



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



LAURO ANTONIO PRADELA FILHO

Avaliação das condições de precipitação do azul da Prússia sobre pó de grafite visando o desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono para a quantificação de nitrito

**UBERLÂNDIA
2016**

LAURO ANTONIO PRADELA FILHO

Avaliação das condições de precipitação do azul da Prússia sobre pó de grafite visando o desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono para a quantificação de nitrito

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

Orientadora: Prof^ª. Dra. Regina Massako Takeuchi

UBERLÂNDIA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

P896a Pradela Filho, Lauro Antonio, 1991-
2016 Avaliação das condições de precipitação do azul da Prússia sobre pó de grafite visando o desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono para a quantificação de nitrito / Lauro Antonio Pradela Filho. - 2016.
90 f. : il.

Orientadora: Regina Massako Takeuchi.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Química.
Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Eletroquímica - Teses. 3. Análise eletroquímica - Teses. 4. Água - Análise - Teses. I. Takeuchi, Regina Massako. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.



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



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE Mestrado junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE Mestrado Acadêmico, NÚMERO 242/PPQUI.

DATA: 21/07/2016

DISCENTE: Lauro Antonio Pradela Filho

MATRÍCULA: 11422QM1005

TÍTULO DO TRABALHO: Avaliação das condições de precipitação do azul da Prússia sobre pó de grafite visando o desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono para a quantificação de nitrito.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Eletroquímica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de sensores eletroquímicos para a eletroanálise de amostras de interesse ambiental, farmacêutico e alimentício (FAPEMIG proc.: APQ-02497-12).

Às dez horas do dia vinte e um de julho do ano dois mil e dezesseis, no Auditório 2 do Campus do Pontal, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Márcio Fernando Bergamini, da Universidade Federal Do Paraná, Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz e Regina Massako Takeuchi, da Universidade Federal da UFU, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimeada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será mantido, sem modificações.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 12 horas e 50 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Márcio Fernando Bergamini
UFPR

Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz
IQUFU

Orientador(a): Prof^ª Dra. Regina Massako Takeuchi – UFU

Universidade Federal de Uberlândia - Avenida João Naves de Ávila, nº 2121, Bairro Santa Mônica - 38.408-144 - Uberlândia - MG

498 - 34 - 3238-4205

www.cpq.ufu.br

<http://www.cpq.ufu.br>

DEDICATÓRIA

**À toda minha família
que sempre me incentivou
para a realização dos meus ideais.**

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora por me abençoar em toda a minha caminhada.

Aos meus maravilhosos pais, Lauro e Rosângela, por todo apoio e incentivo.

Aos meus irmãos, Izaura, Caio e Hévila, pelo companheirismo que tiveram comigo.

À minha namorada, Dayane, pela paciência, incentivo e principalmente pelo carinho.

Aos meus colegas do Grupo de Pesquisa em Métodos Eletroanalíticos: Diele, Wilson, Leandro e Ana Carolina que estiveram sempre presentes.

À minha orientadora Prof^a. Dra. Regina Massako Takeuchi e coorientador Prof. Dr. André Luiz dos Santos, que sempre me ajudaram a superar minhas dificuldades e incentivaram a seguir o caminho da pesquisa. Agradeço também pela paciência e sabedoria.

Aos Professores Dr. Edson Nossol, Dra. Rosana Maria Nascimento Assunção e Dr. Hernane da Silva Barud, que contribuíram fortemente para a realização deste trabalho.

Ao técnico de laboratório Flaisner Magayver pelo companheirismo e contribuição para a realização deste trabalho.

À Capes pela bolsa de mestrado concedida.

À FACIP por fornecer as condições para a execução desse trabalho.

À FAPEMIG (Processo: APQ-01557-13) e ao CNPq (Proc.: 447668/2014-5 e 443315/2014-0) pelos recursos concedidos ao grupo de pesquisa.

Aos nobres membros da Banca Examinadora por terem aceitado o convite, pelo empenho na leitura desse trabalho e por todas as discussões e sugestões que serão muito valiosas para o aprimoramento desse trabalho.

EPÍGRAFE

*Em cada passo que eu der, em cada estrada que eu trilhar, todo caminho que escolher a sua
mão me guiará.*

Tiago e André Arrais

RESUMO

Um método FIA com detecção amperométrica para a quantificação de nitrito baseado na redução eletroquímica deste ânion foi desenvolvido empregando um eletrodo de pasta de carbono (EPC) modificado com hexacianoferrato (HCF) de ferro como detector amperométrico. A influência das condições experimentais no preparo de materiais eletródicos foi avaliada, sendo os materiais obtidos em cada estudo, utilizados para o desenvolvimento de eletrodos modificados. Os sensores eletroquímicos foram preparados por um procedimento rápido, simples e de baixo custo e os eletrodos apresentaram bom desempenho por um longo período de tempo, mantendo sua estabilidade por mais de um ano. O HCF atuou como mediador redox eficiente para redução eletroquímica do nitrito em meio ácido, permitindo a detecção de nitrito em +0,2 V vs. Ag/AgCl_{sat}, sendo esse potencial livre de possíveis espécies interferentes que normalmente estão presentes em amostras alimentícias e de água. A célula eletroquímica usada no sistema FIA foi similar a uma célula para análises por injeção em batelada, permitindo a recirculação da solução carregadora. Isto é uma característica atrativa, pois permitiu o uso de uma elevada vazão (6 mL min⁻¹), o que aumentou a sensibilidade e a velocidade de análise, mantendo um baixo consumo de reagentes. O método proposto apresentou um limite de detecção de 9,0 µmol L⁻¹ e o mesmo foi empregado com êxito para a quantificação de nitrito em amostras de água enriquecidas e de salsicha e mortadela. Os resultados obtidos foram comparados aos obtidos pelo método espectrofotométrico oficial, não sendo verificadas diferenças estatísticas nos teores de nitrito nem na precisão dos métodos a um grau de confiança de 95 %. As condições experimentais de síntese do HCF foram otimizadas, sendo o melhor material eletródico obtido pela mistura de FeCl₃, K₄[Fe(CN)₆] e pó de carbono submetido a tratamento ácido e térmico (400 °C), seguido por agitação ultrassônica a 4 °C. A partir desse material, foi construído um eletrodo com melhor desempenho analítico para a redução de nitrito, o qual apresentou maior estabilidade comparada ao filme de HCF eletrodepositado sobre o EPC, mostrando que o procedimento adotado para o preparo do material eletródico é eficiente para o desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono modificados com HCF.

Palavras chave: Mediação eletroquímica, Análise de água, Análise por injeção em fluxo, azul da Prússia.

ABSTRACT

An amperometric FIA method for nitrite quantification based on nitrite electroreduction and employing a carbon paste electrode (CPE) chemically modified with iron hexacyanoferrate (HCF) as an amperometric detector was developed. The influence of experimental conditions on the preparation of the electrode materials was evaluated and the materials obtained in each study were used for the development of modified electrodes. The electrochemical sensors were prepared by a fast, simple, and inexpensive procedure, and the long-term performance of the electrodes were quite satisfactory as the stability was maintained over one year. HCF was an effective redox mediator for nitrite electroreduction in acidic media, allowing nitrite detection at +0.2 V vs. Ag/AgCl_{sat}, which is a potential free of possible interfering species that are normally present in food and water samples. The electrochemical cell used in the FIA system was similar to a batch injection analysis cell, enabling recirculation of the carrier solution. This is an attractive feature because it allows the use of a high flow rate (6 mL min⁻¹) leading to high sensitivity and analysis speed, while keeping reagent consumption low. The proposed method had a detection limit of 9 μmol L⁻¹ and was successfully employed for nitrite quantification in spiked water and sausage samples. The obtained results were in good agreement with those provided by the spectrophotometric official method. At a 95 % confidence level it was not observed statistical differences neither in nitrite content nor in the precision provided by both methods. The experimental conditions for the synthesis of HCF were optimized and the best electrode material was prepared by mixing FeCl₃, K₄[Fe(CN)₆] and carbon powder subjected to an acid and thermal treatment (400 °C), followed by ultrasonic agitation at 4 °C. This material was used to construct an electrode with improved analytical performance to reduce nitrite, which presented greater stability compared to HCF film electrodeposited on the EPC, showing that the preparation procedure of the electrode material is an effective strategy for the development of HCF modified electrodes.

Keywords: Redox mediation, Water analysis, Flow-injection analysis, Prussian blue.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Representação esquemática do sinal de excitação e da resposta obtida para a técnica de voltametria cíclica para um processo reversível. 16
- Figura 2 - Voltamograma cíclico de um eletrodo modificado com Azul da Prússia registrado em KCl 0,1 mol L⁻¹ a 40 mV s⁻¹. 19
- Figura 3 - Representação esquemática da estrutura cristalina do Azul da Prússia. 20
- Figura 4 - Representação esquemática da redução de uma espécie química em solução mediada pelo Azul da Prússia imobilizado no eletrodo. 21
- Figura 5 - Representação esquemática do sistema FIA em linha única. 23
- Figura 6 - Representação esquemática da reação de Griess, descrita por Johann Peter Griess em 1879. 27
- Figura 7 - Representação esquemática dos eletrodos utilizados neste trabalho. 32
- Figura 8 - I) Imagem da célula eletroquímica empregada no sistema FIA. II) Imagem dos componentes individuais da célula eletroquímica: A) ponteira de micropipeta contendo a tubulação de saída do sistema FIA. B) Eletrodo de trabalho. C) Eletrodo de referência. D) Eletrodo auxiliar. 34
- Figura 9 - Imagem do sistema FIA com detecção amperométrica. A) célula eletroquímica, B) bomba peristáltica, C) amortecedor de pulsos, D) injetor-comutador, E) reservatório e F) descarte de amostra. 35
- Figura 10 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹, pH = 1,0 a 50 mV s⁻¹. (–) EPC não modificado. (–) EPC/HCF. 38
- Figura 11 - Voltamogramas cíclicos registrados com o EPC/HCF em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹, pH = 1,0 a 50 mV s⁻¹. (–) Ausência de NO₂⁻; (–) 2,0; (–) 4,0 e (–) 6,0 mmol L⁻¹ de NO₂⁻. 39

Figura 12 - A) Sinais transientes para a injeção de 100 μL de uma solução 0,1 mmol L^{-1} de nitrito ($N = 5$) usando o EPC/HCF com diferentes E_{det} . B) Variação da $I/\text{ruído}$ em função de E_{det} . Solução carregadora: tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} , $\text{pH} = 1,0$ com vazão de 6 mL min^{-1}41

Figura 13 - A) Sinais transientes para a injeção de 100 μL de uma solução 0,1 mmol L^{-1} de nitrito ($N = 3$) usando o EPC/HCF e empregando-se diferentes vazões da solução carregadora. $E_{\text{det}} = + 0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$. B) Variação da corrente em função da vazão. Solução carregadora: tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} , $\text{pH} = 1,0$42

Figura 14 - A) Sinais transientes para a injeção de diferentes volumes de uma solução 0,1 mmol L^{-1} de nitrito ($N = 5$) usando o EPC/HCF com $E_{\text{det}} = + 0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$ e vazão igual a 6 mL min^{-1} . B) Variação da corrente em função do volume injetado de amostra. Solução carregadora: tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} , $\text{pH} = 1,0$43

Figura 15 - I) Sinais transientes obtidos para sucessivas injeções ($N = 4$) de soluções contendo diferentes concentrações de nitrito. $E_{\text{det}} = + 0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$, vazão = 6 mL min^{-1} e volume de amostra injetado de 150 μL : (A) 25, (B) 50, (C) 75, (D) 100, (E) 500, (F) 750 e (G) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- . Solução carregadora: tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} , $\text{pH} = 1,0$. II) Curva analítica obtida para injeções de nitrito no (-) sentido crescente e (---) decrescente de concentração.45

Figura 16 - Sinais transientes para sucessivas injeções de soluções (A_1) 500 e (A_2) 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- e para sucessivas injeções de 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada um dos potenciais interferentes avaliados: (B) nitrato, (C) sacarose, (D) ácido úrico, (E) ácido ascórbico e (F) sulfito. Condições experimentais: $E_{\text{det}} = + 0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$, vazão = 6 mL min^{-1} e volume injetado de amostra de 150 μL ; solução carregadora: tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} , $\text{pH} = 1,0$48

Figura 17 - I) Sinais transientes para diferentes concentrações de NO_2^- (A–F) e para as amostras de água enriquecidas (S_1 – S_6). (A) 50, (B) 100, (C) 250, (D) 500, (E) 750, e (F) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ NO_2^- . S_1 a S_3 : água mineral enriquecida com 75, 250 e 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- . S_4 a S_6 : água de torneira enriquecida com estas mesmas concentrações de nitrito. II) Resposta amperométrica para a amostra de salsicha do tipo hot dog (G) e para sucessivas adições de

padrão de $200 \mu\text{mol L}^{-1} \text{NO}_2^-$ (H-J). Condições experimentais: $E_{\text{det}} = + 0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$, vazão = 6 mL min^{-1} e volume de amostra injetado = $150 \mu\text{L}$. Solução carregadora: tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$49

Figura 18 - Difractogramas do A) pó de carbono e do B) material eletrodico preparado pela mistura de Fe^{2+} e $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (ambos na mesma proporção) sobre o pó de carbono, utilizando a agitação magnética a uma temperatura ambiente de $27 \text{ }^\circ\text{C}$52

Figura 19 - Voltamogramas cíclicos registrados com o A) EPC/Fe(II)HCF/30%Nujol[®] e B) EPC/Fe(II)HCF/20%parafina em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$ a 100 mV s^{-1} . (—) 1^o; (---) 2^o e (---) 3^o polimento.....53

Figura 20 - A) Voltamogramas cíclicos do EPC/Fe(II)HCF/20%parafina submetido a 100 ciclos contínuos de potencial registrados em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$ a 100 mV s^{-1} . B) Porcentagem de carga em função do número de ciclos.54

Figura 21 - Voltamogramas cíclicos do EPC/Fe(II)HCF/20%parafina registrados em diferentes eletrólitos de suporte. (—) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl; (---) solução de HCl e KCl ambos na concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$55

Figura 22 - Amperogramas do EPC/Fe(II)HCF/20%parafina registrados em diferentes eletrólitos de suporte. $E_{\text{deteção}} = + 0,2 \text{ V}$. (—) Tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ $\text{pH} 1$; (---) HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; (---) solução de HCl e KCl ambos na concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$56

Figura 23 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. $\text{pH} = 1$ a 100 mV s^{-1} . (—) EPC/Fe(II)HCF/20%parafina; (---) EPC/Fe(II)HCF/10:1.57

Figura 24 - Gráfico da porcentagem de carga em função do número de ciclos. (■) EPC/Fe(II)HCF/20%parafina; (■)EPC/Fe(II)HCF/10:1.58

Figura 25 - Amperogramas de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. $\text{pH} = 1$ a 100 mV s^{-1} com sucessivas adições de nitrito. $E_{\text{deteção}} = + 0,2 \text{ V}$. (—) EPC/Fe(II)HCF/20%parafina; (---) EPC/Fe(II)HCF/10:1.....59

Figura 26 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s ⁻¹ . (–) EPC/Fe(II)HCF/20%parafina; (–) EPC/Fe(II)HCF/10:1; (–) EPC/Fe(III)HCF.	60
Figura 27 - Gráfico da porcentagem de carga em função do número de ciclos. (■)EPC/Fe(II)HCF/10:1; (■)EPC/Fe(III)HCF.	61
Figura 28 - Amperogramas de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s ⁻¹ com sucessivas adições de nitrito. E _{detecção} = + 0,2 V. (–) EPC/Fe(II)HCF/10:1; (–) EPC/Fe(III)HCF.	61
Figura 29 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s ⁻¹ . (–) EPC/Fe(III)HCF; (–) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom.	62
Figura 30 - Gráfico da porcentagem de carga em função do número de ciclos. (■) EPC/Fe(III)HCF; (■) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom.	63
Figura 31 - Amperogramas de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s ⁻¹ com sucessivas adições de nitrito. E _{detecção} = + 0,2 V. (–) EPC/Fe(III)HCF; (–) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom.	63
Figura 32 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s ⁻¹ . (–) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom; (–) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom/4°C.	64
Figura 33 - Gráfico da porcentagem de carga em função do número de ciclos. (■)EPC/Fe(III)HCF/ultrassom; (■)EPC/Fe(III)HCF/ultrassom/4°C.	65
Figura 34 - Amperogramas de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s ⁻¹ com sucessivas adições de nitrito. E _{detecção} = + 0,2 V. (–) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom; (–) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom/4°C.	66

- Figura 35 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} . (–) EPC/Fe(III)HCF/4°C; (–) EPC/Fe(III)HCF/pótratado. 67
- Figura 36 - Gráfico da porcentagem de carga em função do número de ciclos. (■)EPC/Fe(III)HCF/4°C; (■)EPC/Fe(III)HCF/pótratado. 67
- Figura 37 - Amperogramas de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} com sucessivas adições de nitrito. $E_{\text{detecção}} = + 0,2 \text{ V}$. (–) EPC/Fe(III)HCF/4°C; (–) EPC/Fe(III)HCF/pótratado. 68
- Figura 38 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} . (–) EPC/Fe(III)HCF/pótratado; (–) EPC/3.2/parafina. 69
- Figura 39 - Gráfico da porcentagem de carga em função do número de ciclos. (■)EPC/pótratado; (■)EPC/3.2/parafina. 69
- Figura 40 - Amperogramas de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} com sucessivas adições de nitrito. $E_{\text{detecção}} = + 0,2 \text{ V}$. (–) EPC/pótratado; (–) EPC/3.2/parafina. 70
- Figura 41 - Voltamogramas cíclicos do processo de eletrodeposição do filme de HCF sobre um EPC registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 50 mV s^{-1} 71
- Figura 42 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} . (–) EPC/Fe(III)HCF/pótratado; (–) EPC/filme/HCF. 72
- Figura 43 - A) Voltamogramas cíclicos do EPC/filme/HCF submetido a 100 ciclos contínuos de potencial registrados em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, pH = 1,0 a 100 mV s^{-1} . B) Porcentagem de carga em função do número de ciclos. 72
- Figura 44 - Amperograma do EPC/filme/HCF registrado em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} com sucessivas adições de nitrito. $E_{\text{detecção}} = + 0,2 \text{ V}$ 73

Figura 45 - Sinais transientes obtidos para sucessivas injeções ($N = 4$) de soluções contendo diferentes concentrações de nitrito. $E_{det} = + 0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{sat}$, vazão = 6 mL min^{-1} e volume de amostra injetado de $150 \mu\text{L}$: (A) 10, (B) 25, (C) 50 (D) 75, (E) 100, (F) 250 (G) 500, (H) 750 e (I) $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- . Solução carregadora: tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$74

Figura 46 – Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em diferentes ampliações para o pó de carbono não tratado (A_1, A_2 e A_3) e para o pó de carbono submetido ao tratamento ácido e térmico (B_1, B_2 e B_3). Ampliações: $A_1 = B_1 = 3.000 \text{ x}$; $A_2 = B_2 = 25.000 \text{ x}$ e $A_3 = B_3 = 50.000 \text{ x}$76

Figura 47 - Imagens de MEV para os diferentes materiais eletródicos preparados com ampliação de 25.000 vezes.77

Figura 48 - A) Imagem de MEV do EPC/pótratado com ampliação de 50.000 vezes. B) Respectivo espectro de EDX.78

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Voltametria cíclica e amperometria	16
1.2	Eletrodos de trabalho para amperometria e voltametria cíclica.....	18
1.3	Hexacianoferratos	19
1.4	Análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica	22
1.5	Determinação de nitrito	26
2	OBJETIVO.....	30
3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	31
3.1	Reagentes e soluções	31
3.2	Preparo do material eletródico	31
3.3	Preparo do eletrodo utilizando Nujol [®] como aglutinante	32
3.4	Instrumentação.....	33
3.5	Procedimento analítico	33
3.6	Sistema FIA	34
3.7	Otimização do preparo do material eletródico.....	36
3.7.1	Preparo do eletrodo utilizando parafina solida como aglutinante	36
3.7.2	Tratamento ácido e térmico do pó de carbono	36
3.8	Eletrodeposição do filme de hexacianoferrato sobre a superfície do eletrodo de pasta de carbono.....	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1	Estudos voltamétricos	38
4.2	Otimização dos parâmetros do sistema FIA	40
4.2.1	Avaliação do potencial aplicado na detecção de nitrito	40
4.2.2	Vazão	42
4.2.3	Alça de amostragem	43
4.3	Desempenho analítico do método.....	44

4.4	Análises de amostras de água e alimentos embutidos	49
4.5	Otimização do preparo do material eletródico.....	51
4.6	Avaliação da morfologia dos diferentes materiais eletródicos preparados.....	75
5	CONCLUSÕES.....	80
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

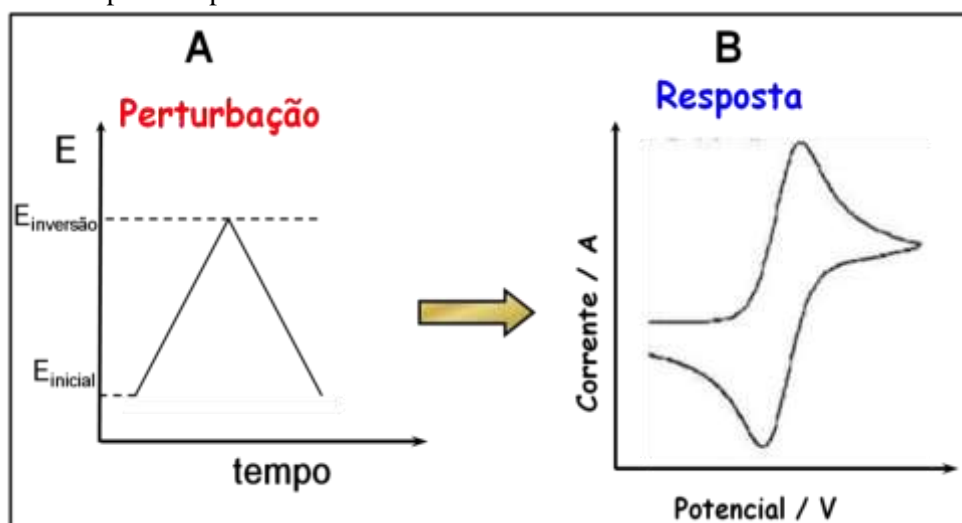
1 INTRODUÇÃO

1.1 Voltametria cíclica e amperometria

A química eletroanalítica possui uma variedade de técnicas analíticas quantitativas, dentre as quais pode-se destacar a voltametria e amperometria. Estas técnicas fornecem informações quantitativas da espécie química presente em solução, através do potencial aplicado na interface eletrodo/solução, sendo a corrente elétrica resultante proporcional à concentração do analito em solução [1]. Além de suas aplicações analíticas, tanto a voltametria cíclica quanto a amperometria têm sido largamente empregadas em estudos cinéticos de processos de oxidação ou redução e na determinação de constantes de formação de complexos [2].

A voltametria cíclica tem sido intensamente empregada na caracterização de materiais. Esta técnica permite localizar os potenciais nos quais o analito é oxidado e/ou reduzido. Além disso, permite também avaliar a influência do eletrólito de suporte, pH, solvente, etc. sobre os processos redox da espécie química de interesse [2,3]. Nesta técnica, o potencial é aplicado na forma de uma onda triangular, conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1 - Representação esquemática do sinal de excitação e da resposta obtida para a técnica de voltametria cíclica para um processo reversível.



Fonte: Adaptado da referência [4].

A Figura 1A mostra que o potencial varia linearmente com o tempo até um potencial máximo, no qual ocorre uma inversão no sentido de varredura e o potencial retorna ao seu valor inicial. O ponto em que ocorre a inversão da varredura é denominado de potencial de

inversão. A Figura 1B apresenta um voltamograma cíclico de um processo redox reversível. A reversibilidade do processo é apresentada na forma de dois picos voltamétricos, o primeiro pico surge durante a varredura direta, no qual o analito é oxidado (considerando uma varredura no sentido de potenciais mais positivos) e, em seguida, na varredura reversa através da redução do mesmo. Processos irreversíveis originam apenas um pico de oxidação ou de redução, sem o correspondente pico inverso na varredura reversa. Processos reversíveis são aqueles para os quais a cinética de transferência eletrônica é elevada, enquanto baixas cinéticas de transferência eletrônica originam os processos irreversíveis. O valor máximo da corrente referente ao processo de oxidação é chamado de corrente de pico anódico e o potencial correspondente a esse ponto é chamado de potencial de pico anódico. Da mesma forma, corrente máxima associada a um processo de redução é chamada de corrente de pico catódico, ocorrendo no respectivo potencial de pico catódico [5,6].

Atualmente, a técnica de voltametria cíclica é quase exclusivamente realizada empregando-se um sistema de três eletrodos: eletrodo de trabalho, eletrodo auxiliar e eletrodo de referência. O eletrodo de trabalho é aquele no qual ocorre a reação de interesse (oxidação ou redução do analito, por exemplo). A corrente elétrica devido a estes processos eletródicos flui entre o eletrodo de trabalho e o auxiliar, sendo este último, portanto, responsável por “fechar” o circuito elétrico da célula eletroquímica, permitindo o fluxo de elétrons. Desta forma, se no eletrodo de trabalho ocorre uma reação de redução, no eletrodo auxiliar ocorrerá uma reação de oxidação e vice-versa. O eletrodo de referência permite que o potencial do eletrodo de trabalho seja controlado, por meio do controle da diferença de potencial entre estes dois eletrodos. Um eletrodo de referência ideal apresenta potencial conhecido e constante e apresenta um comportamento Nernstiniano, sendo, portanto, um eletrodo idealmente não polarizável. Entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência não flui corrente, o que garante maior eficiência do controle de potencial, uma vez que, nesta situação, não haverá um sobrepotencial associado à queda ôhmica, que é aquele associado ao produto IR_{sol} , onde I é a corrente fluindo entre os eletrodos e R_{sol} é a resistência da solução. Portanto, um sistema com três eletrodos permite um controle do potencial do eletrodo de trabalho mais eficiente do que um sistema de dois eletrodos.

A amperometria também é baseada na aplicação de potencial como perturbação e também frequentemente emprega um sistema com três eletrodos. Esta técnica consiste na aplicação de um potencial constante (amperometria convencional) ou de pulsos de potencial (amperometria no modo pulsado) ao eletrodo de trabalho em função do tempo, no qual ocorre

uma reação de oxidação ou redução da espécie química de interesse. As correntes referentes aos processos redox podem ser relacionadas diretamente com a concentração do analito. Além da detecção do analito, a detecção amperométrica no modo pulsado, permite também realizar uma limpeza eletroquímica periódica da superfície do eletrodo, evitando a desativação ou minimizando a contaminação do mesmo durante as análises [7].

1.2 Eletrodos de trabalho para amperometria e voltametria cíclica

Atualmente, vários materiais têm sido empregados como eletrodo de trabalho nas técnicas de voltametria cíclica e amperometria, entre eles: os eletrodos de mercúrio e os eletrodos sólidos: Pt, Au, carbono vítreo, pasta de carbono, entre outros. Os eletrodos de mercúrio, como o eletrodo gotejante de mercúrio, têm grande importância histórica, pois estiveram diretamente envolvidos no desenvolvimento da polarografia por Heyrovsky, sendo a polarografia a primeira técnica voltamétrica desenvolvida [8]. Entretanto, o uso deste eletrodo tem diminuído nos últimos anos, principalmente devido às questões ambientais. Por estas razões, os eletrodos sólidos vêm sendo amplamente utilizados, recebendo destaque, os eletrodos de pasta de carbono (EPC).

Os EPC foram desenvolvidos em 1958, pelo o Professor Ralph Norman Adams, da Universidade de Kansas em Lawrence, como uma alternativa para substituir o eletrodo gotejante de mercúrio para oxidações de compostos orgânicos [9]. Os EPC são constituídos por uma mistura entre pó de carbono e um líquido orgânico imiscível em água, o qual atua como aglutinante [10]. As características atrativas destes eletrodos são várias, dentre as quais, destacam-se o baixo custo, a facilidade de preparo, baixas correntes residuais e amplo intervalo útil de potencial. Além dessas características, estes eletrodos apresentam a possibilidade de renovação da superfície e podem ser facilmente modificados [11,12].

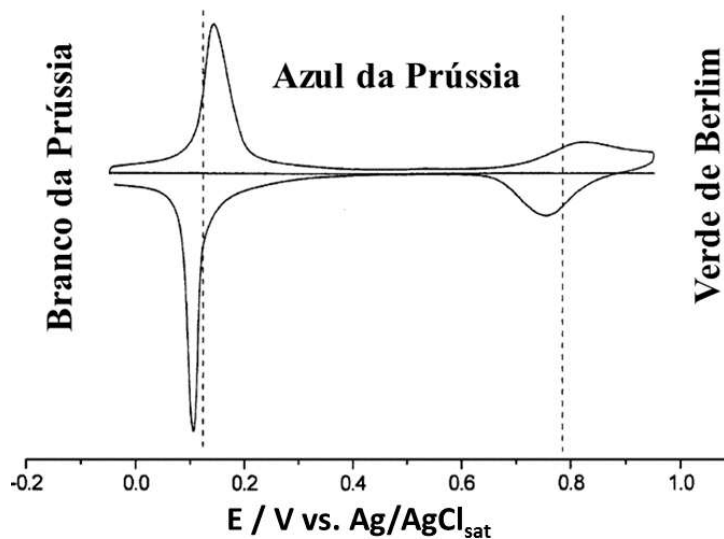
A modificação química de um EPC é extremamente importante, pois estabelece maior interação entre a espécie de interesse e a superfície eletródica, produzindo assim dispositivos com seletividade e/ou sensibilidade superiores aos de eletrodos convencionais. Inúmeros materiais têm sido utilizados como modificadores químicos, incluindo nanopartículas metálicas [13]; líquidos iônicos [14], complexos metálicos como ftalocianinas [15], cianocomplexos [16], complexos de rutênio e manganês [17]; polímeros condutores [18], entre outros. Dentre os modificadores, os hexacianoferratos (HCF) merecem atenção especial, pois estes apresentam características extremamente atrativas.

1.3 Hexacianoferratos

A história dos hexacianoferratos iniciou-se por volta do século 18, com a descoberta acidental do hexacianoferrato (II) de ferro (III) conhecido como azul da Prússia (AP), pelo químico e pintor Heinrich Diesbach. O azul da Prússia é um complexo inorgânico disponível na forma “insolúvel” e “solúvel”, como $Fe_4^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_3$ e $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$, respectivamente. Apesar de ambas as formas serem praticamente insolúveis em água, $K_{ps} = 10^{-40}$, o termo “solubilidade” refere à facilidade de formação de soluções coloidais [19].

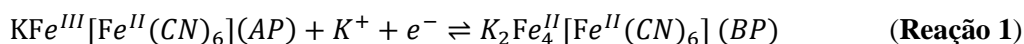
Atualmente, o AP tem sido utilizado em diversas aplicações, como material de troca iônica, sensor, dispositivo eletrocromico, entre outras [20]. Este complexo apresenta propriedades extremamente vantajosas, dentre as quais podem-se destacar as propriedades redox, uma vez que este apresenta processos redox reversíveis e bem definidos, os quais são mostrados na Figura 2.

Figura 2 - Voltamograma cíclico de um eletrodo modificado com Azul da Prússia registrado em KCl 0,1 mol L⁻¹ a 40 mV s⁻¹.



Fonte: Adaptado da referência [21].

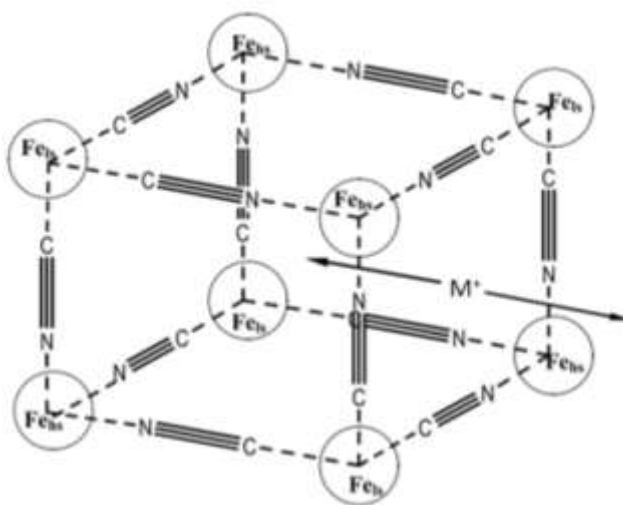
Conforme ilustrado na Figura 2, o Azul da Prússia apresenta dois pares de picos que são atribuídos à redução deste para o Branco da Prússia (BP) e a oxidação para o Verde de Berlin (VB). Estes processos são mostrados nas Reações 1 e 2 para a forma “solúvel” [19].





A mudança na coloração do AP durante as reações resulta em uma excelente característica, o que justifica a utilização deste complexo, como componente ativo em dispositivos eletrocromáticos [22]. Além disso, o Azul da Prússia possui uma estrutura cúbica de face centrada (Figura 3), no qual íons Fe^{III} são coordenados ao átomo de nitrogênio (spin alto) e Fe^{II} coordenados ao átomo de carbono do grupo cianeto (spin baixo) [23,24]. As estruturas cúbicas apresentam cavidades do tipo zeolíticas, as quais permitem que cátions, como Li^+ , Na^+ , K^+ e Rb^+ , penetrem nestas cavidades, realizando assim o balanço de carga durante os processos redox [25]. Esta capacidade de intercalar cátions na estrutura cúbica dos HCF tem sido importante, pois possibilitou aplicações utilizando estes complexos como material de troca iônica e também como uma fonte de grande potencial para baterias recarregáveis [26].

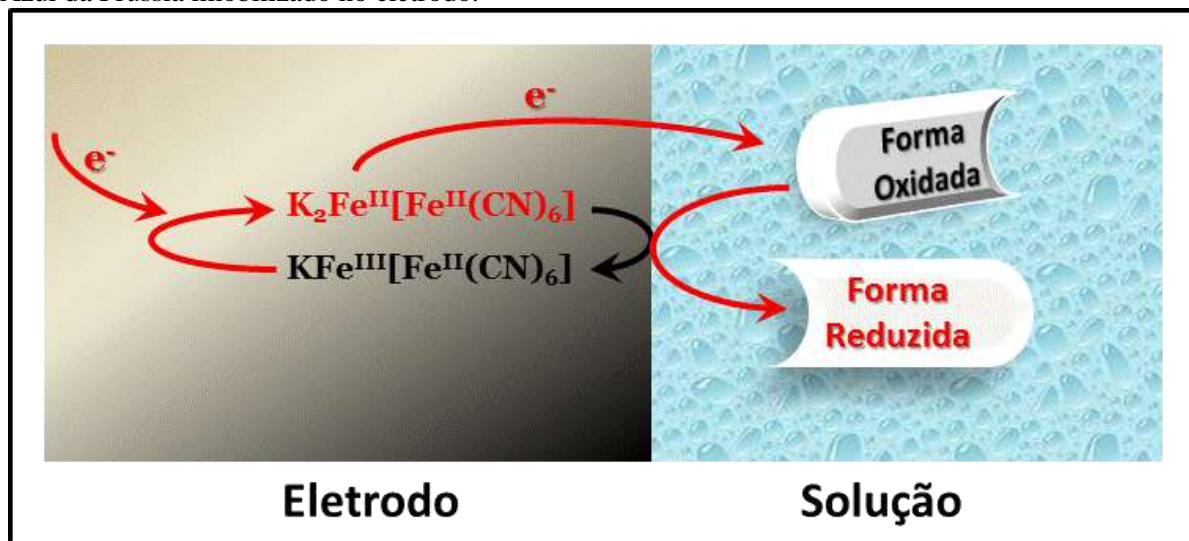
Figura 3 - Representação esquemática da estrutura cristalina do Azul da Prússia.



Fonte: Adaptado da referência [27].

Além destas aplicações, o Azul da Prússia tem sido intensamente utilizado em diversas áreas da química, em especial, a eletroanalítica, devido à rápida cinética de transferência eletrônica deste material, o que torna também possível a utilização dos HCF, como mediares eletroquímicos [28,29]. A Figura 4 mostra uma representação esquemática da redução de uma espécie química em solução mediada pelo hexacianoferrato imobilizado no eletrodo.

Figura 4 - Representação esquemática da redução de uma espécie química em solução mediada pelo Azul da Prússia immobilizado no eletrodo.



Conforme ilustrado na Figura 4, o par redox imobilizado na superfície eletródica é reduzido por meio da aplicação de potencial. A forma reduzida imobilizada pode, então, doar um elétron para a espécie química de interesse em solução, reduzindo-a. Este último evento regenera a forma oxidada do hexacianoferrato e promove a redução do analito. Caso o potencial aplicado ao eletrodo continue sendo suficientemente negativo para reduzir a forma oxidada do hexacianoferrato, o ciclo se repetirá. Com a repetição contínua deste ciclo, a espécie de interesse em solução será quimicamente reduzida quando o potencial do eletrodo for igual ao potencial do par redox, $KFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]/K_2Fe^{II}[Fe^{II}(CN)_6]$. Este efeito causa uma intensificação das correntes devido à repetição do ciclo redução/oxidação do hexacianoferrato. Assim, consegue-se reduzir o analito em solução mesmo que o potencial aplicado ao eletrodo não seja suficientemente negativo para causar a redução direta, ou seja, a mediação eletroquímica produz um aumento tanto da sensibilidade quanto da seletividade.

Apesar de todas as características descritas do azul da Prússia, a baixa estabilidade do material em condições alcalinas é uma grande desvantagem, uma vez que limita a possibilidade de algumas aplicações. Em meio básico, Fe^{2+} ou Fe^{3+} podem reagir com íons OH^- , formando seus respectivos hidróxidos e conseqüentemente promover a dissolução gradual do material. A maioria dos trabalhos publicados na literatura [25,30] sobre eletrodos modificados com azul da Prússia mostram aplicações no intervalo de pH entre 4-7, condições em que os eletrodos apresentam estabilidades satisfatórias. Assim, a capacidade dos hexacianoferratos atuarem como mediadores eletroquímicos associados a suas importantes características, como a facilidade de síntese, insolubilidade e elevada estabilidade química,

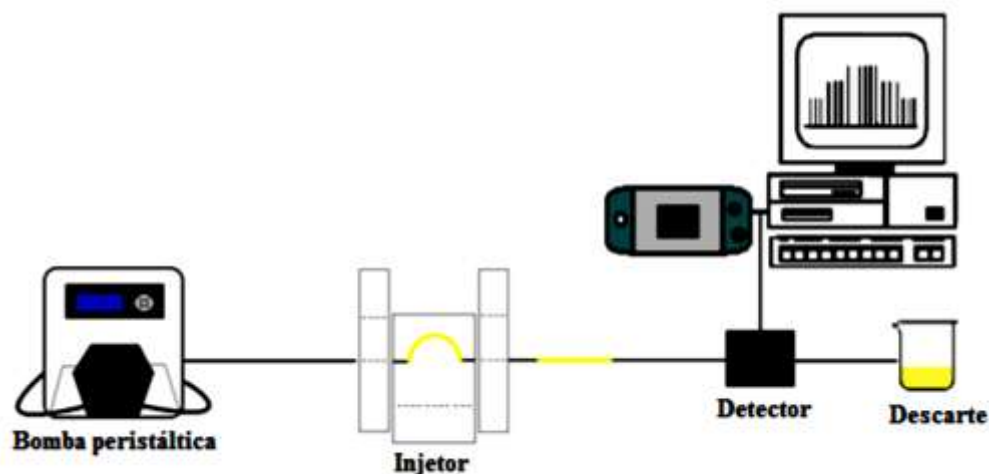
têm justificado a utilização destes complexos como modificadores químicos para a construção de eletrodos modificados. Além disso, têm justificado também o grande número de trabalhos publicados com este material para a determinação de diversas espécies químicas, como: peróxido de hidrogênio [22], cisteína [31], cloro livre [32], sulfito [33], nitrito [34], entre outras [35,36] e aplicação como biossensor para determinação de glicose [37].

1.4 Análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica

O sistema de Análise por Injeção em Fluxo – Flow Injection Analysis (FIA) foi proposto na década de setenta por Ruzicka & Hansen [38], o qual contou com a participação de pesquisadores brasileiros [39]. Este sistema apresenta um grande avanço na área de química analítica, devido a suas características extremamente vantajosas, tais como: a automação de praticamente todo o procedimento analítico, elevada frequência de amostragem e versatilidade. A automação do procedimento analítico minimiza a manipulação da amostra pelo analista durante as análises, o que aumenta a repetitividade entre as medidas, além de tornar a análise mais segura, minimizando, assim, os riscos de contaminação do analista com substâncias tóxicas [40]. Além destas características, este sistema apresenta um consumo mínimo de reagentes e amostra o que, portanto, está de acordo com os princípios de química verde [41].

Sistemas FIA consistem na injeção de uma alíquota de amostra em uma solução carregadora, a qual é constantemente bombeada em direção ao sistema de detecção a uma vazão constante. A amostra injetada produz uma “zona de amostra” que passará através de um percurso analítico até o detector que medirá o parâmetro físico-químico desejado. Durante o transporte da amostra, podem ser realizadas etapas de pré-concentração, adições de reagentes e ainda pode ocorrer a dispersão da amostra, formando gradientes de concentração [42,43]. A altura dos sinais transientes obtidos pode ser diretamente relacionada à concentração do analito. A Figura 5 mostra uma representação esquemática do sistema FIA em linha única.

Figura 5 - Representação esquemática do sistema FIA em linha única.



Fonte: Referencia [44].

A Figura 5 mostra uma bomba peristáltica, que é utilizada para impulsionar a solução carregadora e as soluções dos reagentes. Outros equipamentos também podem ser utilizados como propulsores, como a bomba pistão e o propulsor a gás [45]. Porém, a bomba peristáltica é o equipamento mais utilizado como propulsor em sistema FIA [42], isto devido a sua capacidade de gerar vazões constantes, controlar a vazão em um amplo intervalo por sistemas computadorizados, a possibilidade de utilizar várias tubulações simultaneamente, entre outras. Apesar de todas as vantagens deste equipamento, o fluxo produzido pelas bombas peristálticas é pulsado, o que pode gerar ruídos nos detectores, principalmente nos eletroquímicos. Para contornar estas limitações, amortecedores de pulsos são utilizados junto às bombas peristálticas [46].

O injetor-comutador é utilizado para introduzir soluções padrão e a amostra no sistema em fluxo. Vários dispositivos têm sido utilizados para inserir a amostra na solução carregadora, entre eles: injetor de válvula rotatória [47], válvulas de 6 e 8 vias [48,49] e o injetor-comutador [50]. Porém, o injetor-comutador tem sido o mais utilizado, principalmente pelo baixo custo e simplicidade de manuseio. Além disso, este equipamento é capaz de inserir um determinado volume de amostra na solução carregadora de maneira extremamente reprodutível [50].

O detector é o equipamento responsável pela determinação do parâmetro físico-químico desejado. Atualmente, diversas técnicas analíticas têm sido empregadas nos sistemas de detecção em FIA, incluindo: absorção atômica [51], fluorescência [52], quimiluminescência [53], amperometria [16], entre outras. Dentre estas técnicas, a

amperometria tem se destacado, devido à elevada sensibilidade associada a um custo de instrumentação relativamente baixo. Além disso, a detecção amperométrica no modo pulsado quando acoplada a sistemas em fluxo é extremamente vantajosa comparada aos métodos voltamétricos convencionais, pois apresenta maior sensibilidade, devido ao incremento no transporte de massa, que é proporcionado pela injeção direta do analito na superfície do eletrodo. Além da sensibilidade, a associação desta técnica ao sistema FIA apresenta também maior estabilidade do sinal eletroquímico, uma vez que o tempo de contato da superfície eletródica com a amostra e os produtos das reações é menor do que em processos estacionários, o que minimiza efeitos de desativação ou contaminação do eletrodo [54].

Os principais parâmetros operacionais que devem ser otimizados em um sistema FIA com detecção amperométrica basicamente são: volume de amostra injetado, vazão, percurso analítico e o potencial de detecção (E_{det}). O volume da amostra inserido no sistema FIA com o auxílio de um injetor-comutador é determinado pelo comprimento da alça de amostragem [42]. Alças de amostragem de tamanho reduzido apresentam sinal analítico de baixa intensidade. Portanto, o aumento no comprimento da alça de amostragem, resulta em uma maior intensidade do sinal analítico, uma vez que este é proporcional à quantidade do analito injetado. No entanto, este aumento tende a um limite máximo, o qual é atingido na condição de “volume infinito”, o qual se estabelece uma situação de mínima dispersão da zona de amostra. A partir deste ponto, não é vantajoso aumentar o comprimento da alça de amostragem, pois isso não aumentaria o sinal analítico e resultaria em maior consumo de amostra, reagentes e menores frequências analíticas [43]. Além disso, a injeção de elevadas quantidades do analito sobre a superfície do eletrodo pode promover a intensificação de processos de passivação via adsorção de intermediários ou até mesmos dos produtos das reações redox, o que prejudica a estabilidade do sinal analítico [54].

A vazão é definida pelo volume de solução transportada até o detector durante um determinado período de tempo. É importante ter o controle desse parâmetro, pois sua variação interfere na intensidade dos sinais gerados. O aumento da vazão resulta em intensidades mais elevadas do sinal analítico, uma vez que a zona da amostra permanece menos tempo na tubulação o que diminui, portanto, sua dispersão. No entanto, quando a amperometria é utilizada como sistema de detecção, outro fator também melhora o sinal analítico com o aumento da vazão que é a maior taxa de transporte de massa do analito em função do tempo para a superfície do eletrodo [55]. Além de melhorar a sensibilidade, o aumento da vazão resulta também em uma maior frequência analítica, pois a amostra é transportada mais

rapidamente até o detector, o que reduz significativamente o tempo de análise [43]. Apesar dessas características, vazões extremamente elevadas são indesejáveis, uma vez, que o volume gasto de solução carregadora será maior, resultando também em maiores custos de análise e quantidade de resíduos gerados.

A determinação da espécie química de interesse pode ou não depender de uma reação química. Quando isso não for necessário, o papel da solução carregadora consiste apenas em transportar a zona da amostra, sem alterá-la. Assim, é utilizada uma solução quimicamente inerte para desempenhar essa função. Quando a detecção amperométrica for utilizada, além de ser quimicamente inerte, a solução carregadora deverá também conter íons dissolvidos para que possam atuar como eletrólito de suporte. No entanto, se a detecção do analito depender do desenvolvimento de uma reação química, a solução carregadora pode continuar sendo uma solução quimicamente inerte e as soluções dos reagentes podem ser inseridas no sistema FIA por confluência ou zonas coalescentes, alternativamente a solução carregadora pode ser a própria solução de reagentes. Para a configuração em confluência, o reagente é adicionado logo após o injetor, recebendo cada fração da amostra a mesma quantidade de reagente. Nesse caso, o reagente é bombeado continuamente, sendo consumido mesmo na ausência de amostra, o que resulta em um grande desperdício de reagente. Para evitar esse desperdício utilizam-se o diagrama de fluxo de zonas coalescentes. Nesta configuração, é utilizado o injetor-comutador que permite que a amostra e o reagente sejam injetados ao mesmo tempo na solução carregadora por meio de duas alças de amostragens, uma para amostra/analito e outra para o reagente, resultando assim em um desperdício mínimo de reagentes [39,43].

O caminho por onde a solução carregadora transporta a amostra, desde o ponto de sua injeção até o detector, é denominado de percurso analítico. Normalmente, o percurso analítico é constituído por tubos de propileno, tygon[®] ou teflon[®], com diâmetro interno entre 0,5 a 0,8 mm. Para a determinação de um analito que não depende do desenvolvimento de uma reação química antes da detecção, quanto maior for o percurso analítico maior será a dispersão da zona da amostra e conseqüentemente menor o sinal gerado pelo detector. No entanto, se a determinação depender de uma reação química, a intensidade do sinal será afetada por dois fatores de acordo com o comprimento do percurso analítico. Percursos analíticos de maior comprimento permitem maior tempo de reação, o que aumentará a intensidade do sinal analítico. Por outro lado, maiores percursos analíticos resultarão também em maior dispersão da zona da amostra, o que diminuirá a intensidade do sinal. Assim, é extremamente importante a escolha do comprimento ideal, para isto devem-se levar em

consideração esses dois fatores e a cinética de reação [43]. De maneira geral, menores percursos analíticos podem ser utilizados para reações rápidas e percursos maiores para reações lentas.

O potencial de detecção é um potencial que apresenta uma maior intensidade do sinal analítico, devido a maior quantidade de espécies oxidadas ou reduzidas, resultando assim uma boa sensibilidade do método analítico. Além da sensibilidade, é importante que este potencial não promova reações redox de outras espécies presentes na amostra, garantindo também uma boa seletividade. Desta forma, a escolha adequada dos parâmetros operacionais de um sistema FIA é imprescindível para que seja obtido o máximo desempenho analítico, sendo o estudo do efeito destes parâmetros sobre o sinal analítico uma etapa fundamental no desenvolvimento de um procedimento analítico baseado em sistemas FIA.

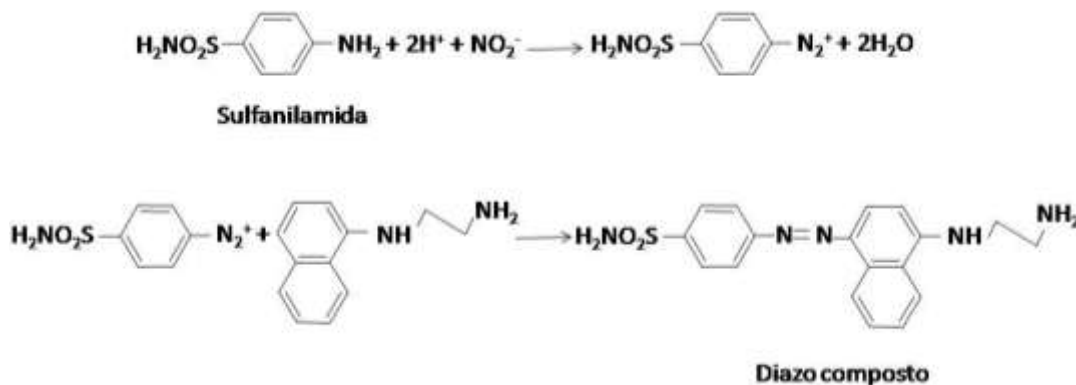
1.5 Determinação de nitrito

O nitrito é amplamente utilizado como conservante em alimentos e bebidas, na produção de fertilizantes e na indústria como inibidor de corrosão [34,56,57]. Apesar da importância deste íon nestes produtos, quantidades elevadas podem representar alto risco à saúde humana, pois, no organismo, esse ânion reage com aminas formando N-nitrosaminas, que são compostos carcinogênicos [57-59]. Em crianças, grandes quantidades de nitrito podem causar a metahemoglobinemia, que é caracterizada pela redução da capacidade das hemácias em transportar oxigênio no sangue. Esta falta de oxigênio nos tecidos resulta na perda de sua coloração característica, o que faz com que a metahemoglobinemia seja conhecida também como Síndrome do bebê-azul [59]. Além disso, a ingestão diária de pequenas quantidades de nitrito conhecida como ingestão crônica também pode causar efeitos adversos à saúde humana, como depressão mental, dispepsia e dor de cabeça [60,61]. A manifestação dos sintomas toxicológicos está diretamente ligada à quantidade de nitrito introduzida no organismo. Por estas razões, as agências que regulamentam o teor máximo de conservantes adicionados em alimentos e bebidas, têm controlado os níveis de nitrito, tornando assim o monitoramento da qualidade destes produtos, uma tarefa fundamental para manter a saúde humana. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) o teor máximo de nitrito em água potável é 1,0 mg de nitrogênio por litro, equivalente a $72 \mu\text{mol L}^{-1}$ de nitrito [62]. A Organização Mundial de Saúde determina este nível em 3 mg L^{-1} de nitrito ($65 \mu\text{mol L}^{-1}$) [63]. Em produtos derivados de carne processada, a

Autoridade Europeia de Segurança Alimentar regulamenta em 50-100 mg por kg o teor máximo permitido de nitrito [64].

O método analítico oficialmente aceito no Brasil para determinação de nitrito é a quantificação espectrofotométrica baseada na reação de Griess [65], a qual é apresentada na Figura 6.

Figura 6 - Representação esquemática da reação de Griess, descrita por Johann Peter Griess em 1879.



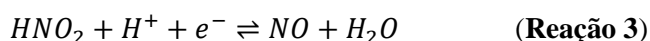
Fonte: Referência [57].

Na reação de Griess, descrita por Johann Peter Griess em 1879, o nitrito presente na amostra reage em meio ácido com uma amina aromática (sulfanilamida), formando um composto diazo. Este composto reage com o cloridrato de N-(1-naftil) etilenodiamina e produz uma coloração vermelha intensa. A reação é utilizada para determinar nitrito e nitrato em alimentos de carne processada como salame, presunto entre outros [66].

Apesar da aceitação deste método no Brasil, a análise direta de algumas amostras complexas, tais como amostras biológicas e ambientais, requerem etapas de pré-tratamento ou separações químicas, o que é uma desvantagem do método [67,68]. Diante destas limitações, o emprego de técnicas eletroanalíticas se torna uma alternativa promissora, pois permite que as análises sejam realizadas em um menor tempo, possibilitando analisar amostras coloridas ou com dispersão de partículas sólidas sem etapas preliminares. Outras características atrativas das técnicas eletroanalíticas incluem elevada sensibilidade e precisão e o uso de uma instrumentação simples e de custo relativamente baixo.

Na literatura são relatados vários trabalhos que empregam métodos eletroanalíticos, principalmente voltamétricos e amperométricos, para a determinação de nitrito, sendo a maioria deles baseados na oxidação eletroquímica desse ânion [67-71]. Apesar de apresentarem sensibilidade satisfatória, esses métodos possuem baixa seletividade, o que é

uma séria limitação para aplicações em amostras mais complexas. Essa baixa seletividade deve-se ao fato de muitas outras espécies, tais como: sulfito, ácido ascórbico, ácido úrico e açúcares serem oxidadas em potenciais muito próximos ao potencial de oxidação do nitrito, gerando assim interferências. Uma das alternativas para aumentar a seletividade na determinação eletroanalítica do nitrito é utilizar a redução eletroquímica desse ânion (Reação 3) para produzir o sinal analítico.



A redução eletroquímica de nitrito sobre a superfície da maioria dos eletrodos convencionais envolve um processo eletródico com baixa cinética de transferência eletrônica [34], fazendo com que o sobrepotencial para a redução desse íon seja extremamente elevado, ocorrendo assim em potenciais próximos ao da redução da água. Para contornar essas limitações, eletrodos modificados têm sido utilizados por inúmeros pesquisadores para viabilizar a determinação de nitrito por redução eletroquímica.

Turdean *et al.* [72] apresentaram a utilização de um eletrodo de grafite modificado com nanotubos de carbono de parede simples revestido com mioglobina e filme de Nafion[®] para a determinação de nitrito em alimentos embutidos. Nesse trabalho, o nitrito foi determinado por voltametria de onda quadrada em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 7) em potencial próximo a -0,7 V vs. Ag/AgCl_{sat}. O método foi linear no intervalo de 0,5 a 5 mmol L⁻¹ e limite de detecção igual a 0,95 mmol L⁻¹.

Dreyse *et al.* [73] demonstraram a possibilidade de determinação de nitrito utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com tetrapiridilporfirina. Assim, empregando a detecção amperométrica foi verificada uma resposta linear de corrente com a concentração de nitrito no intervalo de 1,49 x 10⁻⁵ a 1,24 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ e limite de detecção igual a 9,37 x 10⁻⁶ mol L⁻¹.

Yang *et al.* [74] desenvolveram um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de parede múltipla revestida com nanopartículas de cobre capaz de eletrocatalisar a redução de nitrito. Neste trabalho, os autores verificaram uma resposta linear no intervalo de 1,0 x 10⁻⁵ a 6,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, com limite de detecção igual a 8,0 x 10⁻⁹ mol L⁻¹.

Além da utilização de eletrodos modificados para a determinação de nitrito, Ojani *et al.* [34] demonstraram também que, em meio fortemente ácido (H₂SO₄ 1,0 mol L⁻¹), o

íon ferricianeto atua como um mediador eletroquímico para a redução de nitrito, catalisando, portanto, esta reação. Assim, empregando o mediador em solução e um EPC como eletrodo de trabalho, os autores verificaram uma resposta linear com a concentração de nitrito no intervalo de 50 a 1020 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção (LD) igual a 26,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Em outro trabalho [75], foi demonstrado que um filme de hexacianoferrato de cobre imobilizado sobre a superfície de um eletrodo de pasta de carbono também é capaz de mediar à redução eletroquímica do nitrito, sendo observada uma resposta linear com a concentração de nitrito no intervalo de 0,05 a 8,4 mmol L^{-1} e LD igual a 7,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Pradela Filho *et al.* [76] demonstraram também que em tampão BR pH = 1, o íon ferricianeto atua como um mediador eletroquímico eficiente para a redução de nitrito, verificando uma resposta linear com a concentração de nitrito no intervalo de 0,05 a 2,5 mmol L^{-1} e LD igual a 22 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Verifica-se, portanto, que os hexacianoferratos metálicos são mediadores eletroquímicos promissores para a redução eletroquímica de nitrito e, portanto, apresentam grandes potencialidades para o desenvolvimento de métodos eletroanalíticos mais seletivos para a determinação deste íon.

2 OBJETIVO

O objetivo inicial deste trabalho foi a determinação de nitrito em amostras de água e de alimentos embutidos empregando um eletrodo de pasta de carbono modificado com hexacianoferrato de ferro (EPC/HCF) como detector amperométrico em um sistema FIA com recirculação da solução carregadora. Posteriormente, foi avaliada a influência das condições experimentais no preparo do material eletródico contendo partículas de HCF para o desenvolvimento de um eletrodo modificado de melhor desempenho analítico para a redução de nitrito.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados neste trabalho foram de pureza analítica e foram utilizados sem qualquer procedimento de purificação adicional. As soluções empregadas foram preparadas com água ultrapura (ASTM tipo I, resistividade $\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) obtida via um ultrapurificador da marca Megapurity[®]. O eletrólito de suporte tampão Britton-Robinson (B.R.) foi preparado pela mistura de ácido acético glacial, ácido bórico e di-hidrogenofosfato de potássio, com uma concentração final de cada um dos componentes de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$. Soluções de KOH e HCl, ambos 6 mol L^{-1} , foram utilizadas para ajustar o pH do tampão B.R. no valor desejado. As soluções de nitrito foram preparadas a partir do nitrito de sódio. Todos esses reagentes foram adquiridos da empresa Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). A solução estoque de nitrito foi preparada em água ultrapura e diluída em tampão B.R. conforme necessário para o preparo dos padrões utilizados para calibração e estudos de adição e recuperação. Apenas soluções de nitrito de sódio em tampão B.R. recentemente preparadas foram utilizadas, pois em condições ácidas, essas soluções são estáveis por apenas 2 h aproximadamente.

Os EPC foram preparados a partir de pó de grafite com tamanho de partícula menor que $20 \mu\text{m}$ (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) utilizado como material condutor, parafina sólida (Synth, São Paulo, Brasil) ou óleo mineral Nujol[®] (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) foi utilizado como agente aglutinante. Os reagentes $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), solução padrão de absorção atômica Fe^{2+} 1000 mg L^{-1} (Fluka, Milwaukee, USA), FeCl_3 (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e HNO_3 (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) foram utilizados para o preparo do material eletródico. Sulfonamida e N-(1-naftil) etilenodiamina usados na determinação de nitrito utilizando o método colorimétrico padrão de Griess foram comprados da Sigma-Aldrich (St. Louis, USA).

3.2 Preparo do material eletródico

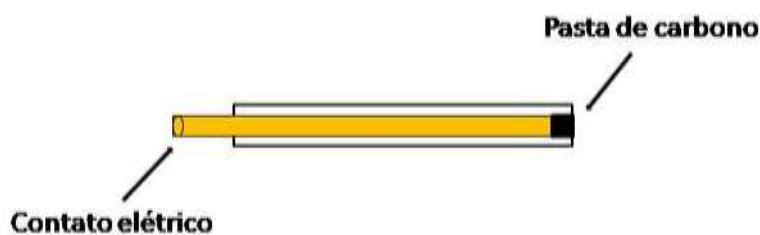
O procedimento inicial adotado para modificação do pó de grafite com AP foi adaptado do procedimento experimental descrito por Palleschi *et al.* [77,78]. 0,5 g de pó de carbono foram suspensos em 5 mL de uma solução de $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $0,016 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em HNO_3 $0,44 \text{ mol L}^{-1}$. A essa mistura, foram adicionadas, sob agitação constante, 5 mL de

uma solução de Fe^{2+} $0,016 \text{ mol L}^{-1}$ preparada em HNO_3 $0,44 \text{ mol L}^{-1}$. A mistura resultante foi mantida sob agitação durante 20 minutos e, posteriormente, filtrada a vácuo, sendo o sólido lavado 3 vezes com uma solução de HNO_3 $0,44 \text{ mol L}^{-1}$. Após a lavagem, o sólido obtido foi mantido em estufa a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1,5 h e o material final foi armazenado ao abrigo da luz à temperatura ambiente ($\sim 27 \text{ }^\circ\text{C}$).

3.3 Preparo do eletrodo utilizando Nujol[®] como aglutinante

O eletrodo modificado foi preparado nas seguintes porcentagens em massa: 70 % de pó de grafite modificado e 30 % de Nujol[®]. Esses componentes foram misturados em um almofariz e pistilo durante 10 min, tempo requerido para proporcionar uma consistência uniforme para a pasta de carbono. Posteriormente, a pasta obtida foi introduzida em um molde de teflon[®] cilíndrico, com diâmetro interno de aproximadamente 3 mm e o contato elétrico realizado por um êmbolo de latão, previamente lixado. Para efeito de comparação, foi preparado um eletrodo sem modificador, apenas com o pó de carbono e o Nujol[®] nas proporções, 70 e 30 %, respectivamente, sendo o mesmo preparado de acordo com o procedimento descrito anteriormente. A Figura 7 é uma representação esquemática dos EPC preparados e utilizados nesse trabalho.

Figura 7 - Representação esquemática dos eletrodos utilizados neste trabalho.



Antes da utilização dos eletrodos, esses foram polidos manualmente sobre um papel impermeável (papel manteiga) até a obtenção de uma superfície lisa e, em seguida, foram submetidos ao seguinte procedimento de pré-condicionamento: realização de 5 ciclos de potencial no intervalo $+ 0,6$ a $- 0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$ a 50 mV s^{-1} em solução tampão B.R., $\text{pH} = 1,0$. Todo este procedimento foi repetido a cada novo dia de trabalho.

3.4 Instrumentação

Os materiais eletródicos foram caracterizados por difração de raios X empregando um Difratorômetro de Raios X modelo XRD-7000 da marca Shimadzu. A fonte de radiação utilizada foi a linha de emissão de cobre ($\lambda_{\text{Cu}} = 1,5418 \text{ \AA}$), no intervalo de $10^\circ \leq 2\theta \leq 80^\circ$, velocidade de varredura 2° min^{-1} e incremento de varredura de $0,02^\circ$. A voltagem do tubo de emissão de cobre foi de 40 kV e corrente de 30 mA. A morfologia dos materiais eletródicos preparados foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura empregando um equipamento com emissão de campo JEOL JSM-7000F acoplado a um analisador de energia dispersiva de Raios-X INCA 4000 (Oxford Instruments).

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato μ Autolab III acoplado a um microcomputador e gerenciado pelo software GPES 4.9. Os experimentos amperométricos em fluxo foram realizados em uma célula eletroquímica de configuração “wall-jet” confeccionada em Tecnil[®], a qual foi preenchida com cerca de 200 mL de eletrólito suporte. Esta solução funcionou como solução carregadora e permaneceu continuamente recirculando pela superfície do eletrodo de trabalho. O EPC/HCF foi utilizado como eletrodo de trabalho, o eletrodo auxiliar foi um fio de Pt com 0,5 mm de diâmetro enrolado em espiral e como eletrodo de referência foi empregado um eletrodo de Ag/AgCl em uma solução saturada de KCl ($\text{Ag/AgCl}_{\text{sat}}$). A propulsão da solução carregadora foi promovida por uma bomba peristáltica modelo MPV-500 da marca Marte Científica.

3.5 Procedimento analítico

Amostras de água de torneira e mineral foram enriquecidas com quantidades de nitrito exatamente conhecidas e foram submetidas a estudos de adição e recuperação. Para manter as propriedades químicas da amostra praticamente inalteradas para as análises, o tampão B.R. foi preparado dissolvendo-se os reagentes diretamente na amostra. O pH das amostras também foi ajustado para 1,0, e nenhum procedimento adicional de pré-tratamento foi adotado.

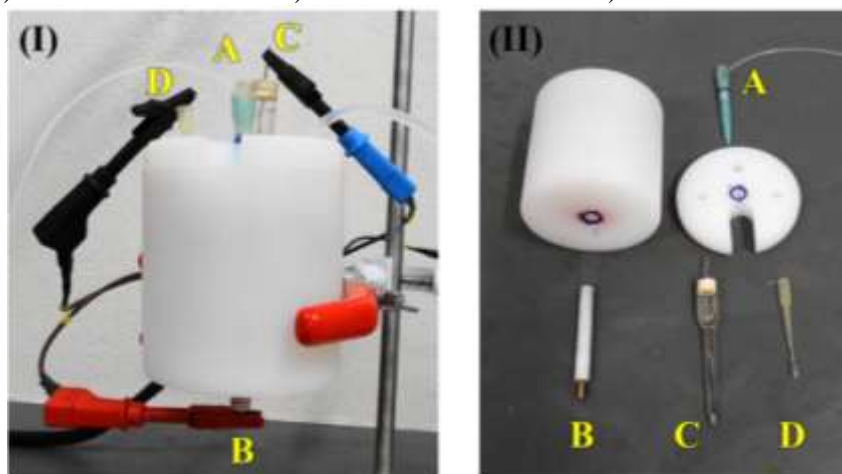
Amostras de embutidos, como salsicha e mortadela, foram adquiridas em um mercado local e preparadas usando um procedimento similar ao descrito por Yildiz *et al.* [64]. As amostras foram cortadas em pequenos pedaços cúbico de aproximadamente 1 cm^3 e uma porção de 30 g destes pedaços foi pesada utilizando uma balança analítica (precisão, 0,1 mg). A estas amostras foram adicionadas, aproximadamente 70 mL de água ultrapura a 50°C . A

mistura resultante foi mantida sob agitação constante por 20 minutos. Após o resfriamento, esta mistura foi filtrada a vácuo e o sólido resultante foi lavado com três porções de água ultrapura. O filtrado foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL e o volume foi completado com água ultrapura. Uma alíquota de 1 mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, sendo o volume deste balão completado com tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 1$). A solução final foi injetada no sistema FIA. O nitrito contido nestas amostras foi determinado em triplicata empregando-se a calibração pelo método de adição de padrão. Estas amostras também foram enriquecidas com quantidades conhecidas de nitrito e submetidas a estudos de adição e recuperação. O nitrito contido nestas amostras foi também determinado pelo método padrão de Griess. Para o método colorimétrico de Griess foram preparadas soluções padrão de sulfonamida e N-(1-naftil)etilenodiamina de acordo com o procedimento descrito na Norma Brasileira NBR 12,619/92 [65]. Nesse procedimento o nitrito é determinado em 543 nm devido à formação de um diazo composto de coloração purpura entre pH 2 e 2,5.

3.6 Sistema FIA

O sistema FIA empregado neste trabalho foi um sistema em linha única com detecção amperométrica, sendo a imagem da célula eletroquímica utilizada apresentada na Figura 8.

Figura 8 - I) Imagem da célula eletroquímica empregada no sistema FIA. II) Imagem dos componentes individuais da célula eletroquímica: A) ponteira de micropipeta contendo a tubulação de saída do sistema FIA. B) Eletrodo de trabalho. C) Eletrodo de referência. D) Eletrodo auxiliar.

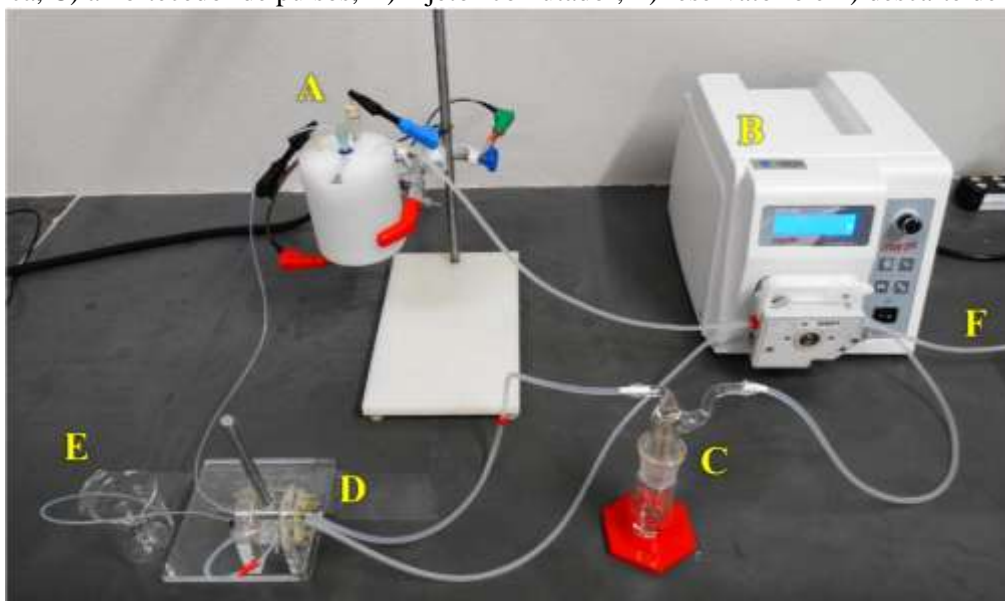


A Figura 8I mostra que a configuração da célula eletroquímica utilizada neste trabalho é similar a de uma célula eletroquímica empregada em sistemas de análise por injeção em

batelada (BIA - do inglês: Batch Injection Analysis). O eletrodo de trabalho é inserido na parte inferior da célula eletroquímica, ou seja, em uma posição invertida em relação à posição usual [79]. Esta configuração permite que um elevado volume da solução carregadora permaneça recirculando pelo detector, tornando possível a realização de um grande número de injeções do analito sem a interferência do mesmo, uma vez que existe uma grande diluição após a injeção [79], assim como ocorre em um sistema BIA.

A Figura 9 apresenta uma imagem do sistema FIA completo utilizado neste trabalho.

Figura 9 - Imagem do sistema FIA com detecção amperométrica. A) célula eletroquímica, B) bomba peristáltica, C) amortecedor de pulsos, D) injetor-comutador, E) reservatório e F) descarte de amostra.



Tubos de Teflon[®] (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) com diâmetro interno de 0,8 mm foram utilizados para a confecção do percurso analítico e alças de amostragem. Um frasco lavador de gases foi empregado como amortecedor de pulsos (Figura 9C). As amostras ou os padrões de nitrito foram introduzidos no percurso analítico por meio de um injetor-comutador manual confeccionado em acrílico (Figura 9D). O comprimento do percurso analítico foi de 47 cm. Uma solução tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 1,0$) foi empregada como solução carregadora. A célula eletroquímica foi preenchida com cerca de 200 mL da solução carregadora, a qual permaneceu em constante recirculação durante as análises.

3.7 Otimização do preparo do material eletródico

Diferentes condições experimentais para o preparo do pó de carbono modificado com partículas de azul da Prússia foram avaliadas. Estes estudos foram realizados para a obtenção de um eletrodo modificado de melhor desempenho analítico para a redução de nitrito. O procedimento descrito na seção 3.2 foi mantido para o desenvolvimento dos materiais eletródicos, porém, inicialmente foram utilizadas as soluções Fe^{2+} e $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, ambas na concentração $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. A partir deste primeiro material foram construídos dois EPC, sendo avaliado o tipo de aglutinante empregado, 30 % de Nujol[®] ou 20 % de parafina sólida.

Após determinado o melhor aglutinante, foram avaliadas as condições de preparo do material eletródico, sendo o material obtido em cada estudo, utilizado para a construção de um novo eletrodo. Todos os eletrodos preparados foram caracterizados por voltametria cíclica e amperometria na presença de nitrito. Assim, as condições avaliadas incluem: a proporção de 10:1 (Fe (II): $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$), a troca do contra-íon Fe (II) pelo Fe (III), a influência da agitação ultrassônica e o efeito da temperatura, 4 ou 27°C. Além disso, foi também preparado um novo material eletródico utilizando um pó de carbono tratado, sendo o tratamento ácido deste pó descrito na sessão 3.7.2. Todos os materiais eletródicos preparados foram caracterizados por difração de raios X e microscopia eletrônica de varredura.

3.7.1 Preparo do eletrodo utilizando parafina sólida como aglutinante

O eletrodo modificado foi preparado utilizando as seguintes porcentagens em massa: 80 % de pó de grafite modificado e 20 % de parafina sólida. O pó de carbono foi lentamente adicionado à parafina previamente fundida. A mistura completa (pó de carbono modificado e parafina) foi então homogeneizada em banho termostático (65-70 °C) por 10 min. Posteriormente, a pasta obtida foi introduzida em um molde de teflon cilíndrico, com diâmetro interno de aproximadamente 3 mm e o contato elétrico realizado por um êmbolo de latão, previamente lixado.

3.7.2 Tratamento ácido e térmico do pó de carbono

O procedimento adotado para o tratamento do pó de carbono foi adaptado do procedimento experimental descrito por Moscone *et al.* [77]. Assim, 1,0 grama de pó de carbono foi suspenso em 20 mL de acetona, sendo a mistura resultante mantida sob agitação magnética por 5 min. Posteriormente, foi filtrada a vácuo e lavada com 20 mL de água ultrapura. O sólido obtido foi adicionado em 120 mL de uma solução contendo HCl e HNO₃ concentrados na proporção de 3:1, sendo esta mistura mantida em repouso por 30 min. Após este tratamento, o sólido resultante foi novamente filtrado a vácuo e lavado com água ultrapura até o meio permanecer neutro. Posteriormente, foi tratado termicamente a 400 °C por 4 h.

3.8 Eletrodeposição do filme de hexacianoferrato sobre a superfície do eletrodo de pasta de carbono

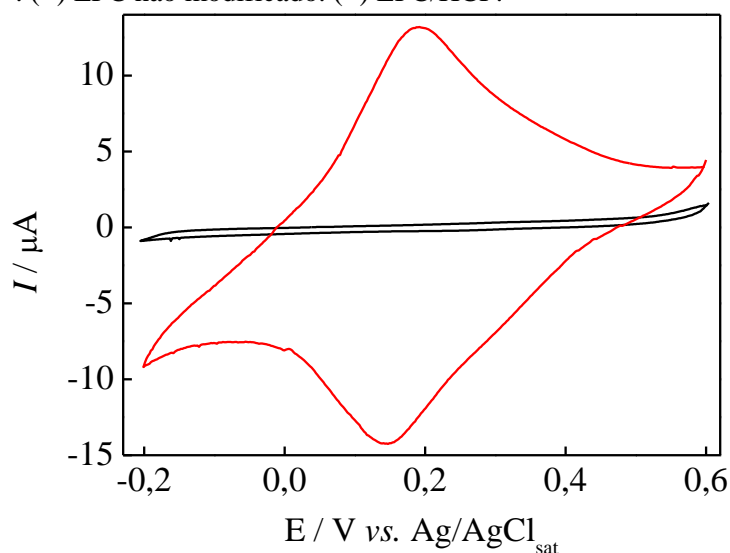
Para avaliar o método de preparo dos eletrodos modificados foi desenvolvido um EPC modificado com filme de HCF. O procedimento adotado para a eletrodeposição foi adaptado do procedimento experimental descrito por Sheng *et al.* [80]. Assim, empregando a técnica de voltametria cíclica, foram registrados 10 ciclos de potencial entre - 0,2 a + 1,2 V vs. Ag/AgCl_{sat} com uma velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹ em uma solução contendo FeCl₃ 1 mmol L⁻¹, K₃[Fe(CN)₆] 1 mmol L⁻¹, HCl 0,025 mol L⁻¹ e KCl 0,1 mol L⁻¹. Após este procedimento, o eletrodo foi enxaguado com água ultrapura e seco a temperatura ambiente (27 °C) por aproximadamente 2 horas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudos voltamétricos

Inicialmente, foram registrados voltamogramas cíclicos com dois diferentes EPC, sendo um eletrodo não modificado e outro modificado, o qual foi preparado com o material eletródico descrito na seção 3.2. A comparação voltamétrica entre os dois eletrodos é extremamente importante, pois permite confirmar se as partículas de HCF foram imobilizadas sobre pó de carbono por meio deste procedimento. Os voltamogramas cíclicos obtidos neste estudo estão apresentados na Figura 10.

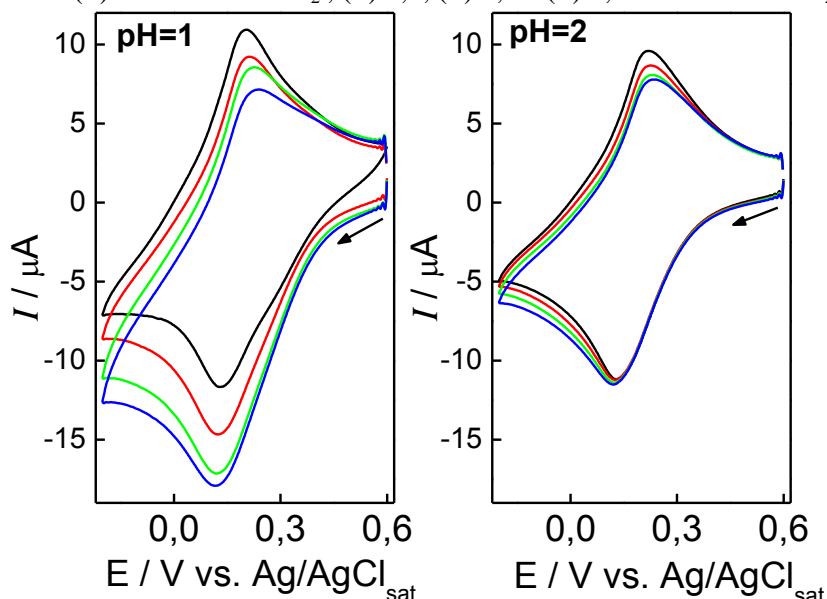
Figura 10 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$ a 50 mV s^{-1} . (—) EPC não modificado. (—) EPC/HCF.



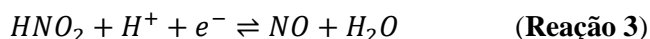
A Figura 10 mostra claramente que nenhum processo redox é observado para o eletrodo não modificado nestas condições experimentais. Porém, o EPC/HCF apresentou um par de picos de caráter reversível correspondente ao par redox $\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]/\text{K}_2\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ em aproximadamente $+0,18 \text{ V}$, demonstrando assim, que o modificador químico foi imobilizado de forma eficiente no pó de carbono [76].

Visando avaliar a capacidade do EPC/HCF atuar como um mediador redox para a redução eletroquímica do nitrito foram registrados voltamogramas cíclicos na presença e na ausência deste íon em diferentes valores de pH. A Figura 11 mostra os voltamogramas obtidos neste estudo.

Figura 11 - Voltamogramas cíclicos registrados com o EPC/HCF em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$ a 50 mV s^{-1} . (—) Ausência de NO_2^- ; (—) 2,0; (—) 4,0 e (—) 6,0 mmol L^{-1} de NO_2^- .



A Figura 11 mostra que o EPC/HCF atua como um mediador eletroquímico eficiente para a redução do nitrito em $\text{pH} = 1,0$ enquanto que, para valores de $\text{pH} \geq 2$ nenhum comportamento de mediação eletroquímica é observado. A redução de nitrito é mostrada na Reação 3.



Conforme é mostrado na Reação 3 o nitrito é reduzido quando esse apresenta na forma de ácido nitroso, pK_a 3,4. Assim, em $\text{pH} = 1,0$ é observado um aumento significativo de intensidade corrente de pico catódica para o par $\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]/\text{K}_2\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ com o aumento da concentração de nitrito, uma vez que a redução desse íon é favorecida. Ao mesmo tempo, a corrente de pico anódica correspondente a este par redox foi significativamente diminuída na varredura reversa. Este é o comportamento esperado para um mecanismo envolvendo uma reação catalítica acoplada à transferência eletrônica (mecanismo $(\text{E}_r\text{C}_i')$ [3]), que é o mecanismo típico para uma mediação eletroquímica na qual uma espécie química reage com a forma reduzida de um par redox, regenerando a forma inicial oxidada [34].

É bem conhecido que condições mais ácidas melhoram a habilidade dos HCF atuarem como mediadores eletroquímicos para a redução do NO_2^- . Este comportamento foi previamente descrito quando filmes de hexacianoferrato de cobre [75] e quando o ânion $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ em solução [34,76] foram utilizados como mediadores redox. Assim, o comportamento observado na Figura 11 é concordante com as observações da literatura. É

importante destacar, no entanto, que no presente trabalho o mediador eletroquímico foi imobilizado em um EPC, o que é uma estratégia mais eficiente, porque neste caso, a modificação química não é restrita à superfície do eletrodo como no caso da utilização de um filme de HCF e uma nova superfície modificada pode ser facilmente obtida pelo simples polimento mecânico do eletrodo. Além disso, a imobilização do modificador no EPC é também superior ao uso do íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ em solução como mediador eletroquímico, porque o mediador imobilizado não é convertido a um resíduo químico ao final da análise.

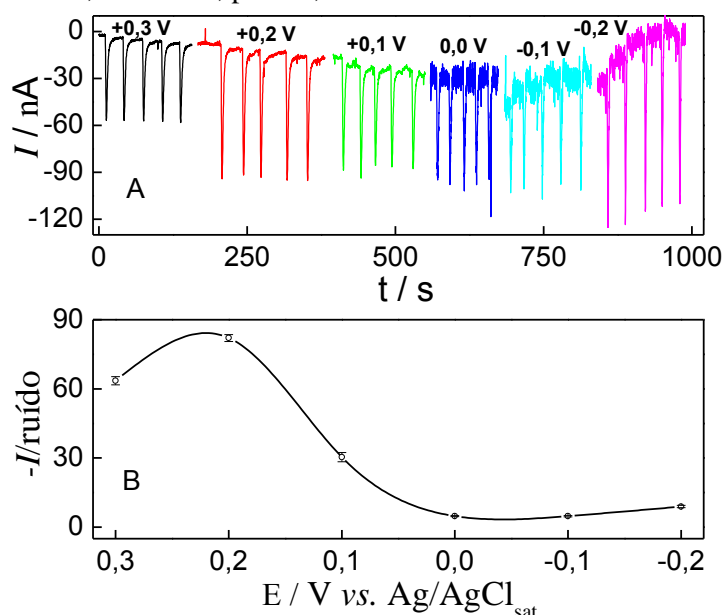
Como é mostrado na Figura 11, em $\text{pH} = 1,0$, a corrente catódica do par redox $\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]/\text{K}_2\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ é proporcional à concentração de nitrito e, portanto, pode ser utilizada como sinal analítico para este ânion. Com base neste resultado, o tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$ foi usado como solução carregadora em todos os estudos subsequentes envolvendo o sistema FIA.

4.2 Otimização dos parâmetros do sistema FIA

4.2.1 Avaliação do potencial aplicado na detecção de nitrito

O potencial de detecção foi o primeiro parâmetro estudado sobre a resposta amperométrica do nitrito. O efeito deste potencial foi avaliado de $+ 0,3$ a $- 0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$, injetando-se $100 \mu\text{L}$ de uma solução $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de NO_2^- e usando uma solução tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$ como solução carregadora. Os sinais transientes e a variação da $I/\text{ruído}$ em função de E_{det} são apresentados na Figura 12.

Figura 12 - A) Sinais transientes para a injeção de 100 μL de uma solução 0,1 mmol L^{-1} de nitrito ($N = 5$) usando o EPC/HCF com diferentes E_{det} . B) Variação da $I/\text{ruído}$ em função de E_{det} . Solução carregadora: tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} , $\text{pH} = 1,0$ com vazão de 6 mL min^{-1} .

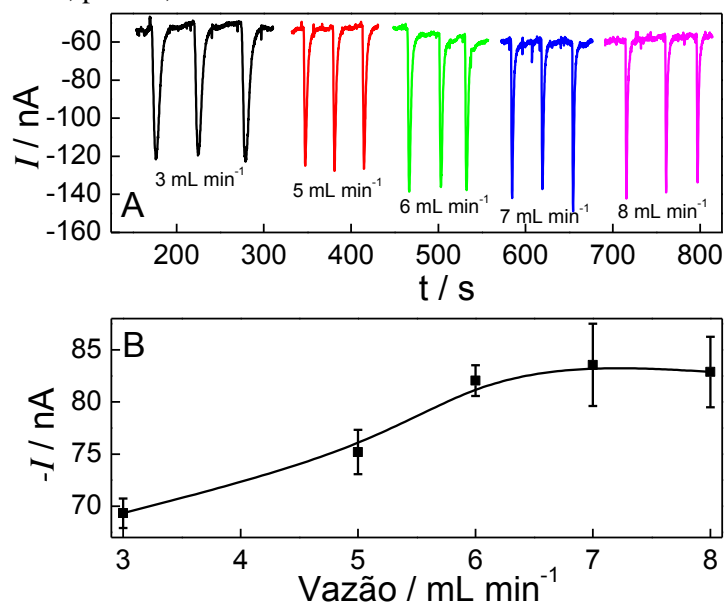


A Figura 12A mostra um aumento da resposta amperométrica do nitrito com o aumento do E_{det} de + 0,3 a + 0,2 V vs. $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$, a partir deste valor, o sinal amperométrico permanece aproximadamente constante até - 0,1 V vs. $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$ e aumenta novamente em - 0,2 V, provavelmente, devido a redução direta de nitrito sobre a superfície eletródica. Em E_{det} mais negativos que + 0,1 V vs. $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$ é observado um aumento no ruído do sinal amperométrico, o que não é desejável, pois elevados níveis de ruído tendem a aumentar os valores de LD. O aumento do nível de ruído é explicado pela formação de bolhas de H_2 geradas pela redução da água que pode ocorrer em meio ácido em potenciais próximos a 0 V vs. $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$. Baseado nos resultados apresentados na Figura 12B, o E_{det} de + 0,2 V vs. $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$ foi adotado em todos os experimentos posteriores, uma vez que apresentou um maior valor de sinal/ruído. É importante mencionar que este potencial é significativamente mais positivo que a maioria daqueles usados na literatura para detectar nitrito por meio da redução eletroquímica deste ânion. Este é um importante resultado, pois torna o método mais seletivo, evitando a interferência do oxigênio dissolvido e do nitrato, os quais se reduzem em potenciais muito mais negativos, sendo estes, segundo a literatura [81], os principais interferentes na determinação de nitrito por meio de sua redução eletroquímica.

4.2.2 Vazão

O efeito da vazão da solução carregadora sobre a intensidade do sinal analítico foi avaliado no intervalo de 3 a 8 mL min⁻¹. A Figura 13 apresenta os sinais transientes obtidos nas diferentes vazões e a variação da resposta amperométrica do nitrito com este parâmetro.

Figura 13 - A) Sinais transientes para a injeção de 100 μL de uma solução 0,1 mmol L⁻¹ de nitrito (N = 3) usando o EPC/HCF e empregando-se diferentes vazões da solução carregadora. $E_{\text{det}} = +0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$. B) Variação da corrente em função da vazão. Solução carregadora: tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹, pH = 1,0.



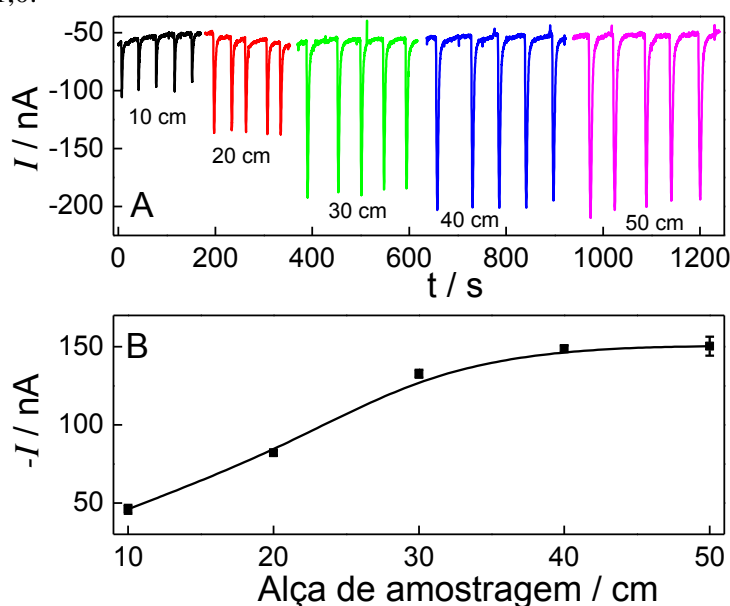
A Figura 13 mostra claramente que a resposta amperométrica para o nitrito aumenta com aumento da vazão até 6 mL min⁻¹. Este comportamento é atribuído à diminuição da dispersão da zona da amostra, devido ao aumento da velocidade com que a amostra chega ao detector, resultando assim em picos mais estreitos e de maior intensidade [40]. Para vazões superiores a 6 mL min⁻¹ ocorre uma grande dispersão dos resultados, o que possivelmente pode ser explicado pela ocorrência de um fluxo turbulento na superfície do eletrodo em vazões de 7 e 8 mL min⁻¹, afetando assim a precisão das medidas amperométricas. Com base nestes resultados, a vazão de 6 mL min⁻¹ foi adotada nos experimentos posteriores. Normalmente, vazões elevadas semelhantes a estas são evitadas em procedimentos FIA, uma vez que resultam em elevado consumo da solução carregadora. Porém, no caso do sistema utilizado no presente trabalho, isso não ocorre, pois a solução carregadora permanece sob

constante recirculação durante as análises, sendo, portanto, reciclada. Desta forma, o sistema utilizado se torna extremamente vantajoso, uma vez que vantagens adicionais com a utilização de elevadas vazões podem ser exploradas como maior frequência de amostragem e maior sensibilidade, mantendo-se um baixo consumo de solução carregadora.

4.2.3 Alça de amostragem

O efeito do volume injetado na resposta amperométrica no nitrito foi avaliado de 50 a 250 μL , variando, para isso, o comprimento da alça de amostragem entre 10 e 50 cm. Os resultados obtidos neste estudo são apresentados na Figura 14.

Figura 14 - A) Sinais transientes para a injeção de diferentes volumes de uma solução $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de nitrito ($N = 5$) usando o EPC/HCF com $E_{\text{det}} = +0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$ e vazão igual a 6 mL min^{-1} . B) Variação da corrente em função do volume injetado de amostra. Solução carregadora: tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$.



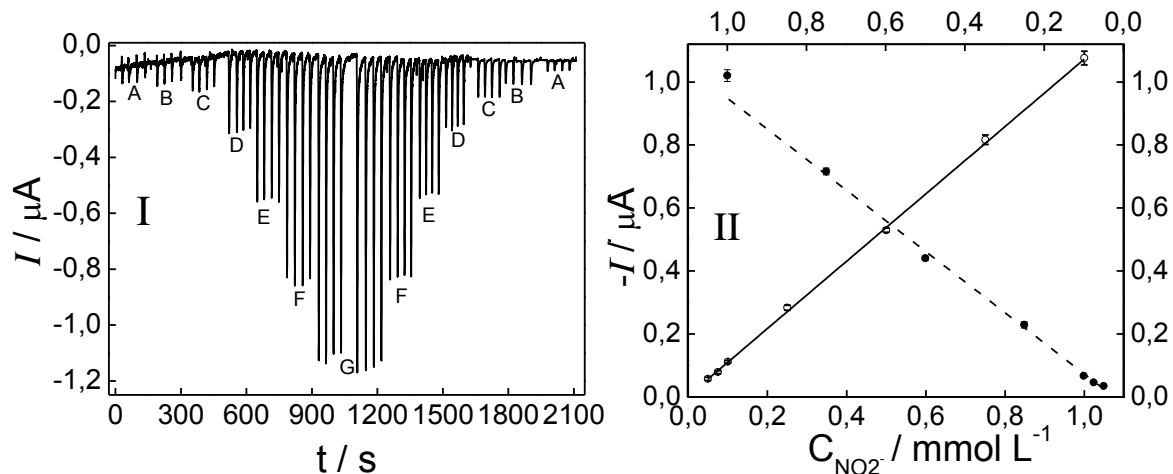
A Figura 14 mostra o aumento da resposta amperométrica para o nitrito com o aumento do volume injetado no intervalo de 50 a 150 μL (10 a 30 cm de comprimento da alça de amostragem). Este comportamento é observado, pois o aumento do comprimento da alça de amostragem aumenta o volume de solução que é injetada no sistema, o que diminui, portanto, a dispersão da zona da amostra. Para alças acima de 30 cm de comprimento, a resposta amperométrica tende a estabilizar, mostrando um patamar da resposta para volumes

mais elevados de amostra injetada. Com base nestes resultados, o volume de 150 μL (alça de amostragem de 30 cm) foi escolhido como valor otimizado.

4.3 Desempenho analítico do método

Para avaliar a repetitividade entre respostas amperométricas foram efetuadas seis injeções sucessivas de uma solução 0,5 mmol L^{-1} de NO_2^- empregando-se uma mesma superfície eletródica. A repetitividade obtida foi satisfatória, com um valor de desvio padrão relativo (RSD) igual a 1,9 % ($N = 6$). No entanto, quando diferentes superfícies são utilizadas, um RSD de 23,2 % ($N = 3$) foi obtido. Esta elevada dispersão pode ser atribuída a diferenças na área do eletrodo obtida após os diferentes polimentos ou a diferenças na distância entre o tubo de saída do sistema FIA e a superfície do eletrodo, uma vez que, esta distância é controlada visualmente em aproximadamente 2 mm. Porém, esta elevada dispersão para diferentes superfícies eletródicas não é uma verdadeira limitação do método proposto, pois este efeito pode ser contornado com calibrações diárias, o que é um requerimento de praticamente todos os métodos analíticos. Foi observado que uma mesma superfície eletródica permanece ativa por todo um dia de trabalho, assim, se uma mesma superfície for utilizada para a calibração e para a análise das amostras, o método fornecerá precisão satisfatória. Um mesmo eletrodo foi empregado por um período superior a um ano sem alterações apreciáveis no intervalo linear e no LD, enquanto as mudanças na sensibilidade foram da mesma ordem do desvio observado para diferentes superfícies (RSD = 23,2 %). Estes resultados indicam que o EPC/HCF apresenta uma elevada estabilidade e pode ser empregado por um longo período de tempo. Para injeções de uma solução 0,5 mmol L^{-1} de NO_2^- , uma frequência de injeção de 129 injeções por hora (RSD = 6,2 %, $N = 6$) foi obtida, o que é um valor satisfatório. A frequência de amostragem (f) foi estimada pela equação: $1/(T_R + T_W)$, sendo T_R o tempo de resposta que é o tempo para o sinal amperométrico atingir o máximo a partir da linha-base e T_W é o tempo de limpeza, que é o tempo necessário para o sinal retornar de seu valor máximo até a linha-base. Visando construir uma curva analítica, soluções contendo diferentes concentrações de NO_2^- foram injetadas, sendo as injeções efetuadas na ordem crescente de concentrações e na ordem decrescente de concentrações, conforme apresentado na Figura 15.

Figura 15 – I) Sinais transientes obtidos para sucessivas injeções ($N = 4$) de soluções contendo diferentes concentrações de nitrito. $E_{\text{det}} = +0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$, vazão = 6 mL min^{-1} e volume de amostra injetado de $150 \mu\text{L}$: (A) 25, (B) 50, (C) 75, (D) 100, (E) 500, (F) 750 e (G) $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- . Solução carregadora: tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$. II) Curva analítica obtida para injeções de nitrito no (—) sentido crescente e (---) decrescente de concentração.



A curva analítica obtida com injeções na ordem crescente de concentração foi linear no intervalo de 25 a $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$, de acordo com a equação: $-I(\mu\text{A}) = 0,003 + 1,069 C_{\text{NO}_2^-} (\text{mmol L}^{-1})$, $r^2 = 0,999$. Os valores de LD e LQ foram 9,0 e $29,7 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. LD e LQ foram determinados pelas equações: $\text{LD} = 3\text{sd}_B/S$ e $\text{LQ} = 10\text{sd}_B/S$, sendo sd_B o desvio padrão do intercepto da curva analítica e S o coeficiente angular da curva analítica. O LQ calculado foi maior do que o primeiro ponto da curva analítica, o qual pode, portanto, ser usado como um valor de LQ experimental. A equação da reta da curva analítica obtida para injeções de nitrito no sentido decrescente de concentrações foi: $-I(\mu\text{A}) = -0,02 + 0,9719 C_{\text{NO}_2^-} (\text{mmol L}^{-1})$, $r^2 = 0,992$. Assim, verifica-se que existe uma concordância satisfatória entre os coeficientes angulares das curvas analíticas, indicando que o método não apresenta efeitos de memória e que o eletrodo não se desativa na escala de tempo de realização deste experimento.

A Tabela 1 mostra algumas características analíticas de métodos eletroanalíticos previamente descritos na literatura, os quais utilizam a redução eletroquímica de nitrito como sinal analítico.

Tabela 1. Métodos eletroanalíticos baseados na redução eletroquímica de nitrito.

Eletrodo	Técnica	E_{det} / V vs. Ag/AgCl _{sat}	LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Intervalo linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Referência
ECV- DNA-CNTs/Cu ²⁺	amperometria	-0,3	0,03	0,03– 2600	82
E Au-SAM/Cu ²⁺ - complexo	VC	-0,25	ND	ND	83
EPC-[SiW ₁₂ O ₄₀] ⁴⁻ - NB	amperometria	-0,25	2,8	5 a 1200	84
BDD-PPD/SiW ₁₁	amperometria	-0,6	20	40– 4000	85
EPC-LI-POA	amperometria	+0,5	1,0	2 -50	86
EGr-CNTs-My	SWV	-0,25	950	0,5 - 5	72
EPC-LI-CNTs-Hb	VC	-0,65	1,5	10 - 15000	87
EPC-CuHCF filme	VC	+0,5	30	50-8400	75
ECV-CNTs-Rh	amperometria	-0,2	50	2000-12000	88
CPE-AP	Amperometria- FIA	+0,2	9,0	25 - 1000	este trabalho

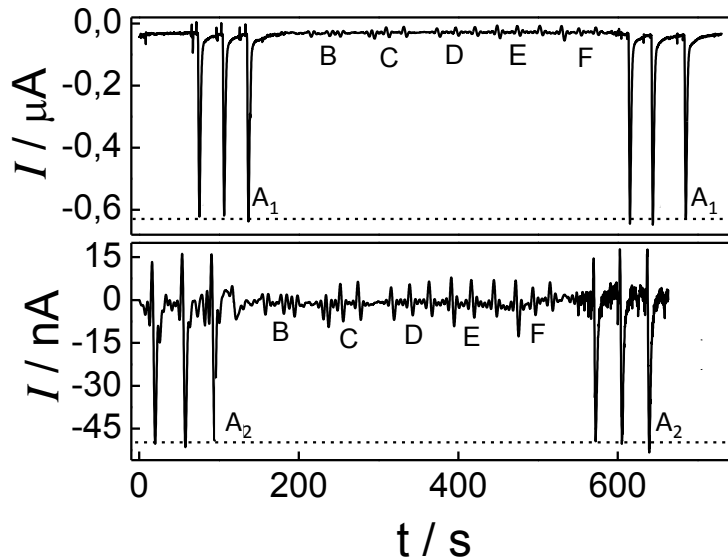
ECV – eletrodo de carbon vitreo; CNTs – nanotubos de carbon; E Au – eletrodo de ouro; SAM – automontados em monocamadas; NB – Nilo azul, BDD – diamante dopado com boro; PPD – poli(fenilenodiamina); LI – líquido iônico; POA – poli(o-anisidina); EGr – eletrodo de grafite; My – mioglobina; Hb – hemoglobina; VC – voltametria cíclica; SWV – voltametria de onda quadrada; ND – não definido.

A Tabela 1 mostra que o valor de LD fornecido pelo método proposto é próximo ao de outros métodos baseados na redução eletroquímica do nitrito previamente propostos na literatura, os quais variam de 0,03 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ [82,88]. Assim, verifica-se que o LD e a sensibilidade não são as principais vantagens do método proposto, pois estão na mesma ordem de grandeza que o de outros métodos já descritos na literatura. No entanto, as principais vantagens do método proposto são a simplicidade e baixo custo do sensor, uma vez que ele não requer procedimentos sintéticos complexos ou reagentes biológicos ou de elevado custo. Além disso, o uso de um sistema FIA com recirculação da solução carregadora permite análises rápidas, sensíveis e precisas mantendo um baixo consumo de reagentes. No presente trabalho, todos os estudos de otimização e construção das curvas analíticas foram realizados utilizando apenas 200 mL da solução tampão B.R., o que significa que mais de 200 injeções

foram efetuadas na mesma solução sem interferência do nitrito acumulado. A recirculação da solução carregadora é possível, pois a célula eletroquímica utilizada é do mesmo tipo que uma célula BIA [79]. Desta forma, o nitrito injetado é altamente diluído na solução do eletrólito de suporte de tal maneira que seu acúmulo não afeta a resposta do nitrito recém injetado. É importante ressaltar que em $\text{pH} = 1,0$, o NO_2^- está predominantemente na forma de HNO_2 ($\text{pK}_a = 3,3$ [89]), o qual é um ácido volátil que se desprende rapidamente da solução tampão B.R., permitindo o reuso desta solução por um longo período de tempo. Entretanto, este fato poderia comprometer a repetitividade das medidas, uma vez que os padrões de nitrito e as amostras analisadas foram preparados em solução tampão B.R., $\text{pH} = 1,0$. Visando evitar a perda de repetitividade, estas soluções foram injetadas no sistema FIA em no máximo 20 min após o preparo, o que foi essencial para alcançar uma repetitividade satisfatória. O uso de uma célula eletroquímica similar a uma célula BIA em um sistema FIA é uma estratégia interessante, pois combina a elevada repetitividade da injeção de amostra promovida por um injetor-comutador com a possibilidade de realização de várias injeções sucessivas sem a necessidade de uma constante reposição do sistema de injeção. Assim, esta combinação além de economizar reagentes químicos pela recirculação da solução carregadora ainda fornece elevada precisão e velocidade de análise.

Uma vantagem adicional do método proposto é o valor de E_{det} de $+ 0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$, potencial no qual a maioria dos potenciais interferentes, tais como: nitrato, oxigênio dissolvido, sulfito, ácido ascórbico e açúcares não são reduzidos nem oxidados. Portanto, este valor de E_{det} é capaz de fornecer elevada seletividade para o nitrito. Visando avaliar a seletividade do método proposto, soluções contendo $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de um potencial interferente foram injetadas no sistema FIA, sendo os resultados apresentados na Figura 16.

Figura 16 - Sinais transientes para sucessivas injeções de soluções (A_1) 500 e (A_2) 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- e para sucessivas injeções de 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada um dos potenciais interferentes avaliados: (B) nitrato, (C) sacarose, (D) ácido úrico, (E) ácido ascórbico e (F) sulfito. Condições experimentais: $E_{\text{det}} = +0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$, vazão = 6 mL min^{-1} e volume injetado de amostra de 150 μL ; solução carregadora: tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} , $\text{pH} = 1,0$.



Os potenciais interferentes listados na Figura 16 foram estudados, pois os mesmos geralmente estão presentes em amostras de água e de alimentos. Como mostrado na Figura 16, o método proposto não fornece resposta analítica para estas espécies químicas, confirmando que o método apresenta uma alta seletividade para o nitrito. A injeção dos potenciais interferentes causa uma ligeira perturbação da linha-base, o que é típico para injeções em sistemas FIA com detecção amperométrica. Como mostrado na Figura 16II, mesmo injeções de 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- (a menor concentração de nitrito na curva analítica) produz um sinal analítico claramente distinguível desta perturbação da linha-base. É importante enfatizar que o nitrato, um reconhecido interferente na determinação de nitrito por meio de sua eletrorredução [81] não foi um interferente para a determinação de nitrito pelo método proposto. O oxigênio dissolvido, outro interferente conhecido para a determinação de nitrito por meio de sua eletrorredução também não interferiu. Todos os experimentos foram realizados sem eliminação de oxigênio e, como será apresentado na seção 4.4, os estudos de adição e recuperação forneceram porcentagens de recuperação próximas a 100 %, demonstrando que não há interferência do oxigênio dissolvido.

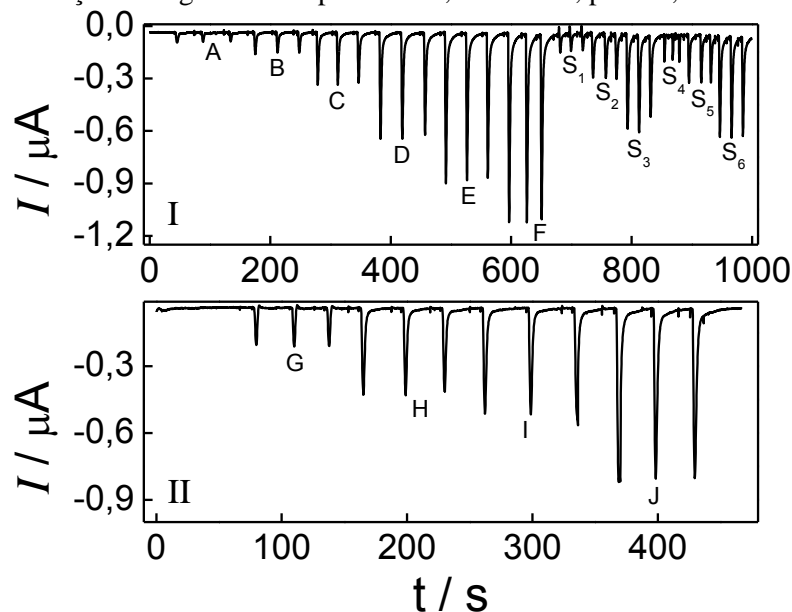
Um interferente óbvio para o método proposto é o peróxido de hidrogênio, pois o HCF é muito ativo para a redução do H_2O_2 , sendo denominado por alguns autores como “peroxidase artificial” [90]. Alguns autores têm demonstrado que o HCF é capaz de reduzir o H_2O_2 mesmo em 0 V vs. $\text{Ag/AgCl}_{\text{sat}}$ [90]. Apesar desta interferência inevitável, o método

ainda pode ser empregado com êxito para a determinação de nitrito em amostras de águas e alimentos, pois o H_2O_2 não é um componente usual destas amostras.

4.4 Análises de amostras de água e alimentos embutidos

Para avaliar a aplicabilidade do método proposto, amostras de água e alimentos embutidos foram analisadas pelo método proposto, de acordo com o procedimento descrito na seção 3.4. As amostras de água não enriquecidas não forneceram qualquer resposta amperométrica, indicando que ou o nitrito está ausente nestas amostras ou o teor deste ânion está abaixo do LD do método. Desta forma, estas amostras foram enriquecidas com três níveis de nitrito e foram submetidas a estudos de adição e recuperação, empregando-se a calibração por curva analítica. Foram obtidos sinais amperométricos para as amostras de alimentos embutidos não enriquecidos com nitrito. O teor de nitrito nestas amostras foi determinado empregando-se o método de adição de padrão, além disso, estas amostras foram enriquecidas com três níveis de nitrito e foram submetidas a estudos de adição e recuperação. As respostas amperométricas obtidas neste estudo para as amostras de água enriquecidas são apresentadas na Figura 17I, enquanto a Figura 17II apresenta a resposta obtida para uma amostra de salsicha e para as sucessivas adições de padrão.

Figura 17 - I) Sinais transientes para diferentes concentrações de NO_2^- (A–F) e para as amostras de água enriquecidas (S_1 – S_6). (A) 50, (B) 100, (C) 250, (D) 500, (E) 750, e (F) $1000 \mu\text{mol L}^{-1} \text{NO}_2^-$. S_1 a S_3 : água mineral enriquecida com 75, 250 e $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- . S_4 a S_6 : água de torneira enriquecida com estas mesmas concentrações de nitrito. II) Resposta amperométrica para a amostra de salsicha do tipo hot dog (G) e para sucessivas adições de padrão de $200 \mu\text{mol L}^{-1} \text{NO}_2^-$ (H–J). Condições experimentais: $E_{\text{det}} = +0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$, vazão = 6 mL min^{-1} e volume de amostra injetado = $150 \mu\text{L}$. Solução carregadora: tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$.



Os resultados dos estudos de adição e recuperação realizados nas amostras de água e de alimentos embutidos estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 2. Resultados dos estudos de adição e recuperação de nitrito em amostras de água e de alimentos embutidos.

Amostra	Nitrito adicionado/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	Nitrito encontrado* / $\mu\text{mol L}^{-1}$	sd	RSD	% recuperado*	Nitrito encontrado pelo método de Griess*/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	F**
Água mineral	0	ND	----	----	----	ND	
	75	73 ± 7	3	4,1	97 ± 10		
	250	230 ± 30	12	5,2	90 ± 12		
	500	450 ± 52	21	4,7	90 ± 10		
Água de torneira	0	ND	-----	-----	-----	ND	
	75	76 ± 12	5	6,6	101 ± 16		
	250	240 ± 10	6	2,5	95 ± 6		
	500	460 ± 50	20	4,3	91 ± 10		
Salsicha	0	175 ± 46	18,7	10,6	-----	172 ± 17	7,6
	150	336 ± 51	19,1	5,7	107 ± 31		
	374	558 ± 38	15,4	2,8	102 ± 10		
	749	985 ± 107	43,3	4,4	108 ± 14		
Mortadela	0	130 ± 17	7,0	5,4	-----	122 ± 15	1,4
	151	281 ± 34	13,6	4,8	100 ± 22		
	378	497 ± 30	12,0	2,4	97 ± 8		
	756	902 ± 117	47,0	5,2	102 ± 15		

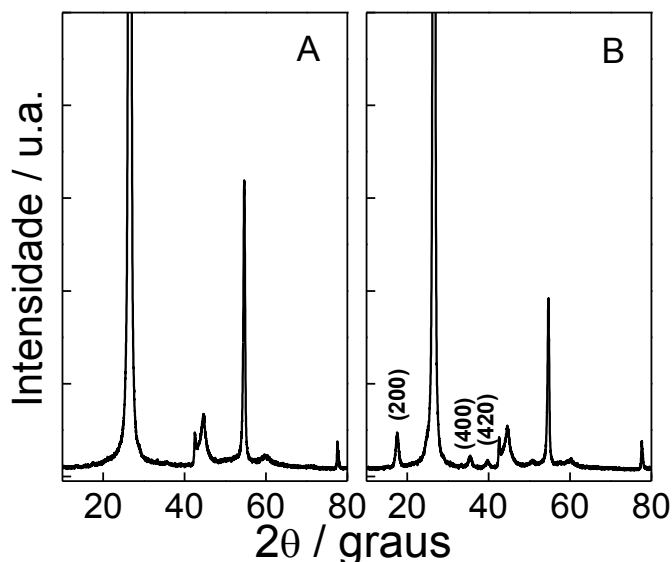
*Valores expressos como valor médio \pm intervalo de confiança. Nível de confiança de 95 % e 2 graus de liberdade (N = 3), $t_{\text{crítico}} = 4,3$ [91]. ** $F_{2,2} = 19$. ND - Não detectado.

As quantidades de nitrito encontradas nas amostras de alimentos embutidos estão acima do teor máximo permitido pela Autoridade Europeia de Segurança Alimentar, mostrando que essas amostras são inadequadas para o consumo, uma vez que elevados níveis de nitrito pode ser prejudicial a saúde humana. A Tabela 2 mostra que os resultados obtidos pelo método proposto e o método de Griess não diferem estatisticamente com 95 % de confiança. Os valores de F calculados foram menores que o valor de F crítico, indicando assim que ambos os métodos fornecem precisões equivalentes. A Tabela 2 mostra também que todos os intervalos de confiança obtidos sempre contêm o teor nominal de nitrito adicionado às amostras, demonstrando que não existem diferenças estatísticas entre os teores adicionados e os valores encontrados em um nível de confiança de 95 %. Conseqüentemente, as porcentagens de recuperação foram sempre próximas a 100 %. Além disso, o método proposto mostrou-se preciso, pois os valores de RSD obtidos foram relativamente baixos. Portanto, esses resultados demonstram que a exatidão e precisão apresentadas pelo método proposto são satisfatórias e que o mesmo pode ser empregado para a determinação de nitrito em amostras de alimentos embutidos e de água.

4.5 Otimização do preparo do material eletródico

Inicialmente, foi preparado um material eletródico pela mistura de Fe^{2+} e $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (ambos na concentração $0,01 \text{ mol L}^{-1}$) sobre o pó de carbono, utilizando a agitação magnética e a temperatura de $27 \text{ }^\circ\text{C}$. O material resultante foi caracterizado por difração de raios X, sendo os difratogramas obtidos neste estudo mostrados na Figura 18.

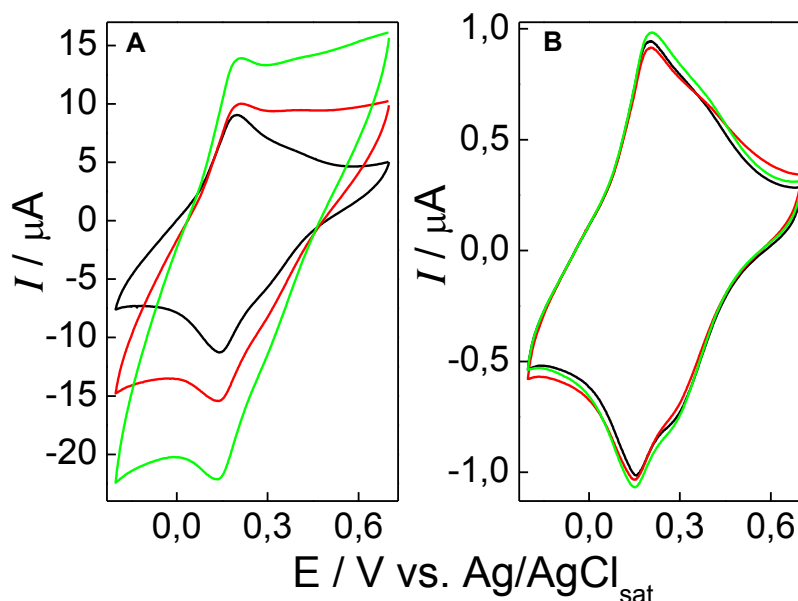
Figura 18 - Difratomogramas do A) pó de carbono e do B) material eletródico preparado pela mistura de Fe^{2+} e $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (ambos na mesma proporção) sobre o pó de carbono, utilizando a agitação magnética a uma temperatura ambiente de 27 °C.



A Figura 18B mostra o aparecimento de três picos em 17,5°, 35,4° e 39,6°, sendo eles característicos da estrutura cúbica de face centrada do azul da Prússia, os quais correspondem aos planos cristalográficos (200), (400) e (420), respectivamente [92,93]. O tamanho médio dos cristalitos foi calculado usando a equação de Debye-Scherrer, $D = \frac{K\lambda}{\beta \cos(\theta)}$ [94], sendo D o diâmetro médio das partículas, λ o comprimento de onda da fonte de radiação, β a largura na metade da altura do pico de radiação e θ o ângulo de difração. Assim, o tamanho médio das partículas foi de aproximadamente 81 nm de diâmetro. Estes resultados confirmam a presença das partículas de hexacianoferrato no material eletródico. Todos os materiais eletródicos obtidos no estudo de otimização foram caracterizados por difração de raios X. No entanto, não foram observadas diferenças entre os difratogramas obtidos, mostrando que os materiais possuem a mesma estrutura.

A partir deste material, foram desenvolvidos dois diferentes eletrodos, sendo eles: o EPC/Fe(II)HCF/30%Nujol[®] e o EPC/Fe(II)HCF/20%parafina. O comportamento destes eletrodos foi estudado por voltametria cíclica, sendo avaliadas as respostas voltamétrica de cada um após a renovação da superfície. Os voltamogramas obtidos nesse estudo são apresentados na Figura 19.

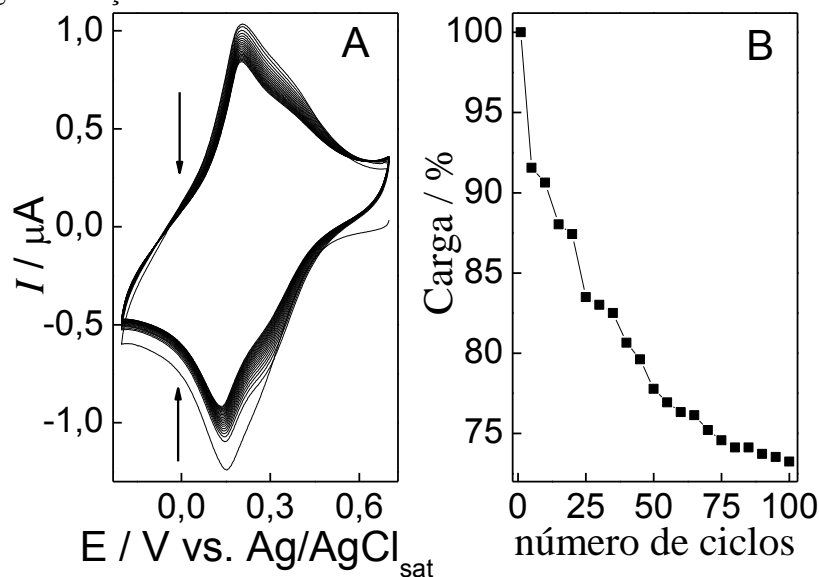
Figura 19 - Voltamogramas cíclicos registrados com o A) EPC/Fe(II)HCF/30%Nujol[®] e B) EPC/Fe(II)HCF/20%parafina em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹, pH = 1,0 a 100 mV s⁻¹. (—) 1^o; (—) 2^o e (—) 3^o polimento.



Conforme é apresentado na Figura 19, a composição da pasta de carbono desempenha um importante papel sobre as propriedades do eletrodo. Esta figura mostra claramente que EPC/Fe(II)HCF/20%parafina apresenta menor intensidade de corrente atribuída ao par redox $KFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]/K_2Fe^{II}[Fe^{II}(CN)_6]$ comparado ao eletrodo que utiliza o Nujol[®] como aglutinante, este comportamento pode estar atribuído ao fato da pasta preparada com parafina ser mais compactada e também mais hidrofóbica, o que faz com que hidratação da superfície eletródica pelo contato com o eletrólito de suporte seja menor, resultando assim em uma menor intensidade de corrente. Embora a resposta voltamétrica seja menor, quando este eletrodo foi submetido a diferentes polimentos, a repetitividade obtida foi satisfatória, apresentando uma RSD para os valores de corrente de pico catódico de apenas 2,5 %. Esta excelente repetitividade pode ser explicada pelo fato da pasta de carbono ser mais compacta, o que faz com que a superfície deste eletrodo após cada polimento seja mais facilmente reproduzida comparada ao eletrodo preparado com Nujol[®]. Com base nestes resultados, a parafina sólida foi adotada como aglutinante para a construção dos próximos eletrodos.

Visando avaliar a estabilidade do EPC/Fe(II)HCF/20%parafina, este eletrodo foi submetido a 100 ciclos de potencial no intervalo de + 0,7 a - 0,2 V com uma velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 20.

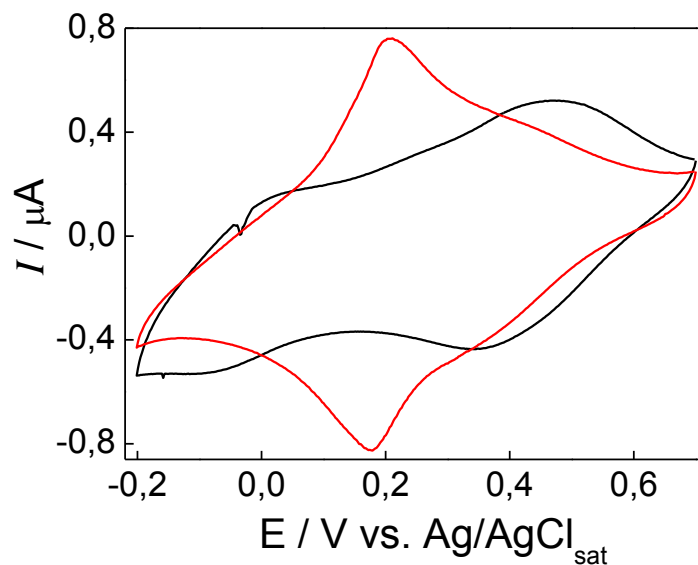
Figura 20 - A) Voltamogramas cíclicos do EPC/Fe(II)HCF/20%parafina submetido a 100 ciclos contínuos de potencial registrados em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$ a 100 mV s^{-1} . B) Porcentagem de carga em função do número de ciclos.



Conforme é apresentado na Figura 20, inicialmente o sinal voltamétrico atribuído ao par redox $\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]/\text{K}_2\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ diminui bruscamente e tende a estabilizar após 80 ciclos contínuos de potencial, resultando, portanto, uma queda de 27 % da carga inicial após a realização desse estudo. Husmann *et al.* [30] relataram que um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono modificado com azul da Prússia, apresentou uma queda de aproximadamente 18 % da carga inicial após 30 minutos de ciclos contínuos de potencial em uma solução de KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ $\text{pH} = 7$ no intervalo de $-0,3$ a $+1,2 \text{ V}$ a 50 mV s^{-1} . Assim, o resultado mostrado na Figura 20, sugere que provavelmente as partículas do azul da Prússia estão aderidas mais fracamente ao pó de carbono, sendo uma maior quantidade dessas perdidas para a solução ao longo das medidas voltamétricas, o que poderia assim justificar a menor estabilidade desse eletrodo. Apesar da menor estabilidade desses eletrodos, a utilização do pó de carbono para o preparo do material eletrodico, ainda, é uma estratégia eficaz, pois eletrodos modificados podem ser desenvolvidos com um custo relativamente baixo, uma vez que esse reagente apresenta menor valor comercial comparado aos nanotubos de carbono.

Para avaliar a influência do íon potássio nos processos redox do par $\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]/\text{K}_2\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$, foram realizadas medidas voltamétricas com o EPC/Fe(II)HCF/20%parafina empregando dois diferentes eletrólitos de suporte: uma solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e uma mistura de HCl e KCl, ambos na concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A Figura 21 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos neste estudo.

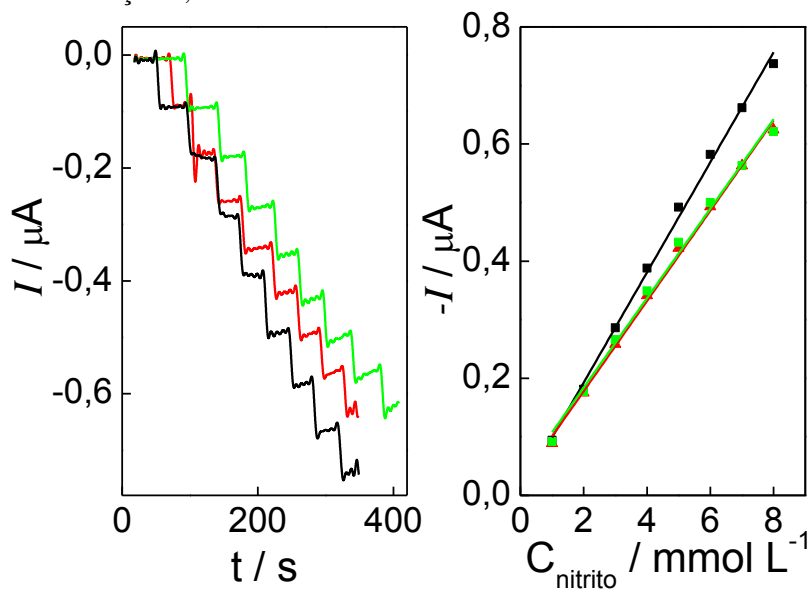
Figura 21 - Voltamogramas cíclicos do EPC/Fe(II)HCF/20%parafina registrados em diferentes eletrólitos de suporte. (—) 0,1 mol L⁻¹ de HCl; (---) solução de HCl e KCl ambos na concentração 0,1 mol L⁻¹.



A Figura 21 mostra que a presença do potássio em solução é extremamente importante, uma vez que o voltamograma cíclico registrado em um eletrólito contendo esse íon resultou em um pico voltamétrico mais intenso e definido. É bem conhecido que o tipo de cátion presente em solução pode influenciar no comportamento eletroquímico do HCF. Sheng *et al.* [25] relatam que o processo de difusão entre as cavidades zeolíticas pode ser facilitado na presença de cátions de metais alcalinos de menor raio iônico e que na maioria dos processos de intercalação ocorre a desidratação parcial do cátion para ter o tamanho apropriado para entrar na estrutura cristalina. Ytaya *et al.* [95] relataram que o H⁺ e cátions de metais alcalinos terrosos não são capazes de penetrar na estrutura cristalina. Assim, o comportamento observado na Figura 21 é concordante com as observações da literatura, mostrando que o raio iônico do K⁺ é apropriado para o processo de difusão deste íon na cavidade zeolítica do azul da Prússia, tornando possível o balanço de carga e conseqüentemente resultando em um perfil voltamétrico mais definido [27,96].

O desempenho analítico do EPC/Fe(II)HCF/20%parafina foi avaliado por amperometria na presença de nitrito em diferentes eletrólitos de suporte, sendo os amperogramas obtidos neste estudo mostrados na Figura 22.

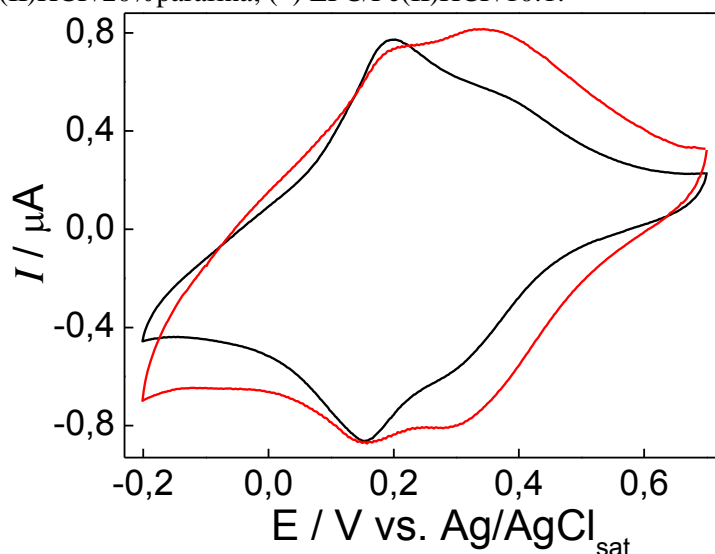
Figura 22 - Amperogramas do EPC/Fe(II)HCF/20%parafina registrados em diferentes eletrólitos de suporte. $E_{\text{detecção}} = + 0,2 \text{ V}$. (–) Tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 1; (—) HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; (—) solução de HCl e KCl ambos na concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.



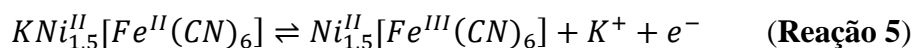
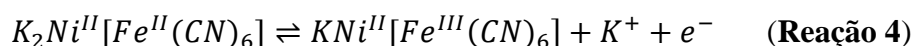
A Figura 22 mostra que o melhor desempenho analítico do eletrodo foi obtido em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 1, este resultado pode ser explicado pela composição do tampão, uma vez que sua força iônica ($0,45 \text{ mol L}^{-1}$) é maior se comparada aos demais eletrólitos, ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$) HCl e KCl, ambos na concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, o que resulta, portanto, uma maior condutividade em solução e conseqüentemente uma maior sensibilidade do eletrodo. Com base nesse resultado, o tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 1 foi adotado como eletrólito de suporte para a realização dos próximos experimentos.

A segunda etapa deste estudo foi preparar um material eletródico na proporção de 10:1 (Fe (II): $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$). As demais condições de preparo foram mantidas as mesmas. A partir deste material foi construído o EPC/Fe(II)HCF/10:1, sendo comparado o perfil voltamétrico obtido com este eletrodo com o preparado anteriormente. Os voltamogramas obtidos neste estudo são mostrados na Figura 23.

Figura 23 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} . (—) EPC/Fe(II)HCF/20%parafina; (---) EPC/Fe(II)HCF/10:1.



Conforme mostrado na Figura 23, a intensidade de corrente atribuída ao par redox $KFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]/K_2Fe^{II}[Fe^{II}(CN)_6]$ de ambos eletrodos é praticamente a mesma. No entanto, nota-se a existência de dois pares de picos voltamétricos neste intervalo de potencial, o primeiro em aproximadamente + 0,18 V e o segundo em aproximadamente + 0,35 V. Este desdobramento de picos voltamétricos foi previamente relatado para eletrodos modificados com filmes de hexacianoferrato de níquel na presença de potássio [97-99]. Nesses trabalhos, os autores atribuem esse comportamento à coexistência de duas formas do hexacianoferrato de níquel, sendo elas mostradas nas Reações 4 e 5.

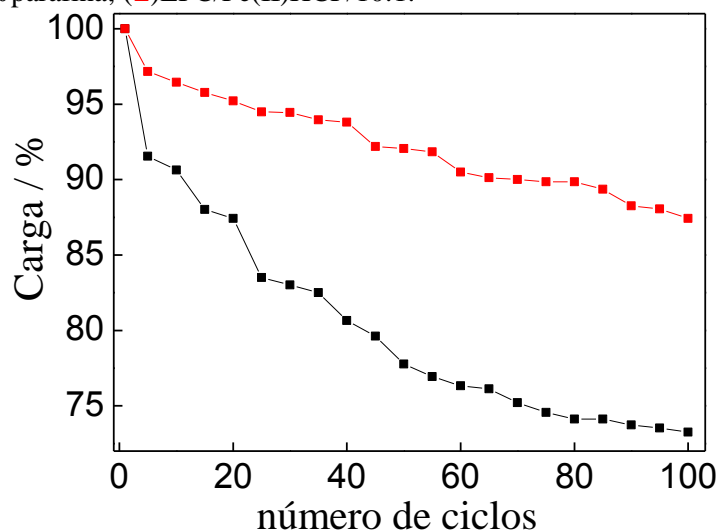


Conforme é mostrado nas Reações 4 e 5, as duas estruturas de hexacianoferrato de níquel são eletroativas, entretanto, essas apresentam processos de oxidação e redução em potenciais ligeiramente diferentes. Segundo a literatura, a estrutura rica em níquel (Reação 4) que é caracterizada pela baixa quantidade de potássio, exhibe os processos redox atribuídos ao hexacianoferrato em um potencial menos positivo, enquanto a estrutura rica em potássio, $K_2Ni^{II}[Fe^{II}(CN)_6]$, apresenta processos redox em um potencial mais positivo [97]. O aumento da quantidade de Fe^{2+} no preparo do material eletródico deveria favorecer a forma $KFe_{1,5}^{II}[Fe^{II}(CN)_6]$, rica em ferro, portanto, era esperado um aumento do pico voltamétrico

em + 0,18 V em relação ao pico em + 0,35 V. Entretanto, foi observado o comportamento inverso, ou seja, o aumento da quantidade de Fe^{2+} intensificou o pico voltamétrico em + 0,35 V. Embora este comportamento não possa ser completamente explicado até o momento, ele sugere que o azul da Prússia possa se comportar de forma ligeiramente diferente de seu análogo com níquel ou que existam outros fatores que levem ao desdobramento dos picos voltamétricos observados na Figura 23.

Visando avaliar a estabilidade do EPC/Fe(II)HCF/10:1, esse eletrodo também foi submetido a 100 ciclos de potencial no intervalo de + 0,7 a - 0,2 V com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} , sendo os resultados obtidos neste estudo apresentados na Figura 24.

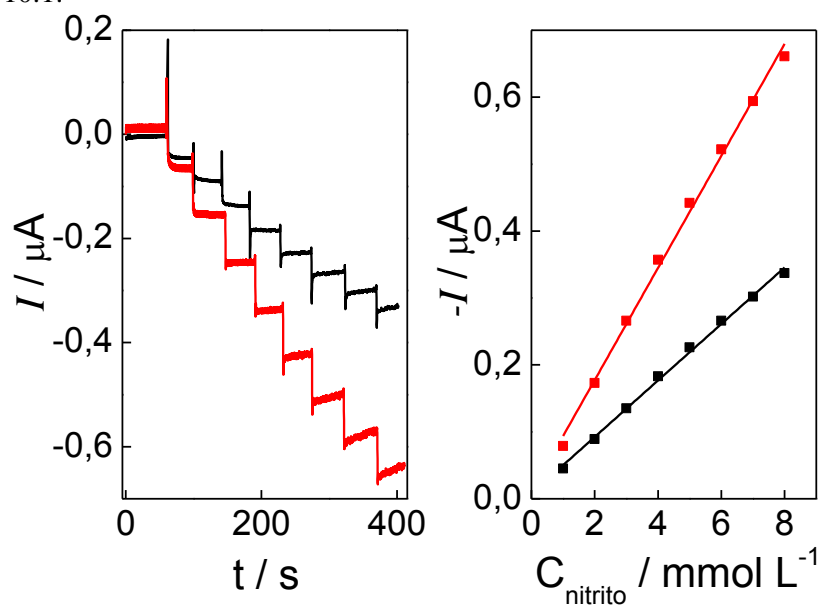
Figura 24 - Gráfico da porcentagem de carga em função do número de ciclos. (■) EPC/Fe(II)HCF/20%parafina; (■) EPC/Fe(II)HCF/10:1.



Conforme é apresentado na Figura 24, o comportamento do sinal voltamétrico obtido com ambos os eletrodos foi muito semelhante, sendo observada inicialmente uma maior diminuição da intensidade de corrente e uma tendência à estabilização após a realização de aproximadamente 80 ciclos contínuos de potencial. No entanto, o EPC/Fe(II)HCF/10:1 foi mais estável que o EPC/Fe(II)HCF/20%parafina, com uma queda de apenas 13 % da carga inicial. A melhor estabilidade deste eletrodo pode estar relacionada à maior dispersão das partículas, devido ao excesso de Fe^{2+} utilizado no preparo do material eletrodico, fazendo com que a quantidade de hexacianoferrato perdida para a solução após a realização de cada ciclo de potencial não resulte em uma diferença significativa na área da superfície eletródica [30,94].

Para comparar o desempenho analítico do EPC/Fe(II)HCF/10:1 com o preparado anteriormente, este eletrodo também foi submetido a estudos amperométricos na presença de nitrito, sendo os amperogramas obtidos neste estudo mostrados na Figura 25.

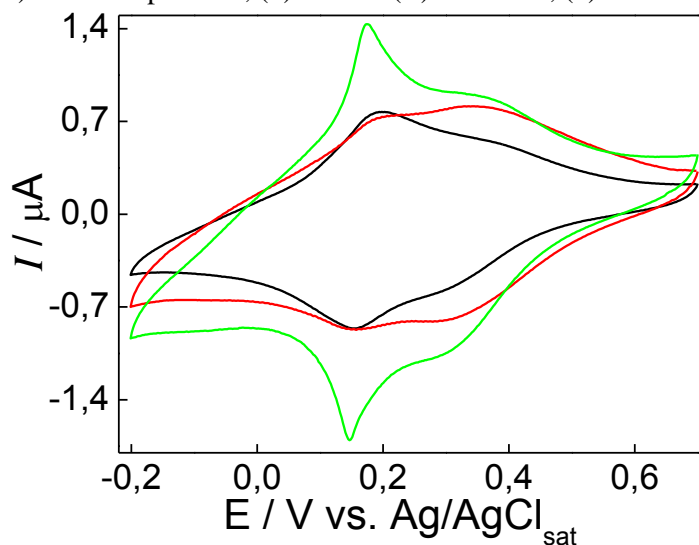
Figura 25 - Amperogramas de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} com sucessivas adições de nitrito. $E_{\text{detecção}} = +0,2 \text{ V}$. (–) EPC/Fe(II)HCF/20%parafina; (–) EPC/Fe(II)HCF/10:1.



A curva obtida com o EPC/Fe(II)HCF/20%parafina apresentou a seguinte equação de reta: $-I(\mu\text{A}) = 0,0079 + 0,0422 C_{\text{NO}_2^-}$ (mmol L^{-1}), $r^2 = 0,996$. Para o EPC/Fe(II)HCF/10:1 a equação obtida foi: $-I(\mu\text{A}) = 0,0100 + 0,0837 C_{\text{NO}_2^-}$ (mmol L^{-1}), $r^2 = 0,996$. Assim, através da Figura 25, observa-se que o EPC/Fe(II)HCF/10:1 apresentou melhor desempenho para a redução de nitrito, uma vez que o valor da inclinação da curva obtida com esse eletrodo foi 49 % maior. Esse resultado pode ser explicado pela maior dispersão e a formação de partículas de menor tamanho sobre a pó de carbono, sendo essas partículas capazes de reduzir uma maior quantidade de nitrito em solução. Com base nestes resultados, foi escolhida a proporção de 10:1 (Fe (II): $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) no preparo dos novos materiais eletródicos.

Visando avaliar a influência da espécie química empregada como contra-íon, foi preparado um material eletródico trocando o Fe^{2+} pelo Fe^{3+} . As condições de preparo deste material, como concentração, agitação e temperatura foram mantidas as mesmas descritas anteriormente. O material obtido foi utilizado para construir um novo eletrodo, o EPC/Fe(III)HCF. O comportamento deste eletrodo foi avaliado por voltametria cíclica, sendo os resultados obtidos neste estudo apresentados na Figura 26.

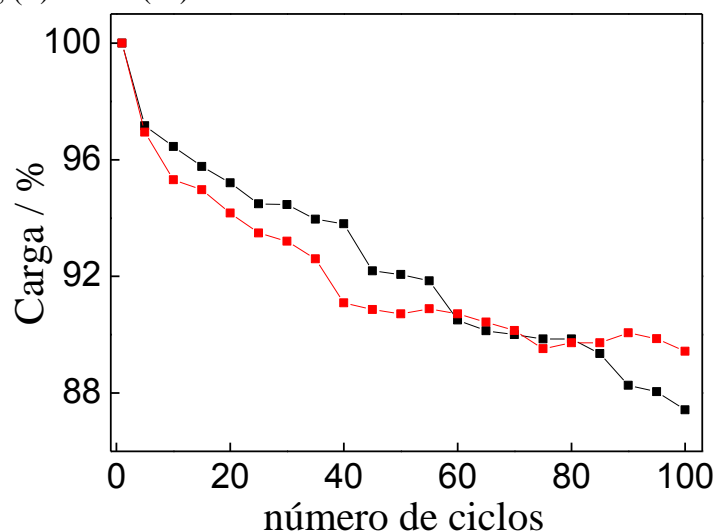
Figura 26 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} . (–) EPC/Fe(II)HCF/20%parafina; (–) EPC/Fe(II)HCF/10:1; (–) EPC/Fe(III)HCF.



A Figura 26 mostra que o EPC/Fe(III)HCF apresentou picos voltamétricos com maior intensidade de corrente comparado ao EPC/Fe(II)HCF/10:1, sugerindo que a quantidade de hexacianoferrato imobilizado no pó de carbono por este procedimento é maior ou que as partículas de hexacianoferrato encontram-se mais eficientemente dispersas no pó de carbono. Estes voltamogramas cíclicos sugerem, ainda, que a espécie formada predominantemente é $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, uma vez que o par de picos em $+ 0,18 \text{ V}$ apresentou intensidade significativamente maior que o par em $+ 0,35 \text{ V}$. Além disso, sugere também que por meio da aplicação de potencial, uma segunda espécie é formada em baixa quantidade na superfície eletródica em $+ 0,35 \text{ V}$. Esse comportamento foi previamente relatado por Salazar *et al.* [32], mostrando assim que o resultado apresentado na Figura 26 é concordante com as observações da literatura.

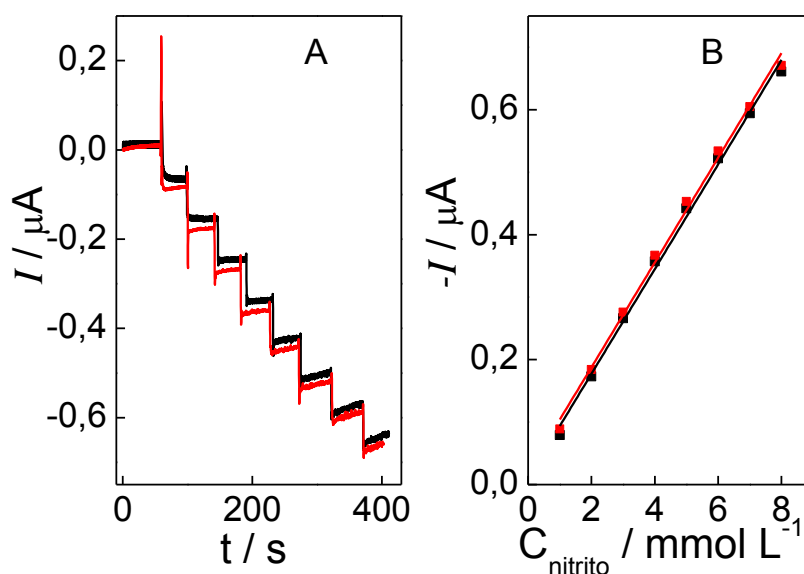
A estabilidade do EPC/Fe(III)HCF também foi avaliada, sendo os resultados obtidos neste estudo apresentados na Figura 27.

Figura 27 - Gráfico da porcentagem de carga em função do número de ciclos. (■)EPC/Fe(II)HCF/10:1; (■)EPC/Fe(III)HCF.



Conforme é observado na Figura 27, a estabilidade dos eletrodos é praticamente a mesma, mostrando que a troca da espécie química utilizada como contra-íon, não influenciou na estabilidade das partículas sobre o pó de carbono. Sendo assim, também foi avaliado o desempenho analítico deste eletrodo por amperometria na presença de nitrito, sendo os amperogramas obtidos neste estudo mostrados na Figura 28.

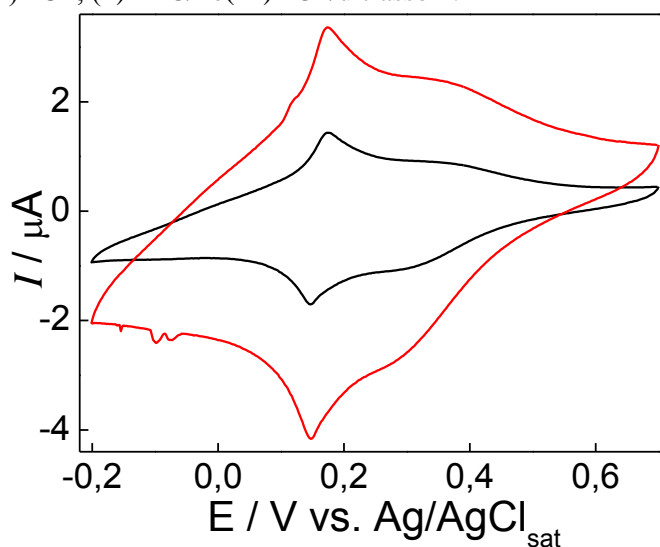
Figura 28 - Amperogramas de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} com sucessivas adições de nitrito. $E_{\text{detecção}} = + 0,2 \text{ V}$. (—) EPC/Fe(II)HCF/10:1; (—) EPC/Fe(III)HCF.



A Figura 28 mostra que as espécies químicas Fe^{2+} ou Fe^{3+} utilizadas como contra-íon também não influenciaram no desempenho analítico dos eletrodos para a redução de nitrito. No entanto, como o EPC/Fe(III)HCF apresentou um melhor perfil voltamétrico com picos de maior intensidade de corrente e mais definido, os quais foram mostrados na Figura 26, assim foi escolhido o Fe^{3+} como contra-íon para o preparo dos próximos materiais eletródicos.

Com a otimização da concentração e espécie química utilizada como contra-íon, foi avaliada a influência da agitação ultrassônica no preparo do material eletródico, sendo este estudo realizado a temperatura ambiente (27°C). O material obtido foi utilizado para construir o EPC/Fe(III)HCF/ultrassom, sendo o comportamento deste eletrodo avaliado por voltametria cíclica. A Figura 29 mostra os voltamogramas obtidos com este eletrodo.

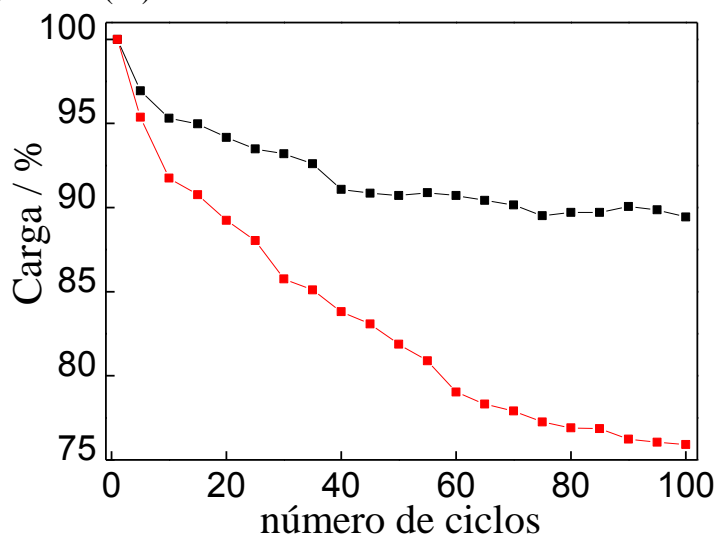
Figura 29 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} . (–) EPC/Fe(III)HCF; (–) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom.



A Figura 29 mostra que o EPC/Fe(III)HCF/ultrassom apresentou picos voltamétricos com maior intensidade de corrente comparado ao EPC/Fe(III)HCF. Fu *et al.* [100] relataram que a utilização do ultrassom no desenvolvimento de filmes de Cu-HCF pode influenciar no tamanho das partículas e resultar também em uma distribuição mais uniforme dessas. Assim, o resultado apresentado na Figura 29 é concordante com o descrito na literatura, uma vez que o crescimento das partículas aumenta a quantidade de hexacianoferrato sobre os sítios de adsorção do carbono, provocando assim o aumento do sinal voltamétrico.

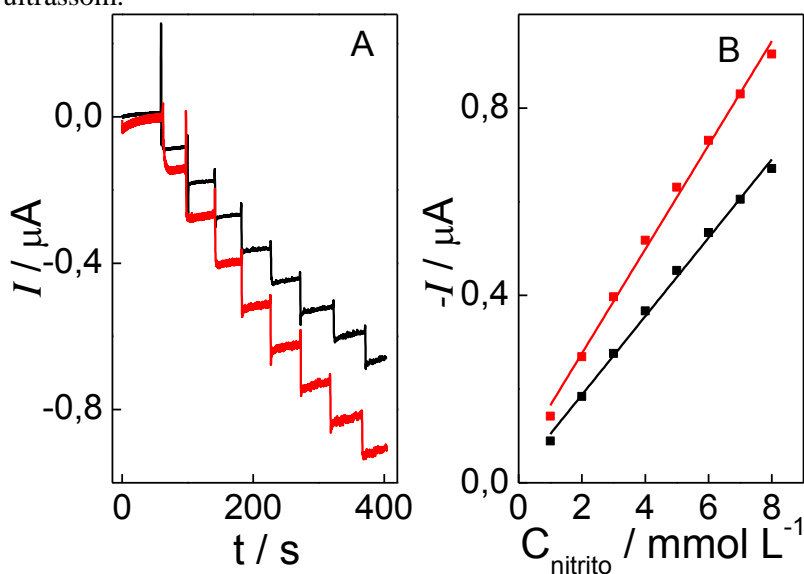
A Figura 30 apresenta o estudo de estabilidade do EPC/Fe(III)HCF/ultrassom.

Figura 30 - Gráfico da porcentagem de carga em função do número de ciclos. (■) EPC/Fe(III)HCF; (■) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom.



Conforme é mostrado na Figura 30, o EPC/Fe(III)HCF/ultrassom apresentou maior queda do sinal após a realização dos 100 ciclos contínuos, mostrando que quanto maior o tamanho das partículas, mais fracamente estarão aderidas ao material carbonado, o que justificaria, portanto, a menor estabilidade do eletrodo. Apesar deste comportamento, também foi avaliada a potencialidade analítica deste eletrodo para redução de nitrito, uma vez que o objetivo deste trabalho é desenvolver um eletrodo de melhor desempenho analítico para a determinação deste íon. Os amperogramas obtidos neste estudo são mostrados na Figura 31.

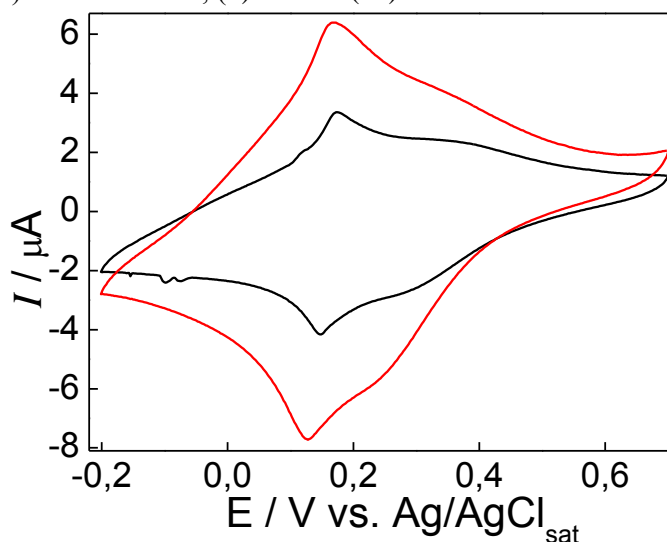
Figura 31 - Amperogramas de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} com sucessivas adições de nitrito. $E_{\text{detecção}} = + 0,2 \text{ V}$. (—) EPC/Fe(III)HCF; (—) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom.



A curva obtida com o EPC/Fe(III)HCF/ultrassom apresentou a seguinte equação de reta: $-I(\mu\text{A}) = 0,0542 + 0,1110 C_{\text{NO}_2}$ (mmol L^{-1}), $r^2 = 0,994$. Assim, verifica-se na Figura 31, um aumento significativo da capacidade de redução de nitrito ao utilizar esse eletrodo, resultando em um aumento de 24 % do valor da inclinação de reta comparada a inclinação obtida com o EPC/Fe(III)HCF, o que mostra que EPC/Fe(III)HCF/ultrassom apresenta melhor desempenho analítico para a redução desse íon. Esse resultado pode ser explicado pela maior quantidade de partículas de hexacianoferrato sobre o pó de carbono ao utilizar a agitação ultrassônica, sendo essas, portanto, capazes de reduzir uma maior quantidade de nitrito presente em solução. Com base neste resultado, a agitação ultrassônica foi utilizada no desenvolvimento dos próximos materiais eletródicos.

O efeito da temperatura de 4°C também foi avaliado no preparado do material eletródico, sendo as demais condições de síntese mantidas as mesmas. Com o material obtido foi construído o EPC/Fe(III)HCF/ultrassom/4°C. O comportamento desse eletrodo foi estudado por voltametria cíclica, sendo os voltamogramas obtidos nesse estudo mostrados na Figura 32.

Figura 32 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} . (–) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom; (—) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom/4°C.

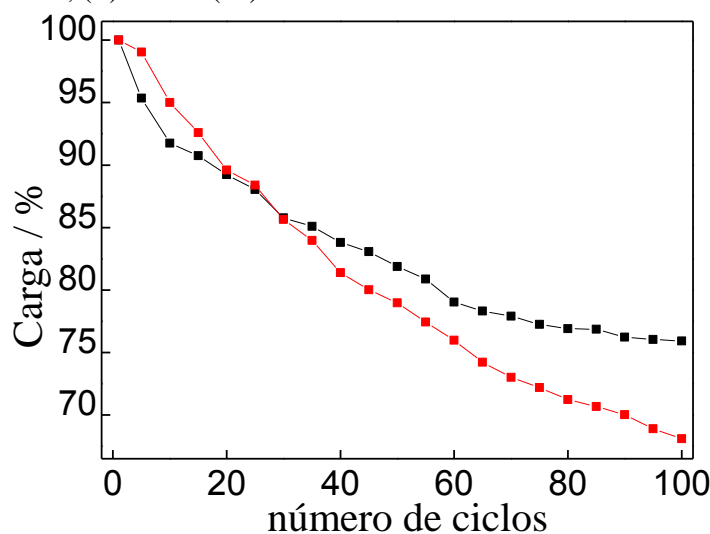


Conforme é mostrado na Figura 32, o EPC/Fe(III)HCF/ultrassom/4°C apresentou picos voltamétricos de maior intensidade de corrente comparado ao EPC/Fe(III)HCF/ultrassom. Este comportamento pode ser atribuído ao processo de nucleação das partículas, o qual é explicado pela seguinte equação, supersaturação relativa = $(Q - S)/S$, sendo Q a concentração do soluto e S a solubilidade no equilíbrio [1]. A solubilidade de um

composto diminui proporcionalmente com a temperatura. Assim, como a solubilidade do precipitado é menor em 4 °C, maior será o grau de saturação. Esse maior grau de saturação favorece a nucleação das partículas, fazendo com que um maior número de partículas de HCF seja dispersa sobre o pó de carbono, o que resulta no aumento do sinal voltamétrico. Além do favorecimento da nucleação em relação ao crescimento das partículas, a maior intensidade dos picos voltamétricos apresentada pelo eletrodo preparado a 4 °C pode ser atribuída ao fato da adsorção ser sempre um processo exotérmico e que, conseqüentemente, é favorecido com a diminuição da temperatura. Assim, uma diminuição da temperatura favoreceria a adsorção das partículas de azul da Prússia no pó de carbono, aumentando a quantidade destas partículas imobilizadas no material eletródico, o que produz picos voltamétricos mais intensos.

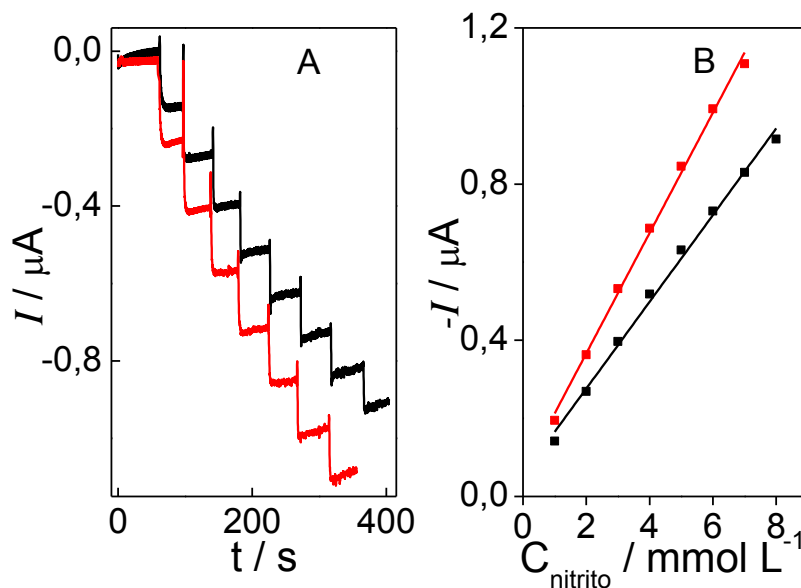
A estabilidade do EPC/Fe(III)HCF/ultrassom/4°C também foi avaliada, sendo os resultados obtidos neste estudo apresentados na Figura 33.

Figura 33 - Gráfico da porcentagem de carga em função do número de ciclos. (■)EPC/Fe(III)HCF/ultrassom; (■)EPC/Fe(III)HCF/ultrassom/4°C.



A Figura 33 mostra que o EPC/Fe(III)HCF/ultrassom/4°C apresentou maior queda do sinal após a realização dos 100 ciclos contínuos. Este resultado sugere que quanto maior a quantidade de partículas de HCF sobre o pó de carbono, menor será a estabilidade do eletrodo. No entanto, essa maior quantidade provavelmente resultará em maior sinal amperométrico para a redução de nitrito, o que é desejável. Sendo assim, para verificar a validade desta hipótese, este eletrodo foi submetido a estudos amperométrico na presença de nitrito, sendo os amperogramas obtidos neste estudo apresentados na Figura 34.

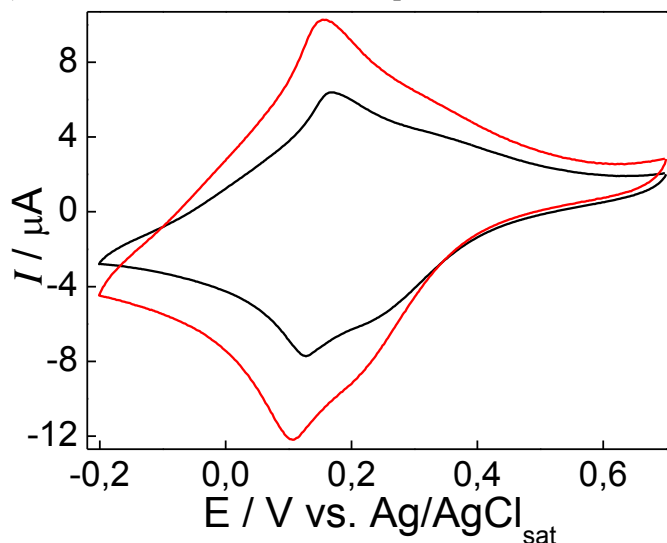
Figura 34 - Amperogramas de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} com sucessivas adições de nitrito. $E_{\text{detecção}} = + 0,2 \text{ V}$. (–) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom; (–) EPC/Fe(III)HCF/ultrassom/4°C.



A curva obtida com o EPC/Fe(III)HCF/ultrassom/4°C apresentou a seguinte equação de reta: $-I(\mu\text{A}) = 0,0587 + 0,1540 C_{\text{NO}_2^-}$ (mmol L^{-1}), $r^2 = 0,994$. A partir desse estudo, observa-se um aumento considerável de sensibilidade ao utilizar esse eletrodo para a determinação de nitrito, resultando em um aumento de 27 % do valor do coeficiente angular comparada ao valor do coeficiente da curva obtida com o EPC/Fe(III)HCF/ultrassom. Provavelmente, o melhor desempenho desse eletrodo pode ser atribuído a maior quantidade de azul da Prússia adsorvido sobre o pó de carbono, devido à temperatura de $4 \text{ }^\circ\text{C}$, o que resultou, portanto, o aumento de sensibilidade. Com base neste resultado, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ foi escolhida como a melhor temperatura para o preparo do material eletródico.

Posteriormente, foi realizado o tratamento ácido e térmico do pó de carbono, sendo o pó resultante utilizado para desenvolver um novo material eletródico, no qual as condições de preparo pré-definidas foram mantidas. Este material foi usado para construir o eletrodo EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado. A Figura 35 mostra o comportamento voltamétrico obtido com este eletrodo.

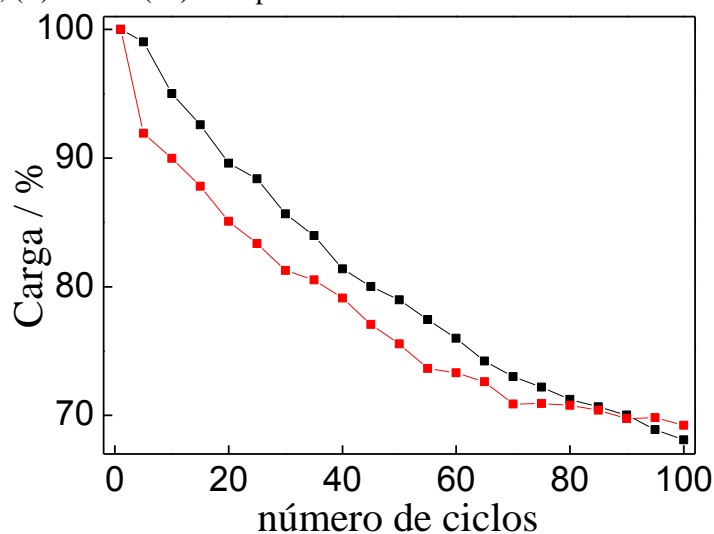
Figura 35 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} . (—) EPC/Fe(III)HCF/4°C; (—) EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado.



A partir da Figura 35, observa-se que o EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado apresentou picos voltamétricos de maior intensidade de corrente, este comportamento pode ser explicado pela maior rugosidade do material de carbono, ocasionado pelo tratamento ácido e térmico, o que permitiu que uma maior quantidade do hexacianoferrato permanecesse adsorvido, resultando assim o aumento na intensidade de corrente.

Visando avaliar a estabilidade do EPC/Fe(II)HCF/pó-tratado, este eletrodo foi submetido a 100 ciclos de potencial no intervalo de 0,7 a -0,2 V a 100 mV s^{-1} , sendo os resultados obtidos neste estudo apresentados na Figura 36.

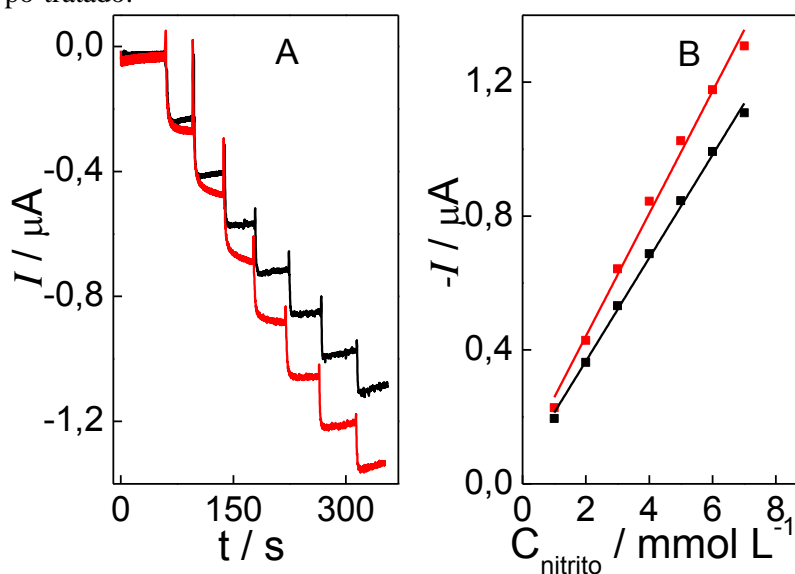
Figura 36 - Gráfico da porcentagem de carga em função do número de ciclos. (■)EPC/Fe(III)HCF/4°C; (■)EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado.



Conforme é apresentado na Figura 36, a estabilidade de ambos os eletrodos é praticamente a mesma. Este comportamento mostra que a maior rugosidade do material de carbono, não alterou o comportamento das partículas adsorvidas, obtendo assim uma queda do sinal em porcentagem muito semelhante com os dois eletrodos.

O comportamento amperométrico deste eletrodo foi avaliado na presença de nitrito, sendo os amperogramas obtidos neste estudo apresentados na Figura 37.

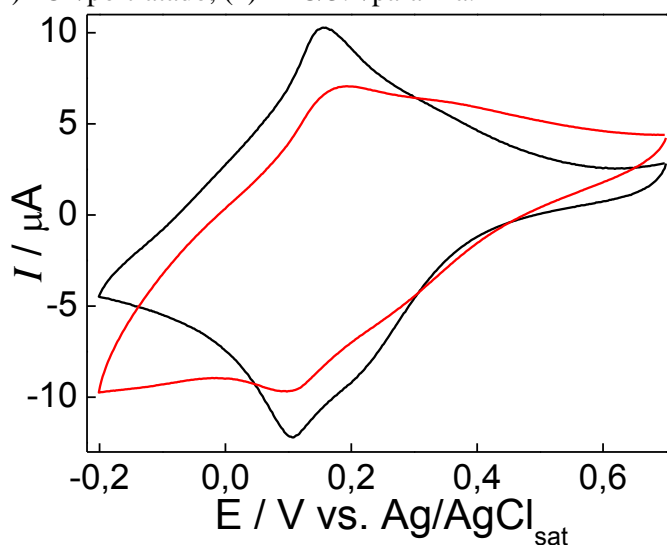
Figura 37 - Amperogramas de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} com sucessivas adições de nitrito. $E_{\text{detecção}} = +0,2 \text{ V}$. (—) EPC/Fe(III)HCF/4°C; (—) EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado.



A equação obtida com o EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado foi: $-I(\mu\text{A}) = -0,0757 + 0,1829 C_{\text{NO}_2^-}$, $r^2 = 0,992$. Assim, observa-se um aumento de sensibilidade ao utilizar esse eletrodo para a redução de nitrito, o que pode ser evidenciado pelo aumento de aproximadamente 16 % do valor do coeficiente angular. Este comportamento pode ser explicado pela maior rugosidade do material de carbono, o qual permitiu que um maior número de partículas de hexacianoferrato permanecesse adsorvido sobre esse material, sendo essas, portanto, capaz de reduzir uma maior quantidade de nitrito presente em solução. Com base em todos os resultados obtidos no estudo de otimização do material eletródico, este foi o eletrodo de melhor desempenho para redução de nitrito.

Para efeito de comparação foi preparado um eletrodo com parafina solida utilizando o material eletródico descrito na sessão 3.2, o qual foi sintetizado pela mistura de Fe^{2+} e $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (ambos na concentração $0,016 \text{ mol L}^{-1}$). Este eletrodo foi submetido a estudos voltamétricos, sendo eles mostrados na Figura 38.

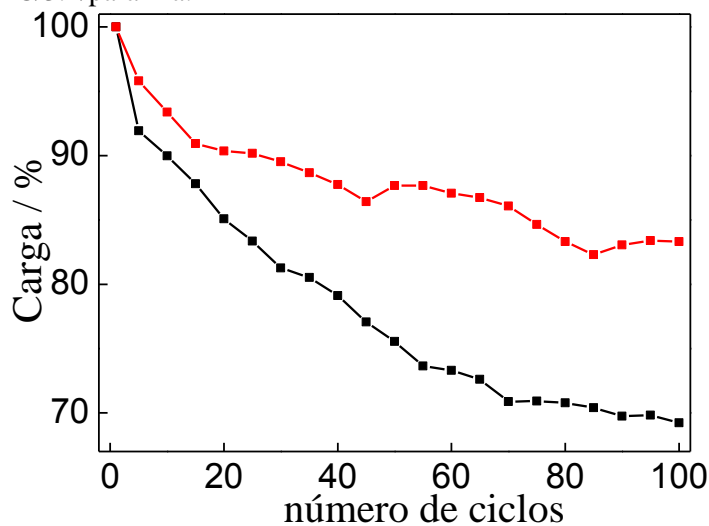
Figura 38 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} . (—) EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado; (—) EPC/3.2/parafina.



A Figura 38 mostra que o EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado apresentou maior intensidade de corrente comparado ao EPC/3.2/parafina, o que pode ser explicado pela maior quantidade e dispersão das partículas sobre o carbono ao otimizar os parâmetros de preparo do material eletródico, mostrando assim que mesmo utilizando uma menor concentração de reagentes no preparo desse material é possível obter um eletrodo com um melhor perfil voltamétrico [90,101].

A estabilidade do EPC/3.2/parafina também foi avaliada, sendo os resultados obtidos neste estudo apresentados na Figura 39.

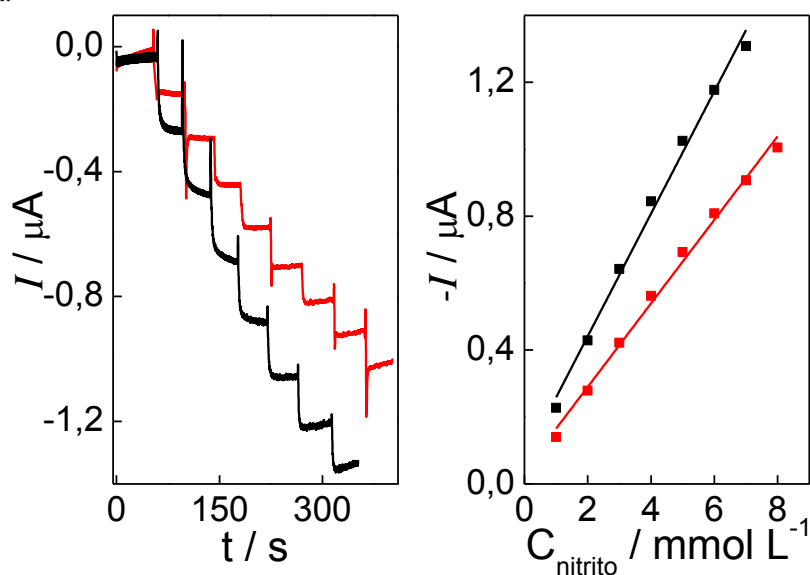
Figura 39 - Gráfico da porcentagem de carga em função do número de ciclos. (■)EPC/pó-tratado; (■)EPC/3.2/parafina.



A Figura 39 mostra que a estabilidade do EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado é menor comparada ao EPC/3.2/parafina. Este comportamento pode ser explicado pelo aumento no tamanho das partículas de hexacianoferrato sobre o pó de carbono ao otimizar as condições de preparo do material eletrodico, o que faz com que essas partículas estejam mais fracamente aderidas ao carbono, resultando a menor estabilidade do eletrodo.

O comportamento amperométrico de cada eletrodo foi ainda avaliado na presença de nitrito, sendo os amperogramas obtidos neste estudo apresentados na Figura 40.

Figura 40 - Amperogramas de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} com sucessivas adições de nitrito. $E_{\text{detecção}} = + 0,2 \text{ V}$. (–) EPC/pó-tratado; (–) EPC/3.2/parafina.

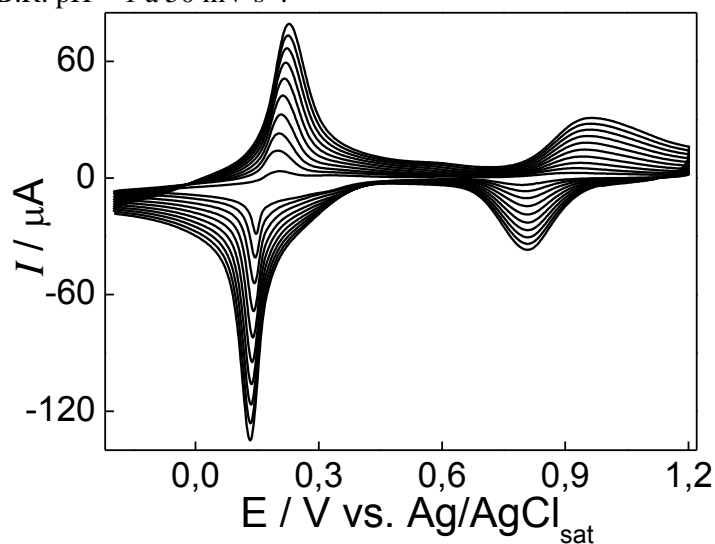


A curva obtida com o EPC/3.2/parafina apresentou a seguinte equação de reta: $-I(\mu\text{A}) = 0,0403 + 0,1248 C_{\text{NO}_2^-} (\text{mmol L}^{-1})$, $r^2 = 0,993$. Assim, é observado na Figura 40, que o EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado apresentou ainda melhor desempenho analítico com um valor de 32 % maior de coeficiente angular comparado ao valor obtido com o EPC/3.2/parafina. Esse melhor desempenho do EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado pode ser explicado pela maior dispersão ou quantidade das partículas de HCF sobre o carbono por meio dos parâmetros otimizados, demonstrando assim que mesmo utilizando menores concentrações dos reagentes no preparo do material eletrodico pode ser obtido um eletrodo capaz de reduzir eficientemente o nitrito.

Posteriormente, foi construído um novo eletrodo utilizando o procedimento clássico de eletrodeposição do filme de HCF [80], o qual é descrito na sessão 3.8. Este estudo foi

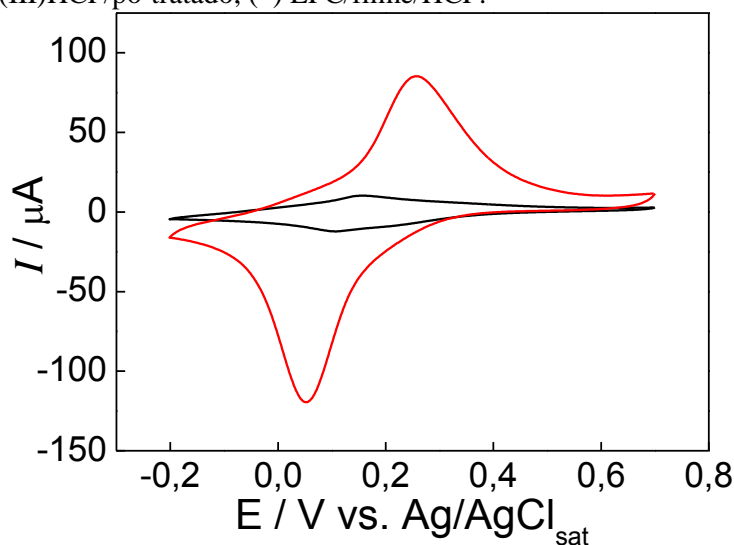
realizado para avaliar se o método utilizado no preparo do material eletródico é satisfatório para a construção de um eletrodo modificado com excelente capacidade para a redução de nitrito. Os voltamogramas obtidos no procedimento de eletrodeposição são mostrados na Figura 41.

Figura 41 - Voltamogramas cíclicos do processo de eletrodeposição do filme de HCF sobre um EPC registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 50 mV s^{-1} .



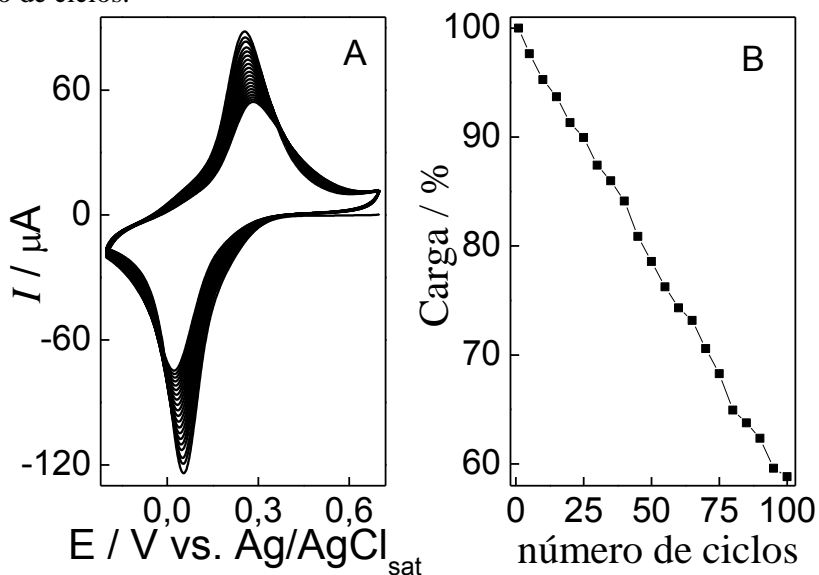
Conforme é mostrado na Figura 41, observa-se um aumento proporcional das correntes de pico com o número de ciclo, mostrando que o filme de HCF é eletrodepositado sobre a superfície do eletrodo de pasta de carbono. O eletrodo obtido foi denominado como EPC/filme/HCF, sendo o comportamento voltamétrico desse eletrodo comparado com o EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado. O resultado obtido nesse estudo é mostrado na Figura 42.

Figura 42 - Voltamogramas cíclicos de diferentes eletrodos registrados em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} . (-) EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado; (-) EPC/filme/HCF.



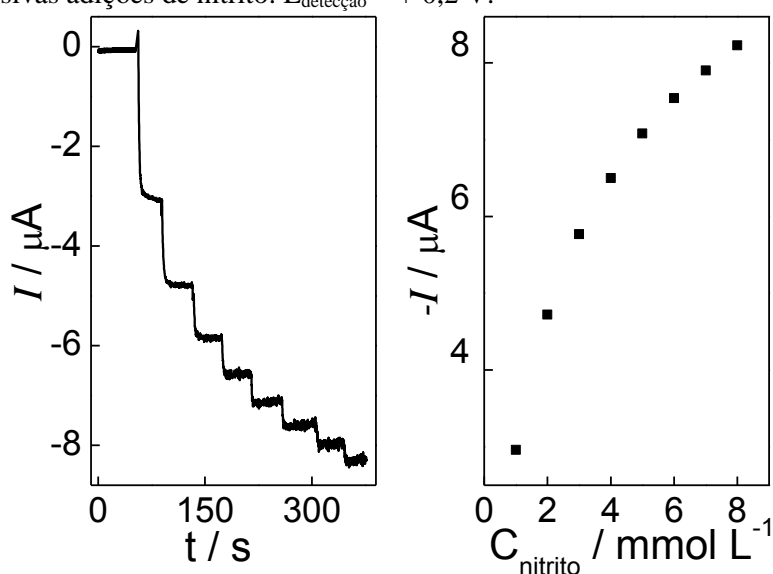
Conforme é mostrado na Figura 42, o EPC/filme/HCF apresentou valores de correntes aproximadamente 12 vezes maior comparado ao EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado. Esse resultado é atribuído a maior quantidade de azul da Prússia sobre a superfície do eletrodo ao realizar o procedimento de eletrodeposição, sugerindo que provavelmente essa possa ser a melhor abordagem para a construção do eletrodo modificado. Para verificar a validade dessa hipótese, foi avaliada a estabilidade e a capacidade desse eletrodo para a redução de nitrito. Assim, o EPC/filme/HCF foi submetido a 100 ciclos de potencial no intervalo de + 0,7 a - 0,2 V a 100 mV s^{-1} , sendo os resultados obtidos neste estudo apresentados na Figura 43.

Figura 43 - A) Voltamogramas cíclicos do EPC/filme/HCF submetido a 100 ciclos contínuos de potencial registrados em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, pH = 1,0 a 100 mV s^{-1} . B) Porcentagem de carga em função do número de ciclos.



A Figura 43B mostra uma queda acentuada da carga em função do número de ciclos, resultando uma queda de 41 % da carga inicial, o que não é satisfatório, mostrando, portanto, que a partir do procedimento de eletrodeposição é obtido um eletrodo modificado de baixa estabilidade. Apesar da baixa estabilidade, foi ainda avaliado o comportamento amperométrico desse eletrodo na presença de nitrito, sendo os amperogramas obtidos neste estudo apresentados na Figura 44.

Figura 44 - Amperograma do EPC/filme/HCF registrado em Tampão B.R. pH = 1 a 100 mV s^{-1} com sucessivas adições de nitrito. $E_{\text{detecção}} = +0,2 \text{ V}$.

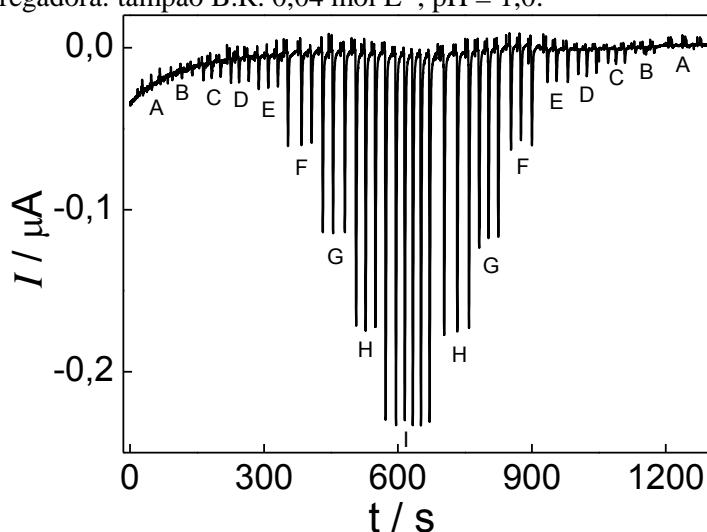


A Figura 44 mostra que os valores de corrente obtidos com o eletrodo modificado não aumentaram linearmente com o aumento da concentração de nitrito. Esse comportamento pode ser explicado pela baixa estabilidade do filme sobre o eletrodo, uma vez que uma grande quantidade de hexacianoferrato está sendo perdida para a solução a cada ciclo de potencial, o que faz com que o aumento de corrente não seja proporcional com a concentração de nitrito. Assim, com base nos resultados obtidos, foi determinado que o EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado é o melhor eletrodo, o qual apresentou ser mais estável que ao EPC/filme/HCF. Além disso, apresentou também melhor desempenho analítico para a redução de nitrito comparado ao EPC/filme/HCF e aos demais eletrodos construídos a partir dos materiais eletródicos preparados, mostrando assim que o procedimento de preparo desse eletrodo é mais satisfatório que o procedimento de eletrodeposição do filme de HCF e que a partir da otimização do

preparo do material eletrodico foi obtido um eletrodo com maior potencialidade analítica para a redução de nitrito.

Visando avaliar ainda o desempenho do EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado no sistema FIA, foi então construída uma curva analítica. As injeções com diferentes concentrações de NO_2^- foram efetuadas na ordem crescente e decrescente de concentrações, conforme é apresentado na Figura 45.

Figura 45 - Sinais transientes obtidos para sucessivas injeções ($N = 4$) de soluções contendo diferentes concentrações de nitrito. $E_{\text{det}} = + 0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$, vazão = 6 mL min^{-1} e volume de amostra injetado de $150 \mu\text{L}$: (A) 10, (B) 25, (C) 50 (D) 75, (E) 100, (F) 250 (G) 500, (H) 750 e (I) $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- . Solução carregadora: tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,0$.



A curva analítica obtida com injeções na ordem crescente de concentração foi linear no intervalo de 10 a $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$, de acordo com a equação: $-I(\mu\text{A}) = -0,0007 + 0,2285 C_{\text{NO}_2^-}$ (mmol L^{-1}), $r^2 = 0,999$. Os valores de LD e LQ foram 6,7 e $21,8 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O LQ calculado foi maior do que o primeiro ponto da curva analítica, podendo ser usado esse ponto como um valor de LQ experimental. A equação da reta da curva analítica obtida para injeções de nitrito no sentido decrescente de concentrações foi: $-I(\mu\text{A}) = -0,0002 + 0,2232 C_{\text{NO}_2^-}$ (mmol L^{-1}), $r^2 = 0,992$. Estes resultados mostram que existe uma concordância satisfatória entre os coeficientes angulares das curvas analíticas, indicando que o método não apresenta efeitos de memória e que o eletrodo não se desativa na escala de tempo de realização deste experimento. Além disso, verifica-se que a curva construída empregando o sistema FIA resultou em um maior valor de coeficiente angular comparado a curva mostrada na Figura 37, expressa pela equação: $-I(\mu\text{A}) = -0,0757 + 0,1829 C_{\text{NO}_2^-}$, a qual foi construída com a amperometria em condições

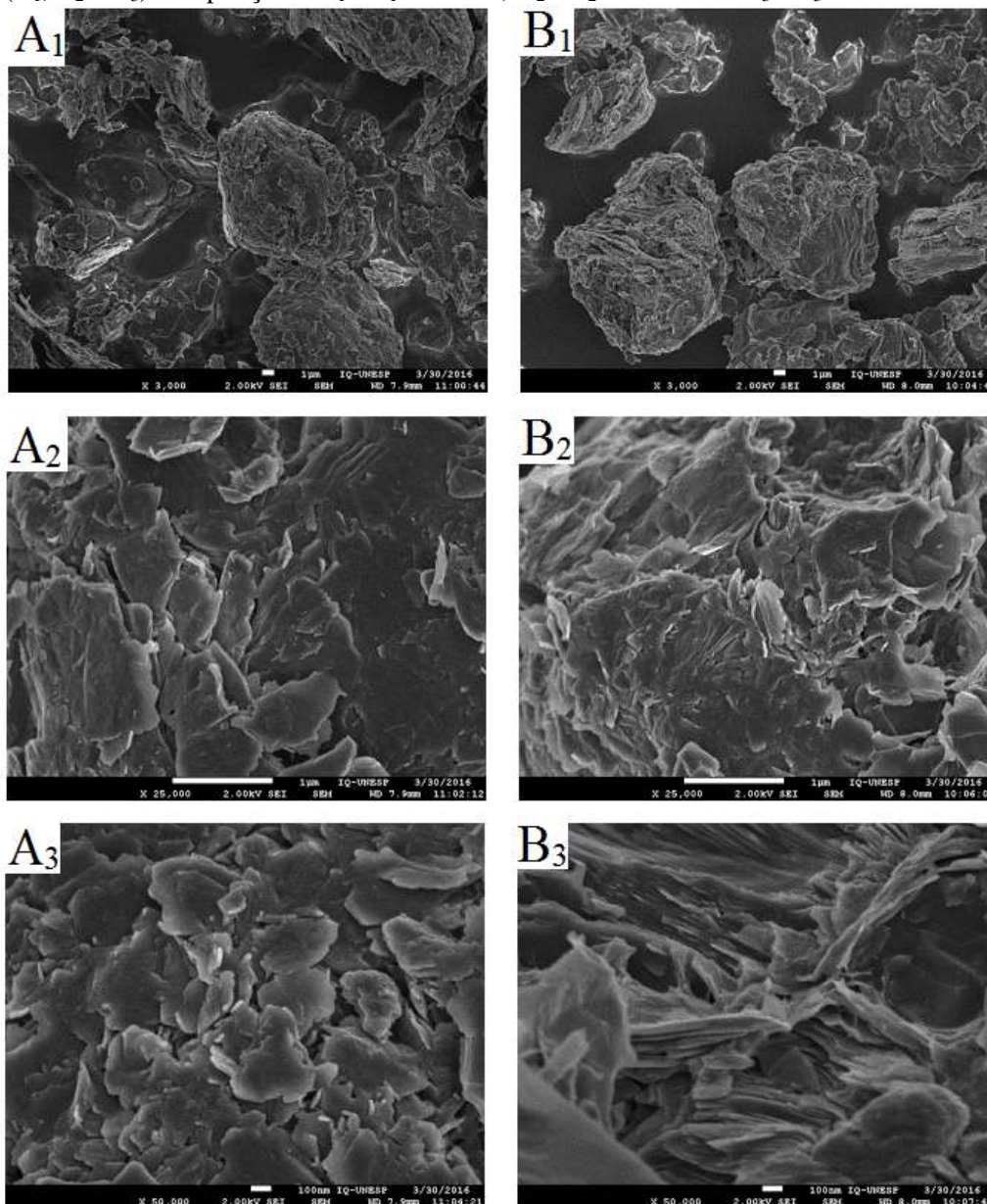
hidrodinâmicas. Esse aumento de sensibilidade obtido ao utilizar o sistema FIA é atribuído a menor dispersão que amostra sofre na tubulação do sistema FIA comparada com a dispersão sofrida pela amostra na célula eletroquímica convencional, na qual foi realizada a amperometria.

O EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado apresentou também maior detectabilidade para determinação de nitrito no sistema FIA comparado ao EPC/HCF, o que pode ser explicado pelo aglutinante utilizado no preparo do eletrodo, pois conforme foi mostrado na Figura 19, eletrodo preparado com parafina apresenta menor valor de corrente de fundo, o que provavelmente resulta em um menor valor de LQ. Apesar de melhorar a detectabilidade, a sensibilidade obtida com esse eletrodo foi menor, provavelmente, devido à maior hidrofobicidade da pasta de carbono preparada com parafina sólida, fazendo com que hidratação da superfície eletródica pelo contato com o eletrólito de suporte seja menor, o que resultou, portanto, em menores valores de corrente. No entanto, o material eletródico de cada um desses eletrodos também foi comparado, para isso o material descrito na seção 3.2 foi utilizado para construir o EPC/3.2/parafina. Os resultados demonstraram que o EPC/Fe(III)HCF/pó-tratado é o melhor eletrodo, mostrando assim que mesmo utilizando uma menor concentração dos reagentes na síntese das partículas do azul da Prússia sobre o pó de carbono, ainda é possível obter um eletrodo modificado com melhor potencialidade analítica para a redução de nitrito.

4.6 Avaliação da morfologia dos diferentes materiais eletródicos preparados

A morfologia dos diferentes materiais eletródicos preparados foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura. O primeiro estudo envolveu a comparação entre as morfologias do pó de carbono sem tratamento e do pó de carbono submetido ao tratamento ácido e térmico, sendo as imagens em diferentes ampliações obtidas para estes materiais apresentadas na Figura 46.

Figura 46 – Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em diferentes ampliações para o pó de carbono não tratado (A_1 , A_2 e A_3) e para o pó de carbono submetido ao tratamento ácido e térmico (B_1 , B_2 e B_3). Ampliações: $A_1 = B_1 = 3.000$ x; $A_2 = B_2 = 25.000$ x e $A_3 = B_3 = 50.000$ x.

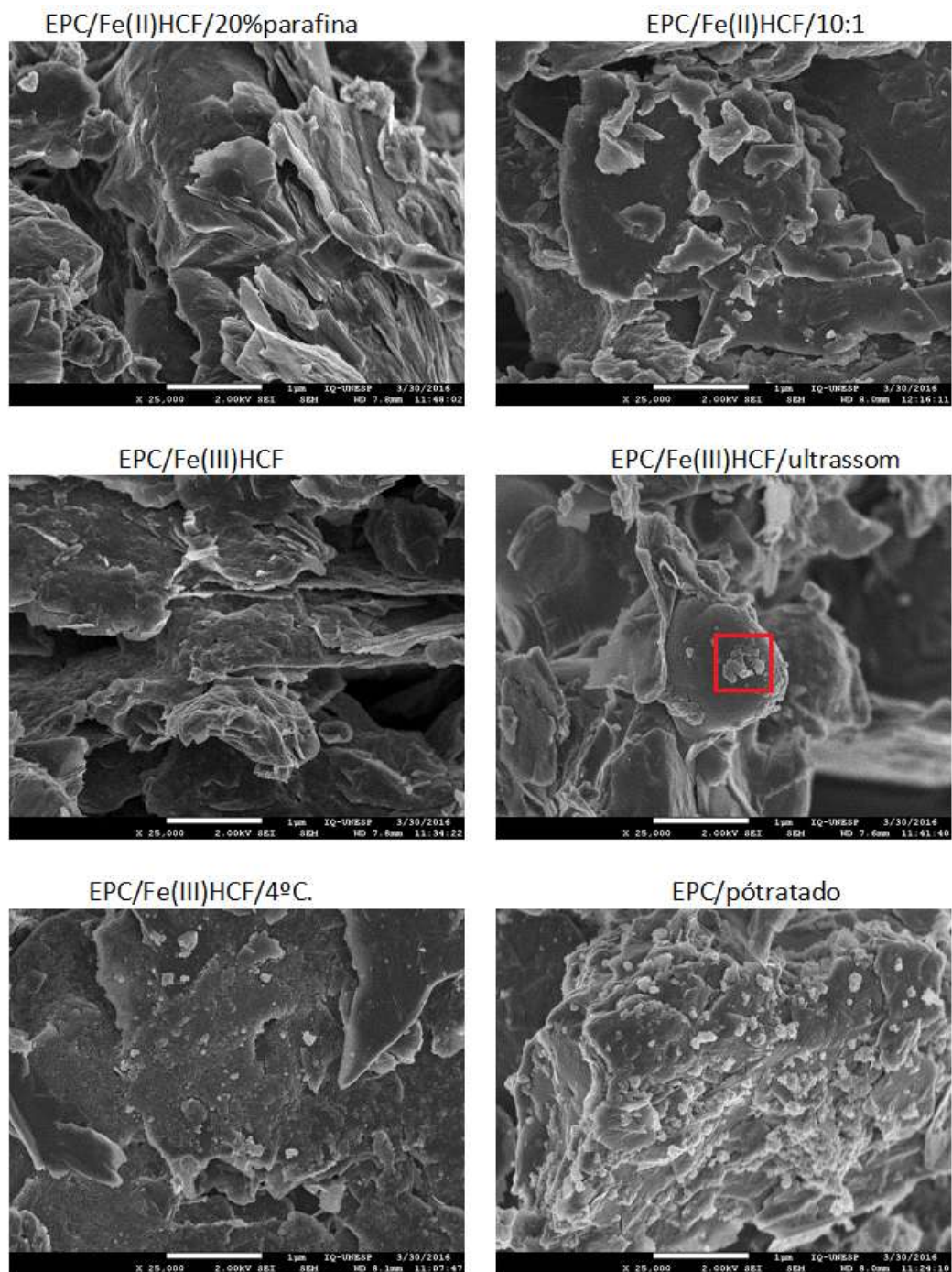


As imagens apresentadas na Figura 46 mostram que o pó de carbono não tratado apresenta-se como um aglomerado de “placas” de aspecto liso e não acidentado, o que é mais visível nas ampliações de 25.000 e 50.000 vezes. Por outro lado, o pó de carbono submetido ao tratamento ácido e térmico apresenta uma morfologia muito mais acidentada e com “fraturas” ao longo do material, mostrando aparentemente que esse material possui maior área superficial e, portanto, maior número de pontos para a fixação de partículas de azul da Prússia por adsorção. Este comportamento é coerente com o fato de o EPC preparado com o pó de

carbono submetido ao tratamento ácido e térmico ter fornecido maior carga voltamétrica para os processos relativos ao azul da Prússia (Figura 35).

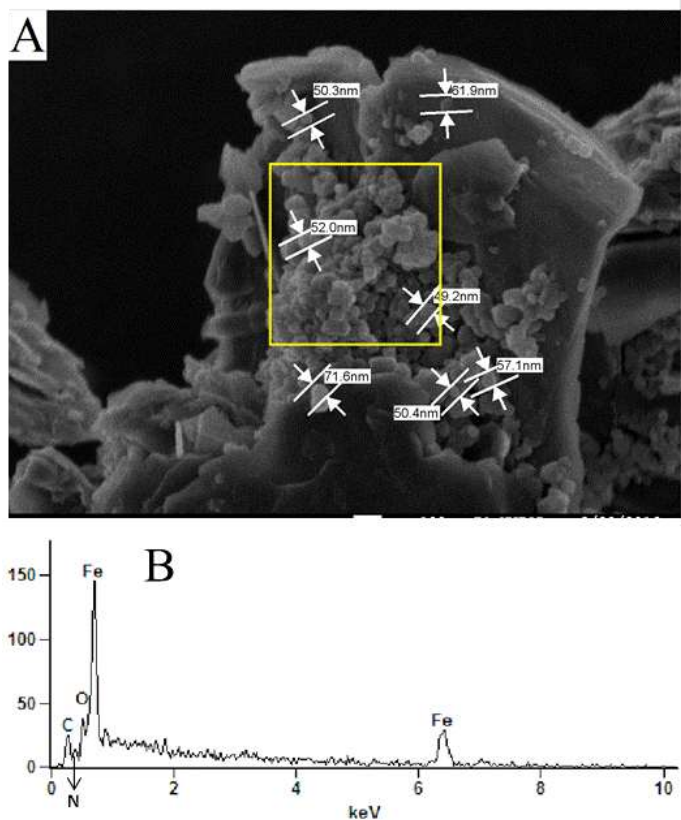
As imagens com ampliação de 25.000 vezes obtidas para os diferentes materiais eletródicos preparados são apresentados na Figura 47.

Figura 47 - Imagens de MEV para os diferentes materiais eletródicos preparados com ampliação de 25.000 vezes.



Conforme pode ser visualizado na Figura 47, as partículas de azul da Prússia não podem ser visualizadas para os três primeiros materiais eletródicos, mesmo ampliações de 100.000 vezes não permitiram identificar e diferenciar partículas de azul da Prússia do pó de carbono. Este resultado sugere que a quantidade de azul da Prússia imobilizada nestes materiais é muito pequena, não sendo suficiente para formar aglomerados distinguíveis do pó de carbono. Esse resultado é concordante com a baixa carga voltamétrica fornecida por estes materiais em relação à carga voltamétrica fornecida pelo material preparado com agitação ultrassônica (Figura 26 e 29). A utilização de agitação ultrassônica favoreceu a formação de aglomerados de azul da Prússia (região destacada por um quadrado vermelho). A quantidade destes aglomerados aumenta quando a temperatura de preparo do material é diminuída para 4 °C e aumenta novamente quando o pó de carbono tratado é utilizado, sendo este resultado concordante com o aumento da carga voltamétrica observado para estes materiais (Figura 29, 32 e 35). Uma análise destes aglomerados mostrou que o tamanho dessas partículas varia de 49 a 72 nm e que as mesmas possuem elevado teor de ferro, sugerindo que sejam, de fato, constituídas por azul da Prússia. A imagem e o respectivo espectro de EDX referentes ao material eletródico preparado com pó de carbono tratado são apresentados na Figura 48.

Figura 48 - A) Imagem de MEV do EPC/pó-tratado com ampliação de 50.000 vezes. B) Respectivo espectro de EDX.



Os resultados obtidos por microscopia eletrônica de varredura sugerem que a utilização da agitação ultrassônica favorece a formação e segregação das partículas de azul da Prússia, tornando-as distinguíveis do pó de carbono. Aparentemente, este efeito deixa uma maior quantidade de partículas de azul da Prússia acessível ao eletrólito de suporte e ao nitrito, conduzindo à elevadas cargas voltamétricas e a maiores sensibilidades para este íon. Entretanto, estes aglomerados de azul da Prússia parecem estar aderidos mais fracamente ao pó de carbono, sendo perdido para a solução ao longo das medidas voltamétricas, o que poderia justificar a menor estabilidade dos materiais eletródicos preparados com a agitação ultrassônica em relação aos preparados com agitação magnética, o que pode ser visualizado por uma comparação entre as Figura 30, 33, 36 e 39. Desta forma, o desempenho final do eletrodo dependerá do compromisso entre a quantidade de partículas de azul da Prússia no material e da força com a qual estas permanecem aderidas ao pó de carbono. Os procedimentos desenvolvidos neste trabalho demonstraram existir uma relação antagônica na estabilidade, uma vez que o aumento da quantidade de partículas de azul da Prússia, com o consequente aumento da sensibilidade para o nitrito, foi sempre acompanhado por diminuição da estabilidade do eletrodo. Assim, são necessários estudos de novas condições experimentais visando à obtenção de eletrodos com elevada quantidade de partículas de azul da Prússia firmemente aderidas ao pó de carbono.

5 CONCLUSÕES

Este trabalho demonstrou que os EPC modificados com azul da Prússia, são capazes de mediar a redução eletroquímica do nitrito, fazendo com que este ânion seja detectado em potenciais bem menos negativos do que os utilizados em outros trabalhos descritos na literatura, conduzindo a elevada seletividade para este ânion. Os procedimentos de preparo dos eletrodos são simples e de custo relativamente baixo, sem a necessidade de processos sintéticos complexos ou o uso de reagentes biológicos e/ou de custo elevado. O uso de uma célula eletroquímica similar a uma célula BIA permitiu a recirculação da solução carregadora, o que gerou uma drástica diminuição no consumo de reagentes, mesmo empregando-se elevadas vazões. O valor de E_{det} de + 0,2 V vs. $Ag/AgCl_{sat}$ foi extremamente atrativo, pois diversos potenciais interferentes não são eletroativos neste potencial. Assim, o método proposto é livre de interferências do oxigênio dissolvido, nitrato, ácido ascórbico, sacarose e sulfito, os quais são espécies eletroativas normalmente presentes em amostras de água e de alimentos. O método FIA foi aplicado com sucesso para a quantificação de nitrito em amostras de água e embutidos, sendo os resultados concordantes com os resultados obtidos pelo método padrão de Griess. Além disso, o método proposto combina simplicidade, baixo custo, baixo consumo de reagentes, elevada velocidade de análise, precisão e exatidão satisfatórias, sendo, portanto, atrativo para a determinação de nitrito em amostras de alimentos e ambientais contaminadas com nitrito.

As condições experimentais no preparo do material eletródico foram otimizadas de forma satisfatória, sendo desenvolvido um eletrodo de melhor desempenho analítico para a redução de nitrito, representado um uma melhora de aproximadamente 350 % de sensibilidade em relação ao eletrodo construído com o material não otimizado. Os resultados mostraram que a parafina sólida é o melhor aglutinante, uma vez que, o eletrodo preparado com este material foi submetido a diferentes polimentos, apresentando um valor RSD de apenas 2,5 % para os valores de corrente de pico. Através das imagens obtidas por MEV dos materiais eletródicos, verificou-se que a utilização de agitação ultrassônica favoreceu a formação de aglomerados de azul da Prússia, sendo a quantidade desses aglomerados aumentada quando a temperatura de preparo do material foi diminuída para 4 °C. Além disso, um aumento ainda maior da quantidade dessas partículas foi verificado ao utilizar o pó de carbono tratado para o preparo do material eletródico, uma vez que o tratamento ácido e térmico desse pó gerou maior área superficial e número de pontos para a fixação de azul da Prússia por adsorção,

sendo, portanto, esse resultado concordante com o aumento da carga voltamétrica dos eletrodos construídos com esses materiais.

De maneira geral, a utilização do material eletródico contendo partículas do mediador eletroquímico mostrou ser uma estratégia mais eficiente para o desenvolvimento de eletrodos modificados, uma vez que o eletrodo desenvolvido com este material apresentou uma maior estabilidade comparada ao eletrodo modificado com um filme de HCF, mostrando assim a aplicabilidade desses eletrodos para a determinação de nitrito. Além disso, esses eletrodos apresentaram uma vantagem adicional em relação ao eletrodo modificado com o filme de HCF, que é possibilidade de obter uma nova superfície modificada pelo simples polimento do eletrodo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª Ed. São Paulo: Cengage Learning, 2008. Cap. 23.
- 2 BRETT, A.M.O.; BRETT, C.M.A. **Electroquímica - Princípios, Métodos e Aplicações**. Coimbra: Oxford University Press, 1996, Cap. 6 e 9.
- 3 BARD, A.J.; FAULKNER, L.R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and applications**. 2ª Ed., New York: John Wiley & Sons, 2001. Cap. 6.
- 4 SILVA, D.H. **Determinação simultânea e rápida de Pb²⁺ e Cu²⁺ em amostras de água utilizando um eletrodo de pasta de carbono a base de parafina sólida quimicamente modificado com sílica funcionalizada com 2-aminotiazol**. 2011. 40f. Monografia de conclusão de curso (Graduação em Química), Faculdade de Ciências Integradas do Pontal, Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2011.
- 5 HOLLER, F.J.; SKOOG, D.A.; CROUCH, S.R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6ª Ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. Cap.25.
- 6 HARRIS, D.C. **Análise Química Quantitativa**. 6ª Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2003. p. 378-386.
- 7 MIRANDA, J.A.T.; CUNHA, R.R.; GIMENES, D.T.; MUNOZ, R.A.A.; RICHTER, E.M. Determinação simultânea de ácido ascórbico e ácido acetilsalicílico usando análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica pulsada. **Química Nova**, v. 35, p. 1459-1463, 2012.
- 8 ALEIXO, L.M. **Voltametria: Conceitos e Técnicas**. Disponível em: <<http://usuarios.upf.br/~gobbi/CADA%20UMA%20DAS%20DISCIPLINAS/QUIMICA%20ANALITICA%20INSTRUMENTAL/voltametria-vf.pdf>>. Acesso em: 12/02/2016.
- 9 SVANCARA, I.; WALCARIUS, A.; KALCHER, K.; VYTRAS, K. Carbon paste electrodes in the new millennium. **Central European Journal of Chemistry**, v. 7, p. 598-656, 2009.
- 10 SVANCARA, I.; KALCHER, K.; WALCARIUS, A.; VYTRAS, K. **Electroanalysis with carbon paste electrodes**. New York: CRC Press, 2012. p. 11.
- 11 SVANCARA, I.; VYTRAS, K.; KALCHER, K.; WALCARIUS, A.; WANG, J. Carbon Paste Electrodes in Facts, Numbers, and Notes: A Review on the Occasion of the 50-Years Jubilee of Carbon Paste in Electrochemistry and Electroanalysis. **Electroanalysis**, v. 21, p. 7-28, 2009.
- 12 PEREIRA, A.C.; KUBOTA, L.T. Otimização da preparação de eletrodo de pasta de carbono contendo riboflavina imobilizada em suporte inorgânico. **Química Nova**, v. 27, p. 725-729, 2004.

-
- 13 FERREIRA, V.F.; PRADO, C.R.A.; RODRIGUES, C.M.; OTUBO, L.; BATISTA, A.A.; CRUZ, J.W.; ELLENA, J.; DINELLI, L.R.; BOGADO, A.L. Modified glassy carbon electrode with AuNPs using cis-[RuCl(dppb)(bipy)(4-vpy)]⁺ as crossed linking agent. **Polyhedron**, v. 78, p. 46-53, 2014.
- 14 OLIVEIRA, L.H.; SOUZA, A.C.D.; PIZZUTI, L.; FERREIRA, V.S.; PRADELA-FILHO, L.A.; TAKEUCHI, R.M.; SANTOS, A.L.; TRINDADE, M.A.G. Determinação voltamétrica do antioxidante galato de propila em biodiesel empregando eletrodos de pasta de carbono modificados com líquido iônico. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v. 6, p. 255-266, 2014.
- 15 ABBASPOUR, A.; SARVESTANI, F.N.; MIRAHMADI, E. Electrocatalytic behavior of carbon paste electrode modified with metal phthalocyanines nanoparticles toward the hydrogen evolution. **Electrochimica Acta**, v. 76, p. 404-409, 2012
- 16 PRADELA-FILHO, L.A.; OLIVEIRA, B.C.; TAKEUCHI, R.M.; SANTOS, A.L. A Prussian blue-carbon paste electrode for selective cathodic amperometric determination of nitrite using a flow-injection analysis system with carrier recycling. **Electrochimica Acta**, v. 180, p. 939-946, 2015.
- 17 RIBEIRO, G.H.; VILARINHO, L.M.; RAMOS, T.S.; BOGADO, A.L.; DINELLI, L.R. Electrochemical behavior of hydroquinone and catechol at glassy carbon electrode modified by electropolymerization of tetra-ruthenated oxovanadium porphyrin. **Electrochimica Acta**, v. 176, p. 394-401, 2015.
- 18 DORRAJI, P.S.; JALALI, F. Differential pulse voltammetric determination of nanomolar concentrations of antiviral drug acyclovir at polymer film modified glassy carbon electrode **Materials Science and Engineering C**, v. 61, p. 858-864, 2016.
- 19 MATTOS, I.L.; GORTON, L. Filmes de metal-hexacianoferrato: uma ferramenta em química analítica. **Química Nova**, v. 24, p. 200-205, 2001.
- 20 NOSSOL, E.; NOSSOL, A.B.S.; ABDELHAMID, M.E.; MARTIN, L.L.; ZARBIN, A.J.G.; BOND, A.M. Mechanistic insights gained by monitoring carbon nanotube/prussian blue nanocomposite formation with in situ electrochemically based techniques. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 118, p. 13157-13167, 2014
- 21 KARYAKIN, A.A. Prussian blue and its analogues: electrochemistry and analytical applications. **Electroanalysis**, v. 13, p. 813-819, 2001.
- 22 NOSSOL, E.; ZARBIN, A.J.G. A Simple and Innovative Route to Prepare a Novel Carbon Nanotube/Prussian Blue Electrode and its Utilization as a Highly Sensitive H₂O₂ Amperometric Sensor. **Advanced Functional Materials**, v. 19, p. 3980-3986, 2009.
- 23 BAIONI, A.P.; VIDOTTI, M.; FIORITO, P.A.; PONZIO, E.A.; TORRESI, S.I.C. Synthesis and characterization of copper hexacyanoferrate nanoparticles for building up long-term stability electrochromic electrodes. **Langmuir**, v. 23, p. 6796-6800, 2007.

24 NAJAFISAYAR, P.; BAHROLOLOOM, M.E. Pulse electrodeposition of Prussian blue thin films. **Thin Solid Films**, v. 542, p. 45-51, 2013.

25 SHENG, Q.; YU, H.; ZHENG, J. Sol-gel derived terbium hexacyanoferrate modified carbon ceramic electrode: Electrochemical behavior and its electrocatalytic oxidation of ascorbic acid. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 606, p. 39-46, 2007.

26 OMAROVA, M.; KOISHYBAYA, A.; YESIBOLATIA, N.; , MENTBAYEVA, A.; UMIROV, N.; ISMAILOV, K.; ADAIR, D.; B , BABAA, M.R.; KURMANBAYEVA, I.; BAKENOV, Z. Nickel hexacyanoferrate nanoparticles as a low cost cathode material for lithium-ion batteries. **Electrochimica Acta**, v. 184, p. 58-63, 2015.

27 SOTO, M.B.; SCHOLZ, F. Cyclic voltammetry of immobilized microparticles with in situ Calorimetry. Part II: Application of a thermistor electrode for in situ calorimetric studies of the electrochemistry of solid metal hexacyanoferrates. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 528, p. 27-32, 2002.

28 KEIHANA, K.H.; SAJJADIB, S.; SHEIBANIC, N.; MOVAHEDIA, A.A.M. A highly sensitive choline biosensor based on bamboo-like multiwallcarbon nanotubes/ionic liquid/Prussian blue nanocomposite. **Sensors and Actuators B**, v. 204, p. 694-703, 2014.

29 RICCI, F.; PALLESCHI, G. Sensor and biosensor preparation, optimisation and applications of Prussian Blue modified electrodes. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 21, p. 389-407, 2005.

30 HUSMANN, S.; NOSSOL, E.; ZARBIN, A.J.G. Carbon nanotube/prussian blue paste electrodes: characterization and study of key parameters for application as sensors for determination of low concentration of hydrogen peroxide. **Sensors and Actuators B**, v. 192 p. 782-790, 1024.

31 PANDEY, P.C.; PANDEY, A.K.; CHAUHAN, D.S. Nanocomposite of Prussian blue based sensor for l-cysteine: Synergetic effect of nanostructured gold and palladium on electrocatalysis. **Electrochimica Acta**, v. 74, p.23-31, 2012.

32 SALAZAR, P.; MARTÍN, M.; MORA, J.L.G.; ELIPE, A.R.G. Application of Prussian Blue electrodes for amperometric detection of free chlorine in water samples using Flow Injection Analysis. **Talanta**, v. 146, p. 410-416, 2016.

33 DEVADAS, B.; SIVAKUMAR, M.; CHEN, S.M.; CHEEMALAPATI, S. An electrochemical approach: Switching Structures of rare earth metal Praseodymium hexacyanoferrate and its application to sulfite sensor in Red Wine. **Electrochimica Acta**, v. 176, p. 350-358, 2015.

34 OJANI, R.; RAOOF, J.; ZAREI, E. Electrocatalytic reduction of nitrite using ferricyanide: Application for its simple and selective determination. **Electrochimica Acta**, v.52, p. 753 - 759, 2006.

35 CHEN, S.-M.; LIOU, C.-Y.; BALAMURUGAN, A.; THANGAMUTHU, R. Preparation, characterization, and electrocatalytic properties of mixed-valent nickel

hexacyanoferrate/phosphomolybdate hybrid film electrodes towards oxidation of ascorbic acid and reduction of $S_2O_8^{2-}$. **Electroanalysis**, v. 21, p. 919-924, 2009.

36 POURNAGHI-AZAR, M.H.; DASTANGOO, H.; FADAKAR, R. Simultaneous determination of dopamine and its oxidized product (aminochrom), by hydrodynamic amperometry and anodic stripping voltammetry, using the metallic palladium and uranyl hexacyanoferrate coated aluminum electrodes. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 25, p. 1481-1486, 2010.

37 LIU, Y.; CHU, Z.; ZHANG, Y.; JIN, W. Amperometric glucose biosensor with high sensitivity based on self-assembled Prussian Blue modified electrode. **Electrochimica Acta**, v. 54, p. 7490-7494, 2009.

38 RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. Flow Injection Analysis - Part I: A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 78, p. 145-157, 1975.

39 REIS, B.F. Análise química por injeção em fluxo: vinte anos de desenvolvimento. **Química Nova**, v. 19, p.51-59, 1996.

40 MOREIRA, B.C.S.; TAKEUCHI, R.M.; RICHTER, E.M.; SANTOS, A.L. Desenvolvimento de um sistema de análise por injeção em fluxo utilizando materiais alternativos de baixo custo para fins didáticos. **Química Nova**, v. 37, p. 1566-1572, 2014.

41 GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIESNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the significance mnemonic of green analytical practices. **Trends in Analytical chemistry**, v. 50, p. 78-84, 2013.

42 ROCHA, F.R.P.; MARTELLI, P.B.; REIS, B.F. Experimentos didáticos utilizando sistema de análise por injeção em fluxo. **Química Nova**, v. 23, p.119-125, 2000.

43 REIS, B.F.; GINÉ, M.F.; KRONKA, E.A.M. A análise química por injeção em fluxo contínuo. **Química Nova**, v. 12, p.82-91, 1989.

44 MOREIRA, B.C.S. **Desenvolvimento de um sistema de análise por injeção em fluxo utilizando materiais alternativos de baixo custo para fins didáticos**. 2014. 57f. Monografia de conclusão de curso (Graduação em Química), Faculdade de Ciências Integradas do Pontal, Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2014.

45 ARRUDA, M.A.Z.; COLLINS, C.H. Informações essenciais para a caracterização de um sistema de análise em fluxo. **Química Nova**, v. 28, p. 739-742, 2005.

46 BEMROHR, E.; TSCHOPEL, P.; TOLG, G.; NÉMETH, M. Flow-through anodic stripping coulometry and anodic stripping coulometry with collection for the simultaneous absolute determination of copper, lead, cadmium and zinc. **Analytica Chimica Acta**, v. 213, p. 13-25, 1993.

47 RUZICKA, J.; HANSEN, E.H.; MOSBAEK, H.; KRUG, F.J. Exchange of comments: pumping pressure and reagent consumption in flow injection analysis. **Analytical Chemistry**, v. 49, p. 1858-1861, 1977

-
- 48 ALONSO-CHAMARRO, J.; BARTROLÍ, J.; BARBER, R. Sandwich techniques in flow-injection analysis: Part 3. Simultaneous determination of Cr(VI) in two concentration ranges. **Analytica Chimica Acta**, v. 261, p. 219-223, 1992.
- 49 MURAKI, H.; HIGUCHI, K.; SASAKI, M.; KORENAGA, T.; TÔEI, K. Fully automated system for the continuous monitoring of ammonium ion in fish farming plant sea water by flow-injection Analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 261, p. 345-349, 1992.
- 50 KRUG, F.J.; BERGAMIN, H.; ZAGATTO, A.G. Commutation in flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 179, p. 103-118, 1986.
- 51 ALONSO, E.V.; TORRES, A.G.; PAVÓN, J.M.C. Flow injection on-line electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 55, p. 219-232, 2001.
- 52 TAKAYANAGI, T.; YAMASHITA, H.; MOTOMIZU, S.; MUSIJOWSKI, J.; TROJANOWICZ, M. Preconcentration and decomposition of perfluorinated carboxylic acids on an activated charcoal cartridge with sodium biphenyl reagent and its determination at $\mu\text{g L}^{-1}$ level on the basis of flow injection-fluorimetric detection of fluoride ion. **Talanta**, v. 74, p. 1224-1230, 2008.
- 53 RUENGSTAGOON, W.; LIARUANGRATH, S.; TOWNSHEND, A.; Flow injection chemiluminescence determination of paracetamol. **Talanta**, v. 69, p. 976-983, 2006.
- 54 SANTOS, W.T.P. AZEVEDO, E.F.; RICHTER, E.M.; ALBUQUERQUE, Y.D.T. Construção e caracterização de um detector eletroquímico para análises em fluxo, **Química Nova**, v. 32, p. 2412-2416, 2009.
- 55 SANTOS, W.T.P.; GIMENES, D.T.; RICHTER, E.M.; AGNES, L. Análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos: potencialidades e aplicações. **Química Nova**, v. 34, p. 1753-1761, 2011
- 56 MOORCROFT, M.J.; DAVIS, J.; COMPTON, R.G. Detection and determination of nitrate and nitrite: a review. **Talanta**, v. 54, p. 785-803, 2001.
- 57 RAMOS, L.A.; CAVALHEIRO, C.C.S.; CAVALHEIRO, E.T.G. Determinação de nitrito em águas utilizando extrato de flores. **Química Nova**, v. 29, p. 1114-1120, 2006.
- 58 BAIRD, C.; CANN, M. **Química ambiental**. 4ª Edição. Porto Alegre: Bookman, 2011. p. 644-646.
- 59 KUMAR, V.V.; ANTHONY, S.P. Highly selective silver nanoparticles based label free colorimetric sensor for nitrite anions, **Analytica Chimica Acta**, v. 842, p. 57-62, 2014.
- 60 OKAFOR, P.N.; OGBONNA, U.I. Nitrate and nitrite contamination of water sources and fruit juices marketed in South-Eastern Nigeria. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, p. 213-218, 2003.

61 OLIVEIRA, C.P.; GLÓRIA, M.B.A.; BARBOUR, J.F.; SCALAN, R.A. Nitrate, nitrite, and volatile nitrosamines in whey-containing food products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 967-969, 1995.

62 BRASIL. Ministério da Saúde, Portaria nº 2.914, 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em:
<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>. Acesso em: 25/02/2016.

63 LIU, W. ; GU, Y.; SUN, G.; NA, K.; LI, C.; TANG, L.; ZHANG, Z.; YANG, M. Poly (diallyldimethylammonium chloride) functionalized graphene/double-walled carbon nanotube composite for amperometric determination of nitrite. **Electroanalysis**, v. 27, p. 1-10, 2015.

64 YILDIZ, G.; OZTEKIN, N.; ORBAY, A.; SENKAL, F. Voltammetric determination of nitrite in meat products using polyvinylimidazole modified carbon paste electrode, **Food Chemistry**, v. 152, p. 245-250, 2014.

65 Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), NBR 12,619. Águas - Determinação de nitrito – Método de sulfonamida e N-(1-naftil) etilenodiamina. Rio de Janeiro, 1992

66 BRASIL. Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. Métodos analíticos físico-químicos, para controle de produtos cárneos e seus ingredientes - sal e salmoura. Disponível em:
<<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 26/06/2016.

67 YANG, Y.J.; LI, W. CTAB functionalized graphene oxide/multiwalled carbon nanotube composite modified electrode for the simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, uric acid and nitrite. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 56, p. 300-306, 2014.

68 GARBELLINI, G.S.; PEDROSA, V.A.; SALAZAR-BANDA, G.R.; AVACA, L.A. Metodologias eletroanalíticas para a determinação de herbicidas triazínicos por voltametria de onda quadrada e técnicas de deconvolução. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 2025-2034, 2007.

69 HELI, H.; ESKANDARI, I.; SATTARAHMADY, N.; MOOSAVI-MOVAHEDI, A.A. Cobalt nanoflowers: Synthesis, characterization and derivatization to cobalt hexacyanoferrate - Electrocatalytic oxidation and determination of sulfite and nitrite. **Electrochimica Acta**, v. 77, p. 294-301, 2012.

70 LUO, X.; PAN, J.; PAN, K.; YU, Y.; ZHONG, A.; WEI, S.; LI, J.; SHI, J.; LI, X. An electrochemical sensor for hydrazine and nitrite based on graphene-cobalt hexacyanoferrate nanocomposite: Toward environment and food detection. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 745, p. 80-87, 2015.

71 PALANISAMY, S.; KARUPPIAH, C.; CHEN, S.M.; PERIAKARUPPAN, P. Highly sensitive and selective amperometric nitrite sensor based on electrochemically activated graphite modified screen printed carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 727, p. 34-38, 2014.

-
- 72 TURDEAN, G.L.; SZABO, G. Nitrite detection in meat products samples by square-wave voltammetry at a new single walled carbon nanotubes – myoglobin modified electrode. **Food Chemistry**, v. 179, p. 325-330, 2015.
- 73 DREYSE, P.; ISAACS, M.; CALFUMÁN, K.; CÁCERES, C.; ALIAGA, A.; AGUIRRE, M.J.; VILLAGRA, D.; Electrochemical reduction of nitrite at poly-[Ru(5-NO₂-phen)₂Cl] tetrapyrridylporphyrin glassy carbon modified electrode. **Electrochimica Acta**, v. 56, p. 5230-5237, 2011.
- 74 YANG, S.; ZENG, X.; LIU, X.; WEI, W.; LUO, S.; LIU, Y.; LIU, Y. Electrocatalytic reduction and sensitive determination of nitrite at nano-copper coated multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 639, p. 181-186, 2010.
- 75 OJANI, R.; RAOOF, J.B.; NOROUZI, B. Cu(II) hexacyanoferrate (III) modified carbon paste electrode: application for electrocatalytic detection of nitrite. **Electroanalysis**, v. 20, p. 1996-2002, 2008.
- 76 PRADELA-FILHO, L.A.; TAKEUCHI, R.M.; TRINDADE, M.A.G.; SANTOS, A.L. Voltammetric determination of nitrite using the ion [Fe(CN)₆]³⁻ as electrochemical mediator, **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v. 7, p. 10-20, 2015.
- 77 RICCI, F.; GOLÇAVES, C.; AMINE, A.; GORTON, L.; PALLESCHI, G.; MOSCONE D. Electroanalytical study of prussian blue modified glassy carbon paste electrodes. **Electroanalysis**, v. 15, p. 1204-1211, 2003.
- 78 MOSCONE, D.; D'OTTAVI, D.; COMPAGNONE, D.; PALLESCHI, G. Construction and analytical characterization of prussian blue-based carbon paste electrodes and their assembly as oxidase enzyme sensors. **Analytical Chemistry**, v. 73, p. 2529-2535, 2001.
- 79 QUINTINO, M.S.M.; ANGNES, L. Batch Injection Analysis: An Almost Unexplored Powerful Tool. **Electroanalysis**, v. 16, p. 513-523, 2004.
- 80 SHENG, Q.; ZHANG, D.; WU, Q.; ZHENG, J.; TANG, H. Electrodeposition of Prussian blue nanoparticles on polyaniline coated halloysite nanotubes for nonenzymatic hydrogen peroxide sensing. **Analytical Methods**, v. 7, p. 6896, 2015.
- 81 KOZUB, B.R.; REES, N.V.; COMPTON, R.G. Electrochemical determination of nitrite at a bare glassy carbon electrode; why chemically modify electrodes?. **Sensors and Actuators B**, v. 143, p. 539-546, 2010.
- 82 YANG, S.; XIA, B.; ZENG, X.; LUO, S.; WEI, W.; LIU, X.; Fabrication of DNA functionalized carbon nanotubes/Cu²⁺ complex by one-step electrodeposition and its sensitive determination of nitrite. **Analytica Chimica Acta**, v. 667, p. 57-62, 2010.
- 83 ORAIN, C.; GUTIÉRREZ, A.G.P.; EVOUNG, F.E.; CHARLES, C.; COSQUER, N.; GOMILA, A.; CONAN, F.; MEST, Y.; POUL, N. Electrocatalytic reduction of nitrite ions by a copper complex attached as SAMs on gold by self-induced electroclick: Enhancement of the

catalytic rate by surface coverage decrease, **Electrochemistry Communications**, v. 34, p. 204-207, 2013.

84 KAKHKI, S.; SHAMS, E.; BARSAN, M.M. Fabrication of carbon paste electrode containing a new inorganic–organic hybrid based on $[\text{SiW}_{12}\text{O}_{40}]^{4-}$ polyoxoanion and Nile blue and its electrocatalytic activity toward nitrite reduction. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 704, p. 80-85, 2013.

85 SAHRAOUI, Y.; SBARTAI, A.; CHALIAA, S.; MAAREF, A.; HADDAD, A.; JAFFREZIC-RENAULT, N. A nitrite electrochemical sensor based on boron-doped diamond planar electrochemical microcells modified with a monolacunary silicotungstate polyoxoanion. **Electroanalysis**, v. 27 p. 1-10, 2015.

86 OJANI, R.; RAOOF, J.B.; ZAMANI, S. A novel and simple electrochemical sensor for electrocatalytic reduction of nitrite and oxidation of phenylhydrazine based on poly (o-anisidine) film using ionic liquid carbon paste electrode. **Applied Surface Science**, v. 271 p. 98-104, 2013.

87 MOHEIMANIAN, N.; RAOOF, J.B.; SAFAVI, A.; OJANI, R. Nitrite electrochemical sensor for food analysis based on direct immobilization of hemoglobin on multiwalled carbon nanotube ionic liquid electrode, **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 11, p. 1217-1222, 2014.

88 CASELLA, I.G.; CONTURSI, M. Highly dispersed rhodium particles on multi-walled carbon nanotubes for the electrochemical reduction of nitrate and nitrite ions in acid medium. **Electrochimica Acta**, v. 138, p. 447-453, 2014.

89 FISCHER, R.B.; PETERS, D.G. **Chemical Equilibrium**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1970.

90 SILVA, R.A.B.; MONTES, R.H.O.; RICHTER, E.M.; MUNOZ, R.A.A. Rapid and selective determination of hydrogen peroxide residues in milk by batch injection analysis with amperometric detection. **Food Chemistry**, v. 133, p. 200-204, 2012.

91 MILLER, J.N.; MILLER, J.C. **Estadística y quimiometría para Química Analítica**. Madrid: Prendice Hall. 4^a Ed., 2002.

92 CINTI, S.; ARDUINI, F.; VELLUCCI, G.; CACCIOTTI, I.; NANNI, F.; MOSCONE, D. Carbon black assisted tailoring of Prussian Blue nanoparticles to tune sensitivity and detection limit towards H_2O_2 by using screen-printed electrode. **Electrochemistry Communications**, v. 47, p. 63-66, 2014.

93 PANDEY, P.C.; PANDAY, D. Tetrahydrofuran and hydrogen peroxide mediated conversion of potassium hexacyanoferrate into Prussian blue nanoparticles: Application to hydrogen peroxide sensing. **Electrochimica Acta**, v. 190, p. 758-765, 2016.

94 BAIONI, A.P.; VIDOTTI, M.; FIORITO, P.A.; TORRESI, S.I.C. Copper hexacyanoferrate nanoparticles modified electrodes: A versatile tool for biosensors. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 622, p. 219-224, 2008.

95 ITAYA, K.; UCHIDA, I. Electrochemistry of polynuclear transition metal cyanides: prussian blue and its analogues. **Accounts of Chemical Research**, v. 19, p. 162-168, 1986.

96 MALIK, M.A.; MIECZNIKOWSKI, K.; KULESZA, K.J. Quartz crystal microbalance monitoring of mass transport during redox processes of cyanometallate modified electrodes: complex charge transport in nickel hexacyanoferrate films. **Electrochimica Acta**, v. 45, p. 3777-3784, 2000.

97 BÁCSKAI, J.; MARTINUSZ, K.; CZIRÓK, E.; INZELT, G.; KULESZA, P.J.; MALIK, M.A. Polynuclear nickel hexacyanoferrates: monitoring of film growth and hydrated counter-cation flux/storage during redox reactions. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 385, p. 241-248, 1995.

98 CARPANI, I.; GIORGETTI, M.; BERRETTONI, M.; BULDINI, P.L.;GAZZANO, M.; TONELLI, D. A new approach for the synthesis of K⁺-free nickel hexacyanoferrate. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 179, p. 3981-3988, 2006.

99 PRABAKAR, S.J.R.; NARAYANAN, S.S. Amperometric determination of hydrazine using a surface modified nickel hexacyanoferrate graphite electrode fabricated following a new approach. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 617, 111-120, 2008.

100 FU, T. A room temperature ammonia sensor based on nanosized copper hexacyanoferrate(II). **Sensors and Actuators B**, v. 212, p. 487-494, 2015.

101 SILVA, R.A.B.; MONTES, R.H.O.; MUNOZ, R.A.A.; RICHTER, E.M. Determinação de peróxido de hidrogênio em antisséptico bucal usando um microdispositivo contendo partículas de azul da Prússia. **Química Nova**, v. 34, p. 987-991, 2011.