetor manual do tipo proporcional construído em Piracicaba é usado em nosso grupo de trabalho [79].

O detector é responsável pela quantificação do analito conduzido pela solução transportadora. Os detectores eletroquímicos apresentam algumas vantagens em relação aos demais, como o baixo custo de implementação, alta sensibilidade e relativa simplicidade (podem ser construídos em laboratório comum). Dentre estes, os detectores amperométricos são bastante utilizados [80].

1.5 MICROBALANÇA ELETROQUÍMICA DE CRISTAL DE QUARTZO

Incluída no grupo das técnicas de monitoramento *in situ*, a MECQ tem demonstrado ser uma ferramenta poderosa no estudo de reações eletroquímicas que produzem modificações na interface eletrodo/eletrólito em uma magnitude suficiente para ser detectada pela técnica e se destacado como uma técnica de baixo custo relativo quando comparada a outras utilizadas em eletroquímica[81].

MECQ é utilizada em várias aplicações de baixo custo, como por exemplo, análise eletroquímica [81], caracterização de gases [82], miniaturização de sistemas de análise [83], etc. Ela consiste de um cristal de quartzo piezoelétrico com uma das faces

em contato com uma solução. A aplicação de um campo elétrico produz a oscilação do cristal que depende da massa sobre a sua superfície exposta, conforme a equação:

$$\Delta f = K \cdot \Delta m$$

Em que, Δf é a variação de frequência de ressonância do cristal em Hz, Δm é a variação de massa e K é uma constante que depende das características do cristal e da microestrutura.

Através deste equipamento é possível obter as seguintes informações [84]:

- Velocidade de corrosão de filmes;
- Adsorção, dessorção e decomposição;
- Variações de massa em processos redox;
- Constante de associação;
- Constantes cinéticas;
- Grau de cobertura em superfícies;
- Energia de adsorção.

O princípio de operação da MECQ está relacionado com o efeito piezoelétrico. Este efeito se deve à propriedade de certos materiais gerarem um campo elétrico quando são submetidos a deformações ou pressões externas. Quando a polaridade da perturbação mecânica varia, varia também a polaridade do campo elétrico gerado. Este fenômeno é denominado efeito piezoelétrico direto e os cristais que exibem este efeito são chamados cristais piezoelétricos [81].

Quando a perturbação elétrica tem as características adequadas (amplitude e frequência), as quais são determinadas pela geometria e propriedades do cristal, este oscilará mecanicamente em um modo ressonante [85].

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi o estudo da redução eletroquímica de sulfito em eletrodo modificado com hexacianoferrato de óxido de rutênio e aplicação do eletrodo como sensor amperométrico para a determinação de sulfito e determinação simultânea de sulfito e ácido ascórbico em amostras de sucos.

1.6.2 Objetivos específicos

A presente dissertação de mestrado apresenta três objetivos específicos:

1. Investigação do crescimento do filme de RuOHCF, o perfil voltamétrico e sua utilização prática na redução eletroquímica de sulfito em baixos potenciais.
2. Investigação do aparente efeito eletrocatalítico em termos do transporte de massa do sulfito à superfície do eletrodo modificado.
3. Investigação da determinação de sulfito usando eletrodo modificado em sistema FIA com detecção amperométrica.
4. Investigação da determinação simultânea de AA e sulfito no eletrodo modificado utilizando AMP.
5. Investigação do crescimento de massa do filme de RuOHCF em eletrodo de ouro por MECQ.

Procedimento

Experimental

2.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados nos experimentos são de pureza analítica (PA), e todas as soluções foram preparadas em água deionizada de alta pureza ($R \geq 18 \text{ M}\Omega\text{cm}$) obtida de um sistema de purificação de água Milli Q (Millipore, Bedford, MA, USA).

Sulfito de sódio, cloreto de rutênio (III) e cloreto de ferro (III) adquiridos da empresa Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA), cloreto de potássio e ferricianeto de potássio da empresa Proquímios (Rio de Janeiro, Brasil), ácido ascórbico, ácido cítrico, frutose, glicose, ácido clorídrico concentrado (37% m/v), ácido perclórico concentrado (70%, m/v), ácido acético (65%, m/v), acetato de sódio da empresa Vetec (Rio de Janeiro, Brasil), foram de grau analítico e usados sem qualquer purificação adicional.

As soluções estoque de sulfito foram preparadas imediatamente antes dos experimentos.

Amostras reais de sucos concentrados de diferentes sabores foram utilizadas neste trabalho, e a preparação destas, necessitou apenas de etapas de filtração e diluição em eletrólito suporte.

2.2 ELETRODEPOSIÇÃO DE FILME DE RuOHCF EM ELETRODO DE CV

O eletrodo de carbono vítreo foi previamente polido, utilizando uma suspensão de pó de alumina ($0,3 \mu\text{m}$) seguida de lavagem com água deionizada.

O filme de RuOHCF foi eletrodepositado sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo utilizando voltametria cíclica em uma faixa de potencial de -0,5 a 1,3 V

a 100 mV s^{-1} durante 60 ciclos. A solução de deposição continha 1 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e 1 mmol L^{-1} de RuCl_3 em $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ $\text{KCl}/0,25 \text{ mol L}^{-1}$ HCl utilizado como eletrólito suporte. Após a deposição, para estabilização do eletrodo modificado foram necessários 10 ciclos em eletrólito suporte na mesma faixa de potencial a 100 mV s^{-1} [20].

2.3 ELETRODEPOSIÇÃO DE FILME DE AP EM ELETRODO DE CV

Nesta forma de modificação, o eletrodo de CV também foi previamente polido com alumina para descontaminação. O AP é eletrodepositado na superfície de um eletrodo de CV não modificado.

A solução usada na eletrodeposição continha 4 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e 4 mmol L^{-1} de FeCl_3 em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ $\text{KCl}/0,1 \text{ mol L}^{-1}$ HCl usado como eletrólito suporte. O filme de AP foi depositado por 90 s usando potencial constante de 0,4 V sobre agitação. Após a deposição, o filme de AP foi ativado no mesmo eletrólito suporte durante 400 s (20 ciclos) em uma faixa de potencial de -0,05 V a 0,35 V com VV de 40 mV s^{-1} .

Este procedimento de formação do filme foi publicado em 1996 por Karyakin e colaboradores [86] onde ET modificados (biosensores) foram utilizados em análises empregando sistemas FIA.

2.4 INSTRUMENTAÇÃO

As medidas eletroquímicas foram realizadas empregando-se um potenciostato μ AUTOLAB tipo III (Eco Chemie - Metrohm; software GPES 4.9.007). Uma célula eletroquímica do tipo “wall-jet” com os três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar) posicionados foi utilizada nos estudos em sistema FIA. Um eletrodo de Ag/AgCl/KClsat. construído em laboratório [87] e um fio de platina foram usados como ER e EA, respectivamente. Como ET foi utilizado eletrodo de CV.

O crescimento potenciodinâmico do filme foi analisado por medidas de MECQ, a qual foi realizada utilizando um potenciostato/galvanostato da Autolab modelo PGSTAT 128 N equipado com módulo de MECQ, acoplado a um microcomputador contendo o *software* NOVA 1.7.

2.4.1 ELETRODO DE TRABALHO

O ET utilizado em todas as medidas (voltamétricas, amperométricas convencionais e de múltiplos pulsos) foi o de CV. Este apresenta diâmetro de 1,5 mm e foi adquirido da empresa *CH instrument* (Austin,TX,USA).

Após as análises, a limpeza deste eletrodo foi feita manualmente, com o uso de alumina (granulometria 0,3 μ m) e enxaguado exaustivamente com água deionizada.

Antes de qualquer análise eram realizados voltamogramas cíclicos em eletrólito suporte para condicionamento do eletrodo e possível descontaminação ainda existente no eletrodo. Em casos de presença de correntes de pico de possíveis

contaminantes, o eletrodo além de um novo polimento em alumina, era colocado em ultrassom na presença de álcool etílico durante 10 minutos.

2.4.2 ELETRODO DE REFERÊNCIA

O eletrodo de referência foi preparado pela eletrodeposição de AgCl sobre um fio de Ag (30,0mm x 1,0 mm de diâmetro) através da oxidação (0,3 V versus Ag/AgCl) do fio de prata em meio de HCl 0,1 mol L⁻¹ durante uma hora. Após a eletrodeposição, o fio de Ag/AgCl foi inserido em uma ponteira de micro pipeta de 100 µL, a qual foi obstruída na sua extremidade menor por meio de uma junção porosa (separador de bateria de automóveis) e preenchida com uma solução de KCl_(sat) 3 mol L⁻¹, constituindo dessa forma o referência [87].

2.4.3 ELETRODO AUXILIAR

Foi usado um fio de platina.

2.4.4 SISTEMA FIA

Na detecção amperométrica em fluxo foi empregado um sistema FIA de linha única montado em laboratório. O esquema e os componentes básicos deste sistema

são detalhados nas Figuras 4 e 5. As soluções foram transportadas por tubos de polietileno de 1 mm de diâmetro e 20 cm de comprimento (percurso analítico). O sistema de propulsão é baseado na pressão gerada por bomba peristáltica, a qual permite um controle preciso de vazão e foi utilizado um sistema de amortecedor de pulsos para impedir possíveis ruídos de variações de corrente no sistema. O volume da célula é de 8 mL e esta possui orifício inferior de aço inox para entrada da solução e outros três para entrada de eletrodo e um orifício de saída de solução como mostram as Figuras 4 e 5.

As injeções das soluções foram feitas por um injetor comutador manual (CENA-USP) [79]. A detecção foi realizada utilizando uma célula de vidro que permite a utilização dos 3 eletrodos (trabalho, referência e auxiliar) e ainda possui uma linha de saída de solução permitindo o fluxo contínuo do eletrólito, em que é facilmente adaptada no final da tubulação de um sistema FIA (célula do tipo “wall Jet”). O eletrodo de trabalho foi posicionado a uma distância aproximada de 2 mm da linha final da tubulação, evitando assim, causar dispersão do fluxo ou difusão sem toda amostra entrar em contato com o eletrodo.

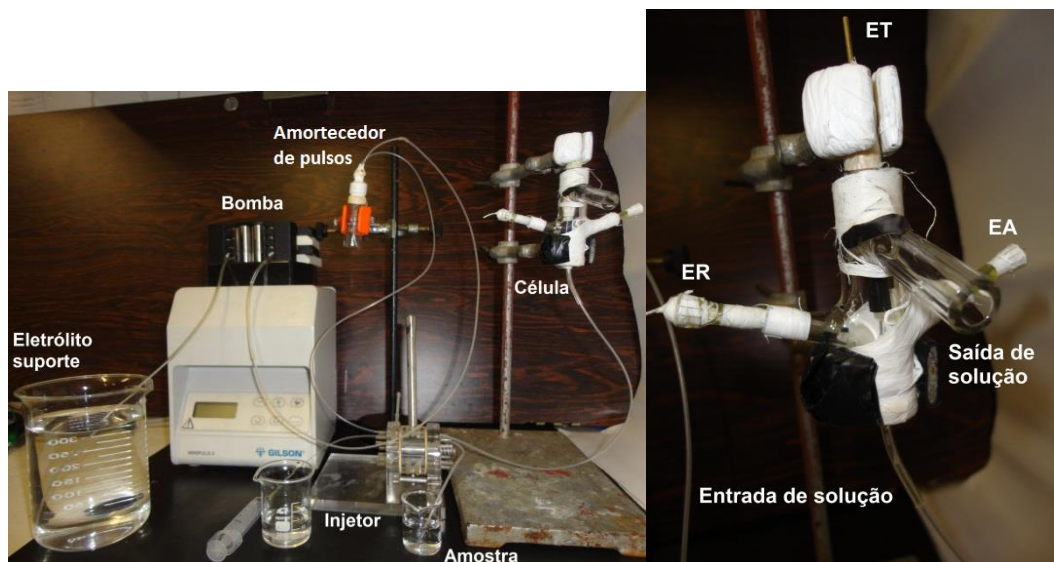


Figura 4. Esquema FIA utilizado nas análises e a foto da célula ampliada. ET: eletrodo de trabalho; ER: eletrodo de referência; EA: eletrodo auxiliar.

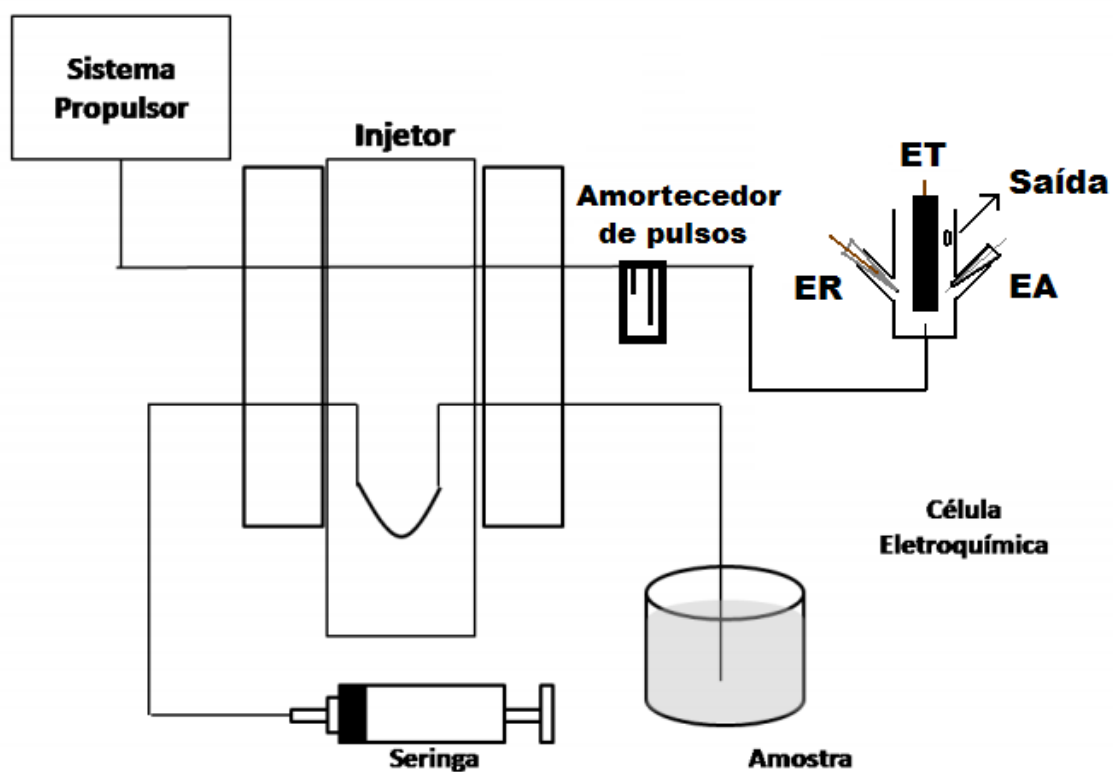


Figura 5. Esquema do sistema FIA usado. ET: eletrodo de trabalho; ER: eletrodo de referência; EA: eletrodo auxiliar.

2.4.5 MICROBALANÇA ELETROQUÍMICA DE CRISTAL DE QUARTZO

O crescimento potenciodinâmico do filme foi analisado por medidas de MECQ, as quais foram realizadas utilizando um potenciostato/galvanostato da Autolab modelo PGSTAT 128 N equipado com módulo de MECQ, acoplado a um microcomputador contendo o *software* NOVA 1.7. Foi utilizada uma célula de teflon com capacidade de 3 mL com três eletrodos sendo um fio de platina como contra eletrodo, um eletrodo de Ag/AgCl como referência e, um eletrodo de cristal de quartzo de corte AT, com frequência fundamental de 6 MHz e raio 0,35 cm, foi utilizado como trabalho. Ambos os lados dos cristais de quartzo são revestidos com películas finas de ouro sobre uma camada de adesão de titânio, mas apenas uma das faces (eletrodo de trabalho) foi exposta para a solução como mostra a Figura 6 [81, 84].

Antes e depois das análises o disco de ouro foi ativado com solução “piranha” ($3\text{H}_2\text{SO}_4:1\text{H}_2\text{O}_2$ V/V) e após a ativação o mesmo foi colocado na célula para deposição do filme de RuOHCF.

O crescimento do filme foi feito com o disco de ouro imerso na solução contendo 1 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 1 mmol L^{-1} de RuCl_3 em $0,5\text{ mol L}^{-1}$ NaNO_3 e $0,1\text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 usando voltametria cíclica e em uma faixa de potencial de $-0,3\text{ V}$ a $1,1\text{ V}$ durante 40 ciclos e VV de 20 mV s^{-1} .

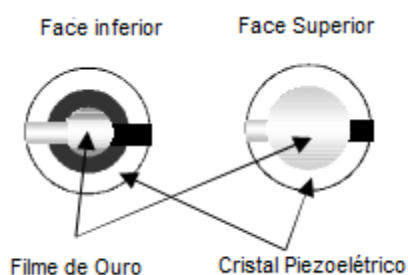


Figura 6. Desenho esquemático de um cristal de quartzo com depósitos metálicos em ambos os lados.

Resultados e Discussões

3.1 CRESCIMENTO ELETROQUÍMICO DO FILME DE RuOHCF

O crescimento do filme foi observado pela corrente crescente no eletrodo de CV, mostrando a formação do filme de RuOHCF, feita após dezenas de ciclos em ampla faixa de potencial (Fig. 7).

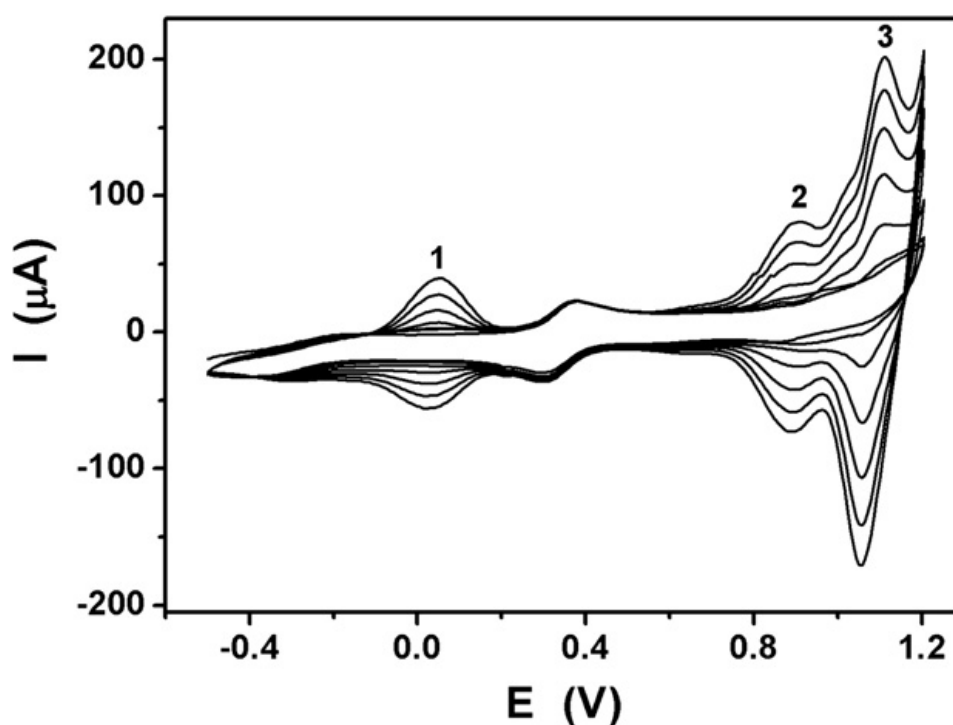


Figura 7. Voltamogramas cíclicos (1º, 10º, 20º, 30º, 40º, 50º e 60º ciclos) registrados durante o crescimento eletroquímico de filmes RuOHCF no eletrodo de carbono vítreo imerso em uma solução contendo 1 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆], 1 mmol L⁻¹ de RuCl₃, 0,5 mol L⁻¹ de KCl/0,25 mol L⁻¹ de HCl. Velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹. Os números 1, 2 e 3 indicam diferentes pares de picos.

Os voltamogramas obtidos (Fig. 7) revelaram três pares de picos, anódicos e catódicos, bem definidos em cerca de (1) 0,0, (2) 0,9 e (3) 1,1 V (vs Ag/AgCl em KCl

3 mol L⁻¹), que foram relacionados com os processos de transferência de elétrons que envolvem Ru(II)/Ru(III)/Ru(IV) e Fe(II)/Fe(III) [23] e podem ser atribuídos aos seguintes processos eletródicos:



O par de picos observado a 0,4 V ocorre devido à oxidação/redução de Fe^{III/II}(CN)₆^{-3/-4} em solução. A formação de óxido de rutênio durante o crescimento eletroquímico do filme de RuOHCF foi confirmado em outro trabalho, através de medidas em espectrômetro de energia dispersiva (permite análise de composição elementar) realizada antes e após da deposição do filme em eletrodo de CV [21].

Foi feita a eletrodeposição do filme durante 60, 120 e 180 ciclos para estudar se ocorre o aumento de corrente continuamente (Fig. 8) e a relação desse aumento com o sinal do analito.

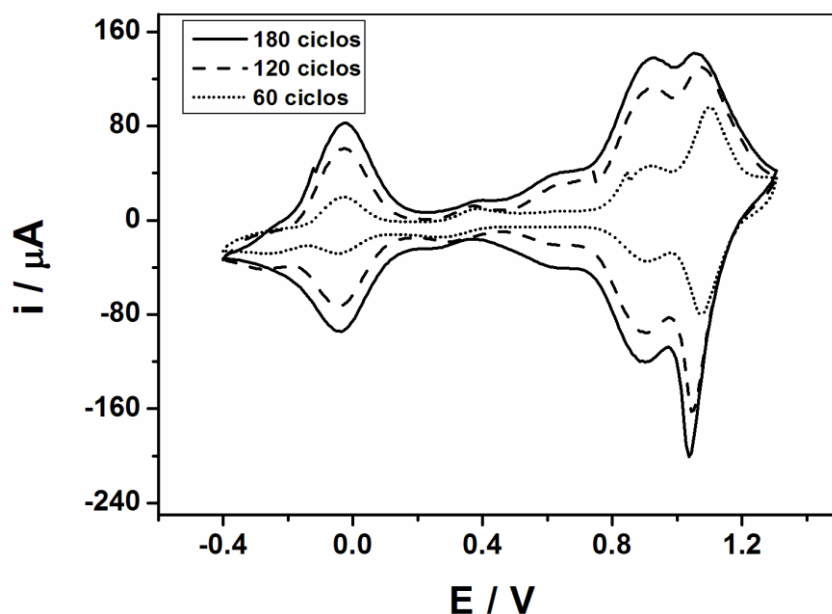


Figura 8. Voltamogramas cíclicos (60º, 120º e 180º ciclos) registrados durante o crescimento eletroquímico de filmes de RuOHCF no eletrodo de carbono vítreo imerso em uma solução contendo 1 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆], 1 mmol L⁻¹ de RuCl₃, 0,5 mol L⁻¹ de KCl/0,25 mol L⁻¹ de HCl. Velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.

Neste trabalho, a formação do filme, em todas as análises, ocorreu durante 60 ciclos, pois mesmo com o aumento de corrente provocado pelo aumento de ciclos, a resposta não foi satisfatória devido à maior espessura do filme, o que dificulta uma boa reprodutibilidade devido à grande variação da área ativa do eletrodo e também à menor permeabilidade. Foram realizados testes amperométricos (não mostrados) em eletrodos modificados com 120 e 180 ciclos e os valores de desvio padrão foram elevados para ambas as condições, indicando falta de repetitividade, além de queda de sinal amperométrico.

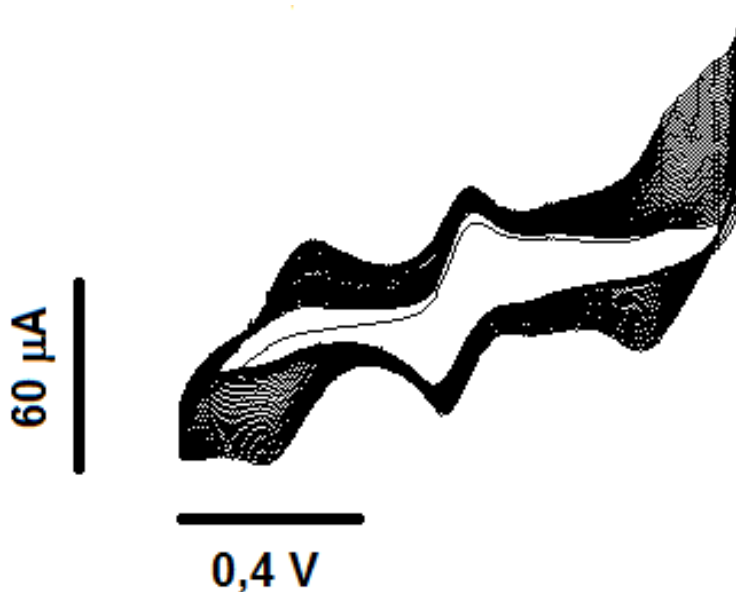
O filme de RuOHCF após a eletrodeposição foi ativado com 0,5 mol L⁻¹ de KCl/0,1 mol L⁻¹ de HCl durante 10 ciclos na mesma faixa de potencial da formação do

filme. Após essa ativação o eletrodo estava pronto para análise, sendo um filme bastante estável e possível de realizar análises durante o dia todo.

3.1.1 MICROBALANÇA ELETROQUÍMICA DE CRISTAL DE QUARTZO

O crescimento de massa do filme foi feito em uma faixa de potencial de -0,3 V até 1,1 V, em potenciais acima de 1,1 V o disco de ouro também oxida dificultando as análises. As medidas foram realizadas com uma VV de 20 mV s^{-1} , pois para valores de velocidade acima deste valor o equipamento apresenta dificuldades de leitura do crescimento de massa.

A Figura 9 mostra os resultados obtidos com a MECQ. O aumento de corrente no voltamograma cíclico é proporcional ao crescimento de massa na microbalança. Este equipamento apresenta os resultados em valores de frequência e através da fórmula $\Delta f = K \cdot \Delta m$ é possível converter para valor de massa. Esta Figura já está com os valores convertidos.



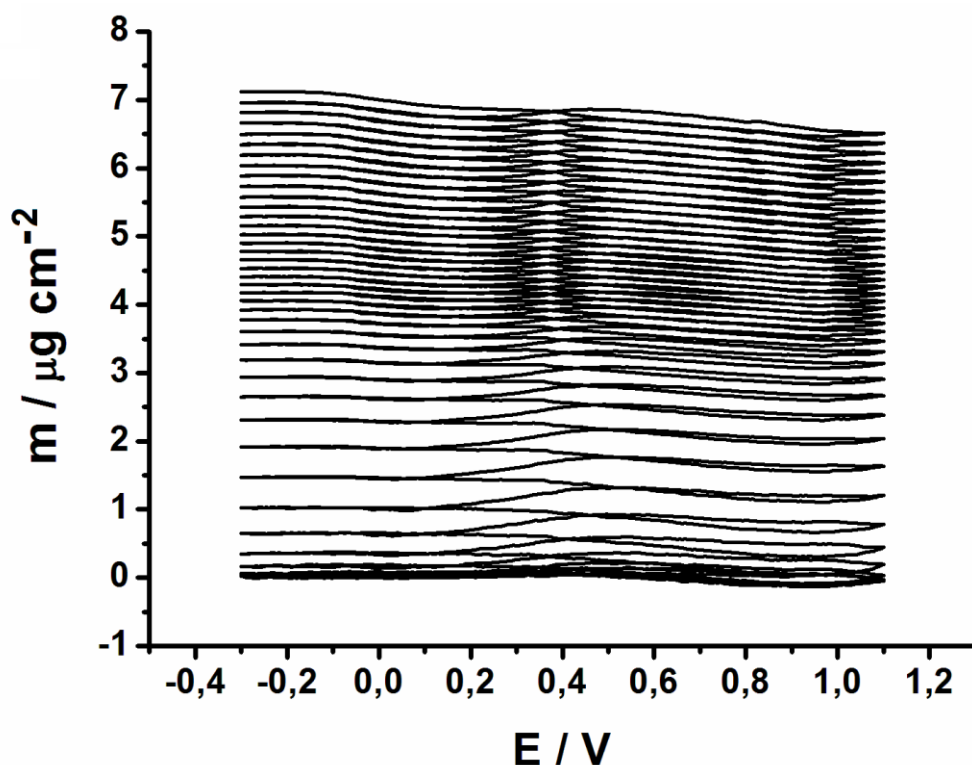


Figura 9. Voltamogramas cíclicos (parte superior) e voltamassogramas cíclicos (parte inferior) registrados durante o crescimento eletroquímico de filmes RuOHCF em superfície de ouro em uma solução contendo 1 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 1 mmol L^{-1} de RuCl_3 , $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 . Velocidade de varredura: 20 mV s^{-1} .

O crescimento de massa é mais intenso do 3º ao 12º ciclo. Provavelmente nos dois primeiros ciclos o efeito da dupla camada elétrica dificulta o aumento de massa e após o 12º ciclo a queda na intensidade se deve pela espessura razoável do filme já adquirida que limita esse processo. Na Figura 10 são mostrados os gráficos obtidos do crescimento de massa sobre o voltamograma cíclico para o 4º e 8º ciclos.

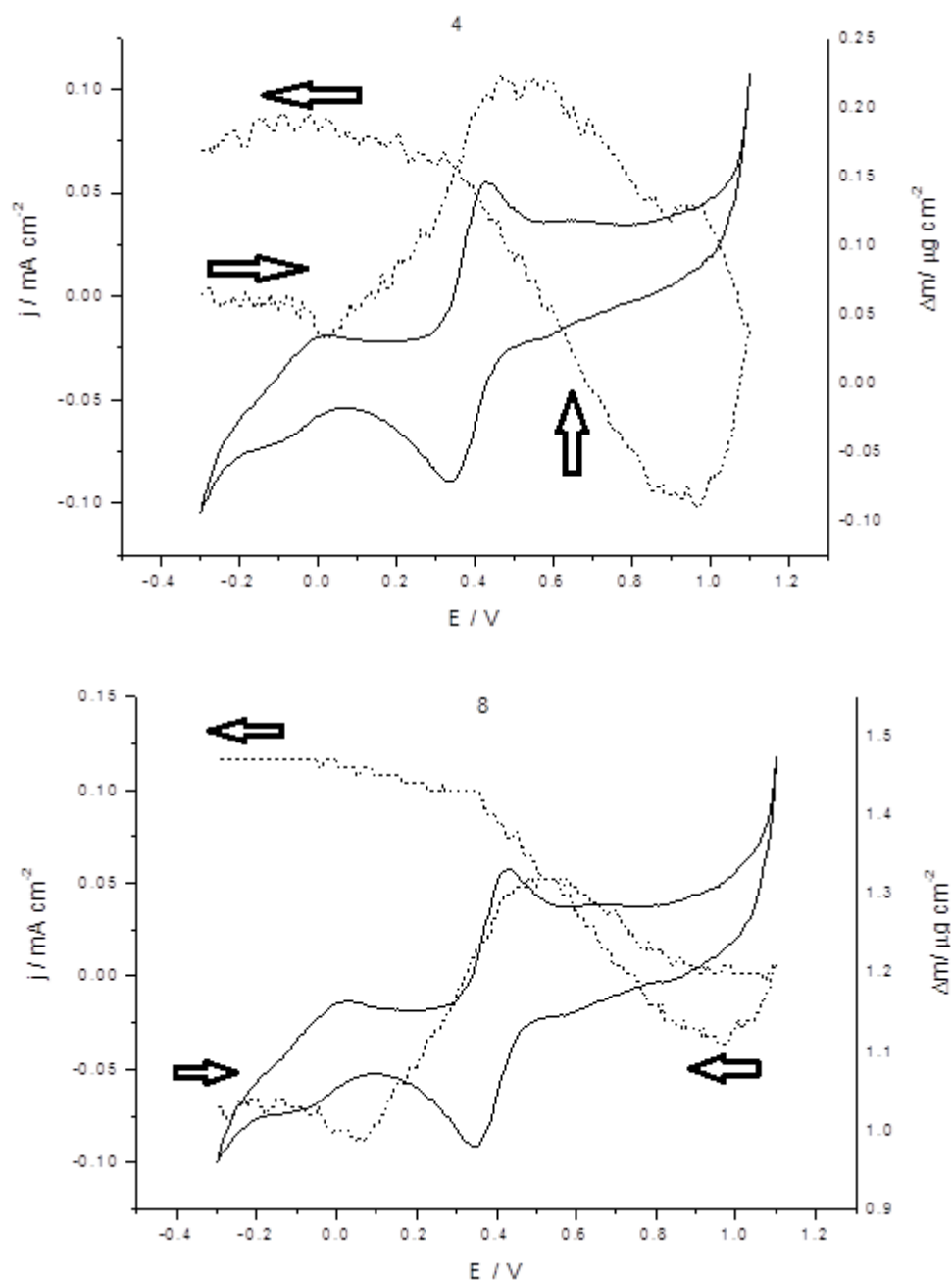


Figura 10. Voltamogramas cíclicos (—) e voltamassogramas cíclicos (----) em diferentes etapas da formação do filme de RuOHCF (4º e 8º ciclos extraídos da Figura 9).

Nos ciclos apresentados, observa-se ganho de massa na faixa de potencial entre 0,05 V e 0,5 V, e em seguida, uma perda de massa até 1,1 V. No sentido reverso, leve perda de massa ainda ocorre até 1,0 V, sendo que a partir deste potencial verifica-se um intenso aumento de massa até o potencial de 0,0 V. Os valores obtidos de ganhos e

perdas de massa foram relacionados com a lei de Faraday, mas não foi possível relacionar o valor de massa molar encontrado com qualquer composto que possivelmente se deposita no filme durante a eletrodeposição. Chen e colaboradores [23] estudaram o mecanismo de formação de filmes mistos de RuOHCF / RuHCF usando microbalança eletroquímica de cristal de quartzo. Neste estudo, foi observado o maior ganho de massa na varredura reversa entre a faixa de potencial de 1,1 e 0,2 V (vs. Ag/AgCl), tal como foi verificado neste estudo, em ambos os ciclos.

Estes resultados mostram a massa de filme depositada pela área do eletrodo durante 40 ciclos. Para valores acima de 60 ciclos a espessura do filme contribui para o aumento da resistência elétrica. Estes resultados mostram que valores pouco acima de $7 \mu\text{g cm}^{-2}$, massa aproximada de filme depositada no eletrodo após 40 ciclos, foi a condição mais satisfatória para as determinações de sulfito.

Chen e colaboradores mostraram que cerca de 280 ng/cm^2 de filme de óxido de rutênio/hexacianoferrato/sílico-molibdato foram depositados em eletrodo de ouro nos 11 primeiros ciclos, mas não associam essa massa depositada a alguma molécula [23].

3.2 ESTUDO DO COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE SULFITO EM ELETRODO MODIFICADO COM RuOHCF

A maioria dos trabalhos encontrados na literatura para determinação eletroquímica de sulfito realizou as análises em potenciais positivos, pela oxidação do mesmo. Neste trabalho, explorou-se a redução eletroquímica para determinação de

sulfito, em potenciais negativos. Este é o primeiro trabalho que realiza a determinação de sulfito pela redução em eletrodo modificado.

3.2.1 VOLTAMOGRAMA CÍCLICO NA PRESENÇA DE SULFITO

Foram realizadas adições de sulfito em batelada utilizando meio ácido, e primeiramente, foi feita uma comparação nas respostas obtidas com CV puro e CV modificado com RuOHCF. O eletrodo modificado com RuOHCF não é compatível com soluções alcalinas e mesmo em soluções com pH 4,0, devido à formação de óxido de rutênio e instabilidade do filme sob o eletrodo. Este efeito também foi observado com eletrodos modificados com AP, onde ocorre a formação de óxidos de ferro levando à remoção do filme em solução com pH maior que 7,0. Foram analisadas as correntes de picos e os deslocamentos de potencial. Em nenhuma análise houve a necessidade de remover O₂ da solução, pois foram realizados alguns estudos com e sem O₂ em solução e não houve mudança no sinal. Assim, imediatamente após a preparação das soluções, as medidas foram realizadas.

Um pico de redução bem definido foi observado em -0,50 V, utilizando um CV não modificado, com redução a partir de -0,3 V (fig. 11A). A redução eletroquímica de sulfito em meio ácido foi investigada previamente [88]. O processo ocorrido no eletrodo foi atribuído à redução de SO₂ e HSO₃⁻, que são as espécies predominantes no meio ácido, resultando na formação do SO₂^{•-}, ânion radical [88].

A voltametria cíclica de sulfito no eletrodo modificado com RuOHCF resultou em um pico largo a partir de -0,15 V e atingindo um valor máximo em -0,45 V (Figura

11B), apresentando uma diminuição no potencial da reação de redução de sulfito (em comparação com voltametria cíclica, fig. 11A). Além disso, a resposta da corrente no eletrodo RuOHCF modificado foi significativamente aumentada (3 vezes).

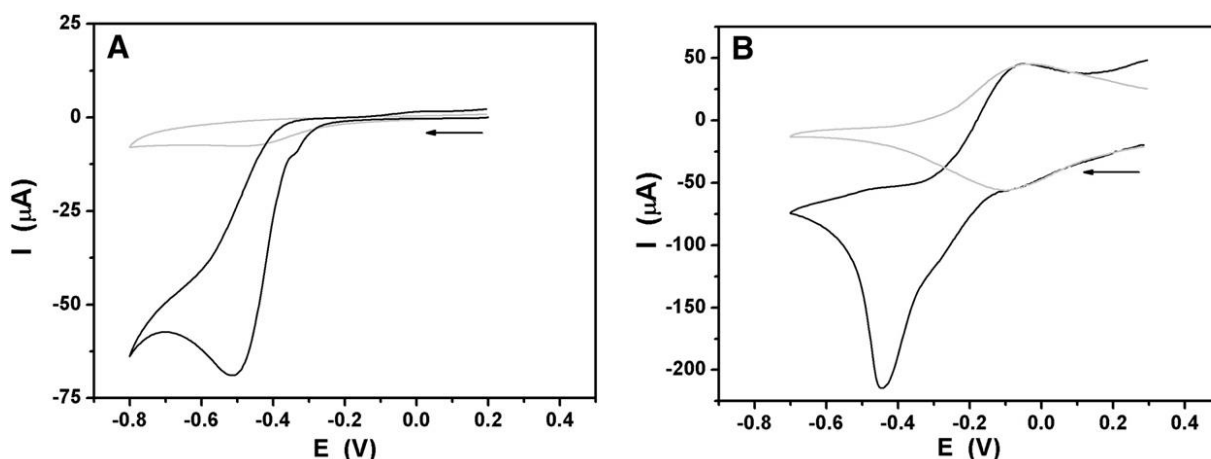


Figura 11. Voltamogramas cíclicos para 2,5 mmol L⁻¹ de sulfito em eletrodo de CV não modificado (A) e modificado com RuOHCF (B). Eletrólito: 0,5 mol L⁻¹ KCl/0,25 mol L⁻¹ HCl. Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹. Linhas cinzas representam a resposta do branco.

Após esses testes, foi feita uma comparação entre o eletrodo CV modificado com filme de AP e do CV modificado com RuOHCF, em uma faixa de potencial menor, para analisar a sensibilidade e o potencial frente a cada um deles, como mostra a Figura 12. O voltamograma na Fig. 12A mostra que o filme de AP é pouco sensível a sulfito, apresentando um pico em -0,4 V com intensidade de 100 μA (similar ao eletrodo não modificado), ou seja, com uma corrente de redução menor que no voltamograma do eletrodo modificado com RuOHCF. Além disso, observa-se um pico de oxidação em 0,05 V confirmando estudo anterior sobre a atividade eletrocatalítica do AP frente à oxidação de sulfito. Contudo, o filme de AP foi rapidamente lixiviado,

sendo bastante instável para análises consecutivas, problema este que não ocorreu com o RuOHCF, por ser bastante estável e mais robusto.

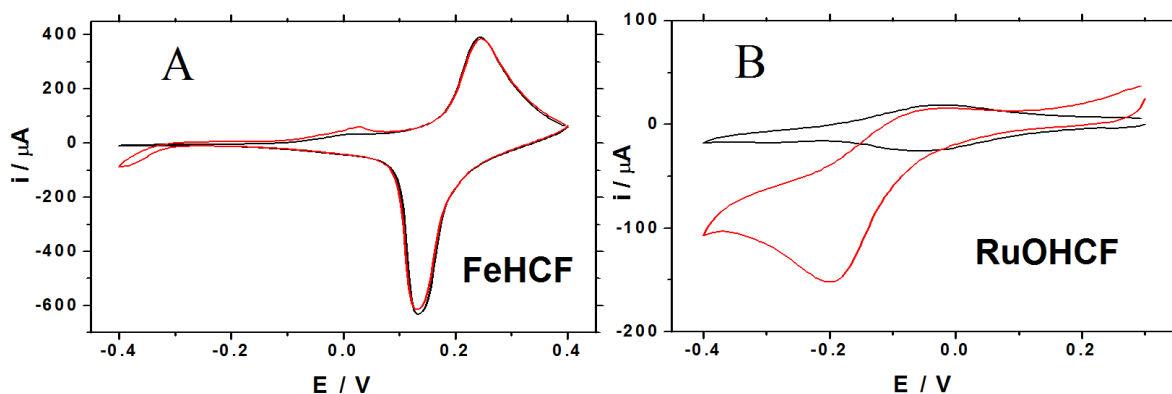


Figura 12. Voltamogramas cíclicos (2º ciclo) para a $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de sulfito em eletrodo modificado com AP (A) e eletrodo modificado com RuOHCF de CV (B). Eletrólito: $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}/0,25 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . Linhas cinzas representam a resposta de base.

Nota-se um deslocamento do potencial de redução de sulfito em relação à Fig. 11B, que na próxima seção será discutido. Nesta dissertação o eletrodo modificado com filme de RuOHCF foi utilizado em meio ácido como eletrodo de trabalho, devido a alta sensibilidade e seletividade para sulfito em potenciais negativos.

3.2.2 ESTUDO DO MECANISMO DE TRANSPORTE DE MASSA DE SULFITO NO ELETRODO MODIFICADO COM RuOHCF

Foram realizados voltamogramas para diferentes VV para estudar o mecanismo envolvido no processo. Foram realizados voltamogramas cíclicos (5 ciclos) em VV de 10 até 60 mV s^{-1} usando eletrodo modificado com RuOHCF na presença de sulfito 2,5 mmol L^{-1} em 0,5 mol L^{-1} KCl/0,25 mol L^{-1} HCl. A Figura 13 apresenta os 1º (A) e 2º (B) ciclos para cada velocidade de varredura.

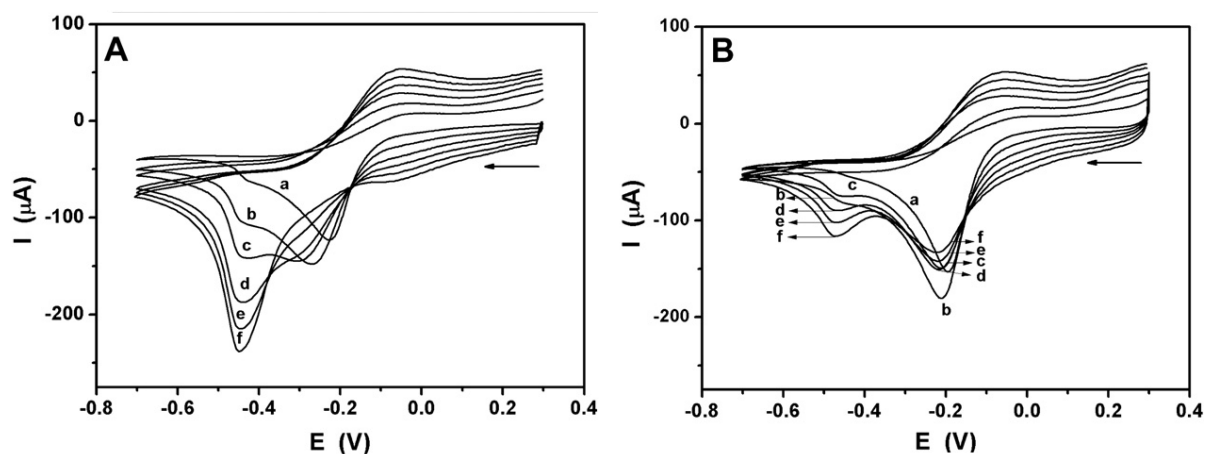


Figura 13. Voltamogramas cíclicos para a 2,5 mmol L^{-1} de sulfito no eletrodo modificado com RuOHCF em (a-f) 10-60 mV s^{-1} . (A) e (B) correspondem ao primeiro e segundo ciclos, respectivamente. Eletrólito: 0,5 mol L^{-1} KCl/0,25 mol L^{-1} HCl.

O perfil voltamétrico do primeiro ciclo de redução de sulfito mudou claramente quando a VV foi aumentada, com correntes de picos catódicos bem maiores. Dois picos de redução (em cerca de -0,20 e -0,45 V) são notados a baixas VV, e quando a mesma é aumentada apenas um pico largo é observado (a -0,45 V). O segundo ciclo

(fig. 13B), revela a presença do pico em -0,2 V em todas as VV. Este perfil foi também observado para os ciclos seguintes (terceiro e quarto ciclos não mostrados).

Estas medidas voltamétricas mostram que o transporte de massa no eletrodo modificado com RuOHCF depende da VV selecionada. Não só eletrocátalise, mas também mudanças no processo difusional devem ser consideradas.

Estes resultados sugerem uma contribuição significativa de difusão finita nas camadas do filme. Em baixas VV há tempo suficiente para a difusão de espécies de sulfito através dos poros do filme de RuOHCF (veja o pico a -0,2 V a 10 mV s^{-1} na fig. 13A). Em VV relativamente elevadas, não há tempo suficiente para ocorrer o processo difusional no interior do filme e o processo difusional semi-infinito no seio da solução predomina. O segundo ciclo em todas VV indica a redução das espécies de sulfito “aprisionados” dentro das camadas RuOHCF (o processo de difusão em camada fina, ou seja, no filme, prevalece).

Considerando que as espécies de sulfito presas dentro da película porosa do filme são reduzidas, a corrente decresce rapidamente devido ao rápido esgotamento das espécies eletroativas. Além disso, a corrente mais elevada observada no eletrodo modificado (em comparação com o eletrodo não modificado) pode estar relacionada com a alta área superficial dentro dos poros do filme em que as espécies de sulfito têm acesso.

O gráfico logarítmico da corrente de pico (em -0,45 V) vs. logarítmico da velocidade de varredura (1º ciclo) apresenta coeficiente angular de 0,82. Este valor indica que o processo não é governado apenas por difusão (valores próximos de 0,5) e nem apenas por processos adsorptivos de espécies eletroativas (valores próximos de 1). Sugere-se que o deslocamento de potencial se deve à variação de transporte de massa

do material eletroativo ao eletrodo. Em baixas velocidades, há tempo suficiente para que espécies de sulfito penetrem nos poros do filme de RuOHCF e a redução das espécies no interior do filme ocorre em potenciais menos negativos, conforme demonstrado por Streeter e colaboradores [89].

Este resultado comprova que o transporte de massa é misto (regime de difusão em camada fina e semi-infinito) [89-91]. Além disso, a entrada de sulfito no filme foi confirmada por voltamogramas registrados em solução em branco depois de medidas eletroquímicas na presença de sulfito. Um pico de redução de sulfito (semelhante ao observado na fig. 11B) foi notado (voltamograma cíclico não apresentado), que também é um indicativo do aprisionamento de sulfito no filme RuOHCF.

Esta discussão é relatada por trabalhos mais recentes, que demonstraram que não só eletrocatalise (devido às propriedades eletrônicas e estruturais do modificador químico), mas também alterações no processo difusional devem ser consideradas a fim de interpretar a cinética de eletrodos modificados com várias camadas [89-91]. Por conseguinte, a diminuição no potencial de redução para sulfito em eletrodo modificado com RuOHCF deve ser interpretado por efeitos difusionais no interior da película e não por um processo eletrocatalítico real. Portanto, as medidas voltamétricas demonstraram que o regime de transporte de massa depende da VV selecionada. Outra evidência da inexistência de eletrocatalise é o fato de que a redução eletroquímica de sulfito na superfície modificada com AP (análogo ao RuOHCF) não apresentou similar comportamento (diminuição do potencial de redução).

3.2.3 ESTUDO DO PH E VOLTAMOGRAMA HIDRODINÂMICO

A Figura 14 apresenta os voltamogramas hidrodinâmicos obtidos em soluções com agitação (traçando os valores de correntes de pico versus o potencial aplicado correspondente) para 1 mmol L^{-1} sulfito, em CV não modificado e modificado com RuOHCF.

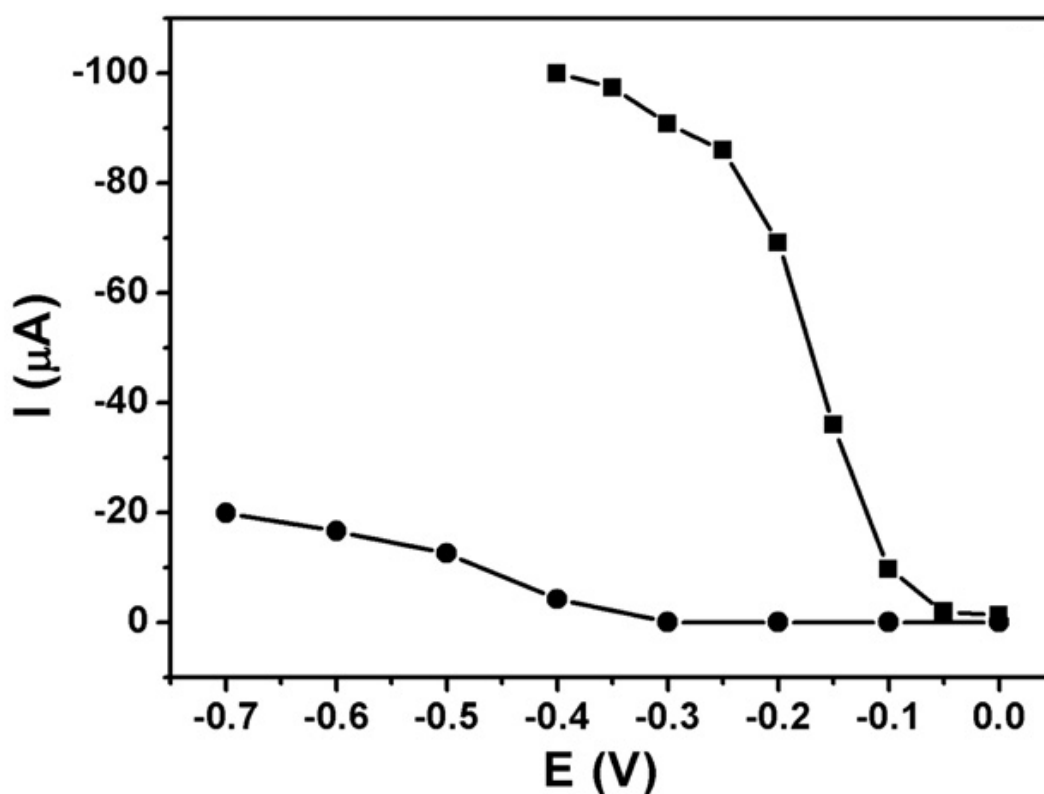


Figura 14. Voltamograma de 1 mmol L^{-1} de sulfito em eletrodo de CV não modificado (●) e modificado com RuOHCF (■). Eletrólito: $0,5 \text{ mol L}^{-1}\text{KCl}/0,25 \text{ mol L}^{-1}\text{HCl}$.

Pelo gráfico é possível observar que a corrente aumenta significativamente no eletrodo modificado até aproximadamente -0,25 V. Neste trabalho os testes realizados

para determinação de sulfito foram feitos em $-0,2$ V, visto que neste potencial a chance de detectar possíveis interferentes é menor e apresenta corrente catódica satisfatória.

Para as análises de sulfito o eletrólito usado foi o ácido perclórico, pois foi verificada uma menor quantidade de ruídos com este usando as técnicas amperométricas e uma reprodutibilidade dos picos de corrente mais satisfatória. A resposta de corrente foi semelhante tanto para $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}/0,25 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$ (Figura 12B) como para $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 (Figura 15). O efeito da concentração de ácido no eletrólito foi também investigado, como mostrado na Figura 15.

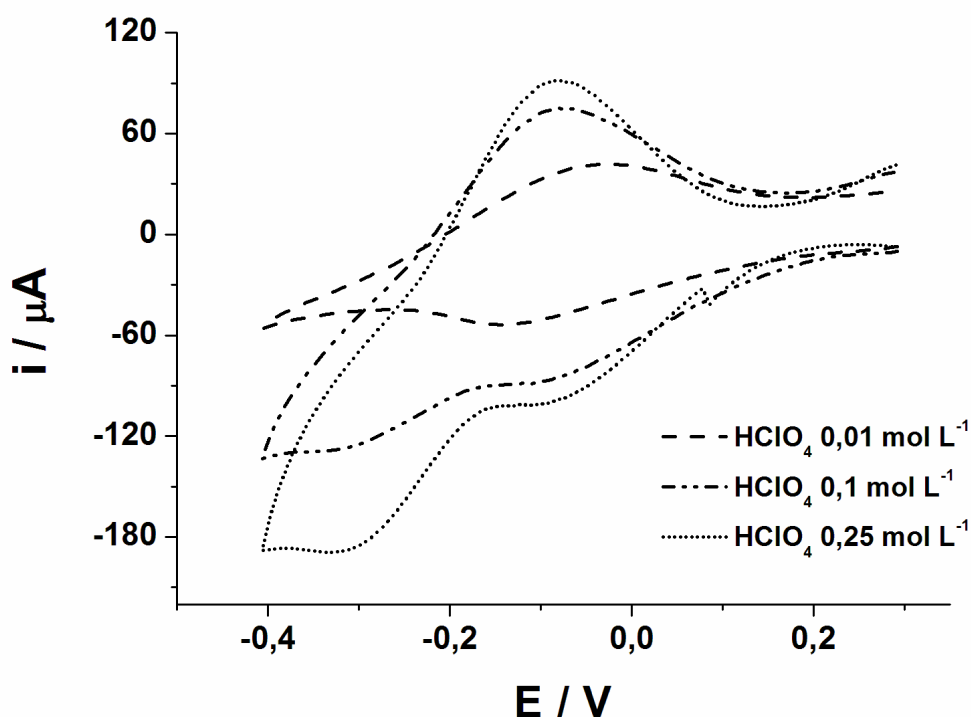


Figura 15. Voltamogramas cíclicos para adições de 1 mmol L^{-1} de sulfito em diferentes concentrações de HClO_4 : (---) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, (-.-.-) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, (....) $0,25 \text{ mol L}^{-1}$.

O estudo da concentração do eletrólito foi realizada adicionando 1 mmol L⁻¹ de sulfito em diferentes concentrações do ácido perclórico. Em eletrólitos mais concentrados é verificada uma corrente catódica mais intensa (Fig. 16).

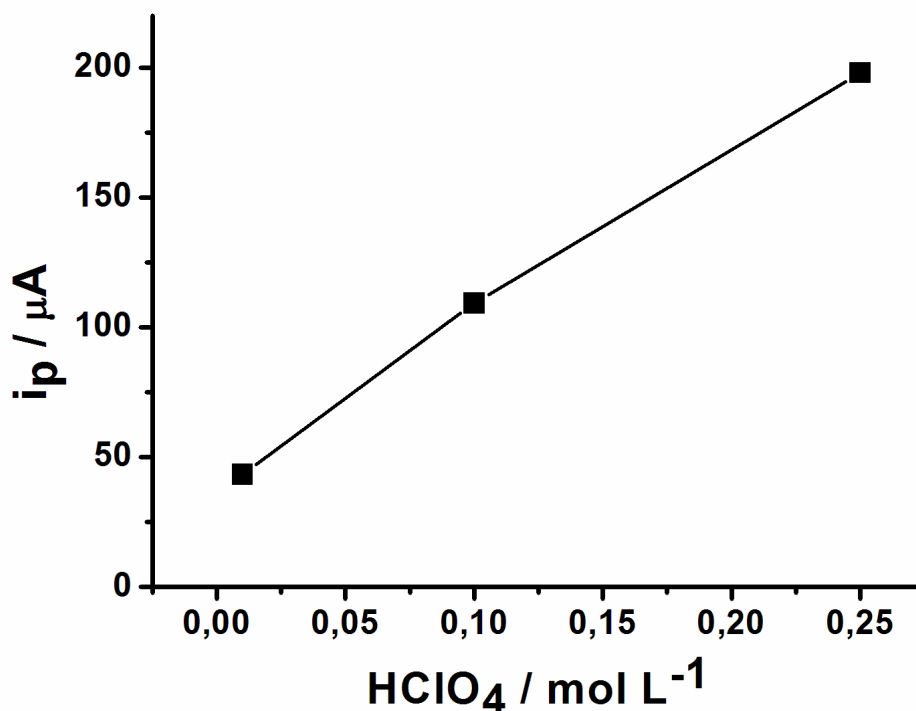
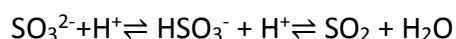


Figura 16. Gráfico de corrente de pico (●) versus a concentração de $HClO_4$ obtidos de voltamogramas cíclicos de 1 mmol L⁻¹ de sulfito.

A resposta da corrente diminuiu a metade quando a concentração de ácido foi alterada de 0,25 para 0,1 mol L⁻¹ e reduziu-se mais para concentrações inferiores a 0,1 mol L⁻¹, conforme os resultados obtidos em CV puro, sendo atribuído ao equilíbrio [53]:



O aumento na concentração de ácido conduz o equilíbrio para o lado direito da reação, com consequente aumento do material eletroativo que sofre o processo de redução eletroquímica [53]. Porém em meio bastante ácido, como em 0,25 mol L⁻¹, o

sulfito degrada mais rapidamente dificultando as análises e impossibilitando uma boa reprodutibilidade. Assim, o eletrólito escolhido em todas as análises foi HClO_4 0,1 mol L^{-1} , visto que nesta concentração a corrente é satisfatória e a degradação do sulfito ocorre mais lentamente.

3.2.4 DETERMINAÇÃO AMPEROMÉTRICA DE SULFITO

Inicialmente, os estudos foram realizados em potencial de -0,2 V e o eletrólito utilizado em todas as análises foi HClO_4 0,1 mol L^{-1} . O eletrodo modificado com RuOHCF foi selecionado para a detecção amperométrica de sulfito a potencial constante.

A Figura 17A apresenta o amperograma para adições sucessivas de sulfito em uma célula eletroquímica sob agitação constante. A Figura 17A mostra a respectiva curva analítica. Como já citado anteriormente, a maioria dos trabalhos na literatura que determinam sulfito eletroquimicamente utilizam potenciais positivos, ou seja, exploram a oxidação. Nestes potenciais a oxidação de possíveis interferentes como ácido ascórbico, citrato, frutose e glicose pode ocorrer e dificultam as análises. Dessa forma, uma curva de calibração foi feita com adições de sulfito em concentração constante e logo após estes interferentes foram adicionados (Figura 17B). Estas moléculas, possíveis interferentes, são encontradas em amostras de suco.

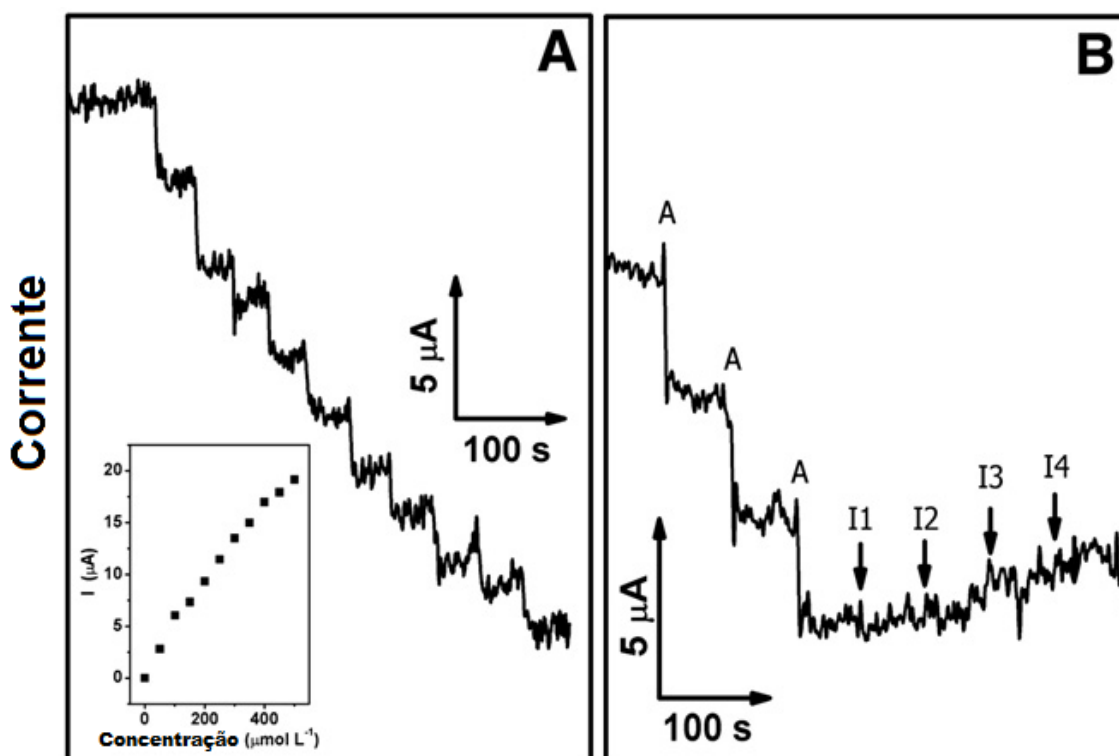


Figura 17. (A) Amperograma obtido para adições sucessivas de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito de sódio (Na_2SO_3) com a solução sob agitação constante. Eletrólito suporte HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $E = -0,2 \text{ V}$. (B) Curva de calibração para adições de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Na_2SO_3 e adições de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico (I1), citrato (I2), frutose (I3) e glicose (I4), respectivamente. Equação da reta: $i = 0,76442 + 0,04147 \cdot [\text{Na}_2\text{SO}_3]$.

As figuras de mérito obtidas para a curva foram: sensibilidade de $41,5 \text{ nA L} / \mu\text{mol}$ ($R = 0,996$), e LD estimado de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$

O amperograma da Figura 17 demonstra a potencialidade do eletrodo de CV modificado com filme de RuOHCF para o desenvolvimento de um método amperométrico para a determinação de sulfito através de sua redução eletroquímica.

Um problema que pode ser observado está relacionado com o ruído excessivo presente que pode ser causado pela agitação que é usada para realizar o transporte de massa nestes experimentos.

3.3 SISTEMA FIA

O sistema FIA é uma boa alternativa para diminuir o ruído por ser um sistema de passagem contínua de solução e aumentar a sensibilidade para o analito, devido a configuração “wall jet”, em que maior quantidade de amostra entram em contato direto com a superfície do eletrodo. Além disso, obtém-se aumento da frequência analítica.

3.3.1 OTIMIZAÇÕES

Para realizar os testes no sistema FIA é necessário realizar as otimizações de vazão do eletrólito e do volume injetado da amostra. A Figura 18 mostra esse estudo.

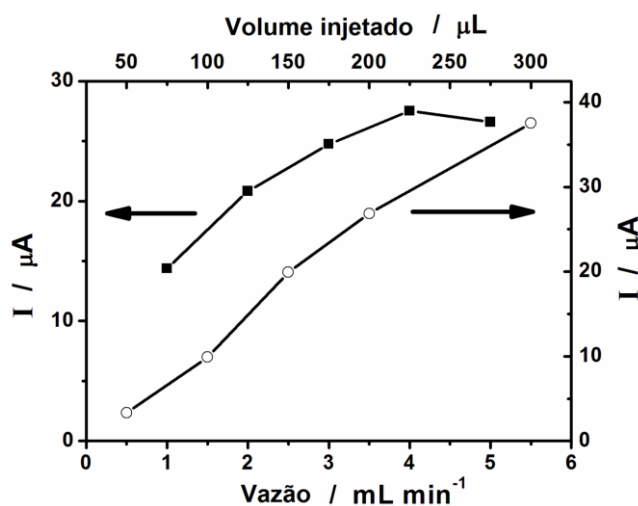


Figura 18. Estudo da vazão (■) em 1, 2, 3 e 4 mL min⁻¹ e do volume injetado (○) em 50, 100, 150, 200 e 300 μL pelos seus respectivos valores de corrente. Eletrólito suporte: HClO₄ 0,1 mol L⁻¹. No estudo da vazão, o volume foi mantido constante em 200 μL. No estudo do volume, a vazão foi fixada em 4 mL min⁻¹.

O valor otimizado de vazão foi de 4 mL min^{-1} e volume injetado de $300 \text{ }\mu\text{L}$, visto que a corrente aumenta até esses valores devido a uma maior quantidade de amostra que entra em contato com o eletrodo de trabalho em um menor espaço de tempo. Para valores de vazão acima de 4 mL min^{-1} a corrente não aumenta pois a quantidade de amostra que chega até o eletrodo é grande para um curto espaço de tempo.

3.3.2 ANÁLISE DE AMOSTRAS DE SUCO CONCENTRADO

Determinações de sulfito foram realizadas em 3 amostras de suco diferentes, nas quais sulfito é usado como conservante, de acordo com informações no rótulo (não é apresentada a concentração). Após as otimizações realizadas no sistema FIA, a técnica de amperometria de potencial constante foi utilizada para as análises.

Foram injetados padrões de sulfito nas concentrações de 100, 75, 50 e $25 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ e amostras de suco previamente filtradas e diluídas 10 vezes (fig. 19). A vantagem deste método é que não é necessário nenhum tratamento da amostra, apenas a filtragem e um simples processo de diluição da amostra em HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os testes foram realizados logo após a preparação das amostras, para evitar erros nas medidas pela degradação de sulfito.

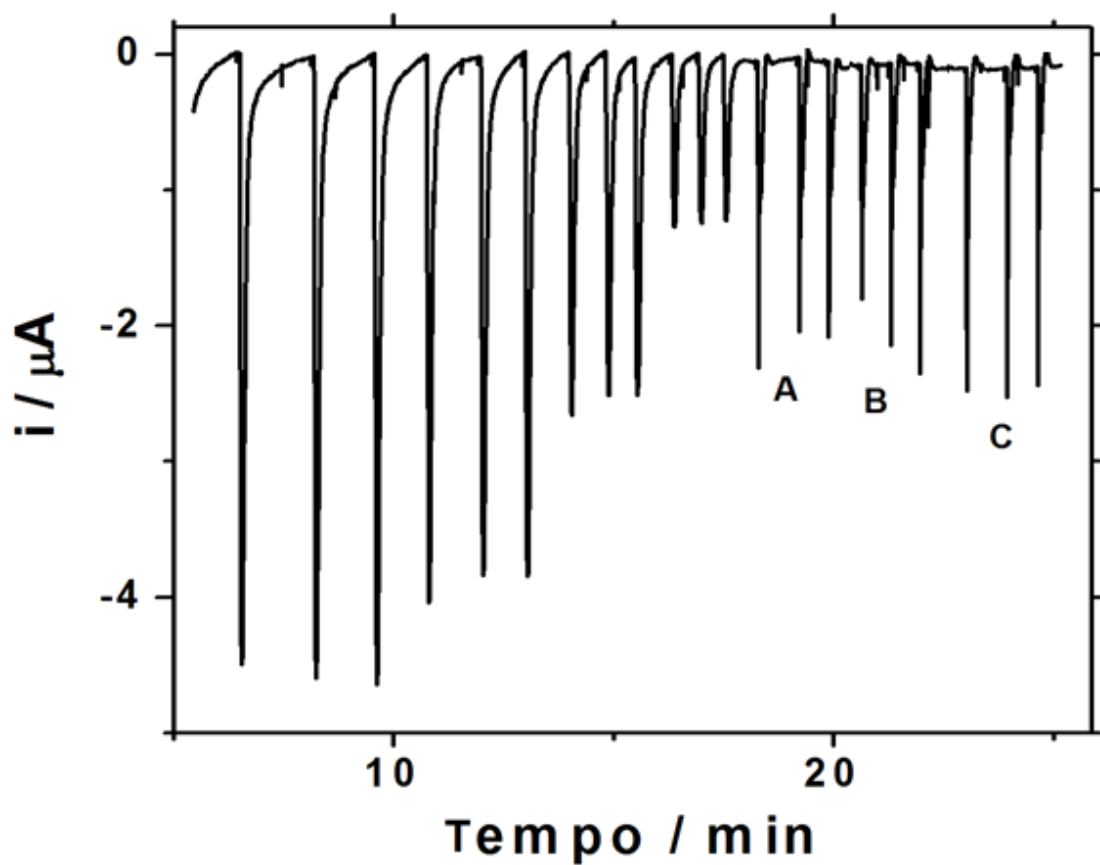


Figura 19. Amperograma para adições de soluções padrão de 100, 75, 50, 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito e adições de amostras de sucos (A, B e C) diluídas em 10 vezes.

Para verificar se o método possui interferência de matriz da amostra, foram feitas análises usando o método de adição de padrão e os resultados foram comparados pelo método usando a curva analítica.

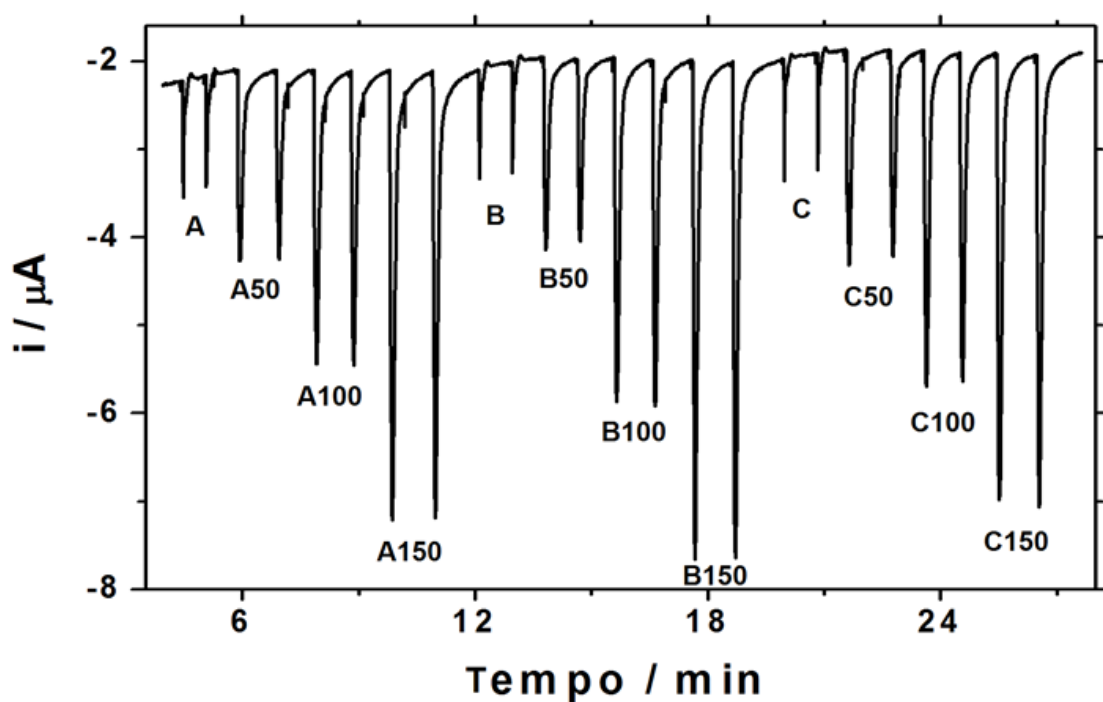


Figura 20. Amperograma para adições de amostras de suco (10 vezes diluídas) não dopadas e dopadas com 50, 100 e 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito, respectivamente.

Pela extrapolação da curva de corrente pela concentração é possível encontrar o valor inicial da concentração de sulfito no suco pelo método de adição de padrão. Os valores são comparados na Tabela 1. O teste estatístico t foi aplicado para avaliar os métodos utilizados.

Tabela 1. Valores de concentração de sulfito em 3 amostras de suco concentrado obtidos pelos métodos amperométricos empregando curva analítica e adição de padrão.

Amostras de suco	Curva analítica / mmol L^{-1}	Adições de padrão / mmol L^{-1}	Teste- t
A	$0,41 \pm 0,03$	$0,44 \pm 0,01$	-1,6432
B	$0,40 \pm 0,06$	$0,341 \pm 0,004$	1,6994
C	$0,483 \pm 0,009$	$0,51 \pm 0,03$	-1,6590

O teste estatístico t (para 95% de confiança, $t_{\text{tabelado}} = 2,78$), para as diferentes amostras, mostrou boa concordância entre os resultados para as concentrações de sulfito nas amostras de suco obtidas pela curva analítica e pelo método de adição de padrão, em todos os casos, o $t_{\text{calculado}}$ foi menor que o t_{tabelado} , que estatisticamente indica concordância.

Os resultados para determinação de sulfito em amostras de suco são satisfatórios, visto que não apresenta compostos interferentes que poderiam apresentar erro no resultado final e os valores encontrados para a curva analítica e para o método de adição de padrão foram próximos, mostrando boa concordância pelo método utilizado.

As amostras também foram analisadas pelo método oficial, que consiste na titulação iodométrica, porém os valores encontrados foram sempre menores que o esperado, provavelmente por reagir apenas com o sulfito livre na amostra, ou seja, o sulfito complexado ou agregado à matriz não era oxidado pelo iodo.

3.4 DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE SULFITO E ÁCIDO ASCÓRBICO

Primeiramente foi realizado um estudo hidrodinâmico para o sulfito e para o ascórbico com a finalidade de encontrar um potencial em que apenas o AA oxida, ou seja, um potencial em que o sulfito não oxide para não interferir no sinal do AA, e assim seja possível realizar a determinação simultânea.

A Figura 19 apresenta os potenciais estudados e os sinais de corrente para os analitos. É possível perceber que o AA começa a oxidar em 0,3 V antes do sulfito. O

sulfito começa a apresentar resposta a partir de 0,6 V. Desta forma o potencial de 0,4 V para o AA foi selecionado, pois quanto mais próximo de zero menor a chance de encontrar possíveis interferentes, sendo que neste potencial o sulfito não oxida.

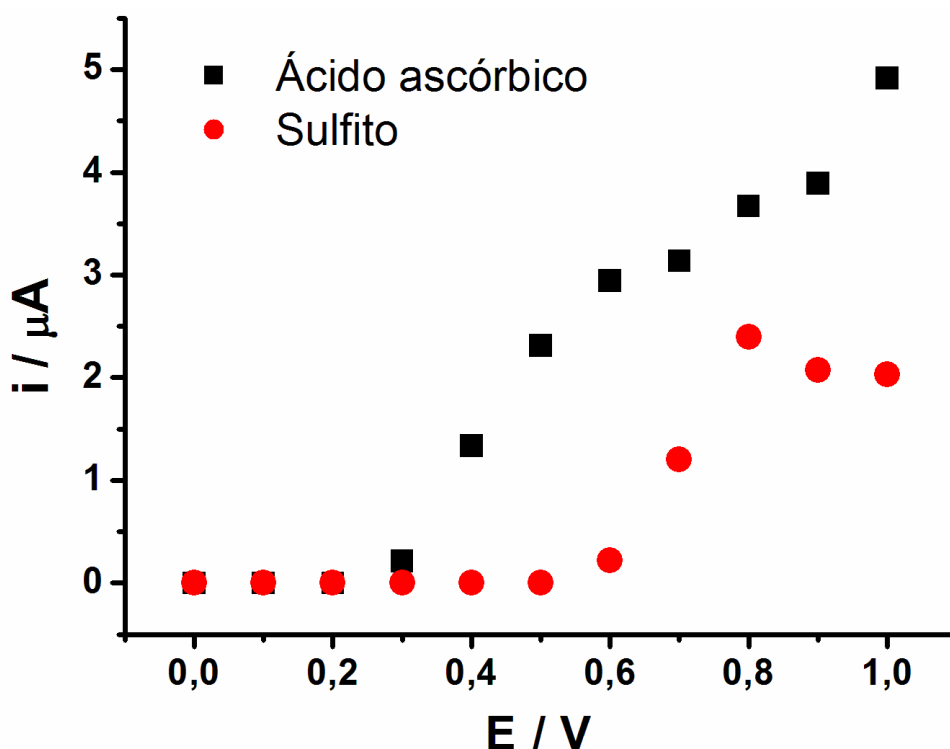


Figura 21. Voltamogramas hidrodinâmicos para a oxidação de ácido ascórbico e sulfito ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cada analito).

Para a redução do sulfito já foi estudado anteriormente o melhor potencial para redução e escolhido em $-0,2 \text{ V}$. Para essa determinação simultânea foi necessário utilizar a técnica AMP para aplicar mais de um potencial na forma de pulsos. Foram então selecionados $0,4 \text{ V}$ (oxidação do AA) durante 300 ms , $0,0 \text{ V}$ (potencial de limpeza) durante 60 ms , e $-0,2 \text{ V}$ (redução do sulfito) durante 60 ms . Os tempos de cada pulso foram otimizados (não apresentados). Em tempos menores que 300 ms em $0,4 \text{ V}$ o sinal de corrente para o AA é bem maior mas não apresenta boa reprodutibilidade. Essa perda na sensibilidade ao aumentar esse tempo de pulso não é

um problema para futuras análises simultâneas em amostras de suco, visto que a quantidade de AA no suco é bem maior que a de sulfito.

Sendo assim, o teste de seletividade foi realizado para as amostras (fig 22). Primeiramente foram injetadas em triplicata adições de $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito, $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA e por fim $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ da mistura dos dois analitos, empregando os parâmetros do sistema FIA previamente otimizados.

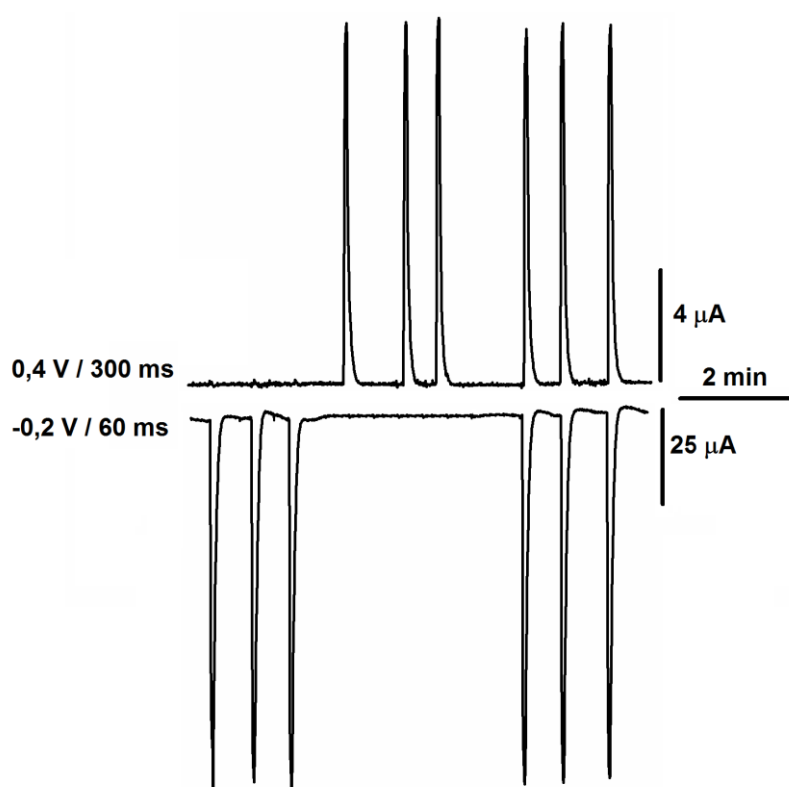


Figura 22. Amperogramas de múltiplos pulsos com injeções de soluções em triplicata contendo $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de sulfito, AA e da mistura respectivamente. O amperograma de 0,0 V / 60 ms não foi apresentado.

Como o sinal da mistura não variou em relação a cada um dos componentes separados, pode-se afirmar que o sinal de um analito não interfere no sinal do outro,

sendo desta forma, possível a determinação simultânea de ambos os analitos aplicando esta sequência de pulsos de potencial. Os valores de volume injetado e vazão foram os mesmos utilizados para o sulfito anteriormente. O sinal de corrente mais intenso para o sulfito é explicado pelo menor tempo de pulso aplicado do que para o AA.

Logo após o teste de seletividade, a repetibilidade do sistema foi testada com 10 adições sucessivas de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ da mistura de sulfito e AA e a frequência analítica foi avaliada em aproximadamente 120 injeções por hora.

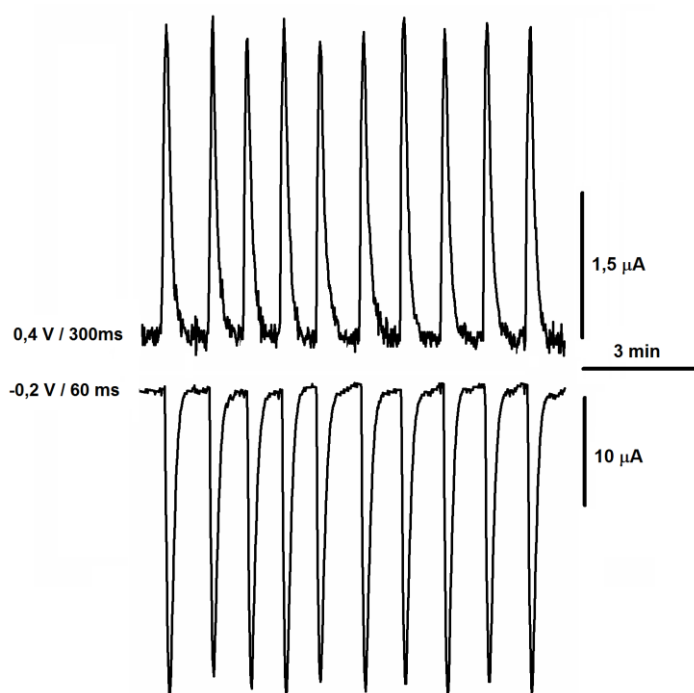


Figura 23. Amperogramas de múltiplos pulsos após 10 injeções consecutivas de $300 \mu\text{L}$ de uma solução contendo simultaneamente AA e sulfito ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ambos).

Os valores obtidos de desvio padrão relativo para o AA e para o sulfito foram 2,9% e 2,7%, respectivamente.

Por conseguinte, a curva analítica foi construída com injeções sucessivas de 50, 100, 200, 300, 400 e 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ da mistura dos analitos (fig. 24). Os LD e limite de quantificação (LQ) para o sulfito foram, respectivamente, 2,9 e 9,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e para o AA foram 7,6 e 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A razão sinal/ruído com valor igual a 3 é geralmente considerada aceitável para estimar o LD e foi usada neste trabalho [92-95].

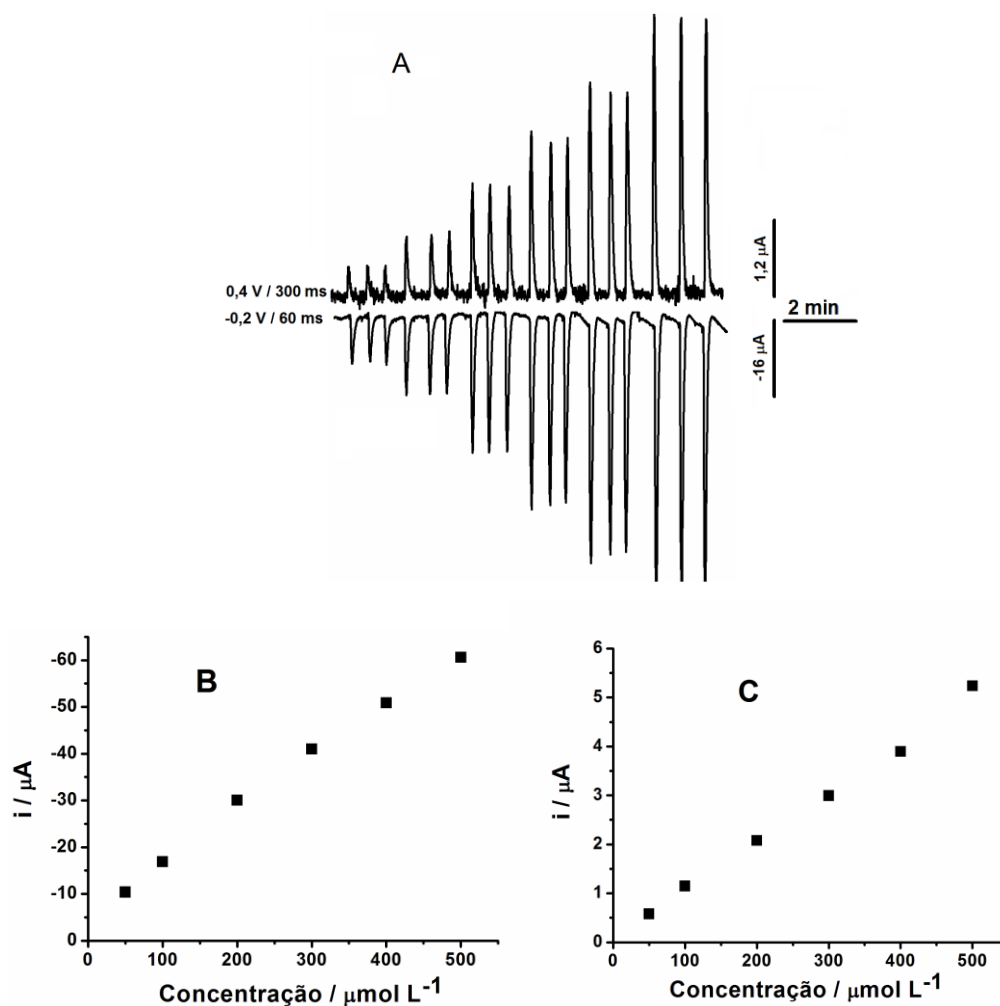


Figura 24. (A) Resposta amperométrica em fluxo com injeções em triplicata de soluções contendo 50, 100, 200, 300, 400 e 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ da mistura de AA e sulfito e suas respectivas curvas analíticas para (B) sulfito e (C) AA. Equação da reta para AA e sulfito, respectivamente: $i = 0,07588 + 0,00999 \cdot [\text{AA}]$ e $i = 6,13405 + 0,11162 \cdot [\text{Na}_2\text{SO}_3]$, ambos com $R = 0,998$.

Conclusões e perspectivas

A formação de filmes de RuOHCF foi evidenciada por voltametria cíclica e MECQ, com resultados semelhantes ao da literatura [23]. O eletrodo modificado com RuOHCF apresentou uma resposta frente à adição de sulfito em potenciais menos negativos do que observado em eletrodo limpo. No eletrodo modificado com AP, verificou-se um sinal de redução apenas em potencial mais negativo ($E = -0,35 \text{ V}$) e de menor intensidade.

Medidas voltamétricas demonstraram que o regime de transporte de massa depende da VV selecionada. Em baixas VV há tempo suficiente para a difusão de espécies de sulfito através dos poros do filme de RuOHCF. Em VV relativamente elevadas, não há tempo suficiente para ocorrer o processo difusional no interior do filme e o processo difusional semi-infinito no seio da solução predomina. Além disso, após o primeiro ciclo, moléculas de sulfito ficam aprisionadas no interior do filme de RuOHCF e o processo de difusão no filme prevalece. Desta forma, os resultados estão de acordo com trabalhos recentes, que demonstraram que não só eletrocatalise, mas também mudanças no processo difusional devem ser consideradas a fim de interpretar a cinética de eletrodos modificados com várias camadas.

O eletrodo modificado proporcionou uma detecção amperométrica altamente seletiva e sensível de sulfito de $50\text{-}500 \mu\text{mol L}^{-1}$ (em $-0,2 \text{ V}$), livre de interferentes de constituintes alimentares comuns, tais como o ascorbato, citrato, frutose e glucose (promissor para determinações de rotina de sulfito em alimentos e bebidas). As figuras de mérito obtidas para o método amperométrico: sensibilidade de $41,5 \text{ nA L} / \mu\text{mol}$ ($R = 0,996$), e LD de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$.

A inserção do eletrodo modificado no sistema FIA com detecção amperométrica forneceu resultados com menor ruído do que nos experimentos em

batelada. As condições otimizadas de vazão e de volume injetado foram de 4 mL min^{-1} e $300 \text{ }\mu\text{L}$, respectivamente. A técnica de amperometria de múltiplos pulsos permitiu a determinação simultânea de sulfito e AA e os resultados demonstraram que um sinal não interfere no outro, ou seja, o método apresenta ótima seletividade e boa repetibilidade com baixos desvios de padrão e frequência analítica satisfatória (120 injeções por hora). Os LD e LQ para o sulfito foram, respectivamente, 2,9 e $9,6 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ e para o AA 7,6 e $25 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$.

Algumas perspectivas para a continuação deste trabalho são:

- A determinação simultânea de sulfito e AA em amostras reais de sucos concentrados;
- Investigação da área ativa deste eletrodo e um melhor entendimento da superfície usando a técnica de microscopia eletroquímica;
- Investigar outras aplicações de interesse da indústria alimentícia com o filme de RuOHCF.

Referências

Bibliográficas

1. P. R. Moses, L. Wier, e R. W. Murray, *Chemically modified tin oxide electrode*. Analytical Chemistry, 1975. **47**(12): p. 1882-1886.
2. R. F. Lane e A. T. Hubbard, *Electrochemistry of chemisorbed molecules .1. reactants connected to electrodes through olefinic substituents*. Journal of Physical Chemistry, 1973. **77**(11): p. 1401-1410.
3. M .F. B. Souza, *Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem*. Química Nova, 1997. **20**(2): p. 191-195.
4. A. C. Pereira, A. S. Santos, e L. T. Kubota, *Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas*. Química Nova, 2002. **25**(6): p. 1012-1021.
5. I. L. Mattos e L. Gorton, *Filmes de metal-hexacianoferrato: uma ferramenta em química analítica*. Química Nova, 2001. **24**(2): p. 200-205.
6. R. A. B. Silva, R. H. O. Montes, E. M. Richter, R. A. A. Munoz, *Determinação de peróxido de hidrogênio em antisséptico bucal usando um microdispositivo contendo partículas de Azul da Prússia*. Química Nova. **34**(6): p. 987-991.
7. A. A. Karyakin e E. E. Karyakina, *Prussian Blue-based 'artificial peroxidase' as a transducer for hydrogen peroxide detection. Application to biosensors*. Sensors and Actuators B-Chemical, 1999. **57**(1-3): p. 268-273.
8. R. A. B. Silva, R. H. O. Montes, E. M. Richter, R. A. A. Munoz, *Rapid and selective determination of hydrogen peroxide residues in milk by batch injection analysis with amperometric detection*. Food Chemistry. **133**(1): p. 200-204.
9. I. L. Mattos, K. A. Shiraishi, A. D. Braz, J. R. Fernandes, *Peróxido de hidrogênio: importância e determinação*. Química Nova, 2003. **26**(3): p. 373-380.
10. I. G. Vidal, I. L. T. Dias, G. O. Neto, M. R. V. Lanza, M. D. P. T. Sotomayor, *Carbamide Peroxide Determination in Tooth Whitening Using a Reagentless HRP-Biosensor*. Analytical Letters, 2009. **42**(2): p. 352-365.

11. F. Ricci e G. Palleschi, *Sensor and biosensor preparation, optimisation and applications of Prussian Blue modified electrodes*. Biosensors & Bioelectronics, 2005. **21**(3): p. 389-407.
12. L. C. Clark e C. Lyons, *Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1962. **102**(1): p. 29-45.
13. G. G. Guilbault e G. J. Lubrano, *An enzyme electrode for the amperometric determination of glucose*. Analytica Chimica Acta, 1973. **64**(3): p. 439-455.
14. D. J. Harrison, R. F. B. Turner e H. P. Baltes, *Characterization of perfluorosulfonic acid polymer coated enzyme electrodes and a miniaturized integrated potentiostat for glucose analysis in whole-blood*. Analytical Chemistry, 1988. **60**(19): p. 2002-2007.
15. S. J. Updike e G.P. Hicks, *Enzyme electrode*. Nature, 1967. **214**(5092): p. 986-988.
16. A. Chaubey e B. D. Malhotra, *Mediated biosensors*. Biosensors & Bioelectronics, 2002. **17**(6-7): p. 441-456.
17. J. D. Newman, S. F. White, I. E. Tothill e A. P. F. Turner, *Catalytic materials, membranes, and fabrication technologies suitable for the construction of amperometric biosensors*. Analytical Chemistry, 1995. **67**(24): p. 4594-4599.
18. J. M. Zen, A. S. Kumar e D. M. Tsai, *Recent updates of chemically modified electrodes in analytical chemistry*. Electroanalysis, 2003. **15**(13): p. 1073-1087.
19. L. G. Shaidarova, S. A. Ziganshina e G. K. Budnikov, *Electrocatalytic oxidation and flow-injection determination of sulfur-containing amino acids at graphite electrodes modified with a ruthenium hexacyanoferrate film*. Journal of Analytical Chemistry, 2003. **58**(12): p. 1144-1150.
20. T. Paixao e M. Bertotti, *FIA determination of ascorbic acid at low potential using a ruthenium oxide hexacyanoferrate modified carbon electrode*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2008. **46**(3): p. 528-533.

21. T. Paixao e M. Bertotti, *Electrocatalytic oxidation of deoxyguanosine on a glassy carbon electrode modified with a ruthenium oxide hexacyanoferrate film*. *Electrochimica Acta*, 2007. **52**(5): p. 2181-2188.
22. T. Paixao e M. Bertotti, *Ruthenium oxide hexacyanoferrate modified electrode for hydrogen peroxide detection*. *Electroanalysis*, 2008. **20**(15): p. 1671-1677.
23. S. M. Chen, M. F. Lu, e K.C. Lin, *Preparation and characterization of ruthenium oxide/hexacyanoferrate and ruthenium hexacyanoferrate mixed films and their electrocatalytic properties*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2005. **579**(1): p. 163-174.
24. T. Garcia, E. Lorenzo e F. Pariente, *Electrochemical sensor for sulfite determination based on iron hexacyanoferrate film modified electrodes*. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2005. **106**(2): p. 803-809.
25. J. M. A. Araújo, *Química de Alimentos: teoria e prática*. . Editora UFV: São Paulo, 2004(3. ed).
26. R. C. P. Tancredi e Y. da Silva, *Fraude por sulfito de sódio (SO₂) em carnes bovinas comercializadas na cidade do Rio de Janeiro*. *R.J. Higiene Alimentar*, 2007. **21**(149): p. 62-66.
27. A. Isaac e J. Davis, *Electroanalytical methods for the determination of sulfite in food and beverages*. *Trac Trends in Analytical Chemistry*, 2006. **25**(6): p. 589-598.
28. Disponível em:
http://www.asma-bronquica.com.br/medical/tipos_de_asma_asma_sulfitos.html.
Acesso em: 03/2013.
29. *Environmental health service. Food additives: sulphur dioxide in foods*. Perth: Health Department of Western Australia. 1996. 6p.

30. I. H. A. Cintra, N. B. P. Ogawa, M. R. Souza, F. M. Diniz e M. Ogawa, *Decomposition of trimethylamine oxide related to the use of sulfites in shrimp*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 1999. **19**: p. 314-317.
31. C. W. Lecos, *An order of fries – hold the sulfites*. *Dairy Food Sanit*, 1988. **8**(10): p. 528-531.
32. E. Quattrucci e V. Masci, *Nutritional aspects of food preservatives*. *Food Additives and Contaminants*, 1992. **9**(5): p. 515-525.
33. D. M. Sullivan e R. L. Smith, *Determination of sulfite in foods by ion chromatography*. *Food Technology*, 1985. **39**(7): p. 45.
34. S. L. Taylor, *Why sulfite alternatives*. *Food Technology*, 1993. **47**(10): p. 14.
35. S. L. Taylor e R. K. Bush, *Sulfites as food ingredients*. *Food Technology*, 1986. **40**(6): p. 47-52.
36. S. L. B. Taylor e R. K. Bush, *Sulfites as food ingredients*. *Food Technology*, 1987. **39**(11): p. 532-536.
37. R. M. D. Machado, M. C. F. Toledo, C. A. S. Almeida e E. Vicente, *Analytical determination of sulphites in fruit juices available on the brazilian market*. *Brazilian Journal of Food Technology* 2008. **11**(3): p. 226-233.
38. D. M. S. Wong, *Química de los alimentos: mecanismos y teoria*. Ed. Zaragoza: Acribia. 1989.
39. Disponível em:
http://www.quimidrol.com.br/site/admin/user/anexos/quimico_a0a135fc85d9562aa131e929fd382055.pdf. Acesso em: 03/2013.
40. Brasil. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. *Diário Oficial da União*; Brasília, DF, 28 de outubro de 1997.

41. A. Safavi e A. A. Ensafi, *Kinetic spectrophotometric determination of traces of sulfite*. *Analytica Chimica Acta*, 1991. **252**(1-2): p. 121-126.
42. L. P. S. Cruz e V. P. Campos, *Métodos de amostragem e análise para compostos reduzidos de enxofre atmosférico*. *Química Nova*, 2008. **31**(5): p. 1180-1189.
43. V. N. Kiryushov e L. I. Skvortsova, *Optimal conditions for masking of sulfite anions with formaldehyde in iodometric titration of photographic fixing solutions*. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 2005. **78**(4): p. 552-555.
44. D. Lowinsohn e M. Bertotti, *Determination of sulphite in wine by coulometric titration*. *Food Additives and Contaminants*, 2001. **18**(9): p. 773-777.
45. U. Edberg, *Enzymatic determination of sulfite in foods - nmkl interlaboratory study*. *Journal of Aoac International*, 1993. **76**(1): p. 53-58.
46. C. M. N. Azevedo, K. Araki, H. E. Toma e L. Angnes, *Determination of sulfur dioxide in wines by gas-diffusion flow injection analysis utilizing modified electrodes with electrostatically assembled films of tetraruthenated porphyrin*. *Analytica Chimica Acta*, 1999. **387**(2): p. 175-180.
47. T. J. Cardwell, R. W. Catrall e G. N. Chen, *Determination of free sulfur-dioxide in red wine by alternating-current voltammetry*. *Analyst*, 1991. **116**(3): p. 253-256.
48. L. G. Decnop-Weever e J. C. Kraak, *Determination of sulphite in wines by gas-diffusion flow injection analysis utilizing spectrophotometric pH-detection*. *Analytica Chimica Acta*, 1997. **337**(2): p. 125-131.
49. M. Granados, S. MasPOCH, e M. Blanco, *Determination of sulphur dioxide by flow injection analysis with amperometric detection*. *Analytica Chimica Acta*, 1986. **179**(0): p. 445-451.
50. M. T. Gomes, T. A. Rocha, A. C. Duarte e J. P. Oliveira, *Determination of sulfur dioxide in wine using a quartz crystal microbalance*. *Analytical Chemistry*, 1996. **68**(9): p. 1561-1564.

51. A. A. Ensafi e H. Karimi-Maleh, *Ferrocenedicarboxylic Acid Modified Multiwall Carbon Nanotubes Paste Electrode for Voltammetric Determination of Sulfite*. International Journal of Electrochemical Science. **5**(3): p. 392-406.
52. E. R. Sartori, H. H. Takeda, e O. Fatibello-Filho, *Glassy Carbon Electrode Modified with Functionalized Carbon Nanotubes Within a Poly(allylamine hydrochloride) Film for the Voltammetric Determination of Sulfite in Foods*. Electroanalysis. **23**(11): p. 2526-2533.
53. A. Isaac, A. J. Wain, R. G. Compton, C. Livingstone e J. Davis, *A novel electroreduction strategy for the determination of sulfite*. Analyst, 2005. **130**(10): p. 1343-1344.
54. S .J. Chambers, N. Lambert, G. W. Plumb e G. Williamson, *Evaluation of the antioxidant properties of a methanolic extract from "Juice Plus Fruit" and "Juice Plus Vegetable" (dietary supplements)*. Food Chemistry, 1996. **57**(2): p. 271-274.
55. M. B. Davies, J. Austin, e D. A. Partridge, *Vitamin C: Its Chemistry and Biochemistry*. Cambridge [Cambridgeshire]: Royal Society of Chemistry, 1991.
56. L. Pauling, *Como viver mais e melhor: o que os médicos não dizem sobre sua saúde*. 4.ed. São Paulo : Best Seller, . 1988: p. 400p.
57. G. Franco, *Tabela de composição química dos alimentos*. 9.ed. São Paulo : Atheneu, . 1992: p. 307p.
58. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_asc%C3%B3rbico. Acesso em: 03/2013.
59. R. Leubolt e H. Klein, *Determination of sulphite and ascorbic acid by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection*. Journal of Chromatography A, 1993. **640**(1-2): p. 271-277.
60. E. R. Sartori e O. Fatibello, *Simultaneous Voltammetric Determination of Ascorbic Acid and Sulfite in Beverages Employing a Glassy Carbon Electrode Modified with Carbon Nanotubes within a Poly(Allylamine Hydrochloride) Film*. Electroanalysis. **24**(3): p. 627-634.

61. Y. Miura, M. Hatakeyama, T. Hosino e P. R. Haddad, *Rapid ion chromatography of l-ascorbic acid, nitrite, sulfite, oxalate, iodide and thiosulfate by isocratic elution utilizing a postcolumn reaction with cerium(IV) and fluorescence detection*. Journal of Chromatography A, 2002. **956**(1-2): p. 77-84.
62. H. P. Wagner e M. J. McGarrity, *The use pulsed and amperometry combined with ion-exclusion chromatography for the simultaneous analysis of ascorbic acid and sulfite*. Journal of Chromatography A, 1991. **546**(0): p. 119-124.
63. R. Christova, M. Ivanova, e M. Novkirishka, *Indirect potentiometric determination of arsenite, sulphite, ascorbic acid, hydrazine and hydroxylamine with an iodide-selective electrode*. Analytica Chimica Acta, 1976. **85**(2): p. 301-307.
64. A. S. Chauhan, R. S. Ramteke, e W.E. Eipeson, *Properties of ascorbic acid and its applications in food processing: A critical appraisal*. Journal of Food Science and Technology-Mysore, 1998. **35**(5): p. 381-392.
65. R. Walker, *Sulphiting agents in foods: some risk/benefit considerations*. Food additives and contaminants, 1985. **2**(1): p.5-24.
66. E. A. Ticianelli e E. R. Gonzalez, *Eletroquímica: Princípios e Aplicações 2ª. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo – EDUSP (2005) 220 p.*
67. D. K. Grosser, *Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*, VCH, New York, 1993.
68. D. A. H. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman, *Principles of Instrumental Analysis. 5th ed. Philadelphia: Saunders College Publishing. 1998.*
69. J. Wang, *Analytical electrochemistry. 3rd ed. New Jersey: John Wiley and Sons Ltd. 2006.*
70. G. A. Mabbott, *An introduction to cyclic voltammetry*. Journal of Chemical Education, 1983. **60**(9): p. 697-702.

71. R. P. Greef, R. L. M. Peter, D. Pletcher, J. Robinson, *Instrumental Methods in Electrochemistry* (Ellis Horwood Limited/John Wiley and Sons: New York), 1985.
72. M. S. M. Quintino, *Desenvolvimento de sensores eletroquímicos associados a batch injection analysis (bia) para aplicações analíticas*. 2003. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/46/46133/tde-11102006-144342/>>. Acesso em: 2013-02-20.
73. D. A. H. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman, *Princípios de Análise. Instrumental*, 5ª ed., Bookman, São Paulo, 2002.
74. W. T. P. Santos, D. T. Gimenes, E. G. N. Almeida, S. P. Eiras, Y. D. T. Albuquerque, E. M. Richter, *Simple flow injection amperometric system for simultaneous determination of dipyrone and paracetamol in pharmaceutical formulations*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2009. **20**(7): p. 1249-1255.
75. D. T. Gimenes, W. T. P. Santos, R. A. A. Munoz e E. M. Richter, *Internal standard in flow injection analysis with amperometric detection*. Electrochemistry Communications. **12**(2): p. 216-218.
76. F. R. P. Rocha, P. B. Martelli e B. F. Reis, *Experimentos didáticos utilizando sistema de análise por injeção em fluxo*. Química Nova, 2000. **23**(1): p. 119 – 125.
77. J. Ruzicka e E. H. Hansen, *Flow injection analyses .1. new concept of fast continuous-flow analysis*. Analytica Chimica Acta, 1975. **78**(1): p. 145-157.
78. E. Beinrohr e P. Tschopel, *Flow-through anodic-stripping coulometry and anodic-stripping coulometry with collection for the simultaneous absolute determination of copper, lead, cadmium and zinc*. Analytica Chimica Acta, 1993. **273**(1-2): p. 13-25.
79. H. Bergamin, E. A. G. Zagatto, F. J. Krug e B. F. Reis, *Merging zones in flow injection analysis .1. double proportional injector and reagent consumption*. Analytica Chimica Acta, 1978. **101**(1): p. 17-23.

80. F. S. Felix e L. Angnes, *Fast and Accurate Analysis of Drugs Using Amperometry Associated With Flow Injection Analysis*. Journal of Pharmaceutical Sciences. **99**(12): p. 4784-4804.
81. H. Varela, M. Malta, e R. M. Torresi, *Técnicas in situ de baixo custo em eletroquímica: a microbalança a cristal de quartzo*. Química Nova, 2000. **23**(5): p. 664-679.
82. R. A. M. Carvalho, A. N. R. Silva e M. L. P. Silva, *Produção e Caracterização de Filmes Finos Nanoporosos e Protetores Obtidos por Polimerização por Plasma de TEOS; Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo*. 2006. **25**(3): p. 141-148.
83. L. C. Santos, F. P. Beraldo, L. F. Hernandez, R. A. M. Carvalho e M. L. P. Silva, *“Desenvolvimento de testes semiautomatizados de miniestruturas”*, Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo. 2006. **25**(2): p. 75-81.
84. F. S. Damos, R. K. Mendes e L. T. Kubota, *Aplicações de QCM, EIS e SPR na investigação de superfícies e interfaces para o desenvolvimento de (bio)sensores*. Química Nova, 2004. **27**(6): p. 970-979.
85. *Applications of the Piezoelectric Quartz Crystal Microbalance. Methods and Phenomena*, Lu, C.; Czanderna, A. Eds. Elsevier, New York. 1984. **v.7**.
86. A. A. Karyakin, E. E. Karyakina, e L. Gorton, *Prussian-Blue-based amperometric biosensors in flow-injection analysis*. Talanta, 1996. **43**(9): p. 1597-1606.
87. J. J. Pedrotti, L. Angnes, e I. G. R. Gutz, *Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions*. Electroanalysis, 1996. **8**(7): p. 673-675.
88. O. Ordeig, C. E. B., J. D. Campo, F. X. Munoz, J. Davis e R.G. Compton., *Sulfite Determination at In Situ Plated Copper Modified Gold Ultramicroelectrode Arrays*. Electroanalysis, 2006. **18**(3): p. 247-252.
89. I. Streeter, G. G. Wildgoose, L. Shao, R. G. Compton, *Cyclic voltammetry on electrode surfaces covered with porous layers: An analysis of electron transfer kinetics at single-*

- walled carbon nanotube modified electrodes. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2008. **133**(2): p. 462-466.
90. G. P. Keeley e M. E. G. Lyons, *The effects of thin layer diffusion at glassy carbon electrodes modified with porous films of single-walled carbon nanotubes*. *International Journal of Electrochemical Science*, 2009. **4**(6): p. 794-809.
91. M. J. Sims, N. V. Rees, E. J. F. Dickinson e R. G. Compton, *Effects of thin-layer diffusion in the electrochemical detection of nicotine on basal plane pyrolytic graphite (BPPG) electrodes modified with layers of multi-walled carbon nanotubes (MWCNT-BPPG)*. *Sensors and Actuators, B: Chemical*. **144**(1): p. 153-158.
92. N. M. Brito, *Resíduos de pesticidas organoclorados (OC) e organofosforados (OF) em matriz de coco: metodologia e aplicação*. São Paulo. Dissertação (Mestrado em Química Analítica), Universidade Estadual Paulista, 2001.
93. L. Huber, Validation of analytical methods: review and strategy. *LC/GC International*, Feb 1998, p. 96-105.
94. Validation of analytical procedures: methodology. London: ICH, 1996. 9p.
95. Validation of analytical procedures: methodology : Ich harmonised tripartite guideline. in: international conference on harmonation of technical requeriments for registration of pharmaceuticals for human use, 1996. 8p.