

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Iolana Campestrini

**PREPARAÇÃO E APLICAÇÃO DE UM ELETRODO DE FILME
DE BISMUTO PARA DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA
DE Sn(IV) E SULFADIAZINA**

**Florianópolis
2010**

Iolana Campestrini

**PREPARAÇÃO E APLICAÇÃO DE UM ELETRODO DE FILME
DE BISMUTO PARA DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA
DE Sn(IV) E SULFADIAZINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como um dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Química: área de concentração Química Analítica.
Orientador Prof. Dr. Almir Spinelli

Florianópolis
2010

Iolana Campestrini

**PREPARAÇÃO E APLICAÇÃO DE UM ELETRODO DE FILME
DE BISMUTO PARA DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA
DE Sn(IV) E SULFADIAZINA**

Esta dissertação foi julgada e aprovada para obtenção do Título de Mestre em Química, no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 06 de maio de 2010

Prof. Dr. Ademir Neves
Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Daniel L. G. Borges
(UFSC)

Prof. Dr. Almir Spinelli
Orientador

Prof. Dr. Iolanda C. Vieira
(UFSC)

Prof. Dr. Vilma E. T. Heinzen
(UFSC)

Este trabalho foi desenvolvido no Grupo de Estudos de Processos Eletroquímicos e Eletroanalíticos (GEPEEA), laboratório 310 do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, sob orientação do Prof. Dr. Almir Spinelli.

AGRADECIMENTOS

À Deus e a Nossa Senhora

A toda minha família, pelo incentivo e força que mesmo de longe nunca faltaram.

Aos meus amigos, pela convivência e companheirismo e por fazerem de meus dias muito mais alegres ao longo desses dois anos.

Ao Professor Almir Spinelli, pela orientação e ensinamentos que contribuíram para meu desenvolvimento científico.

Aos professores, membros da banca, pela disposição e por avaliar este trabalho.

Aos amigos do GEPEEA (Otoniel, Fernando, Keliana, Giovana, Gabriel e Éder), pelas horas alegres de convívio e troca de conhecimentos, que fizeram um ótimo ambiente de trabalho.

A minha amiga Morgana pela ajuda no desenvolvimento dos experimentos em parte deste trabalho.

Ao Eduardo, por ceder as soluções padrões de Sn(IV), as amostras de biodiesel e pela ajuda nos experimentos de espectrometria de absorção atômica de alta eficiência.

A todos os professores do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina pelos ensinamentos repassados.

À CAPES (Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de Mestrado concedida.

“Quando o poder do amor superar o amor pelo poder,
o mundo conhecerá a paz” (Jimi Hendrix)

RESUMO

Este trabalho descreve o desenvolvimento de métodos eletroanalíticos que demonstram o preparo e a aplicabilidade do eletrodo de filme de bismuto (BiFE) como alternativa aos eletrodos de mercúrio na determinação de íon metálico e composto orgânico.

Com a finalidade de demonstrar a aplicabilidade do BiFE na determinação de íons metálicos, um método de preparo do BiFE, envolvendo a eletrodeposição *in situ*, foi desenvolvido para a determinação eletroanalítica de Sn(IV) por voltametria de redissolução anódica utilizando onda quadrada. Os parâmetros experimentais de eletrodeposição *in situ* para o preparo do BiFE foram cuidadosamente ajustados de acordo com o sinal analítico obtido para o Sn(IV) em: E_d -1,2 V por 90 s em solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ e pH 4,5, contendo íons Bi(III) 4,0x10⁻⁵ mol L⁻¹. O ácido cafeico foi empregado na determinação do Sn(IV) na concentração otimizada em 1,73x10⁻³ mol L⁻¹, visando maior sensibilidade e seletividade ao método. Esse agente complexante não interferiu de forma significativa no comportamento eletroquímico dos estados de oxidação do bismuto, mas aumentou consideravelmente a sensibilidade do método. As condições experimentais que possibilitaram um melhor desempenho analítico do método desenvolvido para a determinação do Sn(IV) em amostras de biodiesel, utilizando o BiFE, foram: solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 4,5 como eletrólito de suporte e os parâmetros experimentais da voltametria de onda quadrada ajustados em: frequência 15 Hz, amplitude 40 mV e incremento de potencial de 5,0 mV. Nessas condições, foi obtido um pico de densidade de corrente em -0,58 V referente à oxidação do Sn metálico a Sn(II), o qual respondeu de forma linear na faixa de 0,087 a 12,005 µmol L⁻¹, apresentando um limite de detecção de 0,064 µmol L⁻¹. O método foi aplicado na determinação de Sn(IV) em três amostras de biodiesel e para a validação do método eletroanalítico desenvolvido, esse foi comparado com o método de quantificação de Sn(IV) utilizando a técnica espectroscopia de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) e os resultados obtidos por meio de cálculos estatísticos mostraram que o método proposto utilizando BiFE foi preciso e exato.

Visando propor uma nova aplicabilidade do BiFE para a determinação de um composto orgânico, um método de preparo do BiFE através do método de eletrodeposição *ex situ* foi desenvolvido para a determinação da Sulfadiazina (SDZ) por redução, empregando a

voltametria de pulso diferencial. Os parâmetros de eletrodeposição *ex situ* ajustados foram: E_d -0,8 V por 100 s e Bi(III) $3,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução de HCl 1,0 mol L⁻¹. Uma etapa prévia de condicionamento do BiFE foi necessária antes de ser utilizado na determinação da Sulfadiazina para aumentar a reprodutibilidade e a sensibilidade do método. Esse condicionamento consistiu na aplicação de um potencial de -1,0 V por 100 s, sob agitação, em solução tampão Britton-Robinson 0,05 mol L⁻¹, em pH 4,5. A determinação da Sulfadiazina sobre o BiFE, forneceu a maior densidade de corrente em solução tampão Britton-Robinson 0,05 mol L⁻¹ em pH 4,5 como eletrólito suporte, e com os parâmetros experimentais adotados para a voltametria de pulso diferencial como: velocidade de variação de potencial de 10 mV s⁻¹, altura de pulso de 50 mV e incremento de variação de potencial de 5 mV. Um pico de redução referente à Sulfadiazina foi observado em -0,74 V, o qual se deslocou para valores mais negativos com o aumento do pH da solução. O método eletroanalítico desenvolvido utilizando o eletrodo de filme de bismuto respondeu de forma linear em duas faixas de concentração: uma primeira região linear para concentrações de 3,2 a 20,0 µmol L⁻¹ e uma segunda região linear de 20,0 a 96,8 µmol L⁻¹, as quais forneceram limites de detecção de 2,1 µmol L⁻¹ e 12,2 µmol L⁻¹, respectivamente. O método foi aplicado com eficiência na determinação de Sulfadiazina com recuperação de 94,4 a 104,9% para o medicamento Suladrin® e de 93,6 a 103,0% para o medicamento Sulfazina®. Em comparação ao método oficial baseado na farmacopéia britânica, a titulação amperométrica, o método desenvolvido rendeu resultados de excelente precisão e exatidão.

Palavras-chave: Eletroanalítica, BiFE, Sn(IV), Biodiesel, Sulfadiazina.

ABSTRACT

This work describes the developing of electroanalytical methods that demonstrate the preparation and the applicability of Bismuth-film electrode (BiFE) as an alternative to mercury electrodes determining metallic ions and organic compounds.

In order to demonstrate the applicability of BiFE in metallic ion determination, a BiFE preparation method, involving electrodeposition *in situ*, has been developed to Sn(IV) electro analytical determination by anodic stripping voltammetry using square wave. The *in situ* electrodeposition experimental parameters to BiFE preparation were adjusted carefully according to the analytical sign obtained for Sn(IV) in: E_d -1.2 V during 90 s into acetate buffer 0.1 mol L⁻¹ and pH 4.5, containing ions Bi(III) 4.0x10⁻⁵ mol L⁻¹. The caffeic acid has been used to Sn(IV) determination with in optimized concentration of 1.73x10⁻³ mol L⁻¹, in order to greater sensibility and selectivity on the method. This caffeic acid, used as complexing agent, hasn't interfered meaningful in the electrochemical behavior of bismuth oxidation, in fact, it has increased considerably the method sensibility. The experimental conditions that made possible a better analytical performance to Sn(IV) determination in biodiesel samples using the BiFE were: acetate buffer 0.1 mol L⁻¹ in pH 4.5 as supporting electrolyte and the experimental parameters of square wave voltammetry adjusted with a frequency of 15 Hz, amplitude of 40 mV and potential increment of 5 mV. In these conditions it has been obtained a current density peak at -0.58 V referent to Sn metallic oxidation to Sn(II), that has linearity from 0.087 to 12.005 mol L⁻¹, with detection limit of 0.064 mol L⁻¹. The method has been applied in Sn(IV) to three biodiesel samples and in order to validate the method developed, it has been compared to the Sn(IV) quantification method using the high resolution continuum source atomic absorption spectrometry technical (HR-CS-AAS) and the results obtained through statistical calculations show that the proposed method using BiFE was accurate and reliable.

To get to propose a new BiFE applicability to organic compound determination, a BiFE preparation through *ex situ* electrodeposition method has been developed to Sulfadiazine (SDZ) determination by reduction, using the differential pulse voltammetry. The *ex situ* electrodeposition parameters adjusted were: E_d -0.8 V during 100 s and Bi(III) 3.0x10⁻³ mol L⁻¹ in HCl solution 1.0 mol L⁻¹. A previous step of conditioning BiFE was necessary in Sulfadiazine determination to increase the method's reproducibility and sensibility. This conditioning

consists in application potential of -1.0 V during 100 s under agitation in buffer Britton-Robinson 0.05 mol L^{-1} and pH 4.5. The Sulfadiazine determination over the BiFE had the greater current density in buffer Britton-Robinson 0.05 mol L^{-1} into pH 4.5 as supporting electrolyte and the optimized parameters to differential pulse voltammetry were: speed potential variation 10 mV s^{-1} , pulse height of 50 mV and scan increment of 5 mV. A reduction peak from Sulfadiazine has been realized in -0.74 V and the peak moved to more negative values according to the pH increase.

The analytical curve using Bismuth-film electrode was linear in two concentration ranges: the first linear region of concentrations from 3.2 to 20.0 mol L^{-1} and the second linear region from 20.0 to 96.8 mol L^{-1} , with detection limits of 2.1 mol L^{-1} and 12.2 mol L^{-1} , respectively. The method has been applied efficiently in Sulfadiazine determination with recuperation from 94.4 to 104.9% to the medicine Suladrin® and from 93.6 to 103.0 % to the medicine Sulfazina®. Comparing with the official method, based in British pharmacopeia, the amperometric titration, the developed method got great and precise results.

Keywords: Electroanalytical, BiFE, Sn(IV), Biodiesel, Sulfadiazine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura geral das sulfonamidas	36
Figura 2: Estrutura química da Sulfadiazina	36
Figura 3: (A) Representação esquemática da aplicação do potencial em função do tempo para voltametria cíclica. (B) Representação do voltamograma cíclico.	46
Figura 4: (A) Representação esquemática da aplicação do potencial em função do tempo na voltametria de pulso diferencial. (B) Representação do voltamograma de pulso diferencial.	49
Figura 5: Representação esquemática da aplicação do potencial em função do tempo na voltametria de onda quadrada	50
Figura 6: (A) Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada para um processo redox de um sistema reversível e (B) obtenção da corrente resultante.	51
Figura 7: A) Representação esquemática das etapas de pré-concentração e redissolução da voltametria de redissolução anódica e B) Voltamograma hipotético obtido da etapa de redissolução para o íon metálico M.....	53
Figura 8: Representação esquemática do procedimento de adsorção e redissolução usando a voltametria adsortiva de redissolução na determinação de íons metálicos na presença de um agente complexante.....	54
Figura 9: Voltamograma cíclico para a) Bi(III) $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ pH 4,5 e b) a + ácido cafeico $1,73 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ sobre GCE. ν 100 mV s ⁻¹	68
Figura 10: Influência dos parâmetros de preparação <i>in situ</i> do BiFE: A) potencial, B) tempo e C) concentração de Bi(III) na densidade de corrente do Sn(IV) $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ e pH 4,5 por SWV (f 15 Hz, a 50 mV e ΔE_s 5 mV).....	70

- Figura 11: Estrutura do ácido cafeico 72
- Figura 12: Voltamogramas de onda quadrada para redissolução anódica de a) tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5), b) a + Sn(IV) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e c) b + ácido cafeico $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, sobre BiFE. f , 15 Hz; a , 50 mV e ΔE_s , 5 mV. 73
- Figura 13: A) Efeito da concentração do ácido cafeico na voltametria de redissolução anódica do Sn(IV) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ sobre BiFE em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5) e Bi(III) $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. 74
- Figura 14: Dependência da variação da densidade de corrente de pico com a frequência de variação de potencial (f) para o Sn(IV) $1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e ácido cafeico $1,73 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 4,5. a , 40 mV e ΔE_s , 5 mV 76
- Figura 15: Influência dos parâmetros experimentais da SWV A) amplitude (f 15 Hz e ΔE_s 5 mV) e B) incremento de potencial (f 15 Hz e a 40 mV) na densidade de corrente anódica do Sn(IV) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ na presença de ácido cafeico $1,73 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 4,5. 77
- Figura 16: Voltamogramas de onda quadrada para Sn(IV) (a) $8,66 \times 10^{-8}$, (b) $1,74 \times 10^{-7}$, (c) $5,52 \times 10^{-7}$, (d) $7,60 \times 10^{-7}$, (e) $9,70 \times 10^{-7}$, (f) $2,60 \times 10^{-6}$, (g) $4,35 \times 10^{-6}$, (h) $6,09 \times 10^{-6}$, (i) $7,83 \times 10^{-6}$ e (j) $1,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 4,5, (f 15 Hz; a 40 mV e ΔE_s 5 mV). Inserção: Curva analítica. 78
- Figura 17: Voltamogramas de onda quadrada para a) tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5; b) adição de 1 mL da amostra de biodiesel (c-f) adição de 250 μL de Sn(IV) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ padrão (f 15 Hz, a 40 mV e ΔE_s 5 mV). 81
- Figura 18: Voltamograma cíclico para Bi(III) $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ sobre GCE v 100 mV s^{-1} 87
- Figura 19: Voltamogramas cíclicos para dez ciclos sucessivos, sendo a) o primeiro e b) o décimo sobre BiFE, v 100 mV s^{-1} 88

- Figura 20: Voltamogramas de pulso diferencial para a) tampão B-R 0,04 mol L⁻¹ pH 4,5 b) a + SDZ 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹, c) repetição de b sobre um mesmo BiFE (ν 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV, ΔE_s 5 mV)... 89
- Figura 21: Voltamogramas de pulso diferencial para a) tampão B-R 0,04 mol L⁻¹ pH 4,5 sobre BiFE condicionado b) a + SDZ 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ sobre BiFE não condicionado e c) b sobre BiFE condicionado (ν 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV)..... 90
- Figura 22: Influência dos parâmetros de deposição do BiFE: A) potencial, B) tempo e C) concentração de Bi(III) na densidade de corrente da SDZ 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ em tampão B-R 0,04 mol L⁻¹, pH 7,0 por DPV (ν 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV). 92
- Figura 23: Voltamogramas de pulso diferencial para SDZ 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ em a) tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ pH 7,0; b) a + SDZ; c) tampão B-R 0,05 mol L⁻¹ e pH 2,5 + SDZ; d) c pH 4,5 e) tampão acetato 0,05 mol L⁻¹ e pH 4,5 + SDZ. (ν 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV)..... 95
- Figura 24: Efeito da concentração do tampão B-R, pH 4,5 na densidade de corrente de redução da SDZ 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ por DPV (ν 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV). 96
- Figura 25: Influência do pH A) na densidade de corrente de pico e B) no potencial de pico de redução da SDZ 3,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ em tampão B-R 0,05 mol L⁻¹, por DPV (ν 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV)..... 97
- Figura 26: Voltamogramas de a) onda quadrada (f 10 Hz, a 25 mV, ΔE_s 5 mV) e b) pulso diferencial (ν 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV, ΔE_s 5 mV) para SDZ 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ em tampão B-R 0,05 mol L⁻¹ pH 4,599
- Figura 27: Dependência da A) velocidade de variação de potencial, B) altura de pulso e C) incremento de potencial, na redução da SDZ 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ em tampão B-R 0,05 mol L⁻¹ e pH 4,5 100
- Figura 28: Voltamogramas de pulso diferencial usando o BiFE para a SDZ nas concentrações de (a) 3,20x10⁻⁶, (b) 4,15x10⁻⁶, (c) 6,07x10⁻⁶, (d) 7,98x10⁻⁶, (e) 1,02x10⁻⁵, (f) 2,00x10⁻⁵, (g) 5,04x

10^{-5} e (h) $7,80 \times 10^{-5}$ (i) $9,68 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, (ν 10 mV s⁻¹, a 50 mV e ΔE_s 5 mV). 102

Figura 29: Voltamogramas de pulso diferencial para a) tampão B-R 0,05 mol L⁻¹ pH 4,5; (b) adição de 200 μ L da amostra Suladrin®; (c-f) adição de 50 μ L do padrão SDZ (ν 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV). Inserção: Curva de adição de analito para amostra Suladrin® 105

Figura 30: Voltamogramas de pulso diferencial para a) tampão B-R 0,05 mol L⁻¹ pH 4,5; (b) adição de 200 μ L da amostra Sulfazina®; (c-f) adição de 50 μ L do padrão SDZ (ν 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV). Inserção: Curva de adição de analito para amostra Sulfazina® 106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Repetibilidade do método de preparação do BiFE com E_d de -1,2 V e -1,3 V	70
Tabela 2: Repetibilidade do método de preparação do BiFE	71
Tabela 3: Parâmetros experimentais selecionados pra determinação de Sn(IV) complexado com ácido cafeico, sobre BiFE.....	77
Tabela 4: Parâmetros obtidos da curva analítica para determinação de Sn(IV).....	79
Tabela 5: Dados do estudo da repetibilidade e reprodutibilidade do método proposto para determinação de Sn(IV)	80
Tabela 6: Dados da determinação de Sn(IV) em amostras de biodiesel sobre BiFE.....	82
Tabela 7: Dados da determinação de Sn(IV) em biodiesel pelo método HR-CS AAS	83
Tabela 8: Tratamento de dados para a validação do método proposto para	84
Tabela 9: Repetibilidade do BiFE	93
Tabela 10: Influência do eletrólito suporte nos parâmetros de redução da SDZ	94
Tabela 11: Parâmetros da DPV investigados para a SDZ	101
Tabela 12: Parâmetros obtidos da curva analítica da determinação da SDZ	103
Tabela 13: Dados do estudo da repetibilidade e reprodutibilidade do método proposto	104
Tabela 14: Resultados obtidos para a quantificação da SDZ em amostras de comprimidos Suladrin® e Sulfazina® pelo método proposto.	105

Tabela 15: Estudo da recuperação pelo método da adição de analito. 107

Tabela 16: Resultados obtidos para a quantificação da SDZ em amostras de comprimidos Suladrin® e Sulfazina® usando o método comparativo..... 108

Tabela 17: Tratamento estatístico da determinação de SDZ em medicamentos..... 109

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- a – Amplitude de pulso
ANP – Agência Nacional do Petróleo
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASV – (do inglês *anodic stripping voltammetry*) Voltametria de redissolução anódica
BiFE – (do inglês *Bismuth-film electrode*) Eletrodo de filme de bismuto
CE – (do inglês *capillary electrophoresis*) Eletroforese capilar
CPE – (do inglês *carbon paste electrode*) Eletrodo de pasta de carbono
CV – (do inglês *cyclic voltammetric*) Voltametria cíclica
DPV – (do inglês *differential-pulse voltammetry*) Voltametria de pulso diferencial
 E_d – Potencial de deposição
 ΔE_p – Altura de pulso
 ΔE_s – Incremento de potencial
 f – Frequência
F AAS – (do inglês *flame atomic absorption spectrometry*) Espectrometria de absorção atômica com chama
GC – (do inglês *gas chromatography*) Cromatografia gasosa
GCE – (do inglês *glassy carbon electrode*) Eletrodo de carbono vítreo
GC-MS – (do inglês *gas chromatography-mass spectrometry*) Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa
HPLC – (do inglês *high performance liquid chromatography*) Cromatografia líquida de alta eficiência
HR-CS AAS – (do inglês *high resolution continuum source atomic absorption spectrometry*) Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua
HS-SPME – (do inglês *headspace-solid phase micro-extraction*) Micro-extração em fase sólida no *headspace*
ICP – (do inglês *inductively coupled plasma*) Plasma indutivamente acoplado
ICP-MS – (do inglês *inductively coupled plasma mass spectroscopy*) Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado
 j – Densidade de corrente para voltametria cíclica
 Δj – Densidade de corrente para voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada
LC – (do inglês *liquid chromatography*) Cromatografia líquida
LC-MS – (do inglês *liquid chromatography-mass spectrometry*) Cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massa

LC-UV – (do inglês *liquid chromatography-ultraviolet detection*)
Cromatografia líquida acoplada ao detector de ultravioleta

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

MFE – (do inglês *mercury film electrode*) Eletrodo de filme de mercúrio

SCE – (do inglês *saturated calomel electrode*) Eletrodo de calomelano saturado

SDZ – (do inglês *Sulfadiazine*) Sulfadiazina

SPME – (do inglês *solid phase micro-extraction*) Micro-extração em fase sólida

SWV – (do inglês *square wave voltammetry*) Voltametria de onda quadrada

t_d – Tempo de deposição

v – Velocidade de variação de potencial

v/v – Volume/volume

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	Eletrodo de filme de bismuto	19
2.1.1	<i>Preparação do eletrodo de filme de bismuto.....</i>	<i>20</i>
2.1.2	<i>Aplicações do eletrodo de filme de bismuto para determinação de metais.....</i>	<i>23</i>
2.1.3	<i>Aplicações do eletrodo de filme de bismuto para a determinação de compostos orgânicos</i>	<i>28</i>
2.2	Biodiesel.....	31
2.2.1	<i>Composição química</i>	<i>31</i>
2.2.2	<i>Análise química</i>	<i>32</i>
2.2.3	<i>Determinação de metais</i>	<i>32</i>
2.3	Sulfadiazina.....	35
2.3.1	<i>Histórico</i>	<i>35</i>
2.3.2	<i>Análise química das sulfonamidas.....</i>	<i>36</i>
2.3.3	<i>Determinação de sulfonamidas por métodos de separação .</i>	<i>37</i>
2.3.4	<i>Determinação de sulfonamidas por métodos eletroanalíticos..</i>	<i>39</i>
2.4	Técnicas eletroanalíticas	42
2.4.1	<i>Voltametria cíclica</i>	<i>45</i>
2.4.2	<i>Voltametria de pulso diferencial</i>	<i>47</i>
2.4.3	<i>Voltametria de onda quadrada</i>	<i>49</i>
2.4.4	<i>Voltametria de redissolução.....</i>	<i>51</i>
3.	OBJETIVOS	55
3.1	Objetivo geral.....	55
3.2	Objetivos específicos.....	55
3.2.1	<i>Preparação e aplicação do BiFE na determinação de Sn(IV)</i>	<i>55</i>
3.2.2	<i>Preparação e aplicação do BiFE na determinação da SDZ</i>	<i>56</i>
4.	MATERIAL E MÉTODOS	59
4.1	Reagentes.....	59
4.2	Soluções	59
4.3	Equipamentos	60
4.4	Limpeza do substrato eletrodo de carbono vítreo	60
4.5	Preparação <i>in situ</i> e aplicação do BiFE para a determinação de Sn(IV) em biodiesel	60
4.5.1	<i>Preparação do BiFE por eletrodeposição <i>in situ</i>.....</i>	<i>60</i>
4.5.2	<i>Aplicação do BiFE <i>in situ</i> para a determinação de Sn(IV) ..</i>	<i>61</i>

4.6	Aplicação e preparação <i>ex situ</i> do BiFE para a determinação de SDZ em fármacos.....	62
4.6.1	<i>Preparação do BiFE por eletrodeposição <i>ex situ</i></i>	62
4.6.2	<i>Aplicação do BiFE <i>ex situ</i> para a determinação de SDZ.....</i>	62
4.7	Métodos comparativos	63
4.7.1	<i>Método comparativo: espectrometria de absorção atômica</i>	63
4.7.2	<i>Método comparativo: titulação amperométrica.....</i>	64
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
5.1	Preparação e aplicação do BiFE para a determinação de Sn(IV) em biodiesel	67
5.1.1	<i>Preparo do BiFE pelo método de eletrodeposição <i>in situ</i>....</i>	67
5.1.2	<i>Desenvolvimento do método eletroanalítico</i>	71
5.1.3	<i>Conclusão específica.....</i>	85
5.2	Preparação e aplicação do BiFE para a determinação de SDZ em fármacos.....	86
5.2.1	<i>Preparo do BiFE pelo método de eletrodeposição <i>ex situ</i> ...</i>	86
5.2.2	<i>Desenvolvimento de método eletroanalítico</i>	93
5.2.3	<i>Conclusão específica.....</i>	110
6.	CONCLUSÃO	111
7.	REFERÊNCIAS	113

1. INTRODUÇÃO

Os eletrodos de mercúrio têm sido, ao longo das últimas décadas, uma ferramenta poderosa na determinação eletroquímica de metais por voltametria de redissolução anódica e na determinação de compostos orgânicos por redução eletroquímica. No entanto, a toxicidade do mercúrio limitou o uso desses eletrodos, pois exige cuidados na manipulação e na disposição, o que fez estes eletrodos serem evitados ou até mesmo banidos, em alguns países. ^{(1), (2), (3)} Esta limitação levou estudiosos a buscarem novos materiais capazes de substituir, com a mesma eficiência, os eletrodos de mercúrio porém, sem causar riscos à saúde de quem os utiliza e ao meio ambiente.

Nessa busca, em 2000 um novo eletrodo foi introduzido quando Wang *et al.* ⁽⁴⁾ observaram o comportamento eletroquímico de um eletrodo de filme de bismuto (BiFE) na identificação, por voltametria de redissolução anódica, dos íons metálicos Pb(II), Cd(II) e Zn(II). Os resultados foram satisfatórios e demonstraram um ótimo desempenho do eletrodo de filme de bismuto frente aos eletrodos de mercúrio.

Em 2001, Ogorevc *et al.*, ⁽³⁾ entusiasmados com os resultados obtidos por Wang *et al.*, ⁽⁴⁾ testaram o mesmo eletrodo na determinação catódica direta do composto orgânico 2 -nitrofenol. Os autores constataram que o eletrodo de filme de bismuto apresenta ampla janela eletroquímica em potenciais negativos, semelhante àquela obtida pelos eletrodos de mercúrio, e verificaram que o comportamento eletroquímico de redução do 2-nitrofenol sobre o BiFE foi similar ao obtido sobre o eletrodo de filme de mercúrio.

Estes foram os primeiros trabalhos desenvolvidos, com excelentes resultados, onde o eletrodo de filme de bismuto tomou o lugar do eletrodo de mercúrio. Além do mais, o Bi metálico e seus derivados não apresentam toxicidade considerável, eliminando os riscos causados pela utilização dos eletrodos de mercúrio.

Segundo estudiosos o Bi metálico apresenta algumas propriedades similares às do Hg metálico, das quais decorrem semelhante comportamento e desempenho do eletrodo de filme de bismuto em relação aos eletrodos de mercúrio, por exemplo, a habilidade de formar filmes com elevada estabilidade mecânica, o que proporciona ao eletrodo de filme de bismuto baixa corrente de fundo em potenciais negativos, favorecendo o seu desempenho na determinação catódica de compostos orgânicos e permitindo a análise por redissolução de íons metálicos.

Estas propriedades fizeram do eletrodo de filme de bismuto uma alternativa aos eletrodos de mercúrio e levaram pesquisadores, interessados no avanço da área eletroanalítica, a testarem a aplicabilidade deste novo eletrodo, tanto na determinação de diversos metais como na determinação de compostos orgânicos

No que diz respeito ao Sn(IV), o eletrodo de filme de bismuto já foi empregado no desenvolvimento de um método eletroanalítico por Hutton, *et. al.* ⁽⁵⁾ Os autores utilizaram uma etapa de pré-concentração por deposição eletroquímica do Sn(IV), complexado com o catecol, sobre o BiFE e a voltametria de onda quadrada para a redissolução e determinação do Sn(IV), em amostras de água do mar. Os resultados obtidos por estes autores incentivaram o desenvolvimento deste trabalho na proposta de demonstrar a aplicabilidade do BiFE para a determinação de Sn(IV) em biodiesel, através de um método semelhante.

O Sn(IV) vem sendo utilizado como catalisador das reações envolvidas no processo de obtenção do biodiesel e o seu monitoramento é essencial para determinar o tempo exato de manutenção de motores e turbinas que utilizam o biodiesel como combustível, evitando assim falhas e danos, além de perdas materiais e de vidas. A manutenção é necessária devido ao constante atrito entre as partes metálicas na presença deste tipo de agente químico, em altas temperaturas e pressão, intensificando o processo de corrosão que é a principal causa do desgaste sofrido por estes equipamentos.

No caso da Sulfadiazina, Diaz *et.al.* ⁽⁶⁾ conseguiram quantificar em medicamentos três sulfonamidas, inclusive a Sulfadiazina por redução sobre um eletrodo gotejante de mercúrio. A SDZ é um antibiótico pertencente ao grupo das sulfonamidas bastante utilizado no tratamento de várias doenças infecciosas e como todo medicamento, os fármacos que a utilizam como princípio ativo, devem ser inspecionados para um gerenciamento de controle de qualidade antes de chegar até o consumidor. Porém até o momento, nenhum trabalho foi publicado sobre a determinação e redução de SDZ utilizando um eletrodo de filme de bismuto.

Neste sentido, este trabalho visa a utilização de um eletrodo de filme de bismuto no desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para a determinação do Sn(IV) em amostras de biodiesel, por voltametria de redissolução anódica, e a determinação catódica direta da Sulfadiazina em medicamentos. Vale ressaltar que se encontrou, na literatura, um número muito pequeno de trabalhos onde um eletrodo de filme de

bismuto foi utilizado para a determinação de compostos orgânicos, incentivando ainda mais esta pesquisa.

Para fins de apresentação, esta dissertação foi dividida em sete capítulos: além deste capítulo introdutório, apresenta-se no capítulo II uma revisão bibliográfica dividida em quatro tópicos abordando os seguintes assuntos: 1) o eletrodo de filme de bismuto, sua preparação e aplicações 2) a estrutura química de biodiesel e suas análises; 3) a história da Sulfadiazina, e suas análises e 4) as técnicas eletroanalíticas envolvidas nesse trabalho. Os objetivos detalhados estão apresentados no capítulo III e a descrição dos métodos e materiais utilizados, bem como, as condições experimentais empregadas estão relatadas no capítulo IV. No capítulo V são apresentados os resultados obtidos e a discussão dos mesmos e no capítulo VI encontra-se a conclusão do trabalho como um todo. Por fim, no capítulo VII encontram-se as referências bibliográficas utilizadas como fonte de pesquisa.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Eletrodo de filme de bismuto

Para o desenvolvimento de um método eletroanalítico, utilizando um eletrodo de filme de bismuto, é crucial que o método de preparo do eletrodo seja adequadamente selecionado e as condições experimentais ajustadas para que o eletrodo responda da melhor maneira possível ao analito de interesse.

Os métodos de preparo do eletrodo de filme de bismuto consistem, basicamente, na eletrodeposição de um filme fino de Bi metálico sobre a superfície de um substrato. O procedimento de eletrodeposição pode ser realizado por um método *in situ* ou *ex situ* sobre um substrato sólido imerso em solução contendo um sal de Bi(III), geralmente o nitrato de bismuto ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$) ou cloreto de bismuto (BiCl_3). Outro procedimento utilizado envolve um eletrodo de pasta de carbono, no qual o Bi(III), na forma de óxido de bismuto (Bi_2O_3), é adicionado à composição da pasta de grafite e a eletrodeposição ocorre não com os íons Bi(III) em solução, mas impregnados no próprio substrato. Basicamente, os métodos de preparo do eletrodo de filme de bismuto diferem na composição da solução onde a eletrodeposição é realizada, em outras palavras, onde o Bi(III) é adicionado.

Uma condição experimental importante no preparo do eletrodo de filme de bismuto é o pH da solução de eletrodeposição. Somente o meio reacional ácido (HCl , HNO_3 e tampão acetato) é indicado como eletrólito suporte na eletrodeposição, pois permite que os íons Bi(III) estejam mais susceptíveis à redução. Em meio aquoso neutro e levemente alcalino estes íons são facilmente hidrolisáveis, formando complexos insolúveis em meio aquoso (Equação 1), dificultando a redução dos íons Bi(III) e conseqüentemente a formação do filme.



Os substratos sólidos geralmente utilizados são os mesmos substratos empregados na preparação dos eletrodos de filme de mercúrio (MFE). O eletrodo de carbono vítreo (GVE) é o substrato mais utilizado por ser pouco poroso e por apresentar baixa corrente de fundo, mas também os eletrodos de cobre ⁽⁷⁾, ouro ⁽⁸⁾ e o eletrodo de pasta de carbono (CPE) ⁽⁹⁾, ⁽¹⁰⁾ já foram empregados.

2.1.1 Preparação do eletrodo de filme de bismuto

2.1.1.1 Eletrodeposição *in situ* do BiFE

Na eletrodeposição *in situ* os íons Bi(III) são acrescentados em excesso à solução preparada para a determinação do analito de interesse e o Bi metálico e o analito são depositados simultaneamente sobre o substrato. A eletrodeposição é realizada sobre o substrato imerso nesta solução, aplicando um potencial negativo o suficiente para ser capaz de reduzir tanto o Bi(III) como o analito durante tempo adequado para formar um filme fino e homogêneo. Depois da etapa de deposição, a aplicação de variação de potencial no sentido positivo oxida o analito anteriormente depositado e permite a quantificação deste analito em níveis traços.

O bom desempenho do eletrodo de filme de bismuto depende da estrutura do filme de Bi metálico e do analito, ressaltando que neste caso o filme é formado por cristais de Bi metálico e de analito. Os parâmetros de deposição: potencial de deposição (E_d), tempo de deposição (t_d) e composição da solução de deposição, definem a morfologia do filme e são dependentes tanto do substrato empregado como do analito a ser quantificado.

O eletrólito suporte neste caso tem a função de manter as condições ideais do meio para a determinação voltamétrica do analito, mas também de fornecer o meio ácido necessário para suprimir os problemas de hidrólise sofridos pelos íons Bi(III). Assim, normalmente solução tampão acetato é utilizada como eletrólito suporte para o método de eletrodeposição *in situ*.

Este método de eletrodeposição é principalmente aplicado na determinação de íons metálicos que apresentam comportamento reversível, pois é essencial que o analito de interesse seja facilmente reduzido e oxidado em potencial mais negativo do que a oxidação do Bi metálico. As técnicas voltamétricas de redissolução são comumente utilizadas em conjunto com a eletrodeposição *in situ*, onde a etapa de eletrodeposição permite a pré-concentração do analito e a etapa de redissolução, a sua quantificação.

2.1.1.2 Eletrodeposição *ex situ* do BiFE

No procedimento *ex situ*, o preparo do eletrodo de filme de bismuto, ou seja, a eletrodeposição do Bi metálico e a determinação do analito são duas etapas realizadas em diferentes soluções.

A eletrodeposição do Bi metálico sobre o substrato ocorre em solução contendo sal de Bi(III) através da aplicação de um potencial mais negativo do que o potencial de pico de redução do Bi(III), o qual varia conforme o substrato e o meio reacional utilizado. Este é um parâmetro que deve ser cuidadosamente ajustado, de acordo com o sinal analítico de redução do composto de interesse, pois interfere de modo significativo na estrutura cristalina do filme obtido, ⁽¹⁾ que neste caso é constituído essencialmente por cristais de Bi metálico.

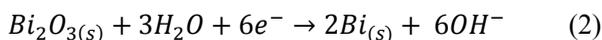
Bobrowski *et al.* ⁽²⁾ chegaram a uma conclusão interessante sobre a estrutura cristalina do filme de bismuto de acordo com o potencial de deposição aplicado na preparação do BiFE. Os autores mostraram que em potenciais negativos, próximo ao valor de potencial de pico da redução do Bi(III), a cinética de redução é lenta e cristais grandes de Bi metálicos são formados preferencialmente. Quanto mais negativo o E_d , o processo de redução é mais rápido e os cristais são menores, levando à formação de filmes mais compactos e homogêneos. Porém, quando potenciais muito negativos são empregados, os cristais são tão finos como pó, dificultando a aderência do filme na superfície do substrato.

A composição da solução onde a eletrodeposição é realizada também afeta de forma significativa a estrutura cristalina do Bi metálico depositado e assim a qualidade do filme obtido. Em experimentos eletroanalíticos, os quais visam a melhor resposta analítica do eletrodo no tempo experimental mais curto possível, a concentração de Bi(III) utilizada irá determinar o tempo em que o potencial é aplicado. Svancara *et al.* ⁽¹¹⁾ observaram que concentrações altas de Bi(III) resultam em filmes mais compactos, além de diminuir o tempo experimental para obtenção do BiFE. Como eletrólito suporte, uma solução de ácido clorídrico é utilizado na eletrodeposição *ex situ*, pois além de aumentar a solubilidade do Bi(III) elimina os efeitos da hidrólise dos íons Bi(III), dissolvendo os compostos insolúveis que possam vir a se formar.

2.1.1.3 Preparação do BiFE em eletrodo de pasta de carbono

O eletrodo de pasta de carbono também é utilizado como substrato no preparo do eletrodo de filme de bismuto por um procedimento distinto dos citados anteriormente. Neste caso, um composto a base de bismuto, geralmente o óxido de bismuto (Bi_2O_3), é incorporado na composição da pasta de carbono, fazendo parte do eletrodo de pasta de carbono.

Posteriormente, o eletrodo de pasta de carbono modificado é imerso em solução aquosa de eletrólito suporte e em seguida é submetido a um potencial mais negativo do que $-1,0$ V. Este potencial faz com que o Bi(III), que se encontra na forma de óxido na superfície do eletrodo, seja reduzido a Bi metálico (Equação 2), formando assim um filme que constitui o eletrodo de filme de bismuto.



Este método de preparo envolve procedimento experimental simples, eliminando problemas de hidrólise, porém exige um estudo minucioso da proporção de óxido de bismuto que será incorporado na pasta de carbono.⁽¹⁾

Sotiropoulos *et al.*⁽¹²⁾ desenvolveram um procedimento de preparação do BiFE para a determinação de cisteína, utilizando o CPE como substrato, no qual ao em vez de óxido de bismuto, os autores adicionaram 17 % de um pó de Bi metálico à composição da pasta de carbono. Sobre o eletrodo resultante, imerso em solução tampão acetato e cisteína, o BiFE foi preparado pela oxidação do Bi metálico presente na superfície do eletrodo a Bi(III), através da aplicação de um potencial de $-0,4$ V. O Bi(III) forma um complexo com a cisteína presente na solução, atraindo-a para a superfície do eletrodo, numa etapa de pré-concentração. Sendo assim, através da aplicação de uma variação de potencial com valores mais negativos do que $-0,4$ V, a cisteína foi reduzida e quantificada, fornecendo bons resultados.

Considerando estes métodos de eletrodeposição, neste trabalho foi empregado um eletrodo de filme de bismuto preparado sobre um eletrodo de carbono vítreo tanto para a determinação do íon metálico Sn(IV) quanto da Sulfadiazina. A eletrodeposição *in situ* foi utilizada no preparo do BiFE e no desenvolvimento do método eletroanalítico para a determinação do Sn(IV), entretanto no caso da Sulfadiazina foi empregado um BiFE preparado através da eletrodeposição *ex situ*.

2.1.2 Aplicações do eletrodo de filme de bismuto para determinação de metais

Em 2000, Wang *et al.* ⁽⁴⁾ introduziram o eletrodo de filme de bismuto em análises de metais por voltametria de redissolução anódica. Os autores desenvolveram um método para a quantificação de Pb(II), utilizando um BiFE preparado através da eletrodeposição *in situ* na identificação dos íons metálicos Pb(II), Cd(II) e Zn(II), aplicando um potencial de -1,4 V por 120 s sobre o eletrodo de carbono vítreo imerso em solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,5) contendo Bi(III) 400 µg L⁻¹ e os íons Pb(II), Cd(II) e Zn(II). A redissolução por voltametria de onda quadrada gerou picos bem definidos de oxidação dos metais, depositados na superfície do BiFE, em potenciais menos positivos do que a oxidação do Bi metálico. A redissolução do Pb metálico a Pb(II) de volta a solução, forneceu um pico de oxidação em -0,6 V e respondeu de forma linear na faixa de concentração de 20 a 150 µg L⁻¹ com limite de detecção de 1,1 µg L⁻¹.

Em 2003, Kefala *et al.* ⁽¹³⁾ empregaram um eletrodo de filme de bismuto no desenvolvimento de um método eletroanalítico para a determinação simultânea de Cd(II), Pb(II) e Zn(II). A eletrodeposição foi realizada pelo procedimento *in situ* com os parâmetros de deposição ajustados para -1,4 V e 120 s sobre o eletrodo de carbono vítreo imerso em solução de Bi(III) 500 µg L⁻¹ na presença dos íons metálicos e tampão acetato 0,1 mol L⁻¹, pH 4,5 como eletrólito suporte. Utilizando a voltametria de redissolução anódica o método apresentou limite de detecção de 0,2 µg L⁻¹ para o Cd(II) e Pb(II) e de 0,7 µg L⁻¹ para o Zn(II), sendo aplicado de forma eficiente na determinação de Pb(II) e Zn(II) em amostras de água de torneira e cabelo.

Morfobos *et al.* ⁽¹⁴⁾ empregaram um eletrodo de filme de bismuto para a determinação simultânea de Ni(II) e Co(II) através da voltametria adsorptiva de redissolução. O BiFE foi preparado por eletrodeposição *ex situ* através da aplicação do potencial de -1,0 V durante 5 min sobre eletrodo de carbono vítreo imerso em solução de Bi(III) 100 mg L⁻¹ em eletrólito suporte tampão acetato 1,0 mol L⁻¹ (pH 4,5). Os autores utilizaram a complexação dos íons metálicos com dimetilglioxima para pré-concentrar os analitos na superfície do eletrodo por adsorção e assim, chegar a limites de detecção em nível de concentração de ng L⁻¹. Para a etapa de adsorção os autores transferiram o BiFE à solução contendo Ni(II) e Co(II) na presença do agente complexante em tampão amônia 1,0 mol L⁻¹ pH 9,2. Depois de 300 s, a redução eletroquímica

dos íons metálicos adsorvidos na superfície do BiFE, por voltametria de onda quadrada, forneceu limite de detecção de 70 ng L^{-1} para o Co(II) e 100 ng L^{-1} para o Ni(II).

O eletrodo de filme de bismuto preparado sobre eletrodo de carbono vítreo foi investigado por Hutton *et al.* ⁽¹⁵⁾ na determinação de Cd(II) e Co(II). Para a determinação de Cd(II), o BiFE foi obtido através da eletrodeposição *in situ* com os parâmetros de deposição ajustados em $-1,0 \text{ V}$, 120 s e solução de Bi(III) $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ na presença dos analitos em eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 4,5. Por meio da voltametria de redissolução anódica o método desenvolvido para o Cd(II) forneceu um limite de detecção de $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. No caso do Co(II) os autores empregaram um eletrodo de filme de bismuto preparado por eletrodeposição *ex situ* em solução contendo Bi(III) 100 mg L^{-1} e potencial de deposição de $-1,0 \text{ V}$ durante 120 s . Os íons Co(II) complexados com dimetilglioxima foram submetidos a uma etapa de pré-concentração por adsorção sobre o BiFE e através da redissolução eletroquímica de onda quadrada em tampão amônia $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,2), o método desenvolvido para a determinação de Co(II), por redução, forneceu um limite de detecção de $0,1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

Hutton, *et al.* ⁽¹⁶⁾ também utilizaram a voltametria adsortiva de redissolução para desenvolver um método eletroanalítico empregando eletrodo de filme de bismuto na determinação simultânea de Co(II) e Ni(II). O BiFE foi preparado sobre um microeletrodo de fibra de carbono como substrato, através da eletrodeposição *ex situ*. Os parâmetros de deposição foram otimizados e os valores selecionados foram: potencial de deposição de $-0,3 \text{ V}$, tempo de aplicação do potencial de 60 s e concentração de Bi(III) 50 mg L^{-1} . Com o tempo de adsorção de 2 min e a voltametria de redissolução catódica foi obtido um limite de detecção de 70 ng L^{-1} para o Co(II) e 90 ng L^{-1} para o Ni(II).

Ainda por voltametria adsortiva de redissolução, Kefala, *et al.* ⁽¹⁷⁾ investigaram a aplicabilidade do eletrodo de filme de bismuto na determinação de Al(III) na presença de cupferron (*N*-nitroso-*N* fenilhidroxilamina). O BiFE foi preparado através da eletrodeposição *ex situ* sobre o eletrodo de carbono vítreo imerso em solução de Bi(III) 100 mg L^{-1} contendo tampão acetato $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 e com aplicação de $-1,0 \text{ V}$ durante 4 min . O Al(III) complexado com cupferron foi adsorvido na superfície do BiFE por 240 s e através da redução, por voltametria de onda quadrada, o método forneceu um limite de detecção de $0,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Os autores verificaram a precisão do método desenvolvido

na análise de Al(III) em amostras de água e de indústria metalúrgica, onde obtiveram bons resultados.

Hutton, *et al.*⁽⁵⁾ utilizaram o eletrodo de filme de bismuto para a determinação de Sn(IV) na presença de catecol em amostras de água do mar. A eletrodeposição *in situ* permitiu a deposição simultânea do Bi metálico e do Sn metálico na superfície do eletrodo de carbono vítreo. Os autores utilizaram o catecol, como agente complexante do Sn(IV), o que permitiu maior sensibilidade ao método na determinação do Sn(IV). Os parâmetros de deposição foram otimizados de acordo com o sinal analítico de redissolução anódica do Sn(IV), por voltametria de onda quadrada, e os valores selecionados foram: potencial de deposição de -1,0 V por 120 s e solução de Bi(III) 100 mg L⁻¹ contendo tampão acetato 0,1 mol L⁻¹, pH 4,5. O método desenvolvido forneceu limite de detecção de 0,26 µg L⁻¹.

Long e Nagaosa⁽¹⁸⁾ aplicaram o eletrodo de filme de bismuto, preparado através da eletrodeposição *in situ*, sobre um substrato sólido a base de grafite, na determinação catódica direta de Se(IV). O Bi metálico foi depositado aplicando um potencial de -0,8 V por 30 s sobre o substrato em solução de Bi(III) 200 µg L⁻¹ e Se(IV) na concentração a ser determinada, contendo como eletrólito suporte KCl 20 g L⁻¹ e HCl 0,5 mol L⁻¹, respectivamente. A variação no sentido negativo de potencial, por voltametria de onda quadrada, forneceu um pico de redução do Se(IV) em -1,150 V, o qual foi utilizado pelos autores para o desenvolvimento do método eletroanalítico, fornecendo um limite de detecção de 0,025 µg L⁻¹.

Cao, *et al.*⁽¹⁰⁾ utilizaram um eletrodo de filme de bismuto preparado sobre um eletrodo de pasta de carbono modificado com zeólita sintética como substrato, para determinação simultânea por voltametria de redissolução anódica, de Cd(II) e Pb(II). O BiFE foi preparado pelo método *in situ*, aplicando um potencial de -1,2 V por 200 s em uma solução contendo Bi(III) 200 µg L⁻¹, Cd(II) e Pb(II), na concentrações de interesse, em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹, pH 4,5. Os limites de detecção obtidos com o método desenvolvido foi de 0,08 µg L⁻¹ para o Cd(II) e de 0,10 µg L⁻¹ para o Pb(II).

Serrano, *et al.*⁽¹⁹⁾ estudaram a aplicação de um eletrodo de filme de bismuto para a determinação de Cd(II), Pb(II) e Zn(II) por voltametria de redissolução. Três eletrodos de filme de bismuto foram preparados através da eletrodeposição *ex situ* sobre o eletrodo de carbono vítreo imerso em uma solução de Bi(III) 100 mg L⁻¹ contendo tampão acetato 0,2 mol L⁻¹ (pH 4,5) por meio da aplicação do potencial

de deposição de $-0,6$ V por 300 s. Os voltamogramas de redissolução de pulso diferencial do Pb(II) pré-concentrado sobre o BiFE em potencial de deposição de $-0,8$ V durante 60 s, renderam picos de oxidação em potencial próximo a $-0,65$ V, fornecendo um limite de detecção na ordem de 10^{-5} g L⁻¹. Para o Cd(II) a etapa de pré-concentração foi realizada aplicando o potencial de deposição de $-1,05$ V por 60 s em solução KBr 0,01 mol L⁻¹, sendo que a redissolução anódica produziu um pico de oxidação em $-0,87$ V, fornecendo um limite de detecção em 10^{-4} g L⁻¹. Já para a determinação de Zn(II), o potencial de pré-concentração aplicado foi de $-1,60$ V por 60 s nas mesmas condições e sobre o mesmo substrato, rendendo um limite de detecção por voltametria de redissolução anódica na ordem de 10^{-4} g L⁻¹.

Estes autores verificaram a influência da concentração de Bi(III) e dos parâmetros de deposição e a resposta do eletrodo para a determinação dos íons metálicos complexados. Para o Pb(II) complexado com diferentes tiol-peptídeos o BiFE apresentou dados eletroanalíticos mais simples do que os apresentados com o MFE, sobre o qual os picos dos complexos são sobrepostos. Para o Cd(II) e o Zn(II), a separação dos picos dos complexos obtidos depende da concentração dos íons metálicos. Em concentrações baixas, um único sinal de pico é obtido em potenciais mais negativos para cada íon metálico, comportando-se de forma linear com a concentração do íon metálico. Para concentrações maiores, um segundo pico também aparece e acompanha o aumento da concentração dos íons.

Alberich *et al.*⁽²⁰⁾ realizaram um estudo semelhante, comparando o eletrodo de mercúrio estático com o eletrodo de filme de bismuto aplicados em análises de Cd(II) e Pb(II) complexados com tiol-peptídeos. Mais uma vez, os estudos mostraram que na presença de ambos os íons metálicos complexados, os mesmos sinais característicos foram observados para ambos os eletrodos, mas a melhor resolução foi obtida a partir do BiFE, demonstrando assim que o emprego do BiFE pode ser uma alternativa valiosa frente aos eletrodos de mercúrio.

Um eletrodo de filme de bismuto modificado com polímero ácido sulfúrico *p*-aminobenzoico, poly(*p*-ABSA), foi desenvolvido por Luo *et al.*⁽²¹⁾ e aplicado no desenvolvimento de um método eletroanalítico para a quantificação simultânea dos íons Cd(II), Pb(II) e Zn(II). Um filme do polímero foi eletrodepositado por 10 ciclos voltamétricos consecutivos, através da variação de potencial de $-1,0$ a $2,0$ V, sobre o eletrodo de carbono vítreo imerso em solução tampão fosfato 0,10 mol L⁻¹ (pH 7,6) e poly(*p*-ABSA) 2,0 mol L⁻¹. O eletrodo resultante foi utilizado como

substrato no preparo do BiFE por meio da eletrodeposição *in situ*, com potencial de deposição ajustado em -1,4 V por 240 s, em solução contendo Bi(III) 150 mg L⁻¹ e os íons metálicos de interesse, em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,3) como eletrólito suporte. A voltametria de redissolução anódica foi empregada para a determinação dos íons metálicos sobre o BiFE modificado e o método desenvolvido forneceu limite de detecção de 0,80 para Cd(II), 0,63 para o Pb(II) e 0,62 µg L⁻¹ para o Zn(II).

Nagaosa e Zong ⁽²²⁾ empregaram o eletrodo de filme de bismuto na determinação de Sb(III) e Sb(V). O BiFE, através do método *in situ*, foi depositado aplicando um potencial de -0,5 V por 30 s em solução contendo Bi(III) 100 µg L⁻¹, KCl 10 g L⁻¹ e Sb(III) e Sb(V) em HCl 0,5 mol L⁻¹. Os íons metálicos de antimônio foram simultaneamente reduzidos na superfície do eletrodo e quantificados através da redissolução anódica. O método desenvolvido forneceu um pico de oxidação em -1,150 V e um limite de detecção de 2 ng L⁻¹ sendo aplicado para determinação de Sb(III) e Sb(V) totais em amostras de água de rio e de água do mar.

Um estudo utilizando o eletrodo de filme de bismuto para a determinação de In(III) na presença de íons Cd(II) e Pb(II), por voltametria de redissolução anódica, foi realizado por Economou *et al.* ⁽²³⁾ Estes estudos mostraram que com uma escolha minuciosa das condições experimentais para a deposição do filme, foi possível a determinação dos íons In(III) sem a interferência dos íons Cd(II) e Pb(II) por sobreposição de picos. O método apresentou uma resposta linear para a determinação dos íons In(III) na faixa de concentração de 10-90 µg L⁻¹ quando da presença de Cd(II) 40 µg L⁻¹ e Pb(II) 80 µg L⁻¹ e da presença de Cd(II) 5 µg L⁻¹ e Pb(II) 10 µg L⁻¹, In(III) pode ser quantificado sobre BiFE nas concentrações entre 2-16 µg L⁻¹.

Em adição, visando a aplicabilidade do BiFE, vários estudos foram realizados com o intuito de demonstrar a influência dos parâmetros de deposição *in situ* na performance do BiFE nas análises por redissolução. ^{(2) (8), (24)} Estes estudos mostram que o substrato empregado, o potencial e tempo de deposição bem como a composição da solução onde o BiFE é obtido são determinantes da morfologia dos cristais de Bi metálico que formam o filme e assim, na sensibilidade, na seletividade e na reprodutibilidade dos métodos voltamétricos em que se faz uso do BiFE.

2.1.3 Aplicações do eletrodo de filme de bismuto para a determinação de compostos orgânicos

Desde a introdução do eletrodo de filme de bismuto em análises por redissolução, muitos trabalhos já foram desenvolvidos demonstrando a viabilidade deste eletrodo como alternativa aos eletrodos de mercúrio na identificação e quantificação de íons metálicos em níveis traços. No entanto, ainda pouco tem sido feito a respeito da aplicação deste novo eletrodo na determinação de compostos orgânicos.

Em 2001, Ogorevc *et al.* ⁽³⁾ descreveram o BiFE como uma alternativa promissora aos eletrodos de mercúrio para a determinação catódica direta de compostos orgânicos. No trabalho realizado por estes autores, o BiFE foi preparado envolvendo a eletrodeposição *ex situ* do Bi metálico, sobre um eletrodo de carbono vítreo. Os parâmetros experimentais de deposição afetaram de forma significativa o desempenho do eletrodo e, assim, foram otimizados de acordo com a resposta eletroquímica do BiFE à redução do 2-nitrofenol. Os autores também mostraram que a janela eletroquímica do BiFE em potenciais negativos varia conforme o pH do meio, como consequência da redução dos íons H^+ presentes na solução de análise. Para o método desenvolvido, o BiFE demonstrou uma ótima reprodutibilidade e revelou similar ou melhor comportamento voltamétrico quando comparado com os resultados obtidos sobre o eletrodo de mercúrio e o eletrodo de carbono vítreo. A partir deste trabalho, começaram os estudos para demonstrar a aplicabilidade do BiFE como alternativa aos eletrodos de mercúrio também na determinação de compostos orgânicos.

Em 2004, Ogorevc *et al.* ⁽²⁵⁾ seguindo os estudos realizados em 2001, empregaram o eletrodo de filme de bismuto para a determinação catódica direta dos compostos 2-nitrofenol, 4-nitrofenol e 2,4-dinitrofenol. Com os parâmetros de deposição *ex situ* otimizados (-1,0 V por 60 s e Bi(III) 5,0 mg L⁻¹ em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, pH 4,5) o BiFE foi obtido e transferido para a solução de análise, onde serviu como eletrodo de trabalho na redução por voltametria de onda quadrada dos compostos orgânicos, em tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ pH 4,0. Nesse sentido, demonstrando a sensibilidade do BiFE, o método desenvolvido forneceu um limite de detecção de 0,3, 0,6 e 0,7 µg L⁻¹ para o 2-nitrofenol, 4-nitrofenol e 2,4-dinitrofenol, respectivamente.

Em 2006, Tóth *et al.* ⁽²⁶⁾ verificaram a aplicabilidade do eletrodo de filme de bismuto na determinação do inseticida thiamethoxan. Sob condições *ex situ* de deposição, o BiFE foi preparado sobre um eletrodo

de carbono vítreo, pela aplicação de $-0,25$ V durante 60 s em solução contendo Bi(III) $4,0$ mg L⁻¹ e KBr $0,5$ mol L⁻¹ em HCl $1,0$ mol L⁻¹, sob agitação constante. Depois de preparado, o BiFE foi submetido à determinação do inseticida, através da redução do composto thiamethoxan, em tampão Britton-Robinson pH 8,0, por voltametria de pulso diferencial. O método proposto apresentou um limite de detecção de $0,38$ mg L⁻¹, respondendo de forma satisfatória para a determinação de thiamethoxan em amostras de batatas tratadas com este inseticida.

Posteriormente, Arribas *et al.* ⁽²⁷⁾ empregaram um eletrodo de filme de bismuto na determinação catódica direta do herbicida metamitron. O BiFE foi preparado através da aplicação de $-0,6$ V durante 240 s sobre o eletrodo carbono vítreo, em solução contendo Bi(III) $0,1$ g L⁻¹ em tampão acetato $0,1$ mol L⁻¹, pH 4,5. A determinação do herbicida foi realizada pela redução direta sobre o BiFE por voltametria de pulso diferencial apresentando um limite de detecção de $0,40$ mg L⁻¹.

Semelhantemente um estudo sobre a determinação do pesticida organofosforado metil paration foi realizado por Du *et al.* ⁽²⁸⁾ Os parâmetros otimizados para a preparação do BiFE foram $-1,0$ V por 80 s em solução de tampão acetato $0,1$ mol L⁻¹, pH 4,5 contendo Bi(III) $1,25$ g L⁻¹ e o surfactante trimetilcetil brometo de amônio. Na seqüência, o BiFE foi empregado na determinação do pesticida e o método desenvolvido forneceu um limite de detecção de $1,2$ mg L⁻¹.

Moreno *et al.* ⁽²⁹⁾ comprovaram a aplicabilidade do BiFE, também preparado pelo método *ex situ* sobre eletrodo de carbono vítreo, na determinação dos herbicidas metamitron, metribuzin, hidrazina maleica e atrazina. O BiFE foi preparado nas condições experimentais otimizadas para a determinação do herbicida metribuzin, solução de Bi(III) 125 mg L⁻¹ em H₂SO₄ $0,10$ mol L⁻¹ e aplicação de potencial $-0,530$ V por 360 s. O metribuzin foi determinado através da redução eletroquímica por voltametria de onda quadrada sobre o BiFE preparado e o método apresentou um limite de detecção de $1,2$ mg L⁻¹. O método desenvolvido, quando aplicado na determinação dos herbicidas, foi mais sensível e preciso do que a determinação dos mesmos herbicidas com eletrodo de carbono vítreo.

Barrado *et al.* ⁽³⁰⁾ utilizaram um eletrodo de filme de bismuto para desenvolver um detector amperométrico para determinação, por injeção em fluxo de diclofenaco de sódio, em formulações farmacêuticas. O BiFE preparado pela aplicação de $-1,4$ V em solução de Bi(III)

apresentou bons resultados como detector amperométrico, sendo que o método desenvolvido forneceu um limite de detecção de $1,21 \text{ mg L}^{-1}$.

Sotiropoulos *et al.* ⁽¹²⁾ desenvolveram um eletrodo de bismuto incorporando um pó de Bi metálico na composição de um eletrodo de pasta de carbono para a determinação de cisteína. O eletrodo de pasta de carbono foi modificado com 17 % de pó de Bi metálico e utilizado como substrato para o preparo do eletrodo de bismuto, através da eletrodeposição *in situ* do complexo Bi(III)-cisteína. A aplicação do potencial de $-0,4 \text{ V}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,7, na presença de cisteína leva à oxidação do Bi metálico a Bi(III) que por sua vez, complexa a cisteína presente em solução, atraindo-a para a superfície do eletrodo. Aplicando uma variação de potencial de $-0,4$ a $-0,8 \text{ V}$, por voltametria de onda quadrada, reduz-se a cisteína complexada sobre o eletrodo de bismuto, gerando um pico de redução em aproximadamente $-0,55 \text{ V}$, o que respondeu de forma linear em duas faixas de concentração: 1 a $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, quando o potencial era aplicado durante 600 s e de 10 a $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para 100 s, as quais forneceram limites de detecção de 0,3 e $2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Recentemente, Nigović *et al.* ⁽³¹⁾ revelaram o excelente desempenho de um eletrodo de filme de bismuto preparado *ex situ* sobre um eletrodo de carbono vítreo, na determinação das drogas Sulfasalazina e Olsalazina. O BiFE foi obtido através da aplicação do potencial de deposição de $-1,0 \text{ V}$ durante 60 s em solução de Bi(III) 5 mg L^{-1} contendo tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5. Posteriormente, foi empregado na redução das drogas por voltametria de onda quadrada, em tampão Britton-Robinson pH 4,5, fornecendo um limite de detecção de $0,557 \text{ mg L}^{-1}$ para a Sulfasalazina e $0,066 \text{ mg L}^{-1}$ para a olsalazina.

Alguns trabalhos ainda têm focado a utilização do eletrodo de filme de bismuto na determinação de compostos organometálicos, acompanhando o sinal eletroquímico do composto metálico sobre o BiFE. Li *et al.* ⁽³²⁾ desenvolveram um método eletroanalítico para a determinação de metalotioneínas complexadas com Cd(II) utilizando um eletrodo de filme de bismuto. No propósito, o BiFE preparado pelo método *in situ*, com a aplicação do potencial de deposição de $-1,4 \text{ V}$ durante 600 s sobre o eletrodo de carbono vítreo, imerso em uma solução de Bi(III) $0,209 \text{ g L}^{-1}$ contendo HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, apresentou excelente desempenho e um limite de detecção de $0,24 \text{ mg L}^{-1}$, sugerindo mais uma aplicabilidade do eletrodo de filme de bismuto.

Alguns autores, além de demonstrar a aplicabilidade do BiFE na determinação de compostos orgânicos, realizaram estudos da morfologia

do filme de bismuto obtido de acordo com a variação dos parâmetros de deposição (o potencial, o tempo e a concentração de Bi(III)).^{(2), (8), (24)}

2.2 Biodiesel

O biodiesel é um combustível produzido a partir de fontes renováveis como gorduras animais e óleos vegetais extraídos da mamona, dendê (palma), girassol, babaçu, amendoim, pinhão manso, soja. A produção do biodiesel a partir de diversas oleaginosas também é vinculada à propensão de cada região, proporcionando o desenvolvimento em regiões isoladas que possuem disponibilidade destas plantas.

É um biocombustível que em comparação ao óleo diesel oriundo de fósseis, emite menor quantidade de poluentes à atmosfera. A ANP através da resolução nº 240 de 25 de agosto de 2003 estabeleceu a especificação do biodiesel puro a ser adicionado ao óleo diesel, na proporção de até 20 % em volume, destinado ao uso automotivo para testes em veículos a serviços de empresas.⁽³³⁾

2.2.1 Composição química

O processo mais utilizado para a produção do biodiesel envolve a transesterificação de triglicerídeos de origem vegetal ou animal com um álcool de cadeia curta, podendo ser o metanol ou o etanol. Um catalisador é adicionado à reação de transesterificação para garantir um bom rendimento da síntese e minimizar os problemas associados à corrosão dos equipamentos, além de facilitar a separação e purificação dos subprodutos indesejados.^{(34), (35)}

Nas reações de transesterificação para a produção de biodiesel estão sendo empregados alguns catalisadores básicos, NaOH e/ou KOH, bem como, compostos a base de Sn(IV) tais como SnO₂⁽³⁵⁾, SnCl₂⁽³⁶⁾ e complexos com Sn(IV).^{(34), (37)} Um processo de purificação do produto final do biodiesel, através de sucessivas lavagens com água ou purificação com resinas, deve ser aplicado a fim de eliminar resíduos destes catalisadores, que possam vir a fazer parte da composição química do combustível.

Devido à composição química dos diferentes tipos de óleos vegetais disponíveis na natureza, o biodiesel apresenta em sua composição química uma mistura de ésteres derivados dos ácidos graxos, água, resíduos de carbono, CO e CO₂. Além disso, fazem parte

da sua composição química, uma mistura de subprodutos como cinzas sulfatadas, compostos de enxofre e alguns elementos como sódio, potássio, cálcio, magnésio e fósforo, que devem ser separados e retirados do biodiesel por algum processo de purificação.⁽³⁸⁾

2.2.2 *Análise química*

Para que o biodiesel de origem nacional ou importado possa ser comercializado em território brasileiro, uma série de características da composição química do biodiesel deve estar especificada para a regulamentação do produto para o mercado.

Várias análises são necessárias para a determinação da qualidade do biodiesel, entre elas a determinação do ponto de fulgor, da viscosidade, da massa específica e de alguns elementos, como o sódio, o potássio, o magnésio e o cálcio. Além destes elementos, também é necessária a determinação de fósforo, pois este elemento dificulta a purificação do biodiesel e pode levar à formação de incrustações de fosfatos no motor. Também se fazem necessários outros testes, tais como a determinação da corrosividade ao cobre, de resíduos de carbono e do índice de acidez. Os métodos utilizados e os limites máximos permitidos para cada teste estão estabelecidos pela ANP e podem ser encontrados na resolução nº 7 de 20 de março de 2008.

2.2.3 *Determinação de metais*

A presença de metais alcalinos (sódio e potássio) e de metais alcalino-terrosos (magnésio e cálcio) no biodiesel pode ser proveniente principalmente dos catalisadores básicos utilizados no processo de obtenção e do desgaste das resinas que são utilizadas para purificação do biodiesel, as quais normalmente apresentam óxidos de Ca e Mg em sua composição. Os catalisadores devem ser removidos no final da reação por um processo realizado comumente por borbulhamento de gás e lavagem com água.⁽³⁹⁾

Os íons alcalinos e alcalinos-terrosos presentes no combustível podem reagir com os ácidos graxos livres ou com os triglicerídeos do biodiesel, formando sabões insolúveis. Conseqüentemente, estes sabões podem causar danos ao motor, bem como o entupimento dos injetores, levando ao desvio do início da injeção ou na quantidade de combustível injetada, além de depósitos em bicos e peças fixas e, por isso, devem ser monitorados.

As técnicas empregadas para determinação de íons metálicos em combustíveis e bicombustíveis normalmente são técnicas espectroanalíticas, sendo que a mais utilizada é a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS).^{(40), (41), (42)} e plasma indutivamente acoplado (ICP-MS),⁽⁴³⁾ (ICPOES).⁽⁴⁴⁾

2.2.3.1 Determinação de Sn(IV) e Sn(II)

Até o momento, não se encontra na literatura pertinentes trabalhos que relatam a determinação de Sn(IV) e Sn(II) em amostras de biodiesel, talvez por este ser um catalisador ainda em análise para a produção do combustível. No entanto, em outras matrizes estes íons são geralmente quantificados utilizando técnicas cromatográficas, mais comumente a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), embora poucos trabalhos tenham sido reportados.

Kaur *et al.*⁽⁴⁵⁾ apresentaram uma revisão da aplicação da micro-extração em fase sólida (SPME), em conjunto com técnicas como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada ao detector ultra-violeta e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), aplicadas na quantificação de compostos organometálicos de Sn(IV). Medel *et al.*⁽⁴⁶⁾ utilizaram a micro-extração em fase sólida no *headspace* (HS-SPME) e a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (GC-MS) para a quantificação de compostos organometálicos de Hg(II), Pb(II) e Sn(IV) em amostras de água de rio e de água de mar. Os organometálicos quantificados foram o monobutilestanho, o dibutilestanho e o tributilestanho, e o método apresentou um limite de detecção de 1,4, 7,0 e 16,8 ng L⁻¹, respectivamente.

Madrakian *et al.*⁽⁴⁷⁾ descreveram um método espectrofotométrico para a determinação de uma mistura binária de Sn(II) e Sn(IV) em amostras de água e de suco de frutas. O método utilizou a diferença de cinética da reação do Sn(II) e do Sn(IV) com o corante violeta de pirocatecol, em pH 4,0. As absorvâncias foram lidas em 550 nm e o método apresentou resposta linear na faixa de concentração de 0,1 a 1,80 mg L⁻¹, com um limite de detecção de 0,03 mg L⁻¹ e de 0,05 mg L⁻¹, para o Sn(II) e o Sn(IV), respectivamente.

As técnicas eletroanalíticas de redissolução têm sido apresentadas como uma ferramenta valiosa na determinação de metais em níveis traço de concentração. O aumento da sensibilidade é atribuído à etapa de pré-concentração, onde o metal é depositado na superfície do eletrodo de

trabalho antes da análise, contudo, poucos trabalhos foram publicados até o momento, empregando métodos eletroanalíticos para a determinação de Sn(IV) e de Sn(II).

Heppeler *et al.* ⁽⁴⁸⁾ utilizaram um eletrodo gotejante de mercúrio e a voltametria de redissolução de adsorção para a quantificação de níveis traço de Sn(IV) em amostras de água. O Sn(IV) complexado com o ácido cloranílico foi adsorvido na superfície do eletrodo de mercúrio em uma etapa de pré-concentração, aplicando o potencial de deposição de -0,2 V/ Ag/AgCl por 400 s. Depois da etapa de pré-concentração, o Sn(IV) complexado foi dissolvido da superfície do eletrodo através de uma varredura de variação de potencial no sentido negativo, por voltametria de pulso diferencial. Os autores observaram dois picos de redução associados aos processos de redução: de Sn(IV) a Sn(II) em -0,36 V e de Sn(II) a Sn metálico em -0,54 V. O sinal de redução em potencial mais negativo foi mais sensível e escolhido pelos autores para investigar o método desenvolvido. O método apresentou uma curva de calibração de 0,25 a 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ e um limite de detecção de 23 ng L^{-1}

Hubert *et al.* ⁽⁴⁹⁾ desenvolveram um método analítico para a determinação de íons de Sn(IV), na presença de Sn(II), em amostras de uma borracha de silicone. O procedimento baseou-se na redução do Sn(IV) em uma solução contendo Sn(II) e tampão carbonato 0,2 mol L^{-1} pH 9,8 sobre um eletrodo de mercúrio de gota estática por voltametria de pulso diferencial. A variação de potencial de -0,1 a -1,8 V gerou dois picos de redução, um pico em -0,61 V referente à redução do Sn(IV) a Sn(II) e outro em -0,84 V referente a redução do Sn(II) a Sn metálico. Para a determinação nas amostras de borracha, um processo de extração líquido/líquido do Sn(IV) foi otimizado utilizando heptano como fase orgânica. Para a validação do método, os autores utilizaram o sinal analítico no potencial mais negativo, o qual respondeu de forma linear na faixa de concentração de 10 a 40 mg L^{-1} , com limite de detecção de 1,51 mg L^{-1}

Prior *et al.* ⁽⁵⁰⁾ também desenvolveu um método para a determinação de Sn(IV), empregando um eletrodo de filme de bismuto. O procedimento consistiu na formação do filme de bismuto *in situ* sobre um eletrodo de carbono vítreo, aplicando um potencial de deposição de -1,3 V por 120 s em solução de Bi(III) $5 \times 10^{-5} \text{mg L}^{-1}$ contendo NaBr 2,5 mol L^{-1} . A densidade de corrente para a oxidação do Sn metálico acumulado na superfície do BiFE, por voltametria de onda quadrada, apresentou um comportamento linear na faixa de concentração de 20 a 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. O BiFE apresentou resultados semelhantes e/ou melhores

àqueles fornecidos pelo tradicional EFM. Além disso, o método foi adequado para a análise simultânea de Sn(IV), Cd(II) e In(III).

Ultimamente a importância da determinação do Sn(IV) está associada a sua utilização como uma nova proposta de catalisador às reações de produção do biodiesel, sendo que deve ser removido do produto final do combustível por processos de purificação. No entanto, o monitoramento do Sn(IV) remanescente no biodiesel visa avaliar o processo de purificação do combustível utilizado, bem como, estimar o tempo de manutenção dos equipamentos. Assim, evitam-se perdas materiais e de vidas, decorrentes dos efeitos da corrosão resultantes do constante atrito entre as partes metálicas dos motores na presença deste tipo de agente químico, em altas temperaturas e pressão.

2.3 Sulfadiazina

2.3.1 Histórico

A Sulfadiazina (SDZ) é um medicamento pertencente ao grupo dos antibióticos sintéticos conhecidos como sulfonamidas ou sulfas, os quais foram descobertos em testes realizados com colônias de bactérias utilizando o composto Prontosil, um corante sintetizado por Klarer e Mietzsch na Alemanha, em 1932.

O Prontosil não apresentava atividade antibacteriana *in vitro*, mas Domagk, em 1935, verificou um notável efeito *in vivo* contra bactérias estreptococos. A atividade antibacteriana resultava da conversão do Prontosil em *p*-aminobenzeno sulfonamida, um fármaco ativo denominado de Sulfonilamida, sendo fabricado por várias drogarias com mais de 70 nomes conhecidos. Muitos químicos da época dedicaram-se na tentativa de modificar a molécula visando aumentar as propriedades biológicas e/ou espectro antimicrobiano. A Sulfapiridina foi comprovada como a primeira droga a ser efetiva no tratamento das pneumonias pneumocócicas e com o maior espectro antimicrobiano para a época. Mais tarde surgiram a Sulfatiazolina e a Sulfadiazina, as quais combateram a cianose sem causar os vômitos indesejáveis de outras drogas mais antigas.^{(51), (52)}

A Figura 1 mostra a estrutura química geral das sulfonamidas. As diversas variações existentes hoje, como medicamentos, foram sintetizadas a partir da substituição no grupo sulfonamida ($-\text{SO}_2\text{NH-R}$) e/ou no grupo $-\text{NH}_2$ presentes no anel benzênico.

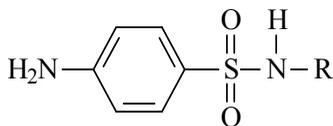


Figura 1: Estrutura geral das sulfonamidas

A Sulfadiazina (Figura 2) é umas das sulfas mais utilizadas no tratamento de uma série de infecções. Na forma de tabletes é a droga mais indicada no tratamento da nocardiose, uma doença infecciosa que afeta o pulmão, bem como, utilizada no tratamento de infecções do trato urinário. É também indicada no tratamento de doenças reumáticas para substituir a penicilina, no caso de pacientes alérgicos. ⁽⁵²⁾ Como a Sulfadiazina de prata, é indicada para a prevenção e o tratamento de feridas, tais como queimaduras, úlceras venosas e feridas cirúrgicas infectadas e evita infecções em cateterismos venosos e arteriais. ⁽⁵³⁾

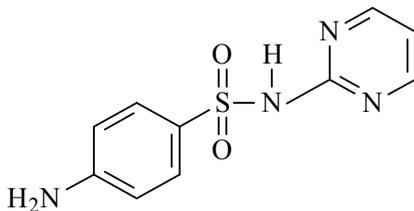


Figura 2: Estrutura química da Sulfadiazina

2.3.2 Análise química das sulfonamidas

O interesse no desenvolvimento de métodos analíticos seguros e de rotina tem origem no fato de que todo medicamento, antes de chegar ao consumidor, deve ser fiscalizado. O produto deve conter o registro e obedecer a todos os parâmetros exigidos pelo órgão nacional responsável por tal fiscalização. Além disso, existe uma tendência na procura de estratégias que visam a reduzir os custos de medicamentos, bem como, principalmente a substituição da importação pela produção local. Para isso, é de fundamental importância uma agenda de investimentos em inovação e gerenciamento de qualidade dos fármacos produzidos. No Brasil, quem faz essa inspeção é a Agência Nacional de

Vigilância Sanitária (ANVISA), que está diretamente vinculada ao Ministério da Saúde.

O método utilizado para o controle de qualidade dos medicamentos varia conforme a legislação de cada país. Para a determinação da Sulfadiazina, a farmacopéia britânica utiliza um método baseado na titulação amperométrica indireta da Sulfadiazina com o par redox $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$, em meio ácido, ⁽⁵⁴⁾ enquanto a farmacopéia americana utiliza a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). ⁽⁵⁵⁾ Além do controle de qualidade de medicamentos, a contaminação por sulfas, devido ao uso excessivo e indiscriminado, espalhou-se pelos solos, águas de superfície e esgotos. Em alimentos de origem animal como leite, ovos e carnes, a contaminação é devido à aplicação desses antibióticos em doses sub-terapêuticas nos animais, com o intuito de favorecer o crescimento acelerado e de diminuir os custos de produção destes alimentos. Estudos indicam que a toxicidade destes antibióticos pode causar tumores malignos e hipersensibilidade das glândulas tireóides, tanto em seres-humanos quanto em animais. No Brasil, o limite máximo permitido de resíduos de sulfonamidas em tecidos comestíveis de animais é de $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$, ⁽⁵⁶⁾ sendo que o monitoramento é efetuado através do Plano Nacional de Controle de Resíduos (PNCR) executado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em sua rede de laboratórios credenciados.

2.3.3 Determinação de sulfonamidas por métodos de separação

O método oficial para a determinação de sulfonamidas, baseado na farmacopéia americana ⁽⁵⁵⁾ é a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Na literatura pertinente são encontrados vários trabalhos empregando esta técnica, a qual vem sendo utilizada como parâmetro de comparação para a validação de metodologias na determinação de sulfonamidas.

O primeiro relato de análise de sulfonamidas empregando a técnica HPLC, foi descrito por Vree *et al.*, ⁽⁵⁷⁾ em 1995. Os autores desenvolveram um método para a quantificação da Sulfadiazina e de cinco de seus metabólitos em amostras de urina e de sangue de macaco por HPLC. Os resultados forneceram limites de detecção para a Sulfadiazina em sangue e em urina, de $0,20 \text{ mg L}^{-1}$ e de $0,08 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Para os metabólitos da Sulfadiazina, os limites de detecção foram encontrados na faixa de $0,07$ a $0,12 \text{ mg L}^{-1}$.

Furasawa e Kichida ⁽⁵⁸⁾ propuseram um método simplificado para o monitoramento de rotina do resíduo de sete sulfonamidas (Sulfadiazina, Sulfamerazine, Sulfadimidine, Sulfamonometoxina, Sulfametoxazol e Sulfaquinoxaline) em leite empregando a técnica do HPLC. O limite de detecção para as sete sulfonamidas esteve na faixa de 0,005 a 0,02 mg L⁻¹. Feltrin e colaboradores ⁽⁵⁹⁾ determinaram o teor de Sulfadimetoxina em leite por HPLC, utilizando cartuchos comerciais C-8 na extração das sulfas (Sulfatiazol, Sulfametazina e Sulfadimetoxina). Nas condições de análise, a presença de interferentes impediu a quantificação de Sulfatiazol e de Sulfametazina. O limite de detecção obtido para a Sulfadimetoxina foi de 4,6 µg L⁻¹.

Nagaraja *et al.* ⁽⁶⁰⁾ aplicaram um método espectrofotométrico para a quantificação da Sulfacetamida, Sulfadiazina, Sulfaguanidina, Sulfamerazina, Sulfametazina e Sulfametoxazol em medicamentos. O método consistiu na reação de diazotização destas sulfas e o produto formado é acoplado com o reagente 8-hidroxiquinolina, em meio alcalino. A reação produziu compostos de coloração vermelha com absorção máxima em 500 nm. O método respondeu de forma linear na faixa de concentração de 0,1 a 7,0 g L⁻¹ e os limites de detecção encontrados foram de 0,03 a 0,05 g L⁻¹, respectivamente. Através de um método semelhante, Ya-hong *et al.* ⁽⁶¹⁾ utilizaram a reação de diazotização da Sulfadiazina seguida da reação de acoplamento com o reagente α -naphthilamina, sendo que a Sulfadiazina foi quantificada em medicamentos através da espectrofotometria, com injeção em fluxo. O método desenvolvido forneceu um limite de detecção de 0,6 g L⁻¹.

Croubels *et al.* ⁽⁶²⁾ desenvolveram métodos utilizando cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massa (LC-MS) e cromatografia líquida acoplada ao detector de ultravioleta (LC-UV) para a determinação simultânea de Sulfadiazina e Trimetropina, em plasma de cachorros da raça Beagle. Através do método LC-UV, os limites de detecção obtidos para a Sulfadiazina e para a Trimetropina, foram de 19 mg L⁻¹ e de 24 mg L⁻¹, respectivamente. Já para o método LC-MS, os limites de detecção para a SDZ e para a Trimetropina, foram de 20 mg L⁻¹ e de 62 mg L⁻¹, respectivamente. Yu-Qin *et al.* ⁽⁶³⁾ utilizaram a eletroforese capilar (CE) para desenvolver um método para a quantificação simultânea da Sulfadiazina e Sulfamethoxazol em formulações farmacêuticas, obtendo um limite de detecção de 1,7 µg L⁻¹ e de 1,4 µg L⁻¹, respectivamente.

Wang *et al.* ⁽⁶⁴⁾ apresentaram uma revisão sobre várias técnicas, incluindo a cromatografia líquida (LC), já utilizados no

desenvolvimento de método analítico para análises residuais de sulfas em amostras de produtos comestíveis de origem animal. Os autores revelaram que as técnicas HPLC e GC, embora sejam sensíveis e seletivas, envolvem procedimentos trabalhosos e caros, sendo inviáveis para a análise de um grande número de amostras. Quanto aos métodos microbiológicos, os autores descrevem que não são necessários equipamentos sofisticados e caros, pois trabalham com população de amostras homogêneas. Em adição, segundo os autores, a técnica LC, embora seja uma importante ferramenta no desenvolvimento de método de separação, necessita de melhoramento na precisão dos dados.

2.3.4 *Determinação de sulfonamidas por métodos eletroanalíticos*

As sulfonamidas, de acordo com sua estrutura química (Figura 1), podem ser oxidadas no grupo amino ($-NH_2$) e reduzidas no grupo sulfonamida ($-SO_2NHR$). A natureza do grupo “R” influencia no potencial de redução do grupo sulfonamida; entretanto, devido à posição do grupo amino, o grupo R tem pouca influência sobre os potenciais de oxidação das sulfonamidas. A maioria dos trabalhos relatados na literatura para a determinação de sulfonamidas, por métodos eletroanalíticos, analisando a reação de oxidação das sulfas e poucos trabalhos exploraram a reação de redução.

As técnicas eletroquímicas também foram empregadas na detecção direta de algumas sulfonamidas. Inicialmente, Hussein e Bishop⁽⁶⁵⁾ utilizaram as técnicas eletroquímicas para a determinação de sulfonamidas para o estudo eletroquímico de redução e de oxidação de várias sulfonamidas sobre eletrodo de ouro e de platina em H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e Na_2CO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, e observaram que as sulfas não sofreram redução sobre estes eletrodos, mas foram oxidadas em potenciais muito próximos.

Momberg *et al.*⁽⁶⁶⁾ utilizaram o eletrodo de carbono vítreo para o estudo e a determinação eletroquímica de algumas sulfonamidas e de ácido sulfanílico. Estes compostos apresentaram um processo de oxidação envolvendo dois elétrons levando à formação da iminobenzoquinona como produto final. Observando que o potencial de oxidação das sulfonamidas foi dependente do pH, os autores utilizaram este argumento para a separação dos picos de oxidação das sulfonamidas. A voltametria de pulso diferencial foi empregada para a quantificação de Sulfaguanidina em tabletes, obtendo-se uma

linearidade na faixa de concentração de 2,5 a 20,0 mg L⁻¹ em tampão Britton-Robinson, pH 7,0. O limite de detecção foi de 1,25 mg L⁻¹.

Özkorucuklu *et al.* ⁽⁶⁷⁾ prepararam um filme polimérico com uma molécula orgânica, o qual foi fixado sobre o grafite de um lápis para a determinação da Sulfametoxazol em produtos farmacêuticos através de voltametria de pulso diferencial, utilizando como eletrólito suporte tampão Britton-Robinson/acetonitrila 50/50 (v/v), pH 2,5. A molécula modelo utilizada durante a eletrodeposição do pirrol a ser fixada na matriz polimérica foi a Sulfametoxazol, que era removida através da reoxidação do polímero em uma solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹. A curva de calibração para a Sulfametoxazol apresentou faixa linear de 6,3 a 190 mg L⁻¹ e o limite de detecção encontrado foi de 91 µg L⁻¹.

Kotouček *et al.* ⁽⁶⁸⁾ investigaram a redução da Salazosulfapiridina, Sulfametoxazol e Trimetoprima em meio aquoso utilizando o eletrodo de mercúrio gotejante e estático. As sulfonamidas e a Trimetoprima apresentaram adsorção na superfície do eletrodo de mercúrio, favorecendo o uso da voltametria adsorptiva de redissolução para a determinação destes compostos. O método apresentou limite de detecção para a Salazosulfapiridina de 0,2 µg L⁻¹, para a Sulfametoxazol de 8,4 µg L⁻¹ e para a Trimetoprima de 0,2 µg L⁻¹.

Diaz *et al.* ⁽⁶⁾ desenvolveram um método para a determinação simultânea de três sulfonamidas sobre o eletrodo gotejante de mercúrio. Quando analisados individualmente, os polarogramas de pulso diferencial da Sulfadiazina, Sulfamerazina e Sulfametazina apresentaram para cada sulfonamida no tampão Britton-Robinson pH 2,0 somente um pico de redução nos potenciais -0,70; -0,79 e -1,14 V, respectivamente. No entanto, em misturas contendo duas ou três sulfonamidas, observou-se a sobreposição do sinal analítico das sulfonamidas presentes, impossibilitando sua análise direta por polarografia de pulso diferencial. Assim, um método multivariado de análise foi aplicado obtendo-se resultados satisfatórios na determinação da mistura destas sulfonamidas em formulações veterinárias e farmacêuticas.

Alguns trabalhos foram desenvolvidos para a determinação de sulfonamidas, utilizando detectores eletroquímicos acoplados a uma técnica de separação. Yang *et al.* ⁽⁶⁹⁾ empregaram a eletroforese capilar com um detector eletroquímico para a determinação da Sulfadiazina e da Sulfametaxazol. A detecção eletroquímica foi realizada através da oxidação das sulfonamidas em tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹ (pH 5,0) sobre eletrodo de fibra de carbono em 1,1 V / Ag/AgCl, por voltametria

cíclica. O método forneceu um limite de detecção de $25,2 \mu\text{g L}^{-1}$ para as duas sulfonamidas, sendo que aplicado na determinação da Sulfadiazina e Sulfametaxazol em tabletes de medicamento e urina humana, com resultados satisfatórios.

Ortiz *et al.* ⁽⁷⁰⁾ otimizaram um sistema de injeção em fluxo com detecção amperométrica para determinação da Sulfadiazina, Sulfametazina e Sulfamerazina. A detecção amperométrica baseou-se na resposta de oxidação das sulfas à aplicação de um potencial de $0,9 \text{ V}$ versus eletrodo hidrogênio/paládio em tampão acetato e $19,88 \%$ metanol. Com a sensibilidade do detector amperométrico de $100 \mu\text{A}$, o método descrito forneceu um limite de detecção de $20,0$ a $154,7 \mu\text{g L}^{-1}$ para Sulfadiazina, de $39,2$ a $169,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para Sulfametazina e de $39,6$ a $171,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para a Sulfamerazina. Aplicado na determinação destas sulfas em duas amostras de leite o método apresentou recuperação entre $67,4 \%$ e $119,1 \%$.

Preechaworapun *et al.* ⁽⁷¹⁾ desenvolveram um método utilizando HPLC com detector amperométrico para a determinação da Sulfadiazina (SDZ), Sulfametazina (SMZ), Sulfadimetoxina (SDM) e Sulfamonometoxina (SMM), no qual a detecção eletroquímica foi realizada pela oxidação das sulfonamidas em tampão fosfato $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) sobre eletrodo de diamante dopado com boro em $1,1 \text{ V} / \text{Ag/AgCl}$, por voltametria cíclica. Para a SDZ e SMM foi obtido um limite de detecção de $0,011 \text{ mg L}^{-1}$, para a SMZ de $0,012 \text{ mg L}^{-1}$ e para a SDM de $0,032 \text{ mg L}^{-1}$. O método foi aplicado na determinação destas sulfonamidas em amostras de ovos e apresentou o maior desvio padrão relativo para SDZ de $4,5 \%$, indicando a boa precisão do método.

Souza *et al.* ⁽⁷²⁾ desenvolveram um método para a quantificação Sulfadiazina e Sulfametaxazol em formulações farmacêuticas, por voltametria de onda quadrada, empregando um eletrodo de diamante dopado com boro. A oxidação da Sulfadiazina em etanol contendo H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 50/50 (v/v) e da Sulfametoxazol em etanol contendo tampão fosfato pH 6,0 50/50 (v/v) apresentou um pico irreversível em torno de $+1,1 \text{ V} / \text{SCE}$. O método respondeu de forma linear na faixa de concentração de $2,00$ a $29,75 \text{ mg L}^{-1}$ para a Sulfadiazina e na faixa de $1,54$ a $15,20 \text{ mg L}^{-1}$ para a Sulfametoxazol, com limite de detecção de $0,55$ e de $0,29 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. A metodologia eletroanalítica foi comparada com o método HPLC e os valores para os erros relativos entre o método proposto e o padrão foram de $-4,31 \%$ para a Sulfadiazina e de $-0,79 \%$ para a Sulfametoxazol.

Msagati e Ngila ⁽⁷³⁾ realizaram a determinação voltamétrica de várias sulfonamidas com eletrodo de carbono vítreo modificado com o polímero poli (3-metil tiofeno), eletroquimicamente sintetizado na superfície do eletrodo de carbono vítreo, através da voltametria cíclica (+0,5 a +2,0 V / Ag/AgCl). A determinação catódica por voltametria de onda quadrada (0,0 a -4,0 V / Ag/AgCl) foi empregada na determinação de uma mistura de sete sulfonamidas em tampão Britton-Robinson, pH 6,26. Os limites de detecção foram de 1,0 mg L⁻¹ para Sulfadiazina e Sulfamerazina, de 0,009 mg L⁻¹ para 5-Sulfaminouracil, de 0,1 mg L⁻¹ para Sulfametazina e Sulfasalazina, de 0,014 mg L⁻¹ para Sulfatiazol e de 0,010 mg L⁻¹ para Sulfametoxazol.

Carrazon *et al.* ⁽⁷⁴⁾ desenvolveram o estudo eletroanalítico do processo de oxidação da Sulfadiazina em eletrodo de carbono vítreo empregando diferentes técnicas voltamétricas. A corrente limite foi controlada por difusão das espécies na faixa de concentração estudada. A técnica de voltametria de pulso diferencial e o eletrodo de carbono vítreo foram utilizados em uma faixa de concentração de 3,8 a 15,0 mg L⁻¹ para a determinação de Sulfadiazina em produtos farmacêuticos.

Braga *et al.* ⁽⁷⁵⁾ produziram um método eletroanalítico para a determinação de Sulfadiazina em fármacos. O método baseou-se na redução da Sulfadiazina sobre eletrodo de carbono vítreo em solução tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ (pH 6,8) por voltametria de onda quadrada. O sinal de redução da Sulfadiazina foi observado em -1,49 V / Ag/AgCl, o qual respondeu de forma linear na faixa de concentração de 15,7 a 85 mg L⁻¹, apresentando um limite de detecção de 27,2 mg L⁻¹. O método desenvolvido foi aplicado em duas amostras de fármacos, e os valores de recuperação ficaram na faixa de 94,9 a 104,6 %. Os autores compararam os resultados obtidos com a determinação da Sulfadiazina, através do método padrão por titulação amperométrica, onde obtiveram resultados satisfatórios.

2.4 Técnicas eletroanalíticas

As técnicas eletroanalíticas empregam as propriedades elétricas mensuráveis tais como corrente, potencial e carga, resultantes de reações de oxirredução de um analito quando este é submetido a um estímulo elétrico sobre os eletrodos imersos em uma célula eletroquímica. Estas medidas podem estar relacionadas com algum parâmetro químico intrínseco deste analito e assim, são técnicas amplamente utilizadas na identificação, na determinação e no estudo eletroquímico de qualquer

composto capaz de sofrer reações químicas de redução e/ou oxidação (76), (77)

A voltametria surgiu a partir da polarografia, desenvolvida em 1922 pelo químico Jaroslav Heyrovsky. É uma técnica eletroanalítica, na qual as informações sobre o analito são obtidas por meio da medida da corrente elétrica fornecida pela aplicação de um potencial entre um eletrodo de trabalho e um eletrodo auxiliar, ou seja, o parâmetro ajustado é o potencial aplicado e o parâmetro medido é a corrente elétrica resultante da reação eletroquímica do analito de interesse. (77)

A magnitude da corrente obtida pela transferência de elétrons, durante um processo de oxirredução (Equação 3), pode ser relacionada com a quantidade do analito presente na interface do eletrodo e conseqüentemente na célula eletroquímica e o registro da corrente em função do potencial aplicado é denominado voltamograma.



Sendo O a forma oxidada do analito e R a forma reduzida do analito.

A reação eletroquímica de um analito envolve o transporte de massa das espécies eletroativas do seio da solução até a superfície do eletrodo e o transporte de carga decorrente das reações de oxirredução. É indispensável que o transporte de massa seja contínuo para satisfazer a relação entre a corrente e a concentração do analito; caso contrário a concentração da espécie eletroativa de interesse na superfície do eletrodo irá decrescer rapidamente. O transporte de massa pode ocorrer de três formas distintas, tais como, migração, convecção e difusão. (77), (78)

Com o intuito de se obter um transporte de massa contínuo, as condições experimentais nas técnicas voltamétricas são ajustadas para que os transportes de massa por migração (movimento das moléculas devido a um gradiente elétrico) e por convecção (movimentação das espécies causada por perturbação mecânica do fluxo da solução) sejam minimizadas.

A migração é praticamente eliminada pela utilização de um eletrólito suporte muito dissociável e inerte, em concentração de 50 a 100 vezes maior do que a concentração da espécie eletroativa de interesse. Este eletrólito suporte fará com que a força iônica do meio permaneça constante, impedindo a formação de um campo elétrico devido a um gradiente de cargas resultante da reação eletroquímica. Por outro lado, o transporte de massa por convecção é minimizado

interrompendo o distúrbio mecânico da solução (agitação mecânica e borbulhamento de gás) antes de ser aplicada a variação de potencial sobre o eletrodo de trabalho.

Desta forma, o transporte de massa é realizado basicamente por difusão, ou seja, através da movimentação espontânea da espécie química devido à formação de um gradiente de concentração do analito de interesse, satisfazendo a relação entre a corrente lida e a concentração do analito presente na solução.^{(76), (77)}

A corrente total tem como componentes a corrente faradaica, assim denominada por obedecer à Lei de Faraday, e a corrente capacitiva que não obedece a essa mesma lei. A componente faradaica corresponde à reação de oxirredução da espécie em estudo na superfície do eletrodo e é proporcional à concentração de analito. Enquanto a corrente capacitiva é gerada devido a um acúmulo de elétrons na superfície do eletrodo e, portanto indesejada nas determinações. A Equação (4) simplificada descreve a relação entre a corrente total lida e a concentração do analito para um processo anódico, e a Equação (5) para um processo catódico⁽⁷⁶⁾:

$$i = -zFAD_{Ox} \frac{C_{Ox}}{\delta} \quad (4)$$

$$i = zFAD_{Red} \frac{C_{Red}}{\delta} \quad (5)$$

Onde:

i = corrente;

z = um número inteiro de sinal e magnitude referente a carga iônica da espécie eletroativa;

F = constante de Faraday (96.484,6 C);

A = área do eletrodo;

D = coeficiente de difusão;

C_{Ox} = concentrações da espécie oxidada do analito na interface eletrodo-solução;

C_{Red} = concentrações da espécie reduzida do analito na interface eletrodo-solução.

δ = espessura da camada de difusão

Desde que δ é limitado por convecção, pode ser considerado constante. A razão $\frac{i}{A}$ é a densidade de corrente, representada pela letra j .

Para sistemas controlados pelas leis da termodinâmica, o potencial do eletrodo (E) também pode ser usado para estabelecer a concentração da espécie eletroativa, através da equação de Nernst (Equação 6) ⁽⁷⁶⁾:

$$E = E^\circ + \frac{2,3RT}{nF} \log \frac{c_{Ox}}{c_{Red}} \quad (6)$$

Sendo:

E° = potencial padrão da reação;

R = constante dos gases (4,18 J mol⁻¹ K⁻¹);

T = temperatura absoluta;

n = número de mols elétrons transferido na reação;

c_{Ox} = concentrações da espécie oxidada do analito na interface eletrodo-solução;

c_{Red} = concentrações da espécie reduzida do analito na interface eletrodo-solução.

A maneira que o potencial é aplicado e a aquisição do sinal analítico (corrente) denominarão o tipo de técnica voltamétrica em questão. As técnicas voltamétricas empregadas para o desenvolvimento deste trabalho foram: a voltametria cíclica (VC), a voltametria de pulso diferencial (DPV), a voltametria de redissolução anódica (VRA) e a voltametria de onda quadrada (SWV).

2.4.1 Voltametria cíclica

A voltametria cíclica é a técnica voltamétrica inicial selecionada na investigação de um sistema que contém espécies eletroativas. Através dela, é possível acompanhar as reações de oxirredução e adquirir informações sobre o mecanismo das reações eletroquímicas, identificações de produtos intermediários das reações envolvidas, bem como, verificar a existência de reação química acoplada à reação de transferência de elétrons.

A variação de potencial é aplicada na forma de triangular (Figura 3A), onde a variação do potencial é realizada inicialmente em um sentido (partindo de um E_i , até um valor limite E_v), e na seqüência, em um sentido oposto até um potencial qualquer, E_f , completando um ciclo voltamétrico. Os potenciais E_i , E_v e E_f são escolhidos de maneira que

possam ser observadas a redução ou a oxidação do analito de interesse, sendo que em um experimento envolvendo a VC, este ciclo pode ser empregado na forma de um ciclo inteiro, de um ciclo parcial ou de vários ciclos sucessivos. ^{(77), (78)}

A variação do potencial para valores mais negativos é chamada varredura direta e através dela, é possível observar a redução do composto eletroativo, gerando um pico de corrente proporcional à concentração deste composto em solução. Enquanto a variação de potencial no sentido oposto é denominada varredura inversa, onde a oxidação do composto pode ser analisada. No caso de uma reação reversível, os picos de redução e oxidação são simétricos e a densidade de corrente de redução e de oxidação plotadas em função da variação de potencial, gera o voltamograma cíclico representado pela Figura 3B. ⁽⁷⁶⁾

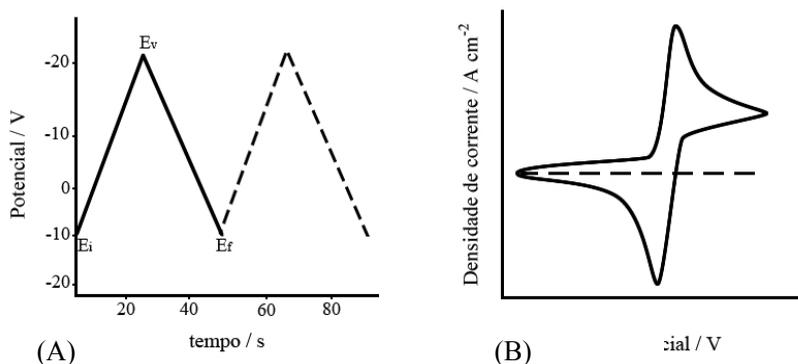


Figura 3: (A) Representação esquemática da aplicação do potencial em função do tempo para voltametria cíclica. (B) Representação do voltamograma cíclico.

Para uma reação reversível, a equação que descreve a relação entre o potencial de pico da reação de oxirredução e a concentração do analito na solução é a equação de Nernst (Equação 4). Como a cinética da reação de transferência de carga é rápida, apenas a etapa de transferência de massa por difusão definirá o processo eletroquímico e a densidade de corrente do pico, $\frac{i_p}{A}$ (em $A \text{ cm}^{-2}$) neste caso, é dada pela equação de Randles-Sevcik (Equação 7): ^{(76) (79)}

$$j_p = 2,69 \times 10^5 n^{3/2} D_o^{1/2} \nu^{1/2} c_o \quad (7)$$

Sendo:

n = número de elétrons envolvidos no processo;

D_o = coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$);

c_o = concentração da espécie em solução (mol cm^{-3});

ν = velocidade de variação de potencial (V s^{-1}).

Para uma reação reversível, a corrente de pico varia linearmente com a raiz quadrada da velocidade de variação de potencial. Outros critérios para reversibilidade são: a razão entre a corrente de pico anódica e a catódica igual à unidade e independente de ν , o potencial de pico constante com a velocidade de variação de potencial, a razão $i_p/\nu^{1/2}$ constante e independente de ν .⁽⁷⁸⁾

A corrente de pico é lida de forma direta em função do potencial aplicado desta forma, a corrente total possui contribuições tanto da corrente faradaica (desejável) quanto da corrente capacitiva (ruído), prejudicando bastante a utilização desta técnica para aplicações quantitativas. Do ponto de vista analítico, esta técnica é limitada, pois somente consegue determinar espécies com concentrações entre 10^{-4} a $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.^{(76), (77)}

2.4.2 Voltametria de pulso diferencial

O desenvolvimento das técnicas de pulso é considerado um avanço instrumental que veio para compensar as limitações da voltametria linear, especificamente em termos de limites de detecção. A maior sensibilidade da técnica de voltametria de pulso diferencial é atribuída principalmente a uma diminuição na corrente capacitiva da corrente resultante de uma reação eletroquímica.

Na voltametria de pulso diferencial, o potencial é aplicado na forma de pulsos de amplitudes fixas sobrepostos em uma rampa crescente de potencial, como mostra a Figura 4A. Duas medidas da corrente são feitas alternadamente – uma antes da aplicação do pulso (S_1), onde a corrente lida é essencialmente a corrente capacitiva remanescente do pulso de potencial anteriormente aplicado, e outra em (S_2), ao final do pulso (Figura 4A) onde é lida a corrente total. Em S_2 , tem-se uma correção da corrente capacitiva, pois esta diminui exponencialmente, depois de cessado o estímulo, enquanto a corrente faradaica diminui de forma linear. Instrumentalmente, a primeira

corrente é subtraída da segunda e a diferença resultante da densidade de corrente, constituída essencialmente pela corrente faradaica. A densidade de corrente resultante $\left(\Delta j = \frac{\Delta i}{A} \right)$ é plotada em função do potencial aplicado e o voltamograma resultante apresenta forma gaussiana, cuja área é diretamente proporcional à concentração do analito (Figura 4B), de acordo com a Equação 8^{(77), (80)}:

$$\Delta j = \frac{nFD^{1/2}c}{\sqrt{\pi t_m}} \left(\frac{1 - \sigma}{1 + \sigma} \right) \quad (8)$$

Sendo:

Δj = densidade de corrente do pico ($A \text{ cm}^{-2}$);

n = número de elétrons envolvido na reação redox;

F = constante de Faraday (coulombs);

t_m = tempo entre o segunda e a primeira leitura de corrente (s);

D = coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$);

c = concentração do analito (mol L^{-1});

$\sigma = \exp(nF/RT \Delta E/2)$;

ΔE_p = altura de pulso.

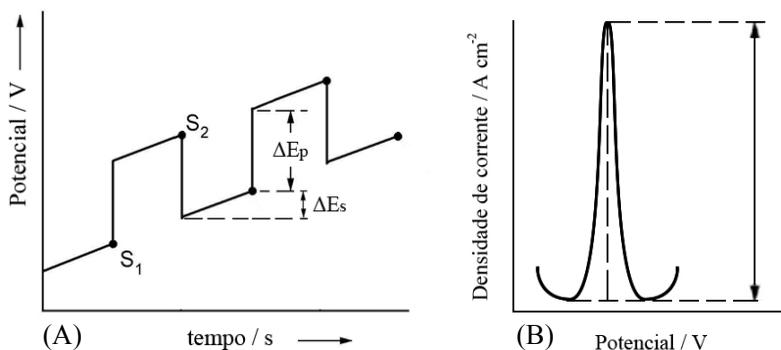


Figura 4: (A) Representação esquemática da aplicação do potencial em função do tempo na voltametria de pulso diferencial. (B) Representação do voltamograma de pulso diferencial.

Em razão da corrente capacitiva ser compensada, a sensibilidade da técnica de pulso diferencial ultrapassa significativamente a sensibilidade da voltametria cíclica, atingindo limites de detecção na ordem de 10^{-7} a 10^{-8} mol L⁻¹. A resolução da técnica também é aprimorada, sendo possível determinar simultaneamente espécies eletroativas que apresentam diferentes potenciais de picos de apenas 50 a 100 mV.⁽⁷⁷⁾

2.4.3 Voltametria de onda quadrada

Paralelamente à técnica de voltametria de pulso diferencial, a voltametria de onda quadrada foi incorporada em análises eletroanalíticas a partir dos anos 80. Esta técnica pode realizar experimentos de um modo muito mais rápido do que a técnica de pulso diferencial, com sensibilidade semelhante ou até melhor, uma vez que nesta técnica a corrente capacitiva também é compensada.⁽⁷⁷⁾

A variação de potencial é aplicada na forma de uma onda quadrada simétrica sobreposta a uma rampa de potencial na forma de escada, sendo que um pulso de potencial é aplicado no sentido direto (direção do pulso é igual à direção da variação de potencial), e na seqüência outro pulso de potencial é aplicado no sentido inverso (direção do pulso é contrária à direção da variação de potencial), completando um ciclo como mostra a Figura 5, onde a é a amplitude de

pulso em mV, ΔE_s é o incremento do potencial da rampa em mV, τ é o tempo de um ciclo e $1/\tau$ (f) a frequência do pulso em Hz.

Assim como mostra a Figura 6A para um sistema reversível, o pulso no sentido direto produz uma corrente i_1 , enquanto o pulso, no sentido inverso, gera uma corrente i_2 , a qual é medida ao final de cada pulso. A corrente resultante, que é a diferença destas correntes, é plotada em função do potencial aplicado, obtendo-se o voltamograma correspondente (Figura 6B)

Como as leituras são realizadas ao final de cada pulso, como na voltametria de pulso diferencial, esta amostragem garante uma minimização da contribuição da corrente capacitiva sobre a corrente total lida, fazendo com que as curvas de corrente versus potencial apresentem perfis bem definidos e simétricos. ^{(76), (78)}

Desta forma, a sensibilidade desta técnica pode ser ainda maior do que a oferecida pela voltametria de pulso diferencial para sistemas que apresentam comportamento eletroquímico reversível, onde os limites de detecção para a voltametria de onda quadrada encontram-se entre 10^{-7} a 10^{-8} mol L⁻¹. ⁽⁷⁶⁾

Outra vantagem da voltametria de onda quadrada em relação à voltametria de pulso diferencial está na velocidade de aquisição dos dados. Enquanto na DPV, a velocidade de variação de potencial varia de 1 a 10 mV s⁻¹, na SWV esta mesma velocidade varia de 100 a 1000 mV s⁻¹, diminuindo o tempo de análise de cerca de 3 a 5 minutos para alguns poucos segundos, (3 a 10 s) sem haver perda da resolução dos picos. ⁽⁸¹⁾

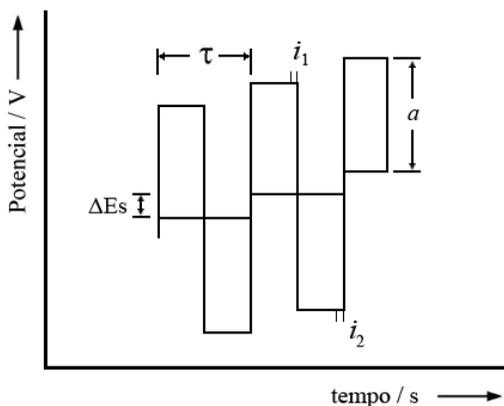


Figura 5: Representação esquemática da aplicação do potencial em função do tempo na voltametria de onda quadrada

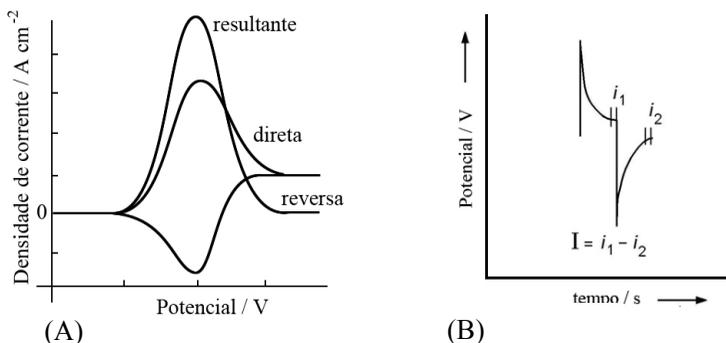


Figura 6: (A) Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada para um processo redox de um sistema reversível e (B) obtenção da corrente resultante.

2.4.4 Voltametria de redissolução

Embora as técnicas voltamétricas de pulso diferencial e de onda quadrada permitiram chegar a determinações analíticas na ordem de 10^{-7} a 10^{-8} mol L⁻¹, elas ainda são insuficientes para a determinação em análise traços, concentrações mais baixas do que 10^{-8} mol L⁻¹. Essas técnicas, também denominadas de medidas voltamétricas diretas, são afetadas pela chamada corrente de fundo. Na técnica de pulso, a corrente capacitiva é minimizada, mas não eliminada e quando concentrações mais baixas são atingidas, a corrente faradaica torna-se muito baixa e é encoberta pela corrente capacitiva, chegando ao limite destas técnicas.

Uma alternativa para solucionar esse problema é a utilização de uma etapa de pré-concentração da substância a ser determinada, podendo aumentar a corrente faradaica e possibilitar as determinações em níveis traços. Quando se utiliza as técnicas voltamétricas, esta etapa de pré-concentração poder ser realizada no próprio eletrodo de trabalho fazendo deste, um processo fácil e conveniente de ser utilizado. ^{(76), (77)}

A voltametria de redissolução envolve duas etapas distintas. Primeiramente, o analito é pré-concentrado na superfície do eletrodo de trabalho através da eletrodeposição por redução ou adsorção da espécie de interesse, aplicando ou não um potencial estabelecido; já a etapa seguinte consiste na redissolução para a solução do analito pré-concentrado na superfície do eletrodo, através da aplicação de uma variação de potencial por voltametria linear ou de pulso.

Enquanto a voltametria de redissolução catódica é utilizada para determinar uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos, a pré-concentração do analito é realizada aplicando um potencial relativamente positivo sobre o eletrodo de trabalho, imerso em solução contendo o composto de interesse, e desta forma o analito é oxidado formando um sal insolúvel sobre o eletrodo. A variação de potencial no sentido negativo leva à redução do analito pré-concentrado na superfície do eletrodo, fornecendo picos de corrente catódica relacionados à concentração do analito presente em solução.

2.4.4.1 Voltametria de redissolução anódica

A voltametria de redissolução anódica é empregada, preferencialmente, na análise de íons metálicos. Estes podem ser eletrodepositados sobre a superfície do eletrodo de trabalho aplicando um potencial negativo durante um tempo adequado (Equação 9) e depois de uma etapa de repouso, a etapa de redissolução é realizada aplicando uma variação de potencial no sentido positivo. Os metais pré-concentrados na superfície do eletrodo são oxidados gerando picos de corrente anódica proporcional à concentração do analito em solução (Equação 10).



O potencial aplicado e o tempo ideal são escolhidos de acordo com a espécie eletroativa de interesse. O potencial deve ser mais negativo do que o potencial de redução do analito, que pode variar de acordo com o eletrodo de trabalho utilizado, enquanto o tempo ideal fica geralmente entre 30 s a 3 min, sendo que tempos muito longos podem produzir sinais fora da região de proporcionalidade entre a corrente anódica e a concentração do analito.

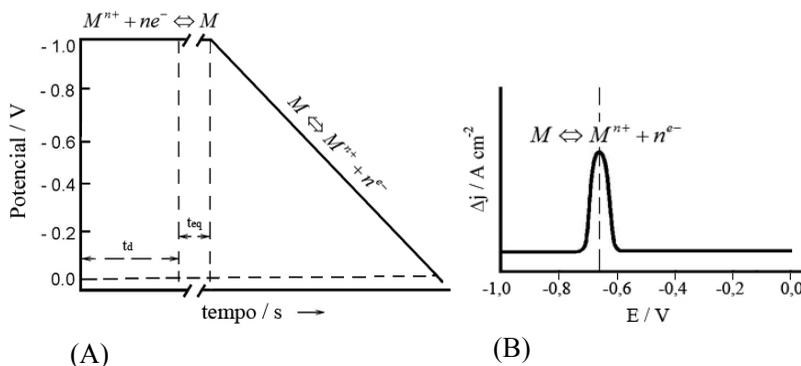
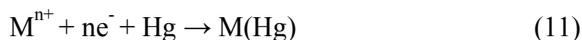


Figura 7: A) Representação esquemática das etapas de pré-concentração e redissolução da voltametria de redissolução anódica e B) Voltamograma hipotético obtido da etapa de redissolução para o íon metálico M.

A agitação, durante a etapa de pré-concentração, é fundamental, pois faz com que o transporte de massa por convecção mantenha a mesma concentração da espécie, tanto na superfície do eletrodo quanto no seio da solução. Isto permite que uma maior massa seja depositada em um determinado tempo, do que no meio estacionário, onde o transporte de massa é somente difusional.

Os eletrodos mais utilizados e adequados nas determinações por redissolução anódica de metais são os eletrodos de mercúrio, pois os metais reduzidos formam amálgamas com o mercúrio (Equação 11), produzindo sinais mais reprodutíveis do que os depósitos metálicos formados na superfície de eletrodos sólidos.



2.4.4.2 Voltametria adsorviva de redissolução

A técnica de voltametria adsorviva de redissolução é semelhante à voltametria de redissolução anódica anteriormente descrita. O que varia é a etapa de pré-concentração do analito de interesse, a qual é dada não por um processo eletroquímico, mas pela adsorção física na superfície do eletrodo de trabalho, sob agitação. Depois do acúmulo, a redissolução do analito à solução é realizada aplicando uma variação de potencial, por técnicas voltamétricas. De acordo com a atividade

eletroquímica da molécula a ser determinada, essa variação de potencial pode ser dada no sentido negativo ou positivo de potencial.

Portanto, esta técnica é aplicável a alguns compostos orgânicos e inorgânicos que apresentam propriedades que permitam ser adsorvidas na superfície do eletrodo de trabalho e que, evidentemente, sejam eletroativas. Esta adsorção é devido a ligações covalentes, troca iônica e outras ligações eletrostáticas entre o analito e a superfície do eletrodo, podendo ocorrer espontaneamente, ou utilizando um eletrodo quimicamente modificado.

Para a determinação de metais, a adsorção ocorre não com os íons metálicos isolados, mas com os seus íons complexados. Um agente complexante adequado é adicionado à solução contendo o íon metálico para formar o complexo (Equação 12). O íon complexado é então adsorvido na superfície do eletrodo, utilizando um potencial de acumulação, E_{ac} , para se obter uma pré-concentração mais seletiva (Equação 13). Após a etapa de pré-concentração, a redissolução é realizada sem a necessidade de um tempo de equilíbrio, através de uma variação de potencial no sentido negativo (Equação 14), como mostra o esquema na Figura 8. ^{(77), (78)}

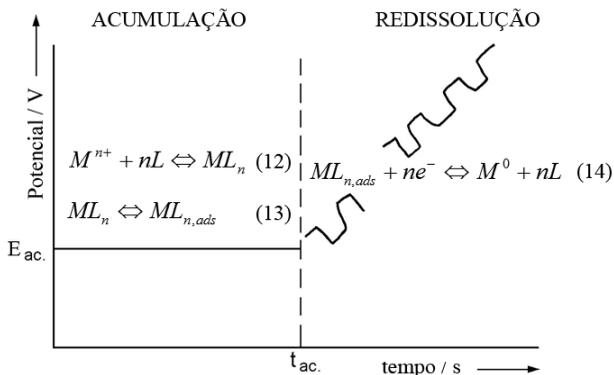


Figura 8: Representação esquemática do procedimento de adsorção e redissolução usando a voltametria adsorptiva de redissolução na determinação de íons metálicos na presença de um agente complexante.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo preparar um eletrodo de filme de bismuto e demonstrar a sua aplicabilidade no desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para a determinação de composto metálico e orgânico. Desta forma, o trabalho visa propor métodos eletroanalíticos, empregando um BiFE preparado através da eletrodeposição *in situ* e aplicá-lo na determinação de Sn(IV) em biodiesel, por voltametria de redissolução anódica utilizando onda quadrada, e através eletrodeposição *ex situ* e aplicá-lo na determinação catódica direta, por voltametria de pulso diferencial, da Sulfadiazina em formulações farmacêuticas.

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos que formam a idéia do desenvolvimento do projeto são divididos em dois grupos: preparação e aplicação do BiFE preparado pelo método *in situ* na determinação de Sn(IV) em biodiesel e aplicação do BiFE *ex situ* na determinação de SDZ em fármacos.

3.2.1 Preparação e aplicação do BiFE na determinação de Sn(IV)

3.2.1.1 Preparação *in situ* do BiFE

- * Verificar o comportamento eletroquímico do Bi(III) sobre GCE em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹, pH 4,5;

- * Verificar a influência do ácido cafeico na preparação *in situ* do BiFE;

- * Otimizar os parâmetros de deposição *in situ*: potencial de deposição, tempo de deposição e concentração de Bi(III).

3.2.1.2 Aplicação do BiFE na determinação eletroanalítica do Sn(IV)

- * Selecionar a solução eletrólito suporte e seu pH;

- * Verificar a influência do ácido cafeico no sinal analítico do Sn(IV) sobre BiFE;

- * Selecionar a técnica voltamétrica;

- * Otimizar os parâmetros experimentais para a técnica voltamétrica selecionada;

- * Verificar a influência da concentração de Sn(IV) na densidade de corrente anódica obtida: construção da curva de calibração e obtenção dos dados de linearidade;

- * Determinar a quantidade de Sn(IV) em amostras de biodiesel utilizando o BiFE e avaliar a recuperação obtida;

- * Aplicar o método comparativo na determinação de Sn(IV) nas amostras de biodiesel;

- * Comparar os resultados obtidos através do método desenvolvido com os resultados fornecidos pelo método comparativo;

- * Aplicar cálculos estatísticos para a validação do método proposto empregando um BiFE para determinação de Sn(IV).

3.2.2 Preparação e aplicação do BiFE na determinação da SDZ

3.2.2.1 Preparação *ex situ* do BiFE

- * Verificar o comportamento eletroquímico do Bi(III) sobre GCE em HCl 1,0 mol L⁻¹

- * Verificar o sinal analítico para a SDZ sobre BiFE;

- * Otimizar os parâmetros de deposição *ex situ*: potencial de deposição, tempo de deposição e concentração de Bi(III).

3.2.2.2 Aplicação do BiFE na determinação eletroanalítica da SDZ

- * Selecionar a solução eletrólito suporte e sua concentração;

- * Verificar a influência do pH do eletrólito suporte do sinal analítico da SDZ;

- * Selecionar a técnica voltamétrica;

- * Otimizar os parâmetros experimentais para a técnica voltamétrica selecionada;

- * Verificar a influência da concentração de SDZ na densidade de corrente catódica obtida: construção da curva de calibração e obtenção dos dados de linearidade;

- * Aplicar o método proposto, empregando um BiFE, na determinação de SDZ nos fármacos Sulfazian® e Suladrin® e avaliar a recuperação obtida;

- * Determinar a quantidade de SDZ nos mesmos fármacos, utilizando o BiFE;

* Comparar os resultados obtidos através do método desenvolvido com os resultados fornecidos pelo método comparativo e com o valor rotulado de SDZ nos medicamentos

* Aplicar cálculos estatísticos para a validação do método proposto empregando um BiFE para determinação da SDZ.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados neste estudo são de grau analítico adquiridos da Sigma (Sulfadiazina), Nuclear (ácido clorídrico e hidróxido de sódio), da Fluka (ácido cafeico), da VETEC (nitrato de bismuto, nitrito de sódio, permanganato de potássio), da Merck (ácido acético glacial, ácido bórico), da Reagen (acetato de sódio, mono-hidrogenofosfato de sódio, di-hidrogeno fosfato de sódio), da FMaia (ácido fosfórico, metanol), Synth (ácido nítrico) e padrão de Sn(IV) comercial (Spex PLK 10 SN). Estes foram utilizados sem purificação prévia. Água destilada e desionizada por um sistema Micro química MQAMA301 foram usadas para a preparação de todas as soluções.

4.2 Soluções

A solução estoque de nitrato de bismuto, $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ em ácido clorídrico 1,0 mol L⁻¹ foi empregada para o preparo do eletrodo de filme de bismuto através do método *ex situ*. Para o método *in situ*, foi preparada uma solução de Bi(NO₃)₃ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ através da dissolução do sal em ácido acético 0,1 mol L⁻¹ e tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, na proporção 10/90 v/v.

Para o estudo do eletrólito suporte foram preparadas as soluções estoques de tampão Britton-Robinson, composto de: ácido acético glacial 0,1 mol L⁻¹, ácido bórico 0,1 mol L⁻¹, ácido fosfórico 0,1 mol L⁻¹, tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (contendo mono-hidrogenofosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹ e di-hidrogenofosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹) e tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (contendo acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹ e ácido acético glacial 0,1 mol L⁻¹). Para o ajuste do pH destas soluções tampões, foi utilizado ácido clorídrico 1,0 mol L⁻¹ e/ou hidróxido de sódio 2,0 mol L⁻¹. As soluções estoque foram armazenadas sob refrigeração.

A solução padrão de Sulfadiazina $3,2 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ foi preparada utilizando metanol como solvente e a solução padrão de Sn(IV) $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, através da diluição do padrão de Sn(IV) comercial com ácido clorídrico 30 %. Os padrões foram acondicionados em refrigerador e utilizados somente após atingir a temperatura ambiente. As soluções de

trabalho foram preparadas pela adição de alíquotas da solução estoque diretamente na célula eletroquímica contendo o eletrólito suporte.

Para o estudo do agente complexante do Sn(IV), foi preparada uma solução estoque de ácido cafeico na concentração $4,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em ácido nítrico 5 %; o aquecimento foi utilizado para a completa solubilização.

4.3 Equipamentos

Para registrar as curvas (i) x (E) e (i) x (t) utilizou-se um potenciostato/galvanostato EG & G PARCTM, modelo 263 A, em conjunto com o software M270 acoplado a um computador comercial. Os gráficos apresentados foram editados no programa de computador ORIGINTM da empresa Microcal. Para a montagem das estruturas químicas utilizou-se o programa de computador CHEMWINDOWTM da empresa Softshell. As medidas de pH foram realizadas em pHmetro ORION modelo 720 A e um ultra-som METASOM-14 foi utilizado para a dissolução dos reagentes e para limpeza do eletrodo de carbono vítreo.

4.4 Limpeza do substrato eletrodo de carbono vítreo

Diariamente, o substrato, eletrodo de carbono vítreo (GCE) com $0,031 \text{ cm}^2$ de área, utilizado para o preparo do BiFE, era previamente tratado através de polimento mecânico com alumina de granulação $0,05 \text{ }\mu\text{m}$, seguido de banho de ultra-som por 60 s, em água destilada e desionizada para retirar a alumina remanescente. Quando o GCE não era utilizado por mais de dois dias consecutivos, este procedimento era repetido com três granulações de alumina diferentes: 1,0; 0,5 e $0,05 \text{ }\mu\text{m}$.

4.5 Preparação *in situ* e aplicação do BiFE para a determinação de Sn(IV) em biodiesel

4.5.1 Preparação do BiFE por eletrodeposição *in situ*

A eletrodeposição *in situ* para a preparação do BiFE foi realizado em uma célula eletroquímica com capacidade de 30 mL contendo três eletrodos: o eletrodo de carbono vítreo (CV-BAS MF 2012) como eletrodo de trabalho, Ag/AgCl como eletrodo de referência e um fio de platina como eletrodo auxiliar. O Sn(IV) e o Bi(III) foram codepositados sobre o GCE em solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5), contendo

Bi(III) 1×10^{-3} mol L⁻¹, ácido cafeico $1,73 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ e Sn(IV), pela aplicação de um potencial de -1,2 V por 90 s, sob agitação. O voltamograma de onda quadrada foi registrado na mesma solução, depois de um tempo de equilíbrio de 15 s sem agitação, para a visualização do pico de oxidação do Sn metálico a Sn(II).

4.5.2 *Aplicação do BiFE in situ para a determinação de Sn(IV)*

4.5.2.1 Preparação das amostras de biodiesel

Três amostras, aqui designadas como A, B e C, oriundas de três diferentes biodieseis e coletadas na região de Florianópolis foram analisadas. Devido à complexidade, as amostras passaram por um processo prévio de digestão, o qual ocorreu conforme será descrito na seqüência. Aproximadamente 1 g de cada amostra foi pesado em cadinho de porcelana e foi calcinado utilizando uma chapa de aquecimento (MICROQUIMICA, MQAMA 301) por cerca de 8 horas. Na seqüência, as amostras calcinadas foram transferidas para um forno mufla (EDGCON 3P 1800) e mantidas a 600 °C por aproximadamente 2 horas. Após o resfriamento a temperatura ambiente, a massa remanescente foi dissolvida com 5 mL de ácido acético 0,1 mol L⁻¹ em pH 4,5.

4.5.2.2 Método eletroanalítico

A voltametria de redissolução anódica foi empregada para a análise e quantificação de Sn(IV). O sinal analítico referente à concentração de Sn(IV) foi obtido por voltametria de onda quadrada e a variação de potencial de -1,0 a -0,4 V sobre o BiFE. A determinação de Sn(IV) foi realizada através do método da adição de analito: primeiramente, uma alíquota de 1 mL da amostra (item 4.5.2.1.) foi adicionada à célula eletroquímica contendo 23 mL de solução composta por tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,5), $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ Bi(III) e ácido cafeico $1,73 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, e em seguida foram realizadas quatro adições sucessivas de 250 µL de padrão de Sn(IV) $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, a mesma solução. Intercalado por uma etapa de limpeza eletroquímica do eletrodo, o voltamograma de onda quadrada foi registrado para cada adição sucessiva de solução padrão Sn(IV) realizada. A limpeza eletroquímica do BiFE consistiu na aplicação de potencial de +0,7 V por

50 s sob agitação, na mesma solução dos experimentos de eletrodeposição e determinação eletroquímica.

4.6 Aplicação e preparação *ex situ* do BiFE para a determinação de SDZ em fármacos

*4.6.1 Preparação do BiFE por eletrodeposição *ex situ**

A eletrodeposição *ex situ* para a preparação do BiFE foi realizada em uma célula eletroquímica com capacidade de 15 mL contendo três eletrodos: o eletrodo de carbono vítreo (CV-BAS MF 2012) como eletrodo de trabalho, Ag/AgCl como eletrodo de referência e um fio de platina como eletrodo auxiliar. O GCE foi imerso em uma solução de Bi(III) $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e a eletrodeposição do Bi metálico foi obtida através da aplicação de um potencial de $-0,8 \text{ V}$ / Ag/AgCl durante 100 s, sobre o GCE. Subseqüentemente, o BiFE obtido foi submetido a uma etapa de condicionamento sendo transferido para uma célula eletroquímica, com capacidade de 15 mL, contendo uma solução de eletrólito suporte tampão Britton-Robinson $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5), através da aplicação de $-1,0 \text{ V}$ de potencial por 100 s. Após a etapa de condicionamento, o BiFE foi transferido a outra célula eletroquímica onde os experimentos relacionados à análise da Sulfadiazina foram realizados.

*4.6.2 Aplicação do BiFE *ex situ* para a determinação de SDZ*

4.6.2.1 Preparação das amostras de fármacos

A Sulfadiazina foi determinada nos produtos farmacêuticos Suladrin® (Sulfadiazina 500 mg) e Sulfazina® (Sulfadiazina 500 mg), ambos do Laboratório Catarinense S., adquiridos em farmácias da região de Florianópolis – SC. Para a preparação das amostras, 10 comprimidos de cada medicamento foram pesados e em seguida calculou-se a massa média: 0,6012 g para o fármaco Suladrin® e 0,6012 g para Sulfazina®. Com o pó oriundo da maceração dos 10 comprimidos, as amostras foram preparadas a partir da pesagem de cerca de 4,0 g do pó dos dois fármacos e da dissolução desta massa com 10 mL de metanol.

4.6.2.2 Método eletroanalítico

Os estudos para desenvolvimento do método eletroanalítico de determinação da Sulfadiazina foram realizados em uma célula eletroquímica com capacidade para 15 mL contendo três eletrodos: BiFE como eletrodo de trabalho, fio de platina como eletrodo auxiliar e Ag/AgCl como eletrodo de referência. O BiFE preparado pelo eletrodeposição *ex situ* foi transferido para esta célula eletroquímica contendo o eletrólito suporte tampão Britton-Robinson 0,05 mol L⁻¹ (pH 4,5) e uma quantidade determinada de SDZ. O sinal analítico referente à redução eletroquímica da SDZ foi obtido a partir do voltamograma de redissolução anódica em pulso diferencial, aplicando uma variação de potencial de -0,3 a -1,0 V sobre o BiFE.

A determinação eletroanalítica da SDZ nos fármacos foi realizada através do método de adição de analito, onde uma alíquota de 200 µL da amostra preparada de cada medicamento (item 4.6.2.1.) foi adicionada na célula eletroquímica contendo 10 mL do eletrólito suporte tampão Britton-Robinson 0,05 mol L⁻¹ (pH 4,5); agitação por 1 min era aplicada para homogeneizar a solução. Depois de um tempo de equilíbrio de 15 s, a variação de potencial no sentido negativo era aplicada para registro do voltamograma de pulso diferencial e a obtenção do sinal analítico correspondente à concentração da SDZ presente na amostra. Logo, na seqüência foram adicionadas sucessivas alíquotas de 50 µL de solução padrão de SDZ e, da mesma forma, foram feitas as leituras das correntes catódicas para cada concentração de SDZ adicionada.

4.7 Métodos comparativos

4.7.1 Método comparativo: espectrometria de absorção atômica

A técnica de espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS), com atomização em chama, foi utilizada como método comparativo para a determinação de Sn(IV), sendo que as medidas foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica modelo ContrAA 700 da marca Analytik Jena.

Para estas medidas foi preparada uma solução estoque de Sn padrão comercial 1000 mg L⁻¹ e através de diluições desta solução com HCl 1 %, foram obtidas as soluções para a construção da curva de calibração na faixa de 5 a 150 mg L⁻¹.

A determinação de Sn(IV) nas amostras de biodiesel por HR-CS AAS foi realizada utilizando o método da curva de calibração externa. Esta curva de calibração foi obtida por leituras da absorbância em 224,6 nm para soluções padrão de Sn na faixa de 5 a 150 mg L⁻¹. Uma alíquota de 1 mL de cada amostra (item 4.5.2.1.) foi diluída com 4 mL de água desionizada e na seqüência, esta solução foi injetada diretamente no espectrômetro de absorção atômica com auxílio de um nebulizador pneumático. Uma chama de ar-acetileno na vazão de 40 L h⁻¹ foi utilizada para atomização do Sn e a leitura da absorbância para cada amostra foi lida em 224,6 nm. As absorbâncias encontradas foram então relacionadas à concentração de Sn(IV), na curva de calibração.

4.7.2 *Método comparativo: titulação amperométrica*

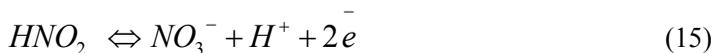
Baseado na farmacopéia britânica, a titulação amperométrica foi utilizada como método comparativo para a validação do método proposto para a determinação de Sulfadiazina. Este método utiliza uma solução titulante nitrito de sódio 0,105 mol L⁻¹, que foi padronizada com uma solução de permanganato de potássio 0,102 mol L⁻¹, antes de ser utilizada. As soluções das amostras foram preparadas por dissolução de 200 mg de cada fármaco com 20 mL de ácido clorídrico 2 mol L⁻¹. Em adição, a titulação amperométrica, foi realizada utilizando dois eletrodos de platina de área igual a 0,5 cm² e posicionados de modo a haver uma distância de 1,5 cm entre eles, imersos em uma célula eletroquímica (um béquer com capacidade para 200 mL). Uma fonte foi utilizada para polarizar os eletrodos com uma diferença de potencial de 50 mV e um amperímetro para a leitura da corrente obtida durante a titulação.

Os eletrodos de platina foram primeiramente submetidos a uma etapa de limpeza química, através da imersão destes eletrodos em solução de ácido nítrico concentrado contendo pequena quantidade de FeCl₃ por 30 s. Em seguida, os eletrodos foram enxaguados com água destilada e desionizada, para posteriormente serem utilizados na determinação da SDZ nos produtos farmacêuticos.

Para a titulação amperométrica, a amostra preparada de cada fármaco (item 4.6.2.1.) foi transferida para um béquer com capacidade para 200 mL (célula eletroquímica) e em seguida, foi adicionada 70 mL de água e 3,0 g de KBr, solução eletrólito suporte. Os eletrodos de platina foram imersos nesta solução e então, polarizados com uma voltagem de 50 mV. Em banho de gelo e sob constante agitação, esta solução foi titulada com NaNO₂ 0,105 mol L⁻¹.

A polarização sobre os eletrodos de platina imersos em solução contendo Sulfadiazina não gera nenhuma corrente elétrica, pois a SDZ não apresenta atividade eletroquímica neste potencial. O titulante NaNO_2 adicionado à solução reacional ácida tem como produto o ácido nitroso (HNO_2), que por sua vez reage com a SDZ até que toda ela seja consumida. Não havendo mais a SDZ no meio, o excesso de HNO_2 submetido à polarização entre os eletrodos é oxidado a NO_3^- em uma reação de transferência de elétrons (Equação 15). Esta reação faz com que uma corrente elétrica seja gerada, a qual é detectada pelo amperímetro conectado aos eletrodos e, desta forma, é estabelecido o ponto final da titulação.

A relação entre o volume gasto do titulante de concentração conhecida e o volume conhecido da solução de Sulfadiazina titulada fornece a concentração de SDZ presente na massa de fármaco pesada.



5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo apresenta os resultados e discussões desta pesquisa e se encontra dividido em duas partes fundamentais: a primeira mostra a obtenção do eletrodo de filme de bismuto pelo método *in situ*, sobre o eletrodo de carbono vítreo para a determinação do Sn(IV) em biodiesel; o segundo tópico relata o desenvolvimento de método eletroanalítico utilizando eletrodo de filme de bismuto obtido pelo método *ex situ* para a determinação da Sulfadiazina em amostras farmacêuticas.

5.1 Preparação e aplicação do BiFE para a determinação de Sn(IV) em biodiesel

Para o desenvolvimento do método eletroanalítico, utilizando um BiFE para a determinação de Sn(IV) em amostras de biodiesel, foram empregados o método de eletrodeposição *in situ* em conjunto com a voltametria de redissolução anódica. Para melhor expor os resultados obtidos, este capítulo foi dividido em duas partes: uma relata a preparação *in situ* do BiFE e a segunda, o desenvolvimento do método aplicando o BiFE obtido para a determinação de Sn(IV) em biodiesel.

5.1.1 Preparo do BiFE pelo método de eletrodeposição *in situ*

5.1.1.1 Experimentos pré-elimin角度

A solução tampão acetato pH 4,5 é comumente utilizada como eletrólito suporte em procedimentos que envolvem a eletrodeposição *in situ* juntamente com análises de redissolução anódica de metais.^{(9), (82)}

Tendo em vista o trabalho desenvolvido por Hutton *et al.*,⁽⁵⁾ no qual obtiveram bons resultados utilizando tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 4,5 para a determinação de Sn(IV) complexado com catecol através da voltametria de redissolução anódica, sobre um BiFE preparado pelo método *in situ*, e visando demonstrar a aplicabilidade do BiFE sobre análises de compostos metálicos, procedimento semelhante foi escolhido para a determinação de Sn(IV) complexado com ácido cafeico.

O comportamento eletroquímico de redissolução do Bi metálico eletrodepositado (E_d -1,2 V; t_d 100 s) sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo em uma solução Bi(III) $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,5), na presença e na ausência de ácido cafeico

$1,73 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi analisado no intuito de verificar a influência do agente complexante ácido cafeico na preparação *in situ* do BiFE.

A Figura 9a mostra o voltamograma cíclico, na ausência de ácido cafeico, obtido através da variação de potencial de -1,0 V a +1,0 V. A variação de potencial no sentido positivo gerou um pico de oxidação do Bi metálico a Bi(III) em -0,11 V e a variação de potencial no sentido inverso forneceu um pico de redução do Bi(III) a Bi metálico em -0,57 V. Na presença de ácido cafeico (Figura 9b), um comportamento eletroquímico semelhante relacionado aos estados de oxidação do bismuto foi obtido, onde os picos de oxidação do Bi metálico e redução do Bi(III) aconteceram em potenciais semelhantes aos obtidos na Figura 9a. A variação de potencial no sentido positivo gerou, além do pico de oxidação do Bi metálico, um pico de oxidação do ácido cafeico em +0,32 V e a varredura no sentido oposto gerou um pico de redução em +0,24 V referente à redução do ácido cafeico, além do pico de redução do Bi(III).

Em resumo, os sinais analíticos correspondentes à oxidação do Bi metálico (dissolução do Bi metálico depositado) e à redução do Bi(III) (Figura 9a) não foram consideravelmente afetados (Figura 9b), indicando que a preparação *in situ* do BiFE não será prejudicada pela adição de ácido cafeico.

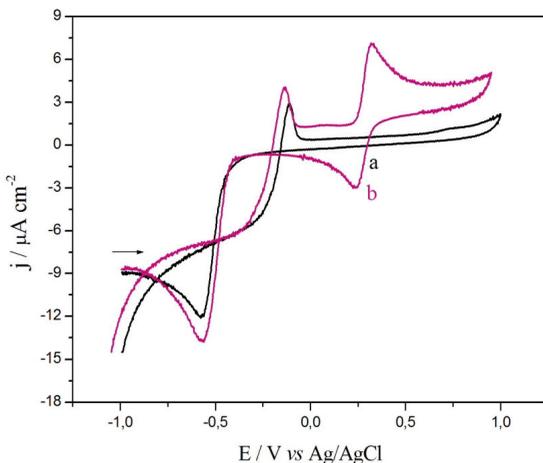


Figura 9: Voltamograma cíclico para a) Bi(III) $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 e b) a + ácido cafeico $1,73 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ sobre GCE. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$

A Figura 9 (curva a) mostra também que para se ter filmes mais compactos e aderentes à superfície do substrato, um potencial mais negativo do que $-0,57\text{ V}$ – potencial de pico de redução do Bi(III) – deve ser aplicado como E_d na etapa de eletrodeposição de preparo do BiFE. Outro dado extraído da curva a, é que o comportamento de oxidação do Bi metálico mostra que a janela eletroquímica de potencial tem um limite em $-0,4\text{ V}$ – a partir deste potencial há um aumento na densidade de corrente anódica, indicando que o Bi metálico está susceptível à oxidação e conseqüentemente à dissolução do filme de bismuto. Portanto, a variação de potencial para a oxidação do Sn metálico escolhida para a determinação de Sn(IV) foi de $-1,0$ a $-0,4\text{ V}$.

5.1.1.2 Otimização dos parâmetros de eletrodeposição *in situ*

Os parâmetros de eletrodeposição de preparo do BiFE para a determinação de Sn(IV), por voltametria de redissolução anódica na presença de ácido cafeico, tais como E_d , t_d e concentração de Bi(III), foram cuidadosamente otimizados de acordo com a densidade de corrente anódica fornecida pela oxidação do Sn metálico sobre cada BiFE obtido em função do parâmetro de deposição avaliado. A preparação do BiFE sobre o GCE foi realizada utilizando diferentes parâmetros e cada filme obtido foi submetido à determinação *in situ* de Sn(IV) $1,0 \times 10^{-4}\text{ mol L}^{-1}$, na presença de ácido cafeico $1,73 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5.

Para o estudo do potencial de deposição, potenciais de $-0,7$ a $-1,4\text{ V}$ foram aplicados durante 100 s , sobre um GCE em solução Bi(III) $3,0 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$ e Sn(IV) $1,0 \times 10^{-4}\text{ mol L}^{-1}$, na presença de ácido cafeico $1,73 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$ e tampão acetato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 como eletrólito suporte. A Figura 10A mostra que a densidade de corrente aumentou conforme potenciais mais negativos eram aplicados, atingindo um valor máximo em $-1,3\text{ V}$. Quando o potencial $-1,4\text{ V}$ foi utilizado, a definição do sinal foi prejudicada e também houve perda significativa da intensidade do sinal analítico (gráficos não mostrados). Embora o valor de potencial de $-1,3\text{ V}$ tenha gerado maior densidade de corrente, o potencial $-1,2\text{ V}$ apresentou um sinal com menos ruído e mais reprodutível, como pode ser observado na Tabela 1. Como observado por Bobrowski *et al.* ⁽²⁾ potenciais muito mais negativos que o potencial de redução do Bi(III) levam a formação de cristais de Bi metálico muito finos, dificultando que um filme aderente e compacto seja formado.

Assim, o potencial de -1,2 V foi escolhido como potencial de eletrodeposição *in situ* para o preparo do BiFE.

Tabela 1: Repetibilidade do método de preparação do BiFE com E_d de -1,2 V e -1,3 V

Parâmetro de repetibilidade ^a	RSD (%) para E_d -1,2 V	RSD (%) para E_d -1,3 V
Densidade de corrente de pico	4,33	9,31
Potencial de pico	5,15	10,24

^an = 3

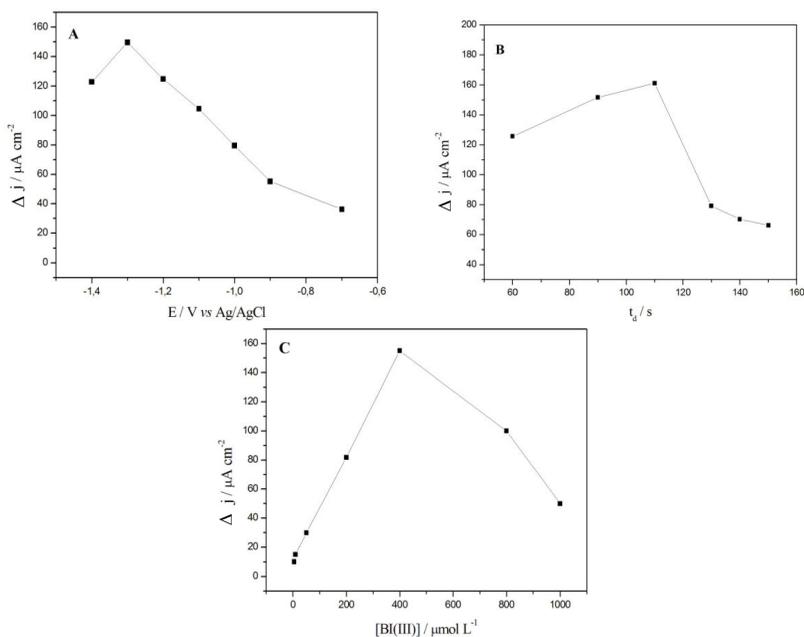


Figura 10: Influência dos parâmetros de preparação *in situ* do BiFE: A) potencial, B) tempo e C) concentração de Bi(III) na densidade de corrente do Sn(IV) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 4,5 por SWV (f 15 Hz, a 50 mV e ΔE_s 5 mV).

No que diz respeito ao tempo de deposição, tempo de aplicação do potencial foi variado de 60 a 150 s. A Figura 10B mostra que o

aumento no tempo de deposição levou a um aumento na densidade de corrente de pico da oxidação do Sn metálico até 110 s e um decréscimo intenso foi observado no sinal analítico referente ao Sn(IV) para tempos maiores do que 110 s. No entanto, quando 90 s foi utilizado como tempo de deposição o BiFE forneceu melhor resposta analítica – apresentando sinais com menos ruído – além de alta densidade de corrente de pico anódica em relação ao tempo de deposição de 110 s. Com estes resultados e visando tempos experimentais mais curtos, o tempo de deposição escolhido para a preparação do BiFE foi 90 s.

A concentração de Bi(III) foi variada de $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando -1,2 V e 90 s como potencial de deposição e tempo de deposição, respectivamente. Os resultados obtidos (Figura 10C) mostram que o BiFE apresentou uma melhor resposta à oxidação do Sn metálico em solução de Bi(III) $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ sendo então, a concentração de Bi(III) escolhida para a preparação do BiFE *in situ*.

Com os parâmetros otimizados para a obtenção do filme de bismuto, a repetibilidade do método de preparação do BiFE no sinal analítico de redissolução do Sn metálico foi testada. O procedimento foi repetido três vezes em um mesmo dia e os valores lidos de densidade de corrente e potencial de pico mostraram um menor desvio padrão relativo para os valores de densidade de corrente de pico anódica do que para o potencial de pico de oxidação. Os resultados, mostrados na Tabela 2, foram satisfatórios e assim, este procedimento *in situ* de preparo do BiFE foi empregado nos demais experimentos.

Tabela 2: Repetibilidade do método de preparação do BiFE

Parâmetro de repetibilidade ^a	RSD (%)
Densidade de corrente de pico	3,23
Potencial de pico	4,99

^an = 3

5.1.2 Desenvolvimento do método eletroanalítico

Os estudos realizados para o desenvolvimento do método, buscando a maior resposta analítica do BiFE para a determinação de Sn(IV), estão descritas a seguir.

5.1.2.1 Seleção do eletrólito suporte e pH

Para a determinação de Sn(IV), utilizando o BiFE preparado pela eletrodeposição *in situ*, a escolha do eletrólito suporte bem como do pH utilizado deve estar de acordo tanto com a etapa de eletrodeposição quanto com a de determinação. Conforme a literatura, uma solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹, funciona bem como eletrólito suporte tanto para a eletrodeposição de íons metálicos – Bi(III) e Sn(IV) – quanto para a etapa de redissolução por técnicas voltamétricas, pois além de minimizar os problemas de hidrólise dos íons, ajuda a manter a força iônica do meio sempre constante.^{(1) (5) (13)}

Assim, para o desenvolvimento do método eletroanalítico para determinação de Sn(IV) em biodiesel utilizando, um BiFE foi empregado como eletrólito suporte uma solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 4,5.

5.1.2.2 Influência do ácido cafeico

Um agente complexante é utilizado em conjunto com análises de redissolução, visando proporcionar maior seletividade à técnica. Isso porque, a análise do íon metálico complexado tende a apresentar dados eletroquímicos mais simples em matrizes complexas, por serem menos susceptíveis a interferentes orgânicos e inorgânicos.^{(20), (48)}

Neste trabalho foi testado o ácido cafeico como agente complexante do Sn(IV) por apresentar em sua estrutura (Figura 11) o grupo catecol, ao qual é atribuída grande parte da sua atividade de complexação com íons metálicos. Desta forma, a eficiência do ácido cafeico como agente complexante na determinação do Sn(IV) foi verificada comparando o sinal analítico de oxidação do Sn metálico eletrodepositado sobre o BiFE e o mesmo sinal analítico obtido com a eletrodeposição do Sn metálico na presença do ácido cafeico.

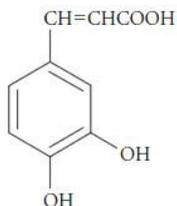


Figura 11: Estrutura do ácido cafeico

Os resultados obtidos para a redissolução do Sn metálico por voltametria de onda quadrada e variação de potencial de -1,0 a -0,4 V estão apresentados na Figura 12. Nela, observa-se que o voltamograma de redissolução de onda quadrada não apresentou nenhum pico de oxidação em solução tampão acetato sem a presença de Sn(IV) e ácido cafeico (Figura 12a). Com a adição de Sn(IV) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a Figura 12b mostra um pico de redissolução em -0,58 V, referente à oxidação do Sn metálico a Sn(II), com densidade de corrente de pico anódica de $7,22 \mu\text{A cm}^{-2}$. No entanto, quando o ácido cafeico $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foi adicionado à solução, o pico de oxidação teve um incremento em cerca de $30 \mu\text{A cm}^{-2}$, enquanto que o potencial de pico permaneceu praticamente constante (Figura 12c).

Estes resultados mostram que a complexação do Sn(IV) com ácido cafeico resultou em um aumento na densidade de corrente de pico do sinal analítico de redissolução do Sn metálico sobre o BiFE. Isto indica que além de poder minimizar os efeitos de possíveis interferentes na determinação de Sn(IV) em matrizes complexas, proporciona maior sensibilidade à determinação, e desta forma, o ácido cafeico foi utilizado neste trabalho visando melhores resultados com o método proposto.

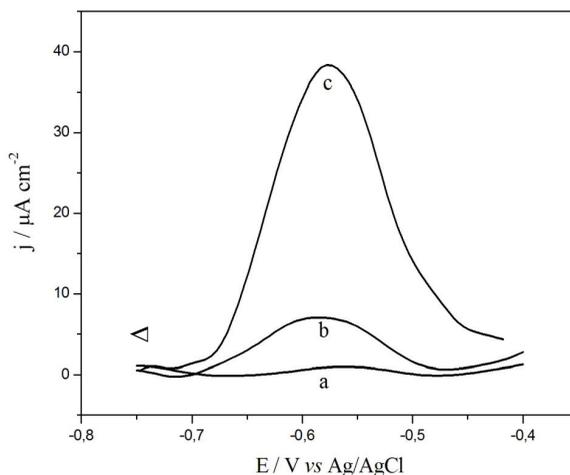


Figura 12: Voltamogramas de onda quadrada para redissolução anódica de a) tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5), b) a + Sn(IV) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e c) b + ácido cafeico $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, sobre BiFE. f , 15 Hz; a , 50 mV e ΔE_s , 5 mV.

Um estudo da concentração do ácido cafeico adicionada à solução de eletrodeposição, na faixa de $4,0 \times 10^{-6}$ a $2,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, foi realizado de acordo com o sinal analítico de redissolução do Sn metálico obtido. A Figura 13 mostra que o incremento na concentração de ácido cafeico de $4,0 \times 10^{-6}$ a $1,73 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ proporcionou um aumento significativo na densidade de corrente de pico de oxidação do Sn metálico, enquanto para concentrações maiores do que $2,18 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ o sinal analítico foi prejudicando, levando a um decréscimo na densidade de corrente de pico anódica. Assim, a concentração de ácido cafeico $1,73 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ foi selecionada para os próximos experimentos.

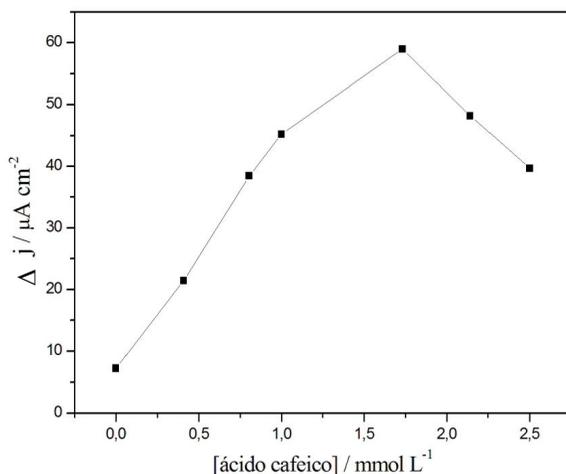


Figura 13: A) Efeito da concentração do ácido cafeico na voltametria de redissolução anódica do Sn(IV) $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ sobre BiFE em tampão acetato $0,1$ mol L⁻¹ (pH 4,5) e Bi(III) $4,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹

5.1.2.3 Escolha da técnica voltamétrica

A técnica voltamétrica aplicada no desenvolvimento de um método eletroanalítico visa maior sensibilidade ao método na determinação do analito de interesse bem como tempos experimentais curtos. Das técnicas voltamétricas descritas no item 2.4, as voltametrias pulso (voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada) em conjunto com etapa de pré-concentração eletroquímica ou adsortiva

tende a proporcionar os limites de detecção mais baixos para a determinação de íons metálicos.

O Sn metálico pode ser facilmente oxidado a Sn(II) em potencial próximo a $-0,6$ V sobre um eletrodo sólido como eletrodo de carbono vítreo em um processo eletroquímico reversível. Este comportamento sugere que a voltametria de onda quadrada, com variação no sentido positivo de potencial, proporciona maior sensibilidade analítica do que a voltametria de pulso diferencial, nas mesmas condições experimentais. Desta forma, optou-se por utilizar a voltametria de redissolução anódica em onda quadrada para a etapa de redissolução do Sn metálico e desenvolvimento do método eletroanalítico proposto.

5.1.2.4 Otimização dos parâmetros para voltametria de onda quadrada

No desenvolvimento de um método eletroanalítico, além da seleção da técnica utilizada, o ajuste dos parâmetros experimentais que constituem na execução da técnica é de fundamental importância, pois influenciam na resposta do eletrodo. Portanto, os parâmetros da voltametria de onda quadrada, tais como frequência (f), amplitude (a) e incremento de potencial (ΔE_s) foram cuidadosamente otimizados, buscando a maior resposta do BiFE sobre o sinal analítico de redissolução do Sn metálico a Sn(II).

A influência da frequência na densidade de corrente de pico de oxidação do Sn metálico foi estudada no intervalo de 5 a 50 Hz, fixando a amplitude em 25 mV e o incremento de potencial em 5 mV. A relação entre as densidades de corrente de pico anódica obtidas para cada frequência aplicada está ilustrada na Figura 14 e pode ser observado um aumento proporcional na densidade de corrente de pico anódica até 15 Hz. Para valores de frequência entre 20 e 50 Hz a densidade de corrente de pico permaneceu praticamente constante e, portanto, a frequência foi ajustada em 15 Hz para estudos posteriores.

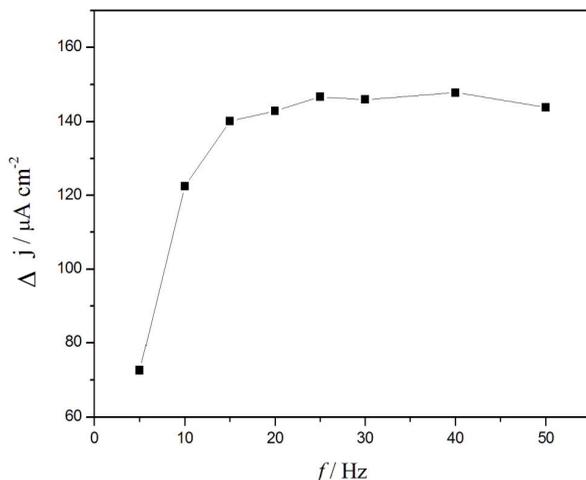


Figura 14: Dependência da variação da densidade de corrente de pico com a frequência de variação de potencial (f) para o Sn(IV) $1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e ácido caféico $1,73 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 4,5. α , 40 mV e ΔE_s , 5 mV

Em seguida, avaliou-se a influência da amplitude na faixa de 5 a 50 mV, nas mesmas condições experimentais. A Figura 15A mostra que com o aumento da amplitude houve também um aumento na densidade de corrente de pico anódica até 40 mV, sem prejudicar a resolução do sinal analítico, e para 50 mV, embora a intensidade do sinal analítico foi a maior obtida, o voltamograma apresentou ruído e alargamento do pico, dificultando a leitura da densidade de corrente de pico (gráfico não mostrado). Por isso, optou-se em trabalhar com o valor da amplitude de 40 mV nos experimentos seguintes. Finalmente, avaliou-se o efeito do incremento de potencial entre 2 e 10 mV (Figura 15B). Nas condições experimentais selecionadas, foi observada uma maior densidade de corrente de pico anódica quando o incremento de potencial de 5 mV foi utilizado. Desta forma, um incremento de potencial de 5 mV foi selecionado pra dar continuidade aos estudos.

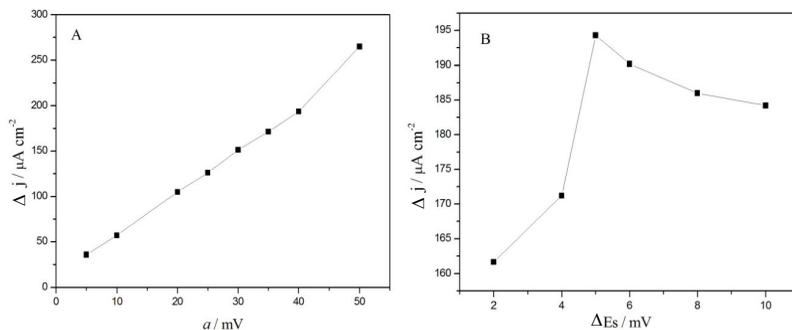


Figura 15: Influência dos parâmetros experimentais da SWV A) amplitude (f 15 Hz e ΔE_s 5 mV) e B) incremento de potencial (f 15 Hz e a 40 mV) na densidade de corrente anódica do Sn(IV) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ na presença de ácido cafeico $1,73 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 4,5.

Os parâmetros que potencializam o uso do BiFE na determinação de Sn(IV) estão resumidos na Tabela 3.

Tabela 3: Parâmetros experimentais selecionados pra determinação de Sn(IV) complexado com ácido cafeico, sobre BiFE

Parâmetro	Valor estabelecido
Eletrólito suporte	Tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5
Agente complexante	Ácido cafeico $1,73 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$
Técnica	Voltametria de redissolução anódica em onda quadrada
Frequência	15 Hz
Amplitude	40 mV
Incremento de potencial	5 mV

5.1.2.5 Curva analítica

Com os valores dos parâmetros ótimos estabelecidos para o método proposto (Tabela 3) a curva analítica foi construída adicionado

alíquotas da solução padrão de Sn(IV) ao eletrólito suporte, variando a concentração de Sn(IV) na célula eletroquímica. Os voltamogramas de onda quadrada, para cada concentração de Sn(IV), representados na Figura 16, mostram que enquanto o potencial de pico de oxidação do Sn metálico permaneceu praticamente constante em $-0,58\text{V}$, a densidade de corrente de pico anódica aumentou proporcionalmente com o aumento na concentração do Sn(IV).

Este comportamento pode ser melhor visualizado através da figura inserida à Figura 16 que mostra um aumento da densidade de corrente de pico na faixa de concentração de Sn(IV) de $8,66 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,20 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ apresentando um coeficiente de correlação linear de 0,9997.

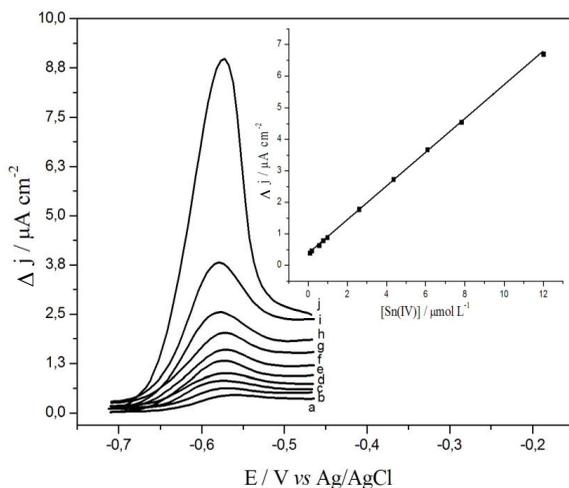


Figura 16: Voltamogramas de onda quadrada para Sn(IV) (a) $8,66 \times 10^{-8}$, (b) $1,74 \times 10^{-7}$, (c) $5,52 \times 10^{-7}$, (d) $7,60 \times 10^{-7}$, (e) $9,70 \times 10^{-7}$, (f) $2,60 \times 10^{-6}$, (g) $4,35 \times 10^{-6}$, (h) $6,09 \times 10^{-6}$, (i) $7,83 \times 10^{-6}$ e (j) $1,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 4,5, (f 15 Hz; a 40 mV e ΔE_s 5 mV). Inserção: Curva analítica.

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) de um método representam respectivamente a mais baixa concentração da substância em exame que pode ser detectada, com certo limite de confiabilidade, e a mais baixa concentração da substância em exame que pode ser determinada de forma quantitativa com precisão e exatidão. Estes parâmetros foram calculados através das seguintes equações:

$$LD = \frac{3SD_A}{B} \quad (16)$$

$$LQ = \frac{10SD_A}{B} \quad (17)$$

onde SD_A é o desvio padrão do coeficiente linear da curva analítica, B a inclinação da reta (coeficiente angular) e 3 um fator de multiplicação que caracteriza um nível de confiança de 95 %^{(56) (83) (84)}. O LD e o LQ calculados para a determinação de Sn(IV), assim como os dados extraídos da curva analítica, encontram-se na Tabela 4 e indicam a elevada sensibilidade do método.

Tabela 4: Parâmetros obtidos da curva analítica para determinação de Sn(IV)

Parâmetros	Valor encontrado
Potencial de pico / V	-0,58
Faixa linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,087 a 12,005
Coefficiente de correlação	0,9997
Coefficiente linear (A) / $\mu\text{A cm}^{-2}$	0,380
Desvio padrão de A / $\mu\text{A cm}^{-2}$	0,017
Coefficiente angular (B) / $\mu\text{A L mol}^{-1} \text{cm}^{-2}$	0,531
Desvio padrão de B / $\mu\text{A L mol}^{-1} \text{cm}^{-2}$	0,00328
Limite de detecção / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,064
Limite de quantificação / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,321
Curva de calibração / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,321 a 12,005

A repetibilidade expressa a concordância entre os resultados obtidos dentro de um curto espaço de tempo (dentro de 24 horas) para a mesma solução, em diferentes preparações, com o mesmo procedimento, analista, instrumento e local, e a reprodutibilidade, a concordância entre os resultados obtidos para a mesma solução preparada em espaços de tempos mais longos, diferentes dias.^{(20) (56) (84)}

A fim de avaliar a precisão do método proposto fez-se o estudo da repetibilidade (intra-dia) e da reprodutibilidade (inter-dia) do potencial de pico e da densidade de corrente de pico de oxidação do Sn metálico pré-concentrado na superfície do BiFE, nas condições

experimentais já estabelecidas. A repetibilidade foi testada através de cinco determinações consecutivas de Sn(IV) em uma única solução contendo Sn(IV) padrão $1,0 \times 10^{-4}$, em um único dia, enquanto que a reprodutibilidade foi verificada através de cinco determinações de Sn(V) em cinco soluções de Sn(IV) padrão $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, preparadas uma a cada dia, durante cinco dias consecutivos. As medidas apresentaram resultados com baixo desvio padrão relativo, tanto para as leituras intra-dia quanto para leituras inter-dia (Tabela 5), indicando que as medidas do potencial de pico e da corrente de pico são precisas para a concentração de Sn(IV) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Por extrapolação, concluiu-se que as medidas são também precisas para todas as concentrações de Sn(IV) usadas para confeccionar a curva analítica.

Tabela 5: Dados do estudo da repetibilidade e reprodutibilidade do método proposto para determinação de Sn(IV)

Repetibilidade ^a	RSD (%)
Repetibilidade do potencial de pico	1,47
Repetibilidade da corrente de pico	4,73
Reprodutibilidade do potencial de pico	2,74
Reprodutibilidade da corrente de pico	5,79

^an=3

5.1.2.6 Determinação do Sn(IV) em biodiesel sobre BiFE

Com o objetivo de avaliar o desempenho do método proposto, o método desenvolvido foi aplicado na determinação de Sn(IV) em amostras de biodiesel adquiridas na região de Florianópolis – SC. A Figura 17 mostra os voltamogramas de onda quadrada para a determinação na amostra C e a curva de adição de analito (inserida à Figura 17). Dados semelhantes foram obtidos para as amostras A e B.

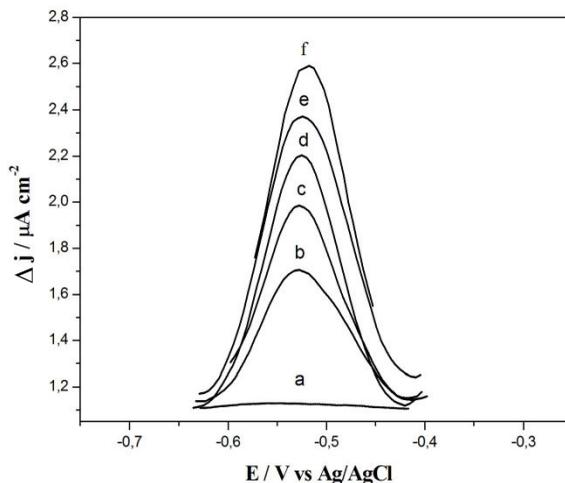


Figura 17: Voltamogramas de onda quadrada para a) tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5; b) adição de 1 mL da amostra de biodiesel (c-f) adição de $250 \text{ } \mu\text{L}$ de Sn(IV) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ padrão (f 15 Hz, a 40 mV e ΔE_s 5 mV).

A concentração média de Sn(IV) encontrada em cada amostra, através de determinações realizadas em triplicata, assim como o desvio padrão relativo entre as determinações, encontram-se na Tabela 6, e como pode ser observado para cada amostra o desvio padrão relativo não passou de 2 %, indicando uma boa precisão entre os dados obtidos.

O termo precisão fornece a dispersão dos valores medidos em torno de um valor médio, e seu valor numérico pode ser estimado pelo desvio padrão relativo (RSD) para as análises de amostras contendo a mesma quantidade das espécies de interesse. Os valores de desvio padrão relativos encontrados para as amostras A, B e C de biodiesel pelo método proposto foram na ordem de 1,02 %, 1,74 % e 1,49 %, respectivamente, confirmando a precisão do método desenvolvido utilizando um eletrodo de filme de bismuto.^{(20), (76)}

Tabela 6: Dados da determinação de Sn(IV) em amostras de biodiesel sobre BiFE

Amostra	Concentração encontrada ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Concentração Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	RSD (%)
Amostra A	322	321	1,02
	317		
	325		
Amostra B	155	152	1,74
	150		
	151		
Amostra C	235	235	1,49
	239		
	232		

5.1.2.7 Determinação de Sn(IV) em biodiesel através do método HR-CS AAS e tratamento estatístico dos dados

Como já dito anteriormente, um método comparativo pode ser empregado como forma de avaliar a exatidão de um método que está sendo proposto. Para verificar a exatidão do método eletroanalítico desenvolvido utilizando BiFE para a determinação de Sn(IV), um método comparativo, que faz uso da técnica HR-CS AAS, foi utilizado para determinar Sn(IV) nas mesmas amostras de biodiesel e assim comparar os resultados correspondentes aos dois métodos; o proposto e o comparativo.

Os resultados para a determinação, em triplicata, de Sn(IV) nas amostras A, B e C pelo método comparativo estão apresentados na Tabela 7 e mostram um baixo valor de desvio padrão relativo entre os valores encontrados para cada determinação, em cada amostra. Estes resultados indicam que o método é preciso e, deste modo, seguro para ser utilizado como um fator de comparação.

Tabela 7: Dados da determinação de Sn(IV) em biodiesel pelo método HR-CS AAS

Amostra	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	RSD (%)
A	293	297	2,05
	302		
	398		
B	164	167	1,47
	170		
	167		
C	245	244	1,02
	241		
	247		

A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos através de cálculos estatísticos empregados a fim de avaliar o método proposto quanto à exatidão e à precisão, à confiabilidade dos resultados encontrados na determinação da Sn(IV) nas amostras de biodiesel.

A exatidão indica quão próximo o valor medido está do valor verdadeiro e é relacionada aos erros aleatórios ou indeterminados. Uma das formas de determinar a exatidão obtida no desenvolvimento de um método é comparar o resultado obtido com o método desenvolvido ao resultado obtido com o método padrão ou comparativo. Esta comparação é feita através do cálculo do erro relativo (Er) entre o valor encontrado pelo método proposto e o comparativo. Para as três amostras de biodiesel analisadas, foram encontrados erros relativos de 8,08 % para a amostra A, -8,98 % para a amostra B e -3,69 % para a amostra C. Estes valores são aceitáveis para amostras em micro-quantidades^{(56), (84)} e indicam que o método proposto para a determinação de Sn(IV) em biodiesel, usando eletrodo de filme de bismuto, tem exatidão comparável à HR-CS AAS.

A comparação entre os valores obtidos a partir do método proposto e os obtidos a partir do método comparativo possibilita

determinar se o procedimento analítico foi exato ou preciso para ambos, ou se há diferença entre um método e outro. Há duas maneiras comuns para comparar os resultados: o teste t de *Student* e o teste da razão das variâncias (teste F). O teste t de *Student*, com dois graus de liberdade e 95 % de confiança foi aplicado para comprar as médias obtidas com BiFE às médias obtidas com HR-CS AAS. Para as três amostras de biodiesel analisadas, os valores de teste t calculados foram inferiores ao valor t crítico 2,10, mostrando que não há diferença significativa nas médias obtidas com o BiFE quando comparados às médias obtidas com o método HR-CS AAS.

Esse resultado está completamente de acordo com o apresentado no parágrafo anterior e confirma a exatidão na determinação de Sn(IV) em amostras de biodiesel obtida com o BiFE.

Finalmente, o teste F foi usado para comparar a precisão dos dois métodos usados para determinar Sn(IV) em biodiesel. Sendo 19 o valor teórico para um nível de 95 % de confiança, utilizando dois graus de liberdade, os valores encontrados para as três amostras de biodiesel analisadas não foram maiores do que 2, indicando que não há diferença significativa entre as precisões oferecidas pelos dois métodos de análise.

Os resultados apresentados acima demonstram, claramente, que a determinação de Sn(IV) em amostras de biodiesel usando BiFE tem exatidão e precisão comparáveis à determinação de Sn(IV) em amostras de biodiesel usando HR-CS AAS.

Tabela 8: Tratamento de dados para a validação do método proposto para determinação de Sn(IV)

Método	Amostra A		Amostra B		Amostra C	
	Prop.	Comp.	Prop.	Comp.	Prop.	Comp.
Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^a	321	297	152	167	235	244
RSD (%)	1,02	2,05	1,74	1,47	1,49	1,02
Er (%)	8,08		-8,98		-3,69	
t _{calculado} ^b	0,11		0,32		0,13	
F _{calculado} ^c	0,79	0,79	0,70	0,70	1,32	1,32

^an = 3; ^bt_{crítico} = 4,30; ^cF_{crítico} = 19

5.1.3 Conclusão específica

O BiFE preparado pelo método *in situ* mostrou excelente aplicabilidade para a determinação de Sn(IV) em biodiesel. A oxidação do Sn metálico codepositado sobre o BiFE, através da aplicação de um potencial de -1,2 V por 90 s sobre GCE imerso em solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5 contendo Bi(III) 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹, Sn(IV) e ácido cafeico 1,73x10⁻³ mol L⁻¹, gerou um pico em -0,58 V que respondeu de forma linear entre as concentrações de Sn(IV) de 0,087 a 12,005 µmol L⁻¹. O ácido cafeico, utilizado como agente complexante dos íons Sn(IV), não prejudicou a formação do filme de bismuto e ainda, possibilitou uma maior sensibilidade ao método desenvolvido, chegando a um limite de detecção para o Sn(IV) de 6,43x10⁻² µmol L⁻¹. O método foi eficiente na determinação de Sn(IV) em amostras de biodiesel, mostrando excelente precisão nas medidas e exatidão em relação ao método comparativo HR-CS AAS.

5.2 Preparação e aplicação do BiFE para a determinação de SDZ em fármacos

Tendo em vista a importância do substrato na qualidade do BiFE, o eletrodo de carbono vítreo foi escolhido como substrato também para a eletrodeposição *ex situ* no preparo do BiFE aplicado no desenvolvimento de método eletroanalítico para determinação de SDZ em fármacos. Para melhor expor os resultados obtidos, este capítulo foi dividido em duas partes: uma relata a preparação *ex situ* do BiFE e a outra o desenvolvimento do método aplicando o BiFE obtido para a determinação da SDZ em fármacos.

5.2.1 Preparo do BiFE pelo método de eletrodeposição *ex situ*

Devido às condições experimentais exigidas para a eletrodeposição *ex situ*, primeiramente, foi analisado o comportamento eletroquímico do Bi(III) sobre o GCE em HCl 1,0 mol L⁻¹ – meio ácido mais utilizado em processos de preparação *ex situ* do BiFE, pois facilita a solubilidade tanto do sal Bi(NO₃)₃ quanto de possíveis complexos insolúveis que possam ser gerados como produto da hidrólise dos íons Bi(III).

5.2.1.1 Experimentos pré-eliminatórios

A Figura 18 mostra o voltamograma cíclico obtido através da variação de potencial de +0,5 a -0,4 V sobre o substrato GCE imerso em solução de Bi(III) 3,0x10⁻³ mol L⁻¹ em HCl 1,0 mol L⁻¹. A variação de potencial no sentido negativo gerou um pico de redução, do Bi(III) a Bi metálico, em -0,15 V e a variação de potencial no sentido inverso gerou um pico de oxidação, do Bi metálico a Bi(III), em +0,19 V. Estes dados indicam que um potencial mais negativo do que -0,15 V deve ser utilizado como potencial de deposição para preparo do BiFE e que a janela eletroquímica é limitada em cerca de -0,02 V, para potenciais mais positivos o processo de oxidação do Bi metálico é favorecida, levando a redissolução do filme.

O voltamograma cíclico da Figura 18 mostra também que a redução do Bi(III) gera um densidade de corrente inferior a oxidação do Bi metálico. Este comportamento é similar ao observado pelos autores Tóth *et al.* ⁽²⁶⁾ e Bobrowski *et al.* ⁽²⁾ nas mesmas condições experimentais, porém não foram realizados estudos suficientes para uma

explicação concreta para este fato observado. No entanto, os últimos autores realizaram um estudo do comportamento eletroquímico dos íons Bi(III) sobre o GCE em diferentes composições de solução de Bi(III), as quais foram $\text{BiCl}_3 + \text{HCl}$; $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 + \text{HCl}$; $\text{BiCl}_3 + \text{HCl} + \text{LiBr}$ e $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 + \text{HCl} + \text{LiBr}$. Os resultados revelam que o potencial dos picos de redução e oxidação são deslocados para valores mais negativos em função da probabilidade de formar complexos de hidrólise mais estáveis e neste mesmo sentido, uma maior diferença entre a densidade de corrente de pico catódica e anódica é observada.

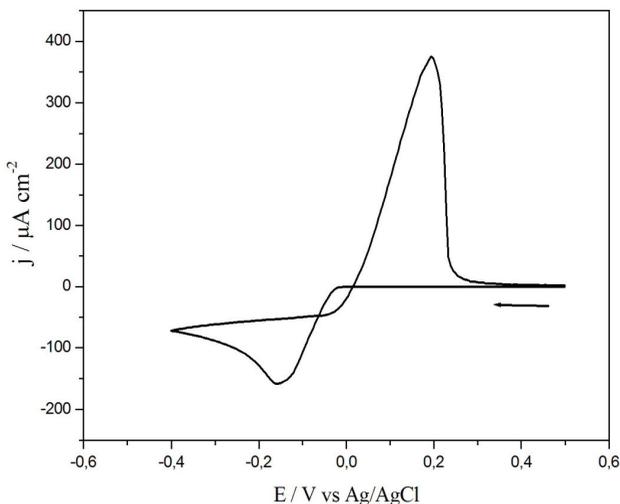


Figura 18: Voltamograma cíclico para $\text{Bi}(\text{III})$ $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ sobre GCE v 100 mV s^{-1}

Tendo em vista o comportamento eletroquímico do $\text{Bi}(\text{III})$ sobre GCE, um BiFE foi preparado pela aplicação de um potencial de deposição de $-1,0 \text{ V}$ por 80 s em solução de $\text{Bi}(\text{III})$ $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ ⁽²⁸⁾ e em seguida, o seu comportamento eletroquímico foi avaliado através de dez ciclos sucessivos por voltametria cíclica em solução tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, pH $4,5$ e variação de potencial de $-0,4$ a $-1,1 \text{ V}$ (Figura 19). Na Figura 19, a curva a mostra o primeiro voltamograma cíclico obtido, enquanto a curva b, o décimo voltamograma cíclico consecutivo e como pode ser observado, na região de potencial entre $-0,4 \text{ V}$ e $-0,9 \text{ V}$ a corrente residual no primeiro ciclo é

bem maior (cerca de 10 vezes) do que a corrente residual depois de dez ciclos consecutivos. Isto sugere que uma etapa de pré-tratamento prévia à etapa da determinação pode aumentar a sensibilidade do eletrodo.

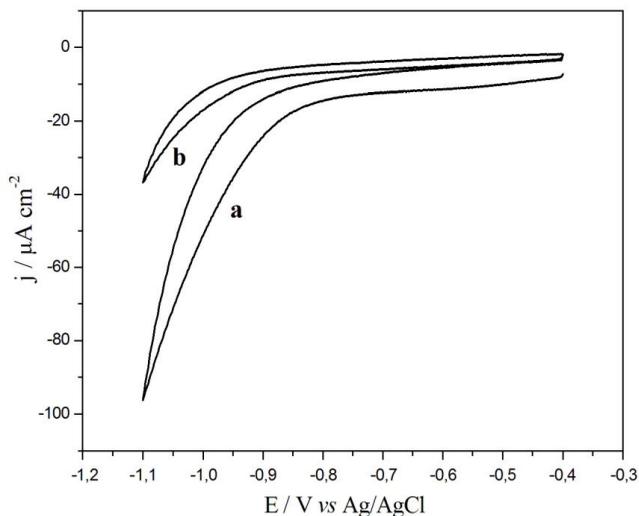


Figura 19: Voltamogramas cíclicos para dez ciclos sucessivos, sendo a) o primeiro e b) o décimo sobre BiFE, ν 100 mV s⁻¹

Em seguida, o mesmo BiFE foi testado na identificação da SDZ por voltametria de pulso diferencial e variação de potencial de -0,4 a -1,0 V em tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹, pH 4,5. A curva a, apresentada na Figura 20, mostra o voltamograma obtido sobre o BiFE imerso em solução tampão Britton-Robinson onde nenhum sinal de redução foi observado, enquanto com a adição de SDZ 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹, a curva b mostra que a variação de potencial sobre o mesmo BiFE gerou um pico de redução em -0,74 V com densidade de corrente de pico catódica de -1,68 μA cm⁻², correspondente a SDZ. No entanto, este sinal analítico não foi reproduzido, como observado na curva c, quando o mesmo BiFE foi submetido novamente a identificação da SDZ, nas mesmas condições experimentais. Embora um pico de redução da SDZ tenha sido observado, a densidade de corrente de pico catódica gerada foi de -0,29 μA cm⁻², inferior à obtida na primeira determinação. Estes resultados mostraram que o BiFE pode sim ser aplicado para a determinação da SDZ, porém, devido a uma possível adsorção do

produto de redução da SDZ na superfície do BiFE, levando à saturação da superfície e, conseqüentemente, à perda de sinal, um novo BiFE é necessário para cada análise da determinação.

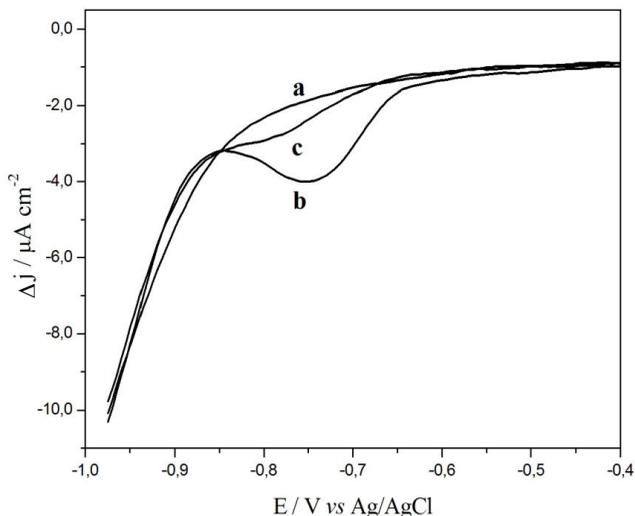


Figura 20: Voltamogramas de pulso diferencial para a) tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 b) a + SDZ $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, c) repetição de b sobre um mesmo BiFE (v 10 mV s^{-1} , ΔE_p 50 mV , ΔE_s 5 mV)

Desta forma, um procedimento para uma etapa de condicionamento foi testado, visando a melhor sensibilidade do BiFE para a determinação da SDZ. O sinal analítico de redução da SDZ sobre um BiFE foi comparado com o mesmo sinal adquirido sobre um BiFE submetido a um condicionamento, como consta na Figura 21: como esperado, a variação de potencial de $-0,4$ a $-1,1 \text{ V}$ sobre solução tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 (curva a) não apresentou nenhum pico de redução. A redução da SDZ sobre BiFE não condicionado gerou uma densidade de corrente catódica de $-2,2 \mu\text{A cm}^{-2}$ (curva b), enquanto sobre o BiFE condicionado, esta densidade de corrente foi de $-3,5 \mu\text{A cm}^{-2}$ (curva c). Estes resultados mostram que o condicionamento, o qual consistiu na aplicação de um potencial de $-1,0 \text{ V}$ por 50 s em solução tampão Britton-Robinson, sob agitação foi eficiente, sendo então adotado como um pré-tratamento do BiFE prévio às determinações.

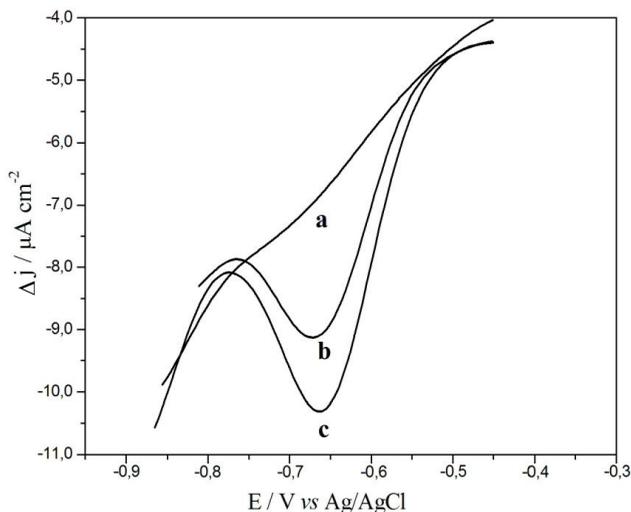


Figura 21: Voltamogramas de pulso diferencial para a) tampão B-R 0,04 mol L⁻¹ pH 4,5 sobre BiFE condicionado b) a + SDZ 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ sobre BiFE não condicionado e c) b sobre BiFE condicionado (v 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV)

5.2.1.2 Otimização dos parâmetros de eletrodeposição *ex situ*

Os parâmetros de deposição para construção do eletrodo de filme de bismuto por eletrodeposição *ex situ* são determinantes da qualidade BiFE formado, pois ditam a morfologia dos cristais de Bi metálico formados, como já mencionado neste trabalho.

O potencial de deposição aplicado foi estudado entre os valores de potenciais de -0,2 a -1,0 V / Ag/AgCl por 80 s, sobre o GCE imerso em solução de Bi(III) 3,0x10⁻³ mol L⁻¹ em HCl 1,0 mol L⁻¹. Cada potencial aplicado gerou um BiFE que posteriormente foi empregado na redução da SDZ 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ pH 4,5. As densidades de corrente de pico lidas para a redução da SDZ sobre cada eletrodo foram plotadas em função do potencial de deposição aplicado (Figura 22A), mostrando que quanto mais negativo o potencial de deposição, até -0,8 V, maior foi a densidade de corrente de pico catódica; no entanto, o potencial de deposição de -1,0 V levou a um decréscimo na intensidade do sinal, decorrente da má qualidade do filme depositado. Optou-se, então, por trabalhar com -0,8 V como potencial de deposição para o preparo *ex situ* do BiFE.

Da mesma forma, o tempo de aplicação do potencial de deposição foi otimizado, variando o tempo de deposição de 60 a 110 s, nas mesmas condições experimentais. A Figura 22B mostra as densidades de corrente de pico lidas para a redução da SDZ, sobre cada eletrodo, em função do tempo de deposição aplicado e se pode observar que houve um incremento na densidade de corrente de pico catódica conforme maiores tempos de deposição eram aplicados. Com 100 s foi observada a maior intensidade de corrente, sendo este o tempo escolhido para os experimentos posteriores.

Svancara *et al.*⁽¹¹⁾ observaram que a concentração do íon Bi(III) na solução de deposição influencia na estrutura do Bi metálico e que concentrações altas de Bi(III) resultam em filmes mais compactos. Assim, no intuito de encontrar a melhor resposta do BiFE obtido, foi avaliado o efeito da concentração do Bi(III) de $1,0 \times 10^{-3}$ a $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, nas mesmas condições já discutidas. Os resultados obtidos, (Figura 22C) mostram que até Bi(III) $3,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ houve um acréscimo no sinal analítico da redução da SDZ em função da concentração de Bi(III) enquanto para maiores concentrações, a densidade de corrente de pico catódica perdeu intensidade de sinal. Portanto, Bi(III) $3,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ foi a concentração escolhida para a construção do BiFE, utilizado nos estudos seguintes.

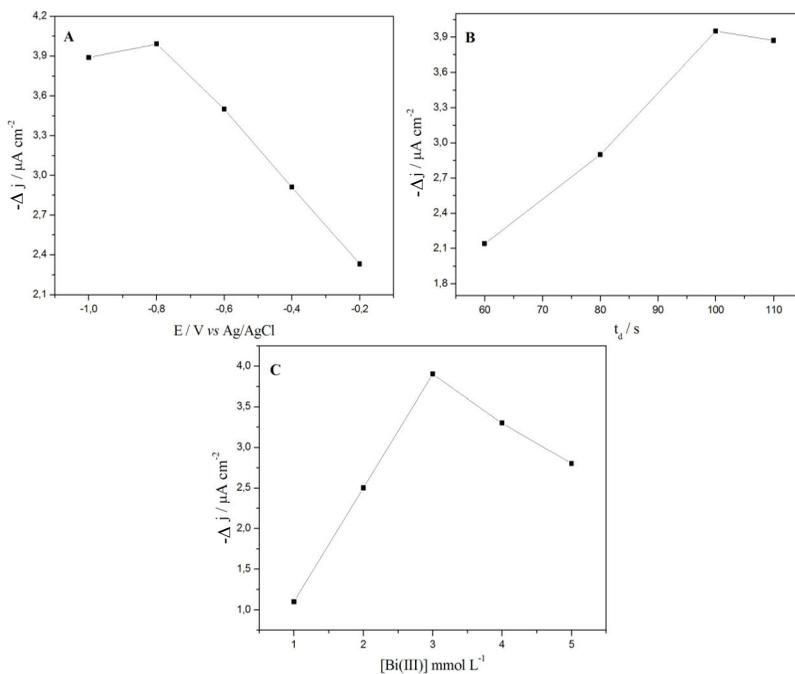


Figura 22: Influência dos parâmetros de deposição do BiFE: A) potencial, B) tempo e C) concentração de Bi(III) na densidade de corrente da SDZ $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão B-R 0,04 mol L⁻¹, pH 7,0 por DPV (v 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV).

Com os parâmetros de deposição ajustados para que a melhor resposta do BiFE seja obtida, um estudo da repetibilidade do processo de preparação do BiFE sobre o GCE foi realizado. Três eletrodos foram preparados e utilizados na determinação da SDZ $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,04 mol L⁻¹ pH 4,5. Como critério, foi utilizada a densidade de corrente e os potenciais de pico obtidos por meio da redução da SDZ sobre cada eletrodo. Os dados obtidos encontram-se na Tabela 9 e mostram que os valores de desvio padrão de cada parâmetro não foram maiores do que 1 %, indicando a excelente repetibilidade do BiFE.

Tabela 9: Repetibilidade do BiFE

Parâmetro de repetibilidade ^a	RSD (%)
Densidade de corrente de pico	0,49
Potencial de pico	0,63

^an = 3

5.2.2 Desenvolvimento de método eletroanalítico

Com o intuito de mostrar a aplicabilidade do eletrodo de filme de bismuto obtido pelo método *ex situ* na determinação por redução de compostos orgânicos, desenvolveu-se um método para a determinação da Sulfadiazina, através da redução eletroquímica direta sobre BiFE. Utilizando os parâmetros de deposição *ex situ* já otimizados, aqui serão mostrados os estudos realizados para o desenvolvimento do método buscando a maior resposta analítica do BiFE.

5.2.2.1 Seleção do eletrólito suporte e sua concentração

A adição de um eletrólito suporte em altas concentrações confere à solução e à interface eletrodo/solução de estudo propriedades relacionadas à termodinâmica e à cinética da reação eletroquímica. Estas propriedades, em geral, são resultantes da manutenção da força iônica da solução alta e constante, o que influencia diretamente no transporte de massa do analito até a superfície do eletrodo e simplifica a análise dos sistemas eletroquímicos. O transporte de massa do analito tem como consequência a intensidade da densidade de corrente de pico gerada pela reação eletroquímica do analito de interesse. ⁽⁸⁵⁾

Assim, diferentes soluções tampões foram testadas como eletrólitos suporte para a determinação catódica da SDZ. Os sistemas empregados foram: tampão Britton-Robinson 0,05 mol L⁻¹, tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ e tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, em diferentes valores de pH. Para cada eletrólito suporte foram obtidos os voltamogramas de pulso diferencial na ausência e na presença da SDZ 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ sobre o BiFE, aplicando uma variação de potencial de -0,5 a -1,0 V (Figura 23)

O voltamograma de pulso diferencial obtido sobre o BiFE imerso em solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ pH 7,0 (Figura 23a) não apresentou pico de redução, assim como para as soluções tampão

Britton-Robinson pH 2,5, tampão Britton-Robinson pH 4,5 e tampão acetato pH 4,5, na ausência da SDZ (dados não mostrados). Com a adição da SDZ, em tampão fosfato pH 7,0 (Figura 23b) o voltamograma também não apresentou nenhum sinal analítico, indicando que a análise da SDZ não é possível neste meio, pois a redução da SDZ não ocorre. Por outro lado, o voltamograma de pulso diferencial em tampão Britton-Robinson pH 2,5 (Figura 23c) apresentou um sinal analítico bem definido em -0,74 V com densidade de corrente de pico catódica de $-1,31 \mu\text{A cm}^{-2}$, mostrando ser possível a determinação de SDZ. No mesmo tampão, porém em pH 4,5 (Figura 23d) um pico de redução foi também verificado, no mesmo valor de potencial, no entanto com uma densidade da corrente de pico maior, em um valor de $-2,87 \mu\text{A cm}^{-2}$. Nas mesmas condições de concentração e pH mas em tampão acetato (Figura 23e), a redução da SDZ gerou um pico em -0,81 V com densidade de corrente de $-1,39 \mu\text{A cm}^{-2}$. Estes resultados indicam que a Sulfadiazina é mais facilmente reduzida em tampão Britton-Robinson pH 4,5, uma vez que a redução da SDZ ocorreu em potencial menos negativo e com a maior densidade de corrente de pico catódica gerada, em relação aos valores obtidos pelos outros meios analisados. A Tabela 10 resume os resultados obtidos para melhor visualização.

Tabela 10: Influência do eletrólito suporte nos parâmetros de redução da SDZ

Eletrólito suporte 0,05 mol L⁻¹	Densidade de corrente de pico($\mu\text{A cm}^{-2}$)	Potencial de pico (V)
Tampão fosfato pH 7,0	Não houve redução	
Tampão B-R pH 2,5	-1,31	-0,74
Tampão B-R pH 4,5	-2,87	-0,74
Tampão acetato pH 4,5	-1,39	-0,81

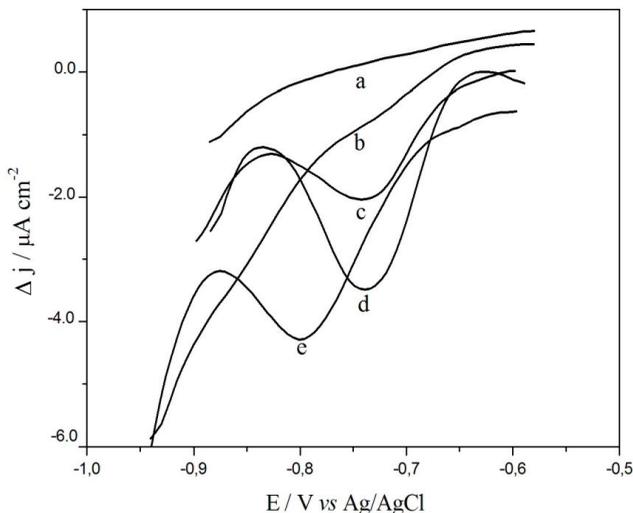


Figura 23: Voltamogramas de pulso diferencial para SDZ $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em a) tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0; b) a + SDZ; c) tampão B-R $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 2,5 + SDZ; d) c pH 4,5 e) tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 4,5 + SDZ. (v 10 mV s^{-1} , ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV).

A concentração do eletrólito suporte tampão Britton-Robinson pH 4,5 utilizada na determinação eletroanalítica da SDZ também foi investigada. Para isto, foram obtidos os voltamogramas de pulso diferencial de redução da SDZ $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ sobre BiFE em solução tampão Britton-Robinson pH 4,5 em diferentes concentrações. A Figura 24 mostra o efeito da concentração do tampão Britton-Robinson pH 4,5, no intervalo de $0,1$; $0,5$; $1,0$; $4,0$; $5,0$ e $6,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, na densidade de corrente de pico catódica da SDZ. Para concentrações inferiores a $0,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, nenhum pico de redução foi observado, enquanto para a concentração $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, um pico de redução foi observado em $-0,75 \text{ V}$ com intensidade de corrente de $-1,97 \mu\text{A cm}^{-2}$. Com o aumento da concentração, houve também um aumento na densidade de corrente de pico para concentrações até $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, atingindo um valor de $-3,69 \mu\text{A cm}^{-2}$. Em tampão Britton-Robinson $6,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, o pico de redução observado perdeu definição devido ao aparecimento de ruído excessivo e também houve perda da intensidade do sinal analítico. Sendo assim, a concentração do tampão Britton-Robinson $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foi selecionada para dar continuidade aos estudos.

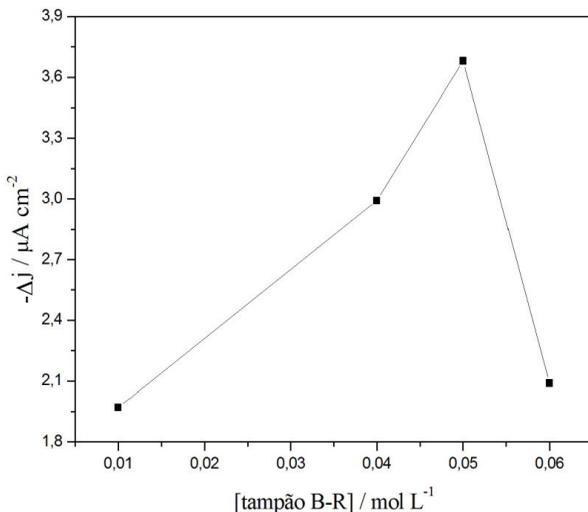


Figura 24: Efeito da concentração do tampão B-R, pH 4,5 na densidade de corrente de redução da SDZ $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ por DPV (v 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV).

5.2.2.2 Estudo do pH do eletrólito suporte

Segundo a estrutura química (Figura 1), as sulfonamidas podem ser oxidadas no grupo amino primário (-NH₂) e reduzidas no grupo sulfonamida (-SO₂NHR). Alguns autores^{(86) (87)} estudaram o processo eletroquímico redox das sulfonamidas e propuseram que ambas as reações eletroquímicas envolvem processos irreversíveis. Porém, enquanto a oxidação é fracamente dependente do pH e envolve a transferência de dois elétrons para a maioria das sulfas, o processo de redução é diferente para cada sulfa e é fortemente influenciada pelo pH e pelo grupo R ligado ao grupo sulfonamida.

A Salazosulfapiridina,⁽⁸⁶⁾ por exemplo, é facilmente reduzida a derivados de hidrazina sobre eletrodo de mercúrio. O potencial de redução varia de -0,1 a -0,6 V de acordo com o pH (de 2 a 12), envolvendo um processo com transferência de dois elétrons. Um mecanismo de redução para a SDZ sobre a superfície do GCE⁽⁷⁵⁾ foi proposto recentemente. O processo descreve a redução eletroquímica via mecanismo radicalar, envolvendo a transferência de dois elétrons, formando uma amina e um íon sulfonato, mecanismo este semelhante ao proposto também por outros autores sobre eletrodo de mercúrio.^{(88), (89)}

A influência do pH na resposta da densidade de corrente de pico e do potencial de pico para o processo de redução da SDZ foi estudada em solução tampão Britton-Robinson $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, variando o pH de 1,0 a 10,0. A Figura 25 mostra os resultados obtidos: na Figura 25A encontra-se a relação entre a densidade de corrente de pico catódica obtida em função do pH do eletrólito suporte e se nota que para valores de pH entre 1,0 a 3,0 e acima de 9,0 a SDZ não apresentou atividade eletroquímica. No entanto, um sinal analítico foi verificado para valores entre 3,5 e 9,0, indicando que a redução da SDZ foi possível neste intervalo de pH. A Figura 24A mostra também que a intensidade do pico de redução foi significativamente afetada de acordo com a variação do pH, da maneira que com o aumento do pH houve também um aumento significativo na densidade de corrente catódica da SDZ, atingindo um valor máximo em pH 4,5. Acima deste valor de pH, pode-se observar uma perda da intensidade de sinal, indicando que a redução da SDZ foi desfavorecida com o aumento do pH. Desta forma, escolheu-se o valor 4,5 para dar seqüência aos experimentos de redução da SDZ sobre BiFE.

A variação de pH também teve influência sobre o potencial de pico de redução da SDZ sobre BiFE. Como mostra a Figura 25B, houve um deslocamento para valores mais negativos de potencial na medida em que o pH aumentou de 3,5 até 7,5, sugerindo o envolvimento de íons H^+ no processo de redução da SDZ. A intersecção entre as duas retas obtidas, no pH 7,5, corresponde ao pKa do grupo sulfonamida ($-\text{SO}_2\text{NH}-$). O valor de pKa 7,5, encontrado experimentalmente, foi próximo ao valor da literatura de 7,2 para a SDZ sobre eletrodo de mercúrio em tampão Britton-Robinson.⁽⁸⁷⁾

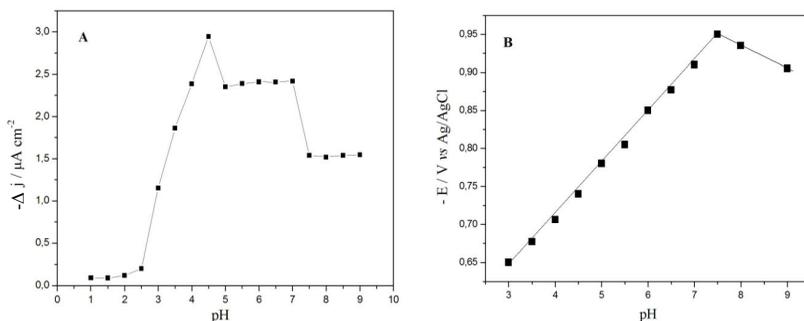


Figura 25: Influência do pH A) na densidade de corrente de pico e B) no potencial de pico de redução da SDZ $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão B-R $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, por DPV ($\nu 10 \text{ mV s}^{-1}$, $\Delta E_p 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s 5 \text{ mV}$).

5.2.2.3 Escolha da técnica eletroanalítica

A escolha da técnica voltamétrica utilizada para a aquisição do sinal analítico é de fundamental importância na busca da melhor resposta analítica do eletrodo ao analito de interesse. As técnicas de pulso são as mais sensíveis das técnicas voltamétricas por minimizar a contribuição da corrente capacitiva na leitura da corrente correspondente à reação eletroquímica do composto em estudo. Desta forma, para a determinação catódica da SDZ foram testadas a voltametria de pulso diferencial e a voltametria de onda quadrada.

A Figura 26 mostra os voltamogramas de onda quadrada (curva a) e de pulso diferencial (curva b) obtidos através da variação de potencial de -0,4 a -1,0 V sobre o BiFE imerso em solução tampão Britton-Robinson $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 e SDZ $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e como se pode observar, a DPV foi mais sensível à redução da SDZ do que a SWV: enquanto a SWV gerou uma densidade de corrente de pico catódica de $-1,440 \mu\text{A cm}^{-2}$, a DPV forneceu para a mesma concentração de SDZ, uma densidade de corrente de pico catódica de $-3,516 \mu\text{A cm}^{-2}$. Este resultado pode ser explicado considerando a maior velocidade na aquisição dos dados da SWV frente à DPV que pode prejudicar a leitura do sinal analítico. Além do mais, a SDZ não apresenta um comportamento eletroquímico reversível, o que poderia fazer da SWV a técnica mais sensível.

Para o desenvolvimento do método eletroanalítico na determinação catódica da SDZ sobre o BiFE, a técnica eletroquímica selecionada foi a voltametria de pulso diferencial.

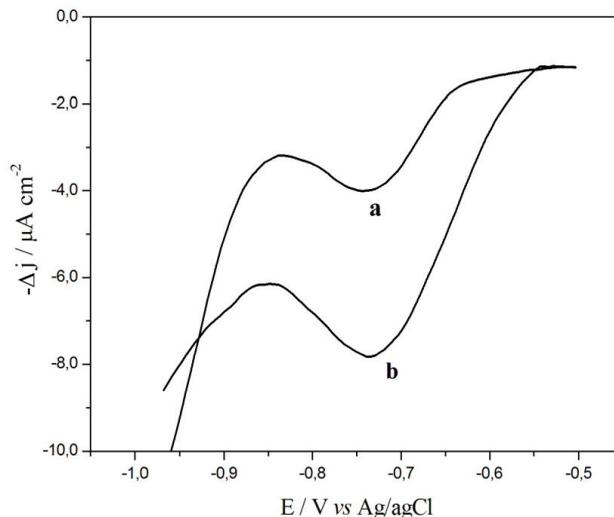


Figura 26: Voltamogramas de a) onda quadrada (f 10 Hz, a 25 mV, ΔE_s 5 mV) e b) pulso diferencial (v 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV, ΔE_s 5 mV) para SDZ $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão B-R 0,05 mol L⁻¹ pH 4,5

5.2.2.4 Otimização dos parâmetros para a voltametria de pulso diferencial

No desenvolvimento de um método eletroanalítico, é importante não só a escolha da técnica adequada, mas também a otimização dos parâmetros que podem influenciar na resposta do eletrodo. Portanto, foi realizado um estudo dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial, tais como velocidade de variação de potencial (v), altura de pulso (ΔE_p) e incremento de potencial (ΔE_s), buscando desta forma, o maior sinal analítico do BiFE para a determinação catódica da SDZ.

O efeito da velocidade de variação de potencial foi estudado no intervalo de 5 a 100 mV s⁻¹, observando o sinal analítico de redução da SDZ $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,05 mol L⁻¹, mantendo fixos os parâmetros altura de pulso em 50 mV e incremento de potencial em 5 mV. O resultado obtido é mostrado na Figura 27A, na qual se observa que a densidade de corrente de pico catódica da SDZ aumentou de forma significativa com o aumento da v de 5 para 10 mV s⁻¹ e que para valores maiores de v (de 25 até 100 mV s⁻¹) houve perda da intensidade do sinal. Sendo assim, a velocidade de variação de

potencial de 10 mV s^{-1} foi selecionada para os estudos posteriores. Em seguida, utilizando os parâmetros fixos velocidade de variação de potencial em 10 mV s^{-1} e incremento de potencial em 5 mV , avaliou-se a influência da altura de pulso na faixa de 20 a 70 mV , nas mesmas condições experimentais. A altura de pulso escolhida foi 50 mV , pois como pode ser observado na Figura 27B, neste valor foi verificada a maior densidade de corrente de pico catódica. Para 60 mV o incremento na densidade de corrente de pico não foi significativo, além de ter levado à perda na definição do sinal, dificultando a leitura da corrente, e com altura de pulso de 70 mV , a densidade de corrente de pico decresceu consideravelmente. Por último, avaliou-se o efeito do incremento de potencial na faixa de 2 a 10 mV (Figura 27C) nas condições selecionadas e foi observada a maior densidade de corrente de pico com o incremento de potencial de 5 mV e um sinal analítico de menor intensidade para valores maiores de incremento de potencial (7 , e 10 mV). Portanto, um valor de incremento de potencial de 5 mV foi selecionado para seguir com os experimentos.

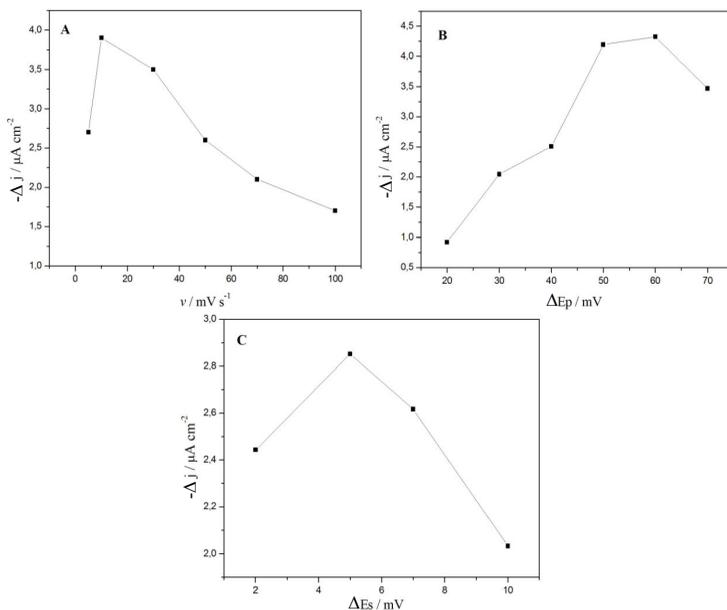


Figura 27: Dependência da A) velocidade de variação de potencial, B) altura de pulso e C) incremento de potencial, na redução da SDZ $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão B-R $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 4,5

A Tabela 11 mostra as faixas de velocidade de variação de potencial, altura de pulso e incremento da voltametria de pulso diferencial estudadas para solução de SDZ $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,05 mol L⁻¹ (pH 4,5) e os resultados otimizados.

Tabela 11: Parâmetros da DPV investigados para a SDZ

Parâmetro	Faixa	Maior resposta
Velocidade de variação de potencial(v) mV s ⁻¹	5 – 100	10
Altura de pulso(ΔE_p) mV	20 – 70	50
Incremento de potencial(ΔE_s) mV	2 – 10	5

5.2.2.5 Curva analítica

Estabelecidas as melhores condições para a redução da SDZ utilizando um BiFE, a curva analítica foi construída adicionando alíquotas de solução padrão de SDZ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em 10 mL de tampão Britton-Robinson 0,05 mol L⁻¹ (pH 4,5). A densidade de corrente de pico catódica da SDZ aumentou proporcionalmente à concentração adicionada na faixa de $3,20 \times 10^{-6}$ a $9,68 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, no entanto o potencial de pico permaneceu praticamente constante em -0,74 V, como mostram os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para cada concentração, aplicando uma variação de potencial de -0,4 a -1,0 V (Figura 1).

A figura inserida à Figura 28 mostra as densidades de corrente de pico catódicas lidas através dos voltamogramas para cada concentração de SDZ. Duas faixas lineares são observadas: uma região linear entre as concentrações 3,2 a $20,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com inclinação de 0,0508 $\mu\text{A L mol}^{-1} \text{cm}^{-2}$ e coeficiente de correlação linear de 0,9949 e outra entre as concentrações 20,0 a $96,8 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com inclinação de 0,0134 $\mu\text{A L mol}^{-1} \text{cm}^{-2}$ e coeficiente de correlação linear de 0,9951. A maior inclinação da primeira região linear indica que o BiFE responde com maior sensibilidade nas concentrações descritas em relação à menor inclinação da outra região linear. Os dados extraídos a partir da curva obtida encontram-se na Tabela 12, sendo o coeficiente linear representado pela letra A e o coeficiente angular pela letra B.

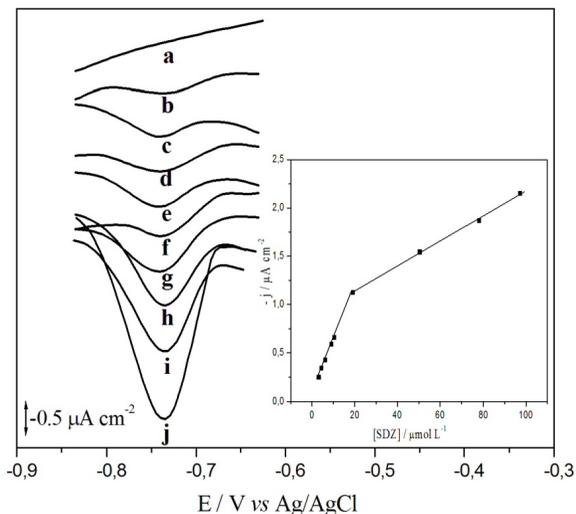


Figura 28: Voltamogramas de pulso diferencial usando o BiFE para a SDZ nas concentrações de (a) $3,20 \times 10^{-6}$, (b) $4,15 \times 10^{-6}$, (c) $6,07 \times 10^{-6}$, (d) $7,98 \times 10^{-6}$, (e) $1,02 \times 10^{-5}$, (f) $2,00 \times 10^{-5}$, (g) $5,04 \times 10^{-5}$ e (h) $7,80 \times 10^{-5}$ (i) $9,68 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, (v 10 mV s⁻¹, a 50 mV e ΔE_s 5 mV).

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) que expressam a mais baixa concentração do analito de interesse que pode ser detectada e quantificada, respectivamente, com precisão e exatidão, foram calculados através das equações 16 e 17 e os valores de LD e de LQ calculados para a determinação de SDZ, nas duas regiões lineares, encontram-se na Tabela 12.

Tabela 12: Parâmetros obtidos da curva analítica da determinação da SDZ

Parâmetros	Valor encontrado
Potencial de pico / V	-0,74
Faixa linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	3,2 a 20,0 e 20,0 a 96,8
Coefficiente de correlação	0,9949 e 0,9951
Coefficiente angular (B) / $\mu\text{A L mol}^{-1} \text{cm}^{-2}$	0,0508 e 0,0134
Desvio padrão de B / $\mu\text{A L mol}^{-1} \text{cm}^{-2} (\times 10^{-4})$	2,58 e 9,42
Coefficiente linear (A) / $\mu\text{A cm}^{-2}$	0,131 e 0,836
Desvio padrão de A / $\mu\text{A cm}^{-2} (\times 10^{-2})$	3,55 e 5,47
Limite de detecção / $\mu\text{mol L}^{-1}$	2,1 e 12,2
Limite de quantificação / $\mu\text{mol L}^{-1}$	7,0 e 40,7
Curva de calibração / $\mu\text{mol L}^{-1}$	7,0 a 20,00 e 40,7 a 96,8

Para o BiFE, a repetibilidade e a reprodutibilidade foram estudadas através da medida dos parâmetros: densidade de corrente e potencial de pico de redução da SDZ, empregando um solução padrão de SDZ $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e a voltametria de pulso diferencial. A repetibilidade foi testada por cinco medidas destes parâmetros, no mesmo dia, empregando cinco BiFE e cinco soluções de SDZ de mesma concentração: cada medida foi realizada utilizando um eletrodo e uma solução. A reprodutibilidade foi estudada através destas mesmas medidas, em cinco dias diferentes, também com cinco filmes e cinco soluções de mesma concentração. Os resultados encontram-se na Tabela 13 e indicam a viabilização do BiFE e da DPV para a determinação de SDZ através da redução eletroquímica.

Tabela 13: Dados do estudo da repetibilidade e reprodutibilidade do método proposto

Parâmetro ^a	RSD (%)
Repetibilidade do potencial de pico	0,47
Repetibilidade da corrente de pico	0,51
Reprodutibilidade do potencial de pico	1,54
Reprodutibilidade da corrente de pico	2,99

^an = 5

5.2.2.6 Determinação da SDZ em fármacos sobre BiFE

A partir dos parâmetros otimizados, o método proposto foi aplicado na determinação da SDZ nas formulações farmacêuticas Suladrin[®] e Sulfazina[®] utilizando o método de adição de analito. Os voltamogramas obtidos para o medicamento Suladrin[®] (Figura 29) e Sulfazina[®] (Figura 30) apresentaram picos de redução em -0,74 V e com densidade de corrente de pico catódica respondendo de forma linear, como pode ser visualizado na curva de adição de analito para cada medicamento. (interseção à Figura 29 e à Figura 30).

Na Tabela 14 encontram-se os resultados obtidos para a determinação de SDZ nos fármacos Suladrin[®] e Sulfazina[®] através do método proposto, realizada em triplicata, e os valores de SDZ rotulado para cada medicamento. Para ambas as amostras de medicamentos o desvio padrão relativo obtido entre as massas de SDZ encontradas pelo método proposto, foi inferior a 2 %, indicando a elevada precisão do método.

Tabela 14: Resultados obtidos para a quantificação da SDZ em amostras de comprimidos Suladrin® e Sulfazina® pelo método proposto.

Amostra	Valor rotulado (mg)	Valor encontrado (mg)	Média (mg)	RSD (%)
Suladrin®	500	504	502	1,71
		501		
		496		
Sulfazina®	500	494	495	1,09
		495		

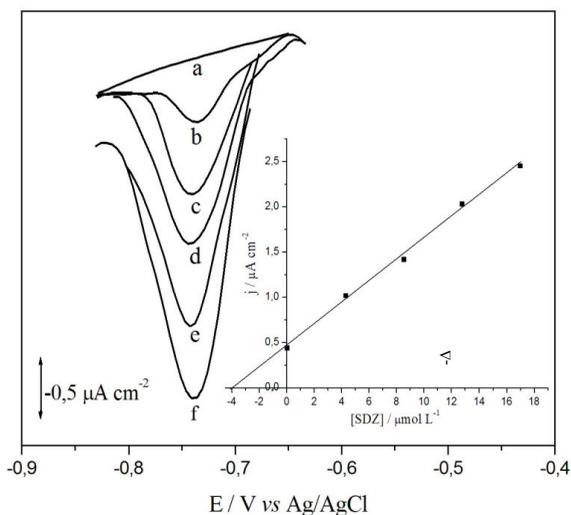


Figura 29: Voltamogramas de pulso diferencial para a) tampão B-R $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5; (b) adição de $200 \text{ } \mu\text{L}$ da amostra Suladrin®; (c-f) adição de $50 \text{ } \mu\text{L}$ do padrão SDZ (v 10 mV s^{-1} , ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV). Inserção: Curva de adição de analito para amostra Suladrin®

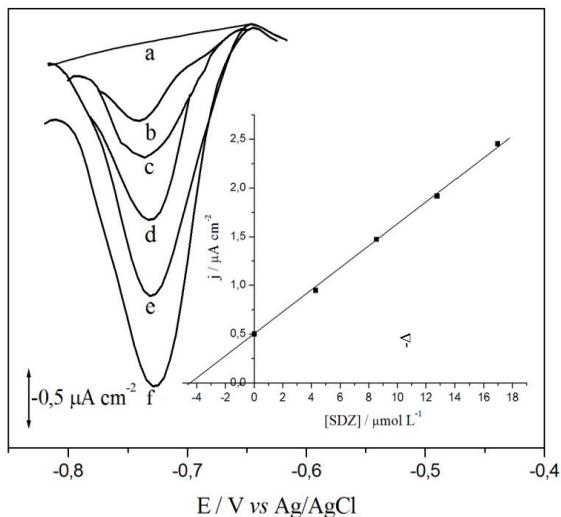


Figura 30: Voltamogramas de pulso diferencial para a) tampão B-R $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5; (b) adição de $200 \text{ }\mu\text{L}$ da amostra Sulfazina®; (c-f) adição de $50 \text{ }\mu\text{L}$ do padrão SDZ ($v 10 \text{ mV s}^{-1}$, $\Delta E_p 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s 5 \text{ mV}$). Inserção: Curva de adição de analito para amostra Sulfazina®

5.2.2.7 Estudo da recuperação

Para verificar a recuperação da determinação de SDZ nos medicamentos Suladrin® e Sulfazina®, foram realizados experimentos em triplicata com uma amostra de cada fármaco – alíquotas conhecidas da solução padrão de SDZ foram adicionadas à solução da amostra, seguido da determinação e cálculo de percentagem de recuperação. Os resultados obtidos, apresentados na Tabela 15, mostram que os valores de recuperação variaram de 94,4 a 104,9 % para o medicamento Suladrin® e 93,6 a 103,0 % para a Sulfazina®. Estes dados demonstram que os excipientes que compõem as cápsulas dos comprimidos não interferem de forma significativa nas determinações através do método proposto.

Tabela 15: Estudo da recuperação pelo método da adição de analito

Amostra	Valor adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperaçã o (%)
Suladrin [®]	8,53	8,05	94,4
	12,74	13,37	104,9
	16,96	16,72	98,6
Sulfazina [®]	8,53	7,99	93,6
	12,74	13,12	103,0
	16,96	16,72	98,6

5.2.2.8 Determinação da SDZ em fármacos através do método comparativo e tratamento estatístico dos dados

Uma das formas de verificar a exatidão de um novo método é a comparação com os resultados obtidos utilizando um segundo método conhecido. ⁽²⁰⁾ Assim, para a validação do método proposto, empregando um BiFE para a determinação de SDZ em formulações farmacêuticas, utilizou-se a titulação amperométrica, método oficial usado pela farmacopéia britânica, ⁽⁵⁴⁾ para a determinação da SDZ nos fármacos Suladrin[®] e Sulfazina[®] como método comparativo ao método desenvolvido.

Através da titulação amperométrica, a SDZ foi determinada nos medicamentos, em triplicata e os dados obtidos são mostrados na Tabela 16. Os valores médios de SDZ encontrados foram de 506 mg para o fármaco Suladrin[®] e 494 mg para o fármaco Sulfazina[®]. Estes valores serão utilizados no item a seguir, no tratamento estatístico para a validação do método proposto.

Tabela 16: Resultados obtidos para a quantificação da SDZ em amostras de comprimidos Suladrin® e Sulfazina® usando o método comparativo.

Amostra	Valor rotulado (mg)	Valor encontrado (mg)	Média (mg)	RSD (%)
Suladrin®	500	510	506	0,78
		507		
		502		
Sulfazina®	500	497	494	0,58
		494		
		492		

Um tratamento estatístico foi realizado no intuito de verificar a validade dos dados obtidos através do método proposto, utilizando um BiFE na determinação da SDZ, com o valor rotulado de SDZ presente nos medicamentos, bem como com o método comparativo. A Tabela 17 apresenta os resultados obtidos através de cálculos estatísticos empregados a fim de avaliar o método proposto quanto à precisão, à exatidão e à confiabilidade dos resultados encontrados na determinação da SDZ nos fármacos Suladrin® e Sulfazina®.

A fim de verificar a exatidão do método proposto, foram calculados o erro relativo entre o valor encontrado pelo método proposto e o valor rotulado, Er_1 , e o erro relativo entre o valor encontrado pelo método proposto e pelo método oficial, Er_2 . Para as duas amostras de fármacos analisadas, os Er_1 para as duas amostras não foram maiores do que 1,75 %, e os Er_2 não passaram de 2 %. Estes resultados, além de serem aceitáveis para determinações em micro-quantidades, indicam a exatidão do método proposto e potencializam o uso do BiFE para a determinação catódica da SDZ em formulações farmacêuticas. ^{(20), (56), (84)}

O teste t de *Student*, com dois graus de liberdade e 95 % de confiança foi aplicado para comparar as médias obtidas pelo método proposto e pelo método comparativo em relação ao valor rotulado. Para as duas amostras de fármacos, os valores de t calculados foram inferiores ao t crítico de 4,30, mostrando a exatidão entre os resultados

obtidos para a determinação da SDZ nos fármacos através da redução sobre BiFE e da titulação amperométrica.

A discrepância entre o método proposto e o método comparativo foi verificada aplicando-se o teste da razão da variância (teste F). Sendo 19 o valor de F teórico para um nível de 95 % de confiança, utilizando dois graus de liberdade, os valores encontrados de F para os dois medicamentos, Suladrin® e Sulfazina® não foram maiores do que 7, indicando não haver diferença significativa entre as precisões obtidas pelos dois métodos empregados para a determinação da SDZ nas formulações farmacêuticas.^{(76), (56)}

Os resultados apresentados acima mostram que a determinação de SDZ em produtos farmacêuticos, utilizando um eletrodo de filme de bismuto, tem exatidão e precisão comparáveis ao valor rotulado de cada medicamento, bem como à determinação de SDZ em fármacos utilizando a titulação amperométrica.

Tabela 17: Tratamento estatístico da determinação de SDZ em medicamentos

Método	Suladrin®		Sulfazina®	
	Oficial	Proposto	Oficial	Proposto
Valor rotulado(mg)	500	500	500	500
Valor encontrado(mg) ^a	506	502	494	495
Er ₁ (%)	1,42	1,74	-0,74	-1,26
Er ₂ (%)	-	-0,32	-	2,00
t _{calculado} ^b	2,01	0,40	2,98	1,49
F _{calculado} ^c	7,0	7,0	0,44	0,44
RSD(%)	0,78	1,92	0,51	1,24

^an = 3; ^bt_{teórico} = 4,30; F_{teórico} = 19;

5.2.3 Conclusão específica

O BiFE preparado pelo método *ex situ* mostrou excelente aplicabilidade para a determinação de SDZ em produtos farmacêuticos. A redução da SDZ sobre o BiFE, preparado através da aplicação de um potencial de -0,8 V por 100 s sobre GCE imerso em solução HCl 1,0 mol L⁻¹ contendo Bi(III) 3,0x10⁻³ mol L⁻¹, gerou um pico em -0,74 V que respondeu de forma linear entre as concentrações de SDZ 3,2 a 20,0 µmol L⁻¹ e de 20,0 a 96,8 µmol L⁻¹. A voltametria de pulso diferencial mostrou maior sensibilidade do que a voltametria de onda quadrada nos parâmetros ajustados em ν 10 mV s⁻¹, ΔE_p 50 mV e ΔE_s 5 mV. O método desenvolvido, empregando um BiFE, forneceu um limite de detecção para a primeira faixa linear de 2,1 µmol L⁻¹ e de 12,2 µmol L⁻¹ para a segunda região linear e foi eficiente na determinação de SDZ nas amostras dos medicamentos Suladrin® e Sulfazina®, mostrando excelente precisão nas medidas e exatidão em relação ao valor rotulado de cada medicamento e ao método comparativo titulação amperométrica.

6. CONCLUSÃO

O presente trabalho descreve a aplicação do eletrodo de filme de bismuto, preparado sobre um eletrodo de carbono vítreo na determinação de Sn(IV) em amostras de biodiesel e na determinação de Sulfadiazina em amostras de fármacos.

A melhor resposta do BiFE para a determinação do Sn(IV) foi obtida quando a preparação *in situ* foi realizada através da aplicação de um potencial de -1,2 V por 90 s sobre o GCE imerso em solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5, contendo Bi(III) 4,0x10⁻⁵ mol L⁻¹ e ácido cafeico na presença dos íons Sn(IV). O agente complexante ácido cafeico não prejudicou a formação do filme de bismuto e ainda, possibilitou uma maior sensibilidade ao método desenvolvido. A etapa de redissolução do Sn metálico codepositado sobre o BiFE, nas mesmas condições experimentais descritas por voltametria de onda quadrada, gerou um pico em -0,58 V. O método proposto apresentou um limite de detecção para o Sn(IV) de 6,43x10⁻⁸ mol L⁻¹ e foi eficiente na determinação de Sn(IV) em amostras de biodiesel, mostrando excelente precisão e exatidão em relação aos dados obtidos pelo método HR-CS AAS, uma vez que não houve discrepância significativa entre os resultados obtidos.

O BiFE preparado pelo método *ex situ* mostrou excelente aplicabilidade para a determinação de SDZ em produtos farmacêuticos, quando preparado através da aplicação de um potencial de -0,8 V por 100 s sobre GCE imerso em solução contendo Bi(III) 3,0x10⁻³ mol L⁻¹, por voltametria de pulso diferencial. A redução da Sulfadiazina em tampão Britton-Robinson 0,05 mol L⁻¹ e pH 4,5, gerou um pico em -0,74 V que apresentou duas regiões lineares, as quais forneceram os valores de 2,1 µmol L⁻¹ e de 12,2 µmol L⁻¹ como limite de detecção. O BiFE apresentou boa repetibilidade para a determinação da sulfadiazina nos produtos farmacêuticos, e não foi sensível significativamente à interferentes presente na amostra, como mostrou o estudo de recuperação. O método também foi eficiente na determinação de SDZ nos medicamentos Suladrin® e Sulfazina®, mostrando excelente precisão e exatidão nas medidas em relação ao valor rotulado de cada medicamento e ao método comparativo titulação amperométrica.

Os resultados apresentados neste trabalho revelam a aplicabilidade e a adequabilidade do BiFE preparado sobre um eletrodo de carbono vítreo, através da eletrodeposição *in situ* e *ex situ*, empregado na determinação de íons Sn(IV) em biodiesel, por

voltametria de redissolução anódica e na determinação catódica direta da Sulfadiazina nos medicamentos Suladrin® e Sulfazina® como um eletrodo alternativo aos eletrodos de mercúrio.

7. REFERÊNCIAS

1. ECONOMOU, A. **Bismuth-film electrodes: recent developments and potentialities for electroanalysis.** *Trends in Analytical Chemistry*, 2005, 24, 334–340
2. BOBROWSKI, A. e KRÓLICKA, A. **Bismuth film electrode for adsorptive stripping voltammetry – electrochemical and microscopic study.** *Electrochemistry Communications*, 2004, 6, 99–104.
3. OGOREVC, B.; et al. **An introduction to bismuth film electrode for use in cathodic electrochemical detection.** *Electrochemistry Communications*, 2001, 3, 707–711.
4. WANG, J.; et al. **Bismuth-Coated Carbon Electrodes for Anodic Stripping Voltammetry.** *Analytical Chemistry*, 2000, 72, 3218–3222.
5. HUTTON, E. A.; et al. **Bismuth film electrode for anodic stripping voltammetric determination of tin.** *Analytica Chimica Acta*, 2006, 580, 244–250.
6. DIAZ, T. G.; et al. **Polarographic behavior of Sulfadiazine, Sulfamerazine, Sulfamethazine and their mixtures. Use of partial least squares in the resolution of the non-additive signals of these compounds.** *Analyst*, 1996, 121, 547–552.
7. LEGEAI, S.; BOIS, S.; VITTORI, O. **A copper bismuth film electrode for adsorptive cathodic.** *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2006, 591, 93–98.
8. SOTIROPOULOS, S.; et al. **Effect of Bi(III) concentration on the stripping voltammetric response of in situ bismuth-coated carbon paste and gold electrodes.** *Electrochimica Acta*, 2006, 52, 481–490.
9. ROFRIGUEZ, J. A. **Multicommutated Anodic Stripping Voltammetry at Tubular Bismuth Film Electrode for Lead Determination in Gunshot Residues.** *Electroanalysis*, 2009, 21, 452–458.

10. CAO, L.; JIA, J.; WANG, Z. **Sensitive determination of Cd and Pb by differential pulse stripping voltammetry with in situ bismuth-modified zeolite doped carbon paste electrodes.** *Electrochimica Acta*, 2008, 53, 2177–2182.
11. SVANCARA, I.; et al. **A role of the plating regime in the deposition of bismuth films onto a carbon paste electrode. microscopic study.** *Electroanalysis*, 2005, 17, 120–126.
12. SOTIROPOULOS, S.; et al. **The determination of cysteine at Bi-powder carbon paste electrodes by cathodic stripping voltammetry.** *Electrochemistry Communications*, 2008, 10, 918–921.
13. KEFALA, G.; et al. **A study of bismuth-film electrodes for the detection of trace metals by anodic stripping voltammetry and their application to the determination of Pb and Zn in tapwater and human hair.** *Talanta*, 2003, 61, 603–610.
14. MORFOBOS, M.; ECONOMOU, A.; VOULGAROPOULOS, A. **Simultaneous determination of nickel(II) and cobalt(II) by square wave adsorptive stripping voltammetry on a rotating-disc bismuth-film electrode.** *Analytica Chimica Acta*, 2004, 519, 57–64.
15. HUTTON, E. A.; et al. **Validation of bismuth film electrode for determination of cobalt and cadmium in soil extracts using ICP–MS.** *Talanta*, 2004, 63, 849–855.
16. HUTTON, E. A.; OGOREVC, B.; e HOČEVAR, S. B. **Ex situ preparation of bismuth film microelectrode for use in electrochemical stripping microanalysis.** *Analytica Chimica Acta*, 2005, 537, 285–292.
17. KEFALA, G.; ECONOMOU, A.; SOFONIOU, M. **Determination of trace aluminium by adsorptive stripping voltammetry on a preplated bismuth-film electrode in the presence of cupferron.** *Talanta*, 2006, 68, 1013–1019.

18. LONG, J. e NAGAOSA, Y. **Determination of selenium(IV) by catalytic stripping soltammetry with an in situ plated bismuth-film electrode.** *Analytical Sciences*, 2007, 23, 1343–1346.
19. SERRANO, N.; et al. **Signal splitting in the stripping analysis of heavy metals using bismuth film electrodes: Influence of concentration range film electrodes and deposition parameters.** *Electrochimica Acta*, 2008, 53, 6616–6622.
20. ALBERICH, A.; et al. **Bismuth film electrodes for the study of metal thiolate complexation: an alternative to mercury electrodes.** *Talanta*, 2008, 78, 1017–1022.
21. LUO, H. Q.; LI, N. B.; WU, Y. **Simultaneous measurement of Pb, Cd and Zn using differential pulse anodic stripping voltammetry at a bismuth/poly(p-aminobenzene sulfonic acid) film electrode.** *Sensors and Actuators B*, 2008, 133, 677–681.
22. NAGAOSA, Y.; ZONG, P. **Determination of antimony(III) and (V) in natural water by cathodic stripping voltammetry with in-situ plated bismuth film electrode.** *Microchimica Acta*, 2009, 166, 139–144.
23. ECONOMOU, A.; CHARALAMBOUS, A. **A study on the utility of bismuth-film electrodes for the determination of In(III) in the presence of Pb(II) e Cd(II) by square wave anodic stripping voltammetry.** *Analytica Chimica Acta*, 2005, 547, 53–58.
24. TESAŘOVÁ, E.; et al. **A spectroelectrochemical approach to the electrodeposition of bismuth film electrodes and their use in stripping analysis.** *Analytica Chimica Acta*, 2008, 608, 140–146.
25. OGOREVEC, B.; HUTTON, E. A.; SMYTH, M. R. **Cathodic Electrochemical detection of nitrophenols at a bismuth film electrode for use in flow analysis.** *Electroanalysis*, 2004, 16, 1616–621.

26. TÓTH, K.; et al. **Bismuth film electrode for the cathodic electrochemical determination of thiamethoxam.** *Electroanalysis*, 2006, 18, 1363–1371.
27. ARRIBAS, A. S.; et al. **Voltammetric detection of the herbicide metamitron at a bismuth film electrode in nondeaerated solution.** *Electroanalysis*, 2006, 18, 2331–2336.
28. DU, D.; et al. **Cathodic electrochemical analysis of methyl parathion at bismuth-film-modified glassy carbon electrode.** *Electrochimica Acta*, 2008, 53, 4478–4484.
29. MORENO, M.; et al. **Cathodic electrochemical determination of herbicides in acid media using a bismuth film electrode.** *Electroanalysis*, 2009, 21, 415–421.
30. BARRADO, E.; et al. **Validation of a tubular bismuth film amperometric detector determination of diclofenac sodium by multisyringe flow injection analysis.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 45, 47–53.
31. NIGOVIĆ, B., ŠIMUNIĆ, B. e HOCEVAR, S. **Voltammetric measurements of aminosalicylate drugs using bismuth film electrode.** *Electrochimica Acta*, 2009, 54, 5678–5683.
32. LI, H.; et al. **CdTe nanocrystal-based electrochemical biosensor for the recognition of neutravidin by anodic stripping voltammetry at electrodeposited bismuth film.** *Biosensors and Bioelectronics*, 2008, 24, 869–874.
33. AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO (ANP). Portaria n° 240 de 25 de Agosto de 2003.
34. MENEGHETTI, S. M. P.; et al. **Methanolysis of soybean oil in the presence of tin(IV) complexes.** *Applied Catalysis A: General*, 2007, 317, 58–61.

35. RIBEIRO E. B.; et al. In: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, 2, 2007, Brasília **Estudo da Desoxigenação do Produto de Craqueamento Catalítico do Óleo de Mamona (*Ricinus communis*) na Presença de Diversos Catalisadores**. http://www.biodiesel.gov.br/rede_arquivos/producaoII.htm. Acesso em 20 de fevereiro de 2010.
36. da SILVA, M J.; CARDOSO, A. L. In: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, 2, 2007, Brasília, **Esterificação do Ácido Oleico em Fase Homogênea Catalisada por SnCl₂**. Disponível em http://www.biodiesel.gov.br/rede_arquivos/producaoII.htm. Acesso em 20 de fevereiro de 2010.
37. MOUZINHO, A. M. C.; et al. In: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, 2, 2007, Brasília, **Produção de Biodiesel a Partir do Óleo Vegetal de Babaçu (*Orbignya martiniana*) Empregando Catalisadores Heterogêneos Comerciais**. Disponível em http://www.biodiesel.gov.br/rede_arquivos/producaoII.htm. Acesso em 20 de fevereiro de 2010
39. Melo, C. K., et al. In: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, 1, 2006, Brasília, **Estudo do Processo de Purificação do Biodiesel em Colunas de Lavagem com Recirculação de Água**. Livro de Resumos Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, 151–156.
40. MORAES, M.; et al.; **Sistema TS-FF-AAS com chama acetileno-ar como alternativa em relação à chama acetileno-óxido nitroso em FAAS na determinação de estanho**. *Eclética Química*, 2005, 30, 61–68.
41. JESUS, A. **Desenvolvimento de método analítico para determinação de metais em biodiesel e óleo vegetal por espectrometria de absorção atômica com chama**. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química - Universidade Federal do Rio Grande do Sul UFRS. Porto Alegre, 2008.

42. PRAZERES, F. A.; et al. In: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, 2, 2007, Brasília, **Determinação de Na, K, Ca e Mg em Biodiesel Etilico de Babaçu por Espectrofotometria de Absorção Atômica.** Disponível em http://www.biodiesel.gov.br/rede_arquivos/rede_publicacoes.htm. Acesso em 23 de fevereiro de 2010.
43. SAINT'PIERRE, T. D.; et al. **Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel and biodiesel samples by ETV-ICP-MS.** *Journal of Environmental Monitoring*, 2008, 10, 1211–1216.
44. CURTIUS, A. J.; et al. **Simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry with internal standardization after multivariate optimization.** *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2007, 22, 1300–1303.
45. KAUR, V.; MALIK, A. K.; VERMA, N. **Applications of solid phase microextraction for the determination of metallic and organometallic species.** *Journal of Separation Science*, 2006, 29, 333–345.
46. MEDEL, A. S.; CENTINEO, G.; GONZÁLEZ, E. B. **Multielemental speciation analysis of organometallic compounds of mercury, lead and tin in natural water samples by headspace-solid phase microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry.** *Journal of Chromatography A*, 2004, 1034, 191–197.
47. MADRAKIAN, T.; et al. **Simultaneous spectrophotometric determination of Sn(II) and Sn(IV) by mean centering of ratio kinetic profiles and partial least squares methods.** *Talanta*, 2007, 72, 1847–1852.
48. HEPPELER, F.; SANDER, S.; HENZE, G. **Determination of tin traces in water samples by adsorptive stripping voltammetry.** *Analytica Chimica Acta*, 1996, 319, 19–24.

49. HUBERT, C.; et al. **Development and validation of a quantitative method for the selective determination of tin species in tin octoate by differential pulse polarography.** *Talanta*, 2010, 80, 1413–1420.
50. PRIOR, C.; WALKER, S. G. **The use of the bismuth film electrode for the anodic stripping voltammetric determination of tin.** *Electroanalysis*, 2006, 18, 823–829.
51. SERRA, H. A. **A história dos Antibióticos.** Acesso em: 12 de Janeiro de 2010.
<http://www.medstudents.com.br/historia/Fleming/Fleming.htm>.
52. KATZUNG, B. G. **Sulfonamidas e Trimetoprima.** Tradução de P. J. Voeux. *Farmacologia Básica e Clínica*. 6ª Edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, 1995, 47, 546–550.
53. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Ministério da Saúde. Acesso em: 21 de Janeiro de 2010.
[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM\[26258-1-0\].pdf](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM[26258-1-0].pdf)
54. **British Pharmacopeia.** United Kingdom : Crown Copyright, 1988. Vol. 2.
55. **USP Pharmacopeia.** *United States Pharmacopeia Convention. The National Formulary.* Rockville, MD, 1995. Vol. XXXIII.
56. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução nº 899 de 29 de maio de 2003.
57. VREE, T. B., et al. **Isolation, identification and determination of Sulfadiazine and its hydroxy metabolites and conjugates from man and Rhesus monkey by high-performance liquid chromatography.** *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 1995, 670, 111–123.
58. FURUSAWA, N.; KISHIDA, K. **High-performance liquid chromatographic procedure for routine residue monitoring of seven sulfonamides in milk.** *Journal of Analytical Chemistry*, 2001, 371, 1031–1033.

59. FELTRIN, C. W.; et al. **Quantificação de Sulfadimetoxina em leite por cromatografia líquida de alta eficiência.** *Química Nova*, 2007, 30, 80–82.
60. NAGARAJA, P.; et al. **A sensitive spectrophotometric method for the determination of sulfonamides in pharmaceutical preparations.** *Acta Pharmaceutica*, 2007, 57, 333–342.
61. YA-HONG, C.; DONG-PO, X.; FENG-SHOU, T. **Flow injection spectrophotometric determination of Sulfadiazine.** *People's Republic of China*, 2007, 24, 72–74.
62. CROUBELS, S.; DE BAERE, S.; DE BACKER, P. **Comparison of a liquid chromatographic method with ultraviolet and ion-trap tandem mass spectrometric detection for the simultaneous determination of Sulfadiazine and trimethoprim in plasma from dogs.** *Journal of Chromatography B*, 2003, 788, 167–178.
63. YU-QIN, L.; et al. **Determination of Sulfadiazine and Sulfamethoxazole in pharmaceutical preparation by capillary electrophoresis with field-enhanced stacking.** *People's Republic of China*, 2007, 26, 784–788.
64. WANG, S.; et al. **Analysis of sulfonamides residues in edible animal products: A review.** *Food additives and contaminants*, 2006, 23, 362–384.
65. HUSSEIN, W.; BISHOP, E. **Electroanalytical studies of antibacterial and diuretic drugs at rotating disc electrodes of gold and platinum.** *Analyst*, 1984, 109, 913–921.
66. MOMBERG, A.V.; et al. **The oxidative voltammetric behaviour of some sulphonamides at the glassy carbon electrode.** *Analytica Chimica Acta*, 1984, 159, 119–127.
67. ÖZKORUCUKLU, S. P.; SAHIN, Y.; ALSANCAK, G. **Voltammetric behavior of Sulfamethoxazole electropolymerized-molecularly imprinted overoxidized polypyrrole.** *Sensors*, 2008, 8, 8463–8478.

68. KOTOUČEK, M.; SKAPOLOVÁ, J.; MICHÁLKOVÁ, D. **Electroanalytical study of salazosulfapyridine and bisepitol components at the mercury electrode.** *Analytica Chimica Acta*, 1997, 353, 61–69.
69. YANG, X.; YOU, T.; WANG, E. **Determination of Sulfadiazine and Sulfamethoxazole by capillary electrophoresis with end-column electrochemical detection.** *Analyst*, 1998, 123, 2357–2360.
70. ORTIZ, M. C.; et al. **Optimization of a FIA system with amperometric detection by means of a desirability function Determination of Sulfadiazine, Sulfamethazine and Sulfamerazine in milk.** *Talanta*, 2008, 75, 274–283.
71. PREECHAWORAPUN, A., et al. **Electroanalysis of sulfonamides by flow injection system/high-performance liquid chromatography coupled with amperometric detection using boron-doped diamond electrode.** *Talanta*, 2006, 68, 1726–1731.
72. SOUZA, C. D.; et al. **Electroanalytical determination of Sulfadiazine and Sulfamethoxazole in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode.** *Sensors and Actuators B*, 2008, 135, 66–73.
73. MSAGATI, T. A. M.; NGILA, J. C. **Voltametric detection of sulfonamides at a poly(3-methylthiophene) electrode.** *Talanta*, 2002, 58, 605–610.
74. CARRAZON, J. M. P.; RECIO, A.D.; DIEZ, L. M. P. **Electroanalytical study of sulphadiazine at solid electrodes. Determination in pharmaceutical preparations.** *Electrochimica Acta*, 1987, 32, 1573–1575.
75. BRAGA, O. C.; et al. **Sulfadiazine determination in pharmaceuticals by electrochemical reduction on a glassy carbon electrode.** *Journal of Brazilian Chemical Society*, 2010, 1–8.

76. SKOOG, D. A.; et al. Tradução de M. T Grassi. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª Edição. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2006.

77. ALEIXO, L. M. **Voltametria: Conceitos e Técnicas**. Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil. Acesso em: 30 de janeiro de 2010. <http://www.chemkeys.com>.

78. BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods, fundamentals and applications**. New York: John Wiley & Sons Inc, 1980.

79. BRETT C. M. A.; BRETT A. M. O. **Electroanalysis**. Oxford Chemistry primer. Vol. 64. Oxford Science Publications, 1998, 1st edition Oxford.

80. SKOOG, A. D.; HOLLER F. J.; NIEMAN T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5ª Edição. Porto Alegre: Bookman, 2002.

81. SOUSA, D.; MACHADO, S. A.; AVACA. L. A. **Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos**. *Química Nova*, 2003, 26, 81–89.

82. ECONOMOU, A.; KEFALA, G.; VOULGAROPOULOS, A. **A study of Nafion-coated bismuth-film electrodes for the determination of trace metals by anodic stripping voltammetry**. *Analyst*, 2004, 129, 1082–1090.

83. RIBEIRO, F. A. L.; FERREIRA, M. M. C. **Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados**. *Química Nova*, 2008, 31, 1, 164–171.

84. RIBANI, M.; et al. **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos**. *Química Nova*, 2004, 27, 771–780.

85. AGOSTINHO, S. M. L.; VILLAMIL, R. F. V. **O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo**. *Química nova*, 2004, 27, 813–817

86. EEK, M. K.; SKOPALOD, J.; ALKOVG, D. M. **Electroanalytical study of salazosulfapyridine and components at the mercury electrode.** *Analytica Chimica Acta*, 1997, 353, 61–69.
87. VOORHIES, J. D.; ADAMS, R. N. **Voltammetry at solid electrodes anodic polarography of Sulfa drugs.** *Analytical Chemistry*, 1958, 30, 346–350.
88. COTRELL, P. T.; MANN, C. K. **Electrochemical reduction of arylsulfonamides.** *Journal of the American Chemical Society*, 1971, 93, 3579–3583.
89. ODA, K.; OHNUMA, T.; BAN, Y. **A facile removal of arenosulfonyl group by electrochemical reduction of sulfonamides in a new cooperative system of anthracene and ascorbic acid: the control of crisscross annulation.** *Journal of Organic Chemistry*, 1984, 49, 953–959.