

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

**INSTITUTO DE QUÍMICA
CAMPUS DE ARARAQUARA**



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA.

**“CONSTRUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E
APLICAÇÕES DE ELETRODOS MODIFICADOS
POR POLI-L-LISINA E NANOELETRODOS NA
ANÁLISE DE ALGUNS COMPOSTOS
FARMACÊUTICOS”.**

ALUNO: FRANCISCO CLAUDECE PEREIRA.

**Tese de Doutorado apresentada ao
Instituto de Química de Araraquara,
para obtenção do Título de Doutor
em Química.**

**ORIENTADORA:
Profa. Dra. MARIA VALNICE BOLDRIN ZANONI.**

2003.

COMISSÃO EXAMINADORA.

Profa. Dra. Maria Valnice Boldrin Zanoni.

Universidade Estadual Paulista – UNESP.

Instituto de Química de Araraquara – São Paulo.

(ORIENTADORA)

Prof. Dr. Vicente Assis Benedetti.

Universidade Estadual Paulista – UNESP.

Instituto de Química de Araraquara – São Paulo.

Prof. Dr. Mauro Bertotti.

Universidade de São Paulo

Instituto de Química - USP/São Paulo.

Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota.

Universidade de Campinas.

Instituto de Química – UNICAMP / São Paulo.

Prof. Dr. Sergio Antonio Spinola Machado.

Universidade de São Paulo.

Instituto de Química de São Carlos – USP/SC.

I. - DADOS CURRICULARES.

I.1 - DADOS PESSOAIS.

I.1.1 - NOME: Francisco Claudece Pereira.

I.1.2 - DATA DE NASCIMENTO: 12 de abril de 1961.

I.1.3 - NATURALIDADE: Palmácia - Ceará.

I.1.4 - NACIONALIDADE: Brasileiro.

I.1.5 - FILIAÇÃO: Antonio Claudio Pereira e
Francisca Juraci Martins Pereira.

I.1.6 - PROFISSÃO: Professor.

I.1.7 - ENDEREÇO RESIDENCIAL: Rua Ipiranga, 2124

Conj. São Francisco I

Bairro: Pio Saraiva

Fortaleza – Ceará

C.E.P. 60.352-780.

Telefone: (0xx85) 237-80-65.

E-mail: fc2001@terra.com.br

II. - FORMAÇÃO ACADÊMICA.

II.1 - GRADUAÇÃO:

II.1.1 - Curso de Licenciatura Curta em Ciências: concluído na Universidade Estadual do Ceará - UECE.

II.1.2 - Curso de Licenciatura Plena em Ciências com Habilitação em Química: concluído na Universidade Estadual do Ceará - UECE.

II. 2 - PÓS-GRADUAÇÃO.

II. 2.1 - MESTRADO EM QUÍMICA.

Curso de Pós-Graduação em Química, área de Concentração: Química Analítica no Instituto de Química de Araraquara - Universidade Estadual Paulista –UNESP, concluído em 13/10/1999.

II. 2.2 – DOUTORADO EM QUÍMICA.

Curso de Pós-Graduação em Química, área de Concentração: Química Analítica no Instituto de Química de Araraquara - Universidade Estadual Paulista –UNESP, concluído em 20/08/2003.

III- TRABALHOS APRESENTADOS E PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSOS.

III.1 - Francisco Claudece Pereira e Maria Valnice B. Zanoni, ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE CEFACLOX E POLIAMINOÁCIDO SOBRE ELETRODO DE CARBONO PIROLÍTICO MODIFICADO COM PLL. XII SIBEE, 22 a 26 de abril de 2001, Gramado – RS.

III.2 - Francisco Claudece Pereira e Maria Valnice B. Zanoni, MODIFICAÇÃO DE ELETRODO COM PLL, 24^a RASBQ, 28 a 31 de maio de 2001, Poços de Caldas – MG, (apresentação oral).

III.3 - Francisco Claudece Pereira e Maria Valnice B. Zanoni, DETERMINAÇÃO DE CROMOGLICATO COM ELETRODO MODIFICADO COM POLIAMINOÁCIDO, XI ENQA, 18 a 21 de setembro de 2001, Campinas – SP.

III.4 - Francisco Claudece Pereira e Maria Valnice B. Zanoni, REDUÇÃO DE NITROPRUSSATO DE SÓDIO EM ELETRODO DE CARBONO VÍTREO. XIII Encontro Regional de Química da SBQ Regional ARPSC, 21 a 26 de outubro de 2001, Araraquara – São Paulo.

III.5 - Francisco Claudece Pereira, Erwing Paiva Bergamo e Maria Valnice Boldrin Zanoni. AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DO ELETRODO DE CARBONO

VÍTREO MODIFICADO COM POLI-L-LISINA E GLUTARALDEÍDO. 25^a RASBQ, 20 a 23 de maio de 2002, Poços de Caldas – MG.

III.6 - Francisco C. Pereira, Erwing P. Bergamo e Maria V. B. Zaroni. APLICAÇÃO DE UM ELETRODO MODIFICADO COM POLI-L-LISINA NA DETERMINAÇÃO DE NITROPRUSSIATO DE SÓDIO. XV. Congresso da Sociedade Ibero-Americana de Electroquímica – SIBAE 08 a 13 de setembro de 2002 em Évora – Portugal.

III.7 - Elaine Renata de Castro Viana (PG), Francisco Claudece Pereira (PG) e Maria Valnice Boldrin Zaroni (PQ), "DETERMINAÇÃO DO CORANTE CIBACRON BLUE F3GA EM ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM FILME DE POLI-L-LISINA", Congresso da Sociedade Ibero-Americana de Electroquímica – SIBAE, 08 a 13 de setembro de 2002 em Évora – Portugal.

III.8 - Erwing P. Bergamo (PG), Francisco C. Pereira (PG) e Maria V. B. Zaroni (PQ), "DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE UM ELETRODO MODIFICADO COM POLI-L-LISINA PARA ELETROANÁLISE DE IDOXURIDINE", XIII SIBEE, 02 a 6 de dezembro de 2002, Araraquara SP.

III.9 - Paolo Ugo, Francisco C. Pereira, Maria V. B. Zaroni, Ligia M. Moretto. "ELECTROCHEMICAL SENSORS BASED ON THE INTERFACING OF NANO-ELECTRODES ENSEMBLES WITH CHEMICAL RECOGNITION ELEMENTS", 203rd Meeting of The Electrochemical Society, 27/04 a 03/05/2003 – Paris, FRANÇA.

III.10 - P. Ugo, F.C. Pereira, S. Polizzi, L.M. Moretto, A. Benedetti, M.V. Boldrin, "TEMPLATE SYNTHESIS OF GOLD NANOFIBERS AND NANO-ELECTRODES" Nanoscience and Nanotechnology, 18 a 21 de maio/2003, Groningen, HOLANDA.

IV. - TRABALHOS PUBLICADOS NO PERÍODO.

IV.1 - ELECTROCHEMICAL REDUCTION and CATHODIC STRIPPING VOLTAMMETRIC DETERMINATION of CLOTRIMAZOLE. Francisco C. Pereira,

Nelson R. Stradiotto and Maria Valnice B. Zanoni, **J. Braz. Chem. Soc.**, (2001), 12(2), p. 202-207.

IV.2 - LIPOPHYLLIC ANTIOXIDANTS from *IRYANTHERA JURUENSIS FRUITS*, Dulce, H.S. Silva, Francisco C. Pereira, Maria Valnice B. Zanoni, Massayoshi Yoshida, **Phytochemistry**, (2001), 57, pg. 437-442.

IV.3 - DIFFERENTIAL PULSE POLAROGRAPHIC DETERMINATION OF CLOTRIMAZOLE AFTER DERIVATIZATION WITH PROCION RED HE-3B. F. C. Pereira, M. V. B. Zanoni, C. C. I. Guaratini and A. G. Fogg, **J. Pharm. Biomed. Anal.**, (2002), 27(1-2), p.201-208.

IV.4 - VOLTAMMETRIC CHARACTERISTIC of MICONAZOLE and its CATHODIC STRIPPING VOLTAMMETRIC DETERMINATION. Francisco C. Pereira, Nelson R. Stradiotto and Maria Valnice B. Zanoni, **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, (2002) 74(3), p. 425-432.

IV.5 - REGENERATION OF POLY-L-LYSINE MODIFIED GLASSY CARBON ELECTRODES IN THE ACCUMULATION AND CATHODIC STRIPPING VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF THE CROMOGLYCATE ANION. F.C. Pereira, M.V.B. Zanoni, and A.G. Fogg, **Talanta**, (2003), 60, p. 1023-1032.

AGRADECIMENTOS.

A DEUS.

A este mundo vimos com uma missão: aprender, evoluir e nos aperfeiçoar. Em nossa trajetória conhecemos o bem e o mal e devemos pedir lucidez para discernir entre ambos. Os percalços, as dificuldades e os sofrimentos que passamos são as provas na vida que devemos ser submetidos para formarmos nosso juízo e valores pessoais. Sempre seremos eternos aprendizes! Obrigado pela direção, luz e encaminhamento em minha vida.

A AMIGA E ORIENTADORA VALNICE.

Hoje meus horizontes são mais longínquos em relação ao alcance visual que eu possuía quando, acertadamente, resolvi trabalhar com você. Deus abençoe sua família e seu trabalho.

AO AMIGO E DOUTOR ERWING PAIVA BERGAMO.

Meu respeito e admiração a sua competência e profissionalismo, que tanto me ajudaram no desenvolvimento deste trabalho. Sua contribuição foi de grande valia e inestimável.

AOS PROFESSORES PAOLO UGO E LIGIA MORETTO.

Pela grande ajuda e amizade durante o desenvolvimento do estágio na cidade de Veneza-Itália.

AO AMIGO E ETERNO MESTRE ROUQUAYROL.

Minha gratidão ao eterno mestre Rouquayrol pela sapiência e os votos de confiança ao longo desta trajetória.

A ZÉLIA.

A companheira Zélia pela força e presença nos momentos das dificuldades, além de compreender a minha constante ausência devido os compromissos assumidos.

AO AMIGO E IRMÃO ERIDAN.

Pela força e por acreditar na minha capacidade. Pelas palavras de conforto e incentivos.

AOS(AS) AMIGOS(AS) MARCIA, SULENE, RONI e ELAINE.

Pela verdadeira amizade em relação a minha pessoa e a Zélia; pela compreensão e dedicação.

AOS PROFESSORES DA MINHA QUERIDA U E C E.

AIRTON MARQUES, CLAUDIO COUTO, JADIR JUCÁ e a todo o Departamento de Química, pela força, apoio financeiro e moral.

AS AMIGAS DO SPG, DO POSTO FAPESP E DA BIBLIOTECA.

IZOLINA, SANDRA, VILMA, ROSE, MARLI, VALERIA e Cia Ltda pelos sorrisos e as mãos sempre estendidas no intuito de ajudar.

AOS PROFESSORES DO DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA.

Pela saudável convivência e lições profissionais.

A FAPESP E A CAPES.

A FAPESP pelo suporte financeiro para a realização deste trabalho e a CAPES pela realização do estágio na Itália que possibilitou conhecer novas experiências.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO.

A formação de filmes do poliaminoácido poli-L-lisina, (PLL), foi investigada sobre eletrodo de carbono de duas formas distintas: pela sua imobilização direta na superfície do eletrodo obtido pela deposição de 10 μL de uma alíquota seguido de secagem a 80°C em estufa e com a utilização do agente de ligação cruzada Glutaraldeído.

Filmes de PLL sobre eletrodo de carbono pirolítico apresentaram-se suficientemente estáveis para pré-concentração do fármaco antiasmático cromoglicato disódico com máxima interação em valor de pH 4,0. Utilizando-se filmes do poliaminoácido obtido com soluções a 1,0% m/v de PLL foi possível estabelecer uma curva analítica para monitoramento do composto em valores de concentração entre $2,18 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $3,29 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de detecção de $2,1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. A aplicação do procedimento proposto foi realizada para a determinação da droga em urina humana segundo o método de adições-padrão apresentando índices de recuperação de 99,8%, compatível com valores obtidos em procedimentos espectrofotométricos.

O nitroprussiato de sódio pode ser monitorado voltametricamente com filmes de PLL imobilizados na superfície do eletrodo de carbono vítreo com auxílio do agente de ligação cruzada Glutaraldeído. O fármaco é pré-concentrado na superfície modificada e exibe maior amplificação de corrente em valor de pH 4,0. Utilizando as melhores condições analíticas, uma curva de calibração foi obtida no intervalo de concentração de $1,21 \times 10^{-6}$ a $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de determinação igual a $4,62 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. A aplicação da metodologia foi conduzida para a determinação de NIPRIDE® em plasma e urina humana apresentando índices de recuperação de 95,0% e 96,2%, concordante com resultados obtidos por ensaios espectrofotométricos.

A investigação sobre o comportamento voltamétrico do iodeto de potássio com eletrodo modificado com PLL:GA mostrou que o haleto é pré-concentrado e oxidado na membrana polimérica com formação de um complexo molecular entre PLL e iodo, que é mantido na superfície promovendo a geração de outras espécies complexas com o iodeto em solução. A corrente de pico anódica é sensivelmente amplificada na presença do poliaminoácido, mostrando linearidade entre sinal e concentração no intervalo de $1,29 \times 10^{-5}$ a $6,93 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de detecção de $6,02 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. A aplicação da

metodologia foi conduzida em formulações farmacêuticas comerciais, mostrando altos valores de concordância entre o método proposto e as informações prestadas pelos laboratórios fabricantes das formulações analisadas, bem como com metodologia espectrofotométrica utilizada para validação do método proposto para quantificação de iodeto com o eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL.

O antiviral idoxuridine pode ser monitorado com eletrodo modificado com o polímero PLL:GA pelo pico de oxidação do iodeto liberado após clivagem eletroquímica da ligação iodo-base nitrogenada, possibilitando sua quantificação em valores de concentração de 0,300 a $7,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. A metodologia proposta foi aplicada na análise de urina humana apresentando índices de recuperação de 99,5% e concordância com método espectrofotométrico.

A construção de arranjos de nanoeletrodos foi investigada sobre membranas de policarbonato utilizadas como matriz hospedeira para suportar nano fios de ouro metálico depositados através de procedimentos químicos de redução de íons Au⁺.

As etapas de caracterização morfológica mostraram características importantes dos nano discos construídos nas referidas membranas e seus perfis foram analisados por meio de técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e de transmissão (MET). As respostas espectrofotométricas mostraram que é possível investigar o comportamento dos nano cilindros na região do espectro visível utilizando as suspensões estáveis obtidas após dissolução das matrizes hospedeiras em diclorometano.

Por fim, aplicou-se os arranjos de nanoeletrodos para estudar a possibilidade de estabelecer novo método analítico para o monitoramento e determinação de iodeto em formulações farmacêuticas. Sobre nano estruturas, iodeto é oxidado em potenciais ao redor de +0,60 V em ácido sulfúrico $5,00 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ (apresentando controle difusional). Correlação entre densidade de corrente para o pico anódico e concentração para iodeto foi observado no intervalo entre $5,00 \times 10^{-7}$ a $4,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e limite de detecção de $2,41 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. A aplicação dos arranjos de nanoeletrodos foi realizada em formulações farmacêuticas comercializadas na Itália obtendo valores de correlação entre 98,0 a 99,0%.

ABSTRACT

The formation of polyelectrolyte film, poly-l-lysina (PLL), was investigated using carbon electrode in two distinct manners: by direct surface immobilization of the electrode obtained by depositing 10 μL of aliquot followed by heating at 80°C ; and with the use of a cross linking agent, glutaraldehyde.

PLL films subjected to pyrolytic carbon electrode presented themselves as sufficiently stable for the pre-concentrated anti-asthmatic pharmaceutical disodium cromoglicate with a maximum interaction value of pH 4.0. Using polyelectrolyte films, obtained with solutions of PLL 1.00 %m/v it was possible to establish an analytic curve for monitoring the composition in varying levels of concentration, between $2.18 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ – $3.29 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ and a detection limit of $2.1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. The proposed application procedure was realized for drug determination in human urine followed by the method of standard additions presenting indexes of recovery, 99.8%, compatible with values obtained by spectrophotometric procedures.

The sodium nitroprusside can be monitored voltammetrically with PLL films, immobilized on the surface of a glassy carbon electrode with the assistance of the bonding agent glutaraldehyde. The pharmaceutical is pre-concentrated on the modified surface and exhibited larger current amplification at pH 4.0. Using the best analytic conditions, the calibration curve was obtained at the concentration interval of 1.21×10^{-6} to $2.06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, and a determination limit equal to $4.62 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. The application of this methodology was used to determine NIPRIDE[®] in plasma and human urine presenting levels of recovery of 95.0% and 96.2%, which agree with the results achieved by spectrophotometric tests.

The study of the voltammetric behavior of potassium iodide with a modified electrode with PLL:GA showed that halogenate is pre-concentrated and oxidized on the polymeric membrane with the formation of the complex molecule between PLL and iodine, that is maintained on the surface promoting generation of other complex species with the iodide solution. The peak anodic current is sensibly amplified in the presence of the polyamine acid, revealing a leveling between the signal and concentration at the interval of 1.29×10^{-5} to $6.93 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ and the detection limit of $6.02 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. The applied methodology was conducted with commercial pharmaceutical formulations showing high levels of agreement between the proposed

method, and with information submitted by the manufacturer's laboratories for the analyzed, as with spectrophotometer methods used for the validation of the proposed method for the quantification of the iodide followed by modified glassy carbon electrode with PLL film.

The idoxuridine can be monitored with a polymer modified electrode PLL:GA by the oxidation peak of iodide released after electrochemical cleaving of the iodine nitrogen basic allowing concentrate quantification values of 0.300 to 7.00($\times 10^{-4}$) mol L⁻¹. The proposed applied methodology was done on human urine presented recovery levels of 99.5% and concurred with the spectrophotometric method.

The construction of nano-electrode "ensembles" was investigated on polycarbonate membranes utilized as standard hosts to support the nano wire of metallic gold deposits using chemical reduction procedures of the Au⁺ ions of the gold element.

The morphological characterization steps revealed important characteristics of the nano disks constructed on the referred membranes and their profiles were analyzed by techniques such as electronic surface sweeping (SEM) and electronic transmission (TEM). The spectrophotometric responses revealed that it is possible to investigate the behavior of the nano cylinders in the region of the visible spectrum utilizing the stable suspensions obtained after diluting the standard host materials in dichloromethane.

Finally, the nano electrode ensembles were applied to study the possibility of establishing a new analytical method for the monitoring and determination of iodide in pharmaceutical formulations. Under the nano structures, the iodide is oxidized in potential around +0.6V in sulfuric acid 5.00 $\times 10^{-1}$ mol L⁻¹ revealing behavior diffusion. Correlation between current densities for the anodic peak and iodide concentration was observed in intervals of 5.00 $\times 10^{-7}$ to 4.00 $\times 10^{-5}$ mol L⁻¹ and the detection limit of 2.41 $\times 10^{-7}$ mol L⁻¹. The application of nano electrode arrangements was realized in Italian commercialized pharmaceutical obtaining correlation values of 98.0 to 99.0%.

ÍNDICE GERAL

PARTE “A”.

CAPÍTULO 1.	1
1.0 - INTRODUÇÃO.	1
1.1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.	1
1.2 - ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS (EQM).	3
1.3 - ELETRODOS MODIFICADOS COM POLI AMINOÁCIDOS.	5
1.4 - POLI - L - LISINA.	8
1.5 - INTERAÇÃO ENTRE ALGUNS COMPOSTOS FARMACÊUTICOS E POLIAMINOÁCIDOS.	10
1.6 – CROMOGLICATO DISÓDICO (CGDS).	12
1.6.1 – CARACTERÍSTICAS GERAIS.	12
1.7 - NITROPRUSSIATO (NP).	15
1.7.1 – CARACTERÍSTICAS GERAIS.	15
1.8 – IODETO DE POTÁSSIO.	23
1.9 – IDOXURIDINE.	27
1.10 - OBJETIVO.	31
 CAPÍTULO 2.	 31
2.0 - PARTE EXPERIMENTAL.	32
2.1 - EQUIPAMENTOS.	32

2.2 – REAGENTES E MATERIAL.	32
2.3 – LIMPEZA E INCORPORAÇÃO DE PLL AO ELETRODO.	33
2.3.1 – SEM GLUTARALDEÍDO.	33
2.3.2 - COM GLUTARALDEÍDO.	34
2.4. - TRATAMENTO DAS AMOSTRAS EM FLUIDOS BIOLÓGICOS.	34
2.4.1- PLASMA.	34
2.4.2 – URINA.	34
2.5 – FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS ANALISADAS NO PRESENTE TRABALHO.	35
 CAPÍTULO 3.	 36
3.0 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.	36
3.1 – CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE FILMES DE POLI- L-LISINA.	35
3.1.1 – CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA.	36
3.2 – APLICAÇÃO DO ELETRODO DE CARBONO PIROLÍTICO MODIFICADO COM PLL NA ANÁLISE DE CROMOGLICATO DISÓDICO.	49
3.2.1 – CURVA ANALÍTICA E DETERMINAÇÃO DE CGDS EM URINA HUMANA.	59
3.3 – ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM FILMES DE POLI-L-LISINA:GLUTARALDEÍDO.	65
3.3.1 – GLUTARALDEÍDO.	65

3.3.2 – INCORPORAÇÃO DE ANIONS $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ NO ELETRODO MODIFICADO COM POLI-L-LISINA:GLUTARALDEÍDO VIA IMERSÃO (“DIPPING”).	75
3.4 – APLICAÇÃO DE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO POR FILMES DE PLL:GA NA DETERMINAÇÃO DE NITROPRUSSIATO DE SÓDIO.	81
3.4.1 – CARACTERIZAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE NP SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO.	81
3.4.2 – REDUÇÃO VOLTAMÉTRICA DE NP SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM FILMES DE PLL:GA.	89
3.4.3 – DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DE NP.	99
3.4.4 – APLICAÇÃO DO MÉTODO EM FLUIDOS BIOLÓGICOS.	100
3.4.4.1 – PLASMA SANGUÍNEO.	100
3.4.4.2 – URINA HUMANA.	102
3.4.5 – APLICAÇÃO DO MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DE NITROPRUSSIATO DE SÓDIO EM PLASMA E URINA HUMANA.	103
3.4.5.1 - PLASMA.	103
3.4.5.2 – URINA.	105
3.5 – OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DE ÍON IODETO EM MEIO AQUOSO SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO.	107
3.5.1 – OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DE IODETO SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO POR FILMES DE PLL:GA.	111
3.5.2 – CURVA ANALÍTICA E DETERMINAÇÃO DE IODETO.	122

3.5.3 – EFEITOS DOS INTERFERENTES.	123
3.5.4 – APLICAÇÃO DO MÉTODO.	126
3.6 – COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO DE IDOXURIDINE SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO POR FILMES DE PLL:GA.	130
3.6.1 – EFEITO DA APLICAÇÃO DE POTENCIAL DE ACÚMULO.	134
3.6.2 – EFEITO DA VARIAÇÃO DE PH.	136
3.6.3 – CURVA ANALÍTICA E DETERMINAÇÃO DE IDU EM URINA HUMANA.	141
4.0 - CONCLUSÕES.	148
ESTUDOS FUTUROS.	149
REFERENCIAS PARTE “A”.	205
ÍNDICE DAS FIGURAS.	
<u>PARTE A.</u>	
CAPÍTULO 1.	1
Figura 1: Estrutura molecular do Cromoglicato Disódico.	12
Figura 2: Fórmula estrutural do Idoxuridine.	28
CAPÍTULO 3.	36

Figura 3: Micrografias de varredura de superfície obtidas de filmes de PLL:(A): secagem a 80 °C em estufa e (B): seco a temperatura ambiente.

36

Figura 4A: Voltamogramas cíclicos da redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 com eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL. (B): $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ com eletrodo de carbono vítreo sem filmes de PLL. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

37

Figura 5: Voltamogramas de varredura sucessiva de potencial, (10 ciclos), para redução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto em solução de KNO_3 sobre eletrodo de carbono vítreo revestido com PLL. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

39

Figura 6: Voltamogramas cíclicos para redução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto sobre eletrodo de carbono vítreo com PLL (curva a) e sem PLL (curva 2). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

40

Figura 7A: Voltamograma cíclico para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em KNO_3 sobre eletrodo de ouro polido. (B): Voltamogramas cíclicos com varredura sucessiva de potencial (10 ciclos) para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto sobre eletrodo de ouro modificado com PLL. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

41

Figura 8B: Voltamograma cíclico para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto em KNO_3 sobre eletrodo de platina sem filme. (A): Voltamogramas cíclicos de varredura sucessiva de potencial (10 ciclos) para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em KNO_3 com eletrodo de platina modificado com PLL. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

42

Figura 9A: Voltamograma cíclico para redução de $3,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto em solução de KNO_3 com eletrodo de carbono espectroscópico sem PLL. (B): Voltamogramas cíclicos registrados sucessivamente, (50 ciclos) para a redução de $3,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto em solução de KNO_3 com eletrodo de carbono espectroscópico modificado com PLL (1,00% m/v). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

44

- Figura 10 A: Voltamograma cíclico registrado para eletrodo de carbono espectroscópico modificado com PLL (1,00% m/v) obtido somente em KNO_3 após alcance do estado de saturação em $3,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$. (B): Efeito dos registros voltamétricos obtidos em função do tempo sobre o sinal do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ incorporado no eletrodo modificado com PLL em solução contendo somente o eletrólito. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 45
- Figura 11B: Voltamograma cíclico para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em solução KNO_3 com eletrodo de carbono pirolítico. (A): Voltamogramas cíclicos para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ sobre eletrodo de carbono pirolítico modificado com PLL. Curvas em 1 ciclagem de potencial (10 ciclos) em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ e 2 transferência do eletrodo carregado de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ para o eletrólito de suporte. 46
- $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.
- Figura 12: Voltamogramas cíclicos de varredura sucessiva de potencial (20 ciclos) para redução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em KNO_3 com eletrodo de grafite pirolítico pré-lixado e modificado com PLL. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 47
- Figura 13: Voltamogramas cíclicos consecutivos (30 ciclos) obtidos em KNO_3 após incorporação em $1,00 \times 10^{-4}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 48
- Figura 14: Voltamogramas cíclicos obtidos para redução de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em B-R pH 4,0, sobre eletrodo de carbono pirolítico com (curva 2) e sem (curva 1) PLL. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 49

- Figura 15: Efeito do pH sobre o potencial de redução de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS. Curva “A” sem PLL e “B” com PLL. 50
- Figura 16A: Voltamogramas de varredura linear para redução de CGDS sobre eletrodo de carbono vítreo sem PLL em B-R pH 4,0. Curvas (1-5) adições sucessivas de $5,47 \times 10^{-5}$; $1,09 \times 10^{-4}$; $2,19 \times 10^{-4}$; $4,38 \times 10^{-4}$ e $5,47 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS, respectivamente. (B): Regressão linear dos dados extraídos de (A). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 51
- Figura 17: Voltamogramas cíclicos obtidos para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em B-R pH 4,0 sobre eletrodo de carbono pirolítico sem PLL. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 52
- Figura 18: Efeito do pH da solução sobre a corrente de redução de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS. Curva 1 com PLL e 2 sem PLL. 53
- Figura 19: Voltamogramas cíclicos com varreduras consecutivas realizadas para redução de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em B-R pH 4,0, sobre eletrodo de carbono pirolítico modificado com PLL. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 55
- Figura 20: Efeito da composição do eletrólito usado na lavagem do filme de PLL sobre o sinal de $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em B-R pH 4,0. Curvas: 1 H_2O ; 2 KCl ($3,00 \text{ mol L}^{-1}$); 3 KNO_3 ($3,00 \text{ mol L}^{-1}$) e 4 NaOH ($3,00 \text{ mol L}^{-1}$), respectivamente. 56
- Figura 21: Efeito da concentração de CGDS sobre a corrente de pico do eletrodo de carbono pirolítico modificado por PLL e submetido a lavagem com NaOH ($3,00 \text{ mol L}^{-1}$) entre cada voltamograma. 57
- Figura 22: Relação entre a corrente de pico de redução obtido de $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em B-R pH 4,0 e a raiz quadrada da velocidade de varredura sob eletrodo modificado com PLL em solução de CGDS na célula eletroquímica com lavagens com NaOH entre as medidas. 58

Figura 23: Efeito da concentração de PLL sobre o sinal voltamétrico registrado para redução de $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em B-R pH 4,0, sobre eletrodo de carbono pirolítico modificado com PLL em concentração de: curvas 1 (1,00%); 2 (0,500%); 3 (0,100%) e 4 (0,050)% (m/v) de PLL. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 59

Figura 24A: Voltamogramas de varredura linear obtidos para a redução de CGDS sobre eletrodo de carbono pirolítico modificado com filmes de PLL (1,00% m/v). Curvas (1) $8,76 \times 10^{-7}$; (2) $2,19 \times 10^{-6}$ e (3) $3,28 \times 10^{-6} \text{ (mol L}^{-1})$ em B-R pH 4,0, respectivamente, sem lavagem intermediária do eletrodo. (B): Curva analítica obtida dos respectivos voltamogramas. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 60

Figura 25: Voltamogramas de varredura linear obtidos para redução de $5,51 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em urina (curva 1). Adições de $8,20 \times 10^{-7}$ e $2,19 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do padrão, (curvas 2 e 3), respectivamente em B-R pH 4,0. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 61

Figura 26A: Espectros de absorção na região UV para CGDS em concentração de: curvas (1) 1,16; (2) 2,30; (3) 3,48; (4) 4,60; (5) 5,80 e (6) 6,90 ($\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), respectivamente. (B): curva analítica para CGDS obtida dos espectros de (A) do fármaco em $\lambda = 328 \text{ nm}$. 62

Figura 27A: Espectros de absorção UV em urina contaminada por CGDS em : curva (1) $1,45 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e após adições do padrão, em concentrações de (2) 2,90; (3) 4,35; (4) 5,80 e (5) 7,25 ($\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). (B): método das adições do padrão de CGDS. 63

Figura 28A: Espectros de UV de solução de GA. Curvas: (1) $3,30 \times 10^{-2} \% \text{ m/m}$; (2) $5,00 \times 10^{-2} \% \text{ m/m}$; (3) $6,60 \times 10^{-2} \% \text{ m/m}$ e (4) $8,30 \times 10^{-2} \% \text{ m/m}$ em B-R pH 7,0. (B): Espectros de UV para solução de PLL em B-R pH 7,0. Curva: (1) $3,00 \times 10^{-2} \text{ m/v}$; (2) $6,00 \times 10^{-2} \text{ m/v}$ e (3) $1,00 \times 10^{-1} \% \text{ m/v}$. (C): Misturas de soluções de GA:PLL em B-R pH 7,0. Curvas: (1) $3,30 \times 10^{-2} \% \text{ m/m}$ de GA com adições de PLL: curvas: (2) 0,60; (3) 1,30; (4) 2,00; (5) 2,60 e (6) $3,30 (\times 10^{-2} \% \text{ m/m})$. 67

Figura 29: Voltamogramas cíclicos repetitivos para redução do filme de PLL (50,0%):GA (50,0% m/m) imobilizado sobre eletrodo de carbono vítreo em solução acetato pH 5,6. Curvas: 1 primeira varredura; 2 segunda varredura e 3 terceira varredura. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 68

Figura 30: Voltamogramas cíclicos obtidos para eletrodo de carbono vítreo recoberto por filmes de PLL(50,0%):GA(50,0% m/m) em solução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em tampão acetato pH 5,6; (60 ciclos). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 69

Figura 31: Voltamograma cíclico obtido para o eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA (50,0%:50,0% m/m) em solução acetato pH 5,6 após ciclagem de potencial na presença de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 70

Figura 32: Voltamogramas cíclicos obtidos para eletrodo modificado com filmes de PLL:GA nas seguintes composições: (A) PLL(75,0%):GA(25,0%); (B) PLL(95,0%):GA(5,00%) e (C) PLL(97,5%):GA(2,50%) m/m em solução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em tampão acetato pH 5,6 (60 ciclos). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 71

Figura 33: Efeito da composição do filme de PLL e GA na corrente de pico resultante (60 ciclos) da redução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6 após ciclagem de potencial na presença do analito. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 72

Figura 34: Efeito da velocidade de varredura de potencial e composição dos filmes de PLL:GA sobre o sinal de redução e re-oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6 após incorporação eletroquímica, (60 ciclos) e leituras somente em solução tampão acetato pH 5,6. Curvas: (1) PLL(50,0%):GA (50,0%); (2) PLL(75,0%):GA (25,0%); (3) PLL(95,0%):GA (5,00%) e (4) PLL(97,5%):GA(2,50%) m/m. 73

Figura 35: Voltamogramas cíclicos obtidos para eletrodo de carbono vítreo recoberto por filmes de PLL(50,0%):GA(50,0% m/m) em tampão acetato pH 5,6 após incorporação durante: Curvas: (1) 10; (2) 20; (3) 30 e (4) 40 (min) de imersão em $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 76

Figura 36A: Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de carbono vítreo recoberto com filmes de PLL:GA (75,0%:25,0% m/m); obtido após imersão em um becker contendo $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6 (B): PLL:GA (95,0%:5,00% m/m): e (C): PLL:GA (97,5%:2,50% m/m). Curvas: (1) 10min; (2) 20 min; (3) 30 min e (4) 40 min. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 77

Figura 37: Efeito da composição do filme de PLL:GA submetido à incorporação em solução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ durante 40 min em um becker em tampão acetato pH 5,6. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 78

Figura 38A: Voltamogramas cíclicos obtidos sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA (97,5%:2,50% m/m) imerso por 5 min sob agitação em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6 em concentrações de: Curvas: (1) 0,700; (2) 1,00; (3) 1,50; (4) 2,00; (5) 2,50; (6) 3,00; (7) 3,50; (8) 4,00; (9) 5,00; (10) 6,00; (11) 7,00; (12) 8,00; (13) 9,00; (14) 10,0 ($\mu\text{mol L}^{-1}$). (B): Respectiva curva analítica obtida da corrente catódica correspondente aos voltamogramas de redução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 79

Figura 39A: Voltamogramas cíclicos para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo: Curvas: (1) eletrólito de suporte e (2) NP. (B): Inversão de potencial relativo a curva (2A). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 81

Figura 40: Voltamogramas cíclicos para redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 2,0 sob eletrodo de carbono vítreo. Curvas: (1) 10; (2) 40; (3) 60 e (4) 200 (mV s^{-1}). 82

Figura 41: Voltamogramas cíclicos para redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 5,0 sobre eletrodo de carbono vítreo. Curva (2) inversão de potencial de (1). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 84

Figura 42A: Voltamogramas cíclicos para redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 8,0 sobre eletrodo de carbono vítreo. Curvas: 1 eletrólito de suporte e 2 NP. (B): Curva (1) inversão de potencial de (2A) e curva (2) inversão de potencial referente ao pico (I). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 85

Figura 43: Voltamogramas cíclicos para velocidade de varredura de potencial sobre a redução voltamétrica de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 8,0 sob eletrodo de carbono vítreo. Curvas: (1) 10; (2) 40 e (3) 60 mV s^{-1} . 85

Figura 44: Voltamogramas cíclicos para redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 12,0 sobre eletrodo de carbono vítreo. (A): curvas: 1 eletrólito de suporte e 2 NP. (1B): inversão de potencial de (A) e (2B): inversão de potencial para o pico (I). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 86

Figura 45: Voltamogramas cíclicos da variação da velocidade de varredura de potencial sobre a redução voltamétrica de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 12,0 sob eletrodo de carbono vítreo. Curvas: (1) 10; (2) 20 e (3) 60 mV s^{-1} . 87

Figura 46A: Voltamogramas cíclicos para redução de NP em B-R pH 4,0 em concentrações de: (1) 0,50; (2) 1,00; (3) 2,50; (4) 3,50 e (5) 4,00 ($\times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). (B): curvas analíticas. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 89

Figura 47: Voltamogramas cíclicos para eletrodo modificado por filmes de PLL:GA para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e NP em B-R pH 2,0. Curvas (1) eletrólito de suporte e (2) NP. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 90

Figura 48A: Voltamogramas cíclicos com varredura sucessiva de potencial (10 ciclos) para eletrodo modificado por filmes de PLL:GA para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 2,0. (B): Inversão de potencial relativo a pico I: $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 91

Figura 49: Voltamograma cíclico para o eletrodo de carbono vítreo modificado por PLL:GA para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 5,0. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 92

Figura 50: Voltamogramas cíclicos de varredura sucessiva de potencial (10 ciclos) obtidos para o eletrodo de carbono vítreo modificado por PLL:GA para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 5,0. (A): redução dos picos I e II. (B): redução para o pico (I). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 93

Figura 51: Voltamograma cíclico para eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 8,0. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 93

Figura 52A: Voltamogramas cíclicos repetitivos, (10 ciclos) para eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 8,0. Redução para os picos I e II. (B): inversão de potencial para o pico (I). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 94

Figura 53: Voltamograma cíclico para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP com eletrodo com PLL:GA em B-R pH 12,0. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 95

Figura 54: Voltamogramas cíclicos repetitivos (10 ciclos) para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP com eletrodo com PLL:GA em B-R pH 12,0. (A): redução para os picos I e II. (B): Inversão de potencial para o pico I. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 95

Figura 55A: Voltamogramas cíclicos para eletrodo modificado por filmes de PLL:GA obtidos para redução de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em acetato pH 5,6 e transferido para solução de eletrólito suporte em tempo de: Curvas: (1) 1,0; (2) 2,0; (3) 3,0; (4) 4,0; (5) 5,0; (6) 6,0; (7) 7,0 e (8) 8,0 (min) de imersão do eletrodo modificado em um becker contendo NP. (B): Efeito do tempo de imersão sobre a corrente. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 97

Figura 56A: Efeito da velocidade de varredura de potencial sobre os potenciais e (B): correntes de pico obtidos para eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA carregado por 15 s em solução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 4,0. 98

Figura 57A: Efeito da concentração sobre os voltamogramas correspondentes à redução do NP em B-R pH 4,0 sobre eletrodo modificado por filmes de PLL:GA. Curvas: (1) $1,21 \times 10^{-6}$; (2) $2,43 \times 10^{-6}$; (3) $3,64 \times 10^{-6}$; (4); $6,07 \times 10^{-6}$; (5) $8,50 \times 10^{-6}$ e (6) $1,09 \times 10^{-5}$ (mol L^{-1} de NP). (B): Curvas (1) curva analítica para o pico I e (2) (picoII). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 100

Figura 58: Método das adições do padrão para a determinação de NP em plasma sanguíneo contaminado por $3,66 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de NIPRIDE[®] transferido para B-R pH 4,0 e medido com eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA. 101

Figura 59: Método das adições do padrão para a determinação de NP em urina humana contaminado por $3,66 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de NIPRIDE[®] transferido para B-R pH 4,0 e medido com eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA. 102

Figura 60A: Espectros de absorção do produto derivatizado do NP. Curvas (1) 8,30; (2) 16,0; (3) 33,0; (4) 66,0; (5) 100 e (6) 130 ($\mu \text{ mol L}^{-1}$) NP, respectivamente. (B): curva analítica obtida dos espectros em (A). 103

Figura 61A: Espectros de absorção de NP em plasma sanguíneo. Curva (1) 8,30 $\mu \text{ mol L}^{-1}$ de NIPRIDE[®]. Curvas (2)-(5) adições de NP. (B): Dados obtidos dos espectros de (A). 104

Figura 62: Método das adições do padrão de NP sobre o sinal espectrofotométrico obtido de 8,30 $\mu \text{ mol L}^{-1}$ de NIPRIDE[®] em urina humana. 105

Figura 63: Voltamogramas cíclicos para a oxidação de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em B-R sobre eletrodo de carbono vítreo. Curvas: (1) eletrólito de suporte (pH 2,0); (2) pH 2,0 e (3) pH 12,0. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 107

Figura 64A: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio (KI) em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo. Curvas: (1) 10; (2) 50; (3) 100; (4) 160 e (5) 200 mV s^{-1} . 109
(B): Relação de i_{pa} vs $\nu^{1/2}$.

Figura 65A: Voltamogramas cíclicos para oxidação de iodeto de potássio em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo em concentração de: (1) $1,50 \times 10^{-4}$; (2) $2,00 \times 10^{-4}$; (3) $3,00 \times 10^{-4}$; (4) $4,00 \times 10^{-4}$; (5) $5,00 \times 10^{-4}$; e (6) $6,00 \times 10^{-4}$ (mol L⁻¹). (B): Respectiva curva analítica. $\nu = 100$ mV s⁻¹. 111

Figura 66: Voltamogramas cíclicos da oxidação de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de iodeto de potássio em tampão B-R sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PL:GA em pH: (1) iodeto em pH 2,0 e (2) iodeto em pH 12,0. $\nu = 100$ mV s⁻¹. 112

Figura 67: Voltamogramas cíclicos obtidos para a oxidação de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de iodeto de potássio em B-R pH 2,0; curvas: (2) eletrodo de carbono vítreo e (1) eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA. $\nu = 100$ mV s⁻¹. 113

Figura 68: Efeito da variação de pH sobre as correntes de pico anódicas observadas para a oxidação de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de iodeto de potássio em B-R. Curva (1) eletrodo com filmes de PLL:GA e (2) eletrodo de carbono vítreo. $\nu = 100$ mV s⁻¹. 114

Figura 69: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de iodeto de potássio (KI) em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA. Curvas: (1) 10; (2) 50; (3) 100; (4) 160 e (5) 200 mV s⁻¹. 115

Figura 70A e B: Efeito da velocidade de varredura de potencial sobre as correntes de pico anódica observado para oxidação de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de iodeto de potássio, (KI), em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por PLL:GA. 116

Figura 71A: Voltamogramas de varredura linear obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de iodeto de potássio, (KI), sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PLL:GA. Tempo prévio de incorporação de 120s. Curvas (1) primeira varredura; (2)-(7) varreduras sucessiva sobre o mesmo filme de PLL:GA carregado com iodeto. (B): Efeito do número de varreduras sucessivas sobre a corrente de pico anódica. $\nu = 100$ mV s⁻¹. 119

Figura 72: Voltamogramas de varredura sucessiva de potencial, (10 ciclos), obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em B-R pH 2,0 sobre eletrodo modificado com PLL:GA. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 119

Figura 73A: Voltamogramas de varredura linear obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio, (KI), sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA, obtidas após incorporação eletroquímica, (10 ciclos). (B): Efeito da varredura sucessiva sobre a corrente. 120

$$\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}.$$

Figura 74A: Voltamogramas de varredura linear obtidos para oxidação de iodeto em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA. Curvas: (1) $1,29 \times 10^{-5}$; (2) $1,81 \times 10^{-5}$; (3) $3,61 \times 10^{-5}$; (4) $5,29 \times 10^{-5}$; (5) $7,10 \times 10^{-5}$; (6) $8,13 \times 10^{-5}$; (7) $9,16 \times 10^{-5}$; (8) $1,08 \times 10^{-4}$; (9) $1,11 \times 10^{-4}$; (10) $1,29 \times 10^{-4}$; (11) $1,39 \times 10^{-4}$; (12) $2,08 \times 10^{-4}$; (13) $3,08 \times 10^{-4}$; (14) $4,08 \times 10^{-4}$; (15) $5,08 \times 10^{-4}$; (16) $5,92 \times 10^{-4}$ e (17) $6,93 \times 10^{-4} \text{ (mol L}^{-1})$ de iodeto de potássio. (B): Curva analítica correspondente. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 123

Figura 75: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ iodeto em B-R pH 2,0 sobre eletrodo recoberto com filmes de PLL:GA. Curvas: (1) $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto; (2) presença de $5,00 \times 10^{-4}$ e (3) $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodato, respectivamente. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 124

Figura 76: Voltamogramas cíclicos para oxidação de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ iodeto em B-R pH 2,0 sobre eletrodo com filmes de PLL:GA. Curvas: (1) $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto; (2) presença de $5,00 \times 10^{-4}$ e (3) $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de periodato, respectivamente. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 125

Figura 77: Voltamogramas cíclicos obtidos para alíquotas do fármaco KI[®] (laboratório TEUTO) antes (1) e após adições de solução padrão de iodeto de potássio em concentrações de: curvas: (2) $7,00 \times 10^{-5}$; (3) $8,00 \times 10^{-5}$; (4) $9,00 \times 10^{-5}$; (5) $1,00 \times 10^{-4}$ e (6) $1,10 \times 10^{-4} \text{ (mol L}^{-1})$. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 127

Figura 78: Voltamogramas cíclicos obtidos para alíquotas do fármaco EXPEC[®] (laboratório LEGRAND) antes (1) e após adições de solução padrão de iodeto de potássio em concentrações de: curvas: (2) $7,00 \times 10^{-5}$; (3) $8,00 \times 10^{-5}$; (4) $9,00 \times 10^{-5}$; (5) $1,00 \times 10^{-4}$ e (6) $1,10 \times 10^{-4}$ (mol L⁻¹). 127

$\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 79A: Espectros de absorção visível. Curvas: (1) tiocianato/Fe(III). Curvas: (2) $1,00 \times 10^{-5}$; (3) $2,00 \times 10^{-5}$; (4) $3,00 \times 10^{-5}$; (5) $4,00 \times 10^{-5}$; (6) $5,00 \times 10^{-5}$; e (7) $6,00 \times 10^{-5}$ (mol L⁻¹) adições de iodeto de potássio, respectivamente. (B): curva analítica para iodeto. 128

Figura 80: Voltamograma cíclico obtido para a redução de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de IDU em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 130

Figura 81A: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de IDU em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PLL:GA. Curvas: (1) $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de IDU; (2) $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ previamente reduzido por 60 s em E_{pc} -1,0 V e (3) IDU $2,00 \times 10^{-3}$ após prévia etapa de redução do composto. (B): Voltamograma cíclico obtido para oxidação de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de IDU em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PLL:GA cuja varredura de potencial inicia-se em potencial de -1,0 V. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 132

Figura 82A: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação indireta de IDU em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo. Curvas: (1) $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de IDU; (2) adição de $1,00 \times 10^{-5}$ de KI e (3) adição $9,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de KI, respectivamente. (B): oxidação sobre eletrodo modificado por filmes de PLL:GA. Curva: (1) $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de IDU; adição de (2) $1,00 \times 10^{-5}$; (3) $3,00 \times 10^{-5}$; (4) $6,00 \times 10^{-5}$ e (5) $9,00 \times 10^{-5}$ (mol L⁻¹ de KI), respectivamente. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 134

Figura 83: Efeito do tempo de acúmulo obtido para oxidação de iodeto gerado de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de IDU em B-R pH 2,0 após aplicação de potencial de acúmulo de -0,80 V com eletrodo modificado com filmes de PLL:GA. 135

Figura 84: Efeito da aplicação de potencial de acúmulo para a geração de iodeto na amostra de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de IDU em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA. 136

Figura 85: Voltamogramas cíclicos para oxidação de iodeto obtidos após redução prévia sob Epc -0,80V durante 120 s sobre eletrodo de carbono vítreo sem filme (A). Curvas: (1): oxidação de IDU em pH 2,0 sob eletrodo de carbono vítreo e (2): oxidação de IDU em pH 3,0 sob eletrodo de carbono vítreo. (B): eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PLL:GA. Curvas: (1) oxidação de IDU em pH 2,0 e (2) oxidação de IDU em pH 5,0. $\nu = 100$ mV s⁻¹. 137

Figura 86A: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de iodeto gerado após redução de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de IDU em B-R pH 2,0 sob E = -0,80 V e T 120 s sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA. Curvas: (1) 10; (2) 50; (3) 100; (4) 160 e (5) 200 mV s⁻¹. (B): Efeito da ν sobre a intensidade de corrente de pico anódica. 139

Figura 87: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de iodeto gerado após redução de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de IDU sob E = -0,80 V e T de 120 em B-R pH 2,0. Curvas: (1) PLL (50,0%):GA(50,0%) m/m; (2) PLL(75,0%):GA (25,0%) m/m; (3) PLL(95,0%):GA(5,00%) m/m e (4) PLL(97,5%):GA(2,50%) m/m. $\nu = 100$ mV s⁻¹. 141

Figura 88A: Voltamogramas cíclicos para oxidação de iodeto gerado do IDU em B-R pH 2,0 sob Ep -0,80 V e T de 120s sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA. Curvas: (1) 0,300; (2) 0,600; (3) 0,900; (4) 1,50; (5) 2,00; (6) 3,00; (7) 4,00; (8) 5,00; (9) 6,00; (10) 7,00; (11) 8,00 e (12) $9,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de IDU. (B): correspondente curva analítica. $\nu = 100$ mV s⁻¹. 142

Figura 89A: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de iodeto gerado para urina humana fortificada com $6,00 \times 10^{-5}$ de IDU (curva 1) sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA sob E = -0,80 V e T de 120s após adições do padrão de (2) 0,600; (3) 1,20; (4) 1,80 e (5) 2,40 ($\times 10^{-4}$ mol L⁻¹), respectivamente. (B) = método de adição padrão correspondente. $\nu = 100$ mV s⁻¹. 144

Figura 90A: Espectros de absorção UV de IDU em B-R pH 2,0. Curvas: (1) 1,00; (2) 2,00; (3) 3,00; (4) 4,00; (5) 5,00; (6) 6,00; (7) 7,00; (8) 8,00; (9) 9,00; (10) 10,0 ($\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). (B)= respectivas curvas analíticas para IDU. 145

Figura 91A: Espectros de absorção do IDU. Curvas: (1) $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU em urina. Adições de IDU: (2) 1,00; (3) 2,00; (4) 3,00; (5) 4,00 e (6) 5,00 ($\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). (B): Método de adição padrão correspondente. 146

APÊNDICE.

Figura A1: Fórmula do monômero lisina e da reação de formação do polímero. 200

Figura A2: Representação esquemática de um mecanismo proposto para a transição de α -helicoidal para β -laminar observado para soluções de PLL. 200
Conformações: (a) helicoidal, (b) randômica e (c) beta [72].

ÍNDICE DAS TABELAS.

PARTE A.

CAPÍTULO 3. 36

Tabela 1: Valores comparativos para correlação de CGDS em urina humana obtidos através de técnica espectrofotométrica e voltamétrica com eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL. 64

Tabela 2: Parâmetros estatísticos obtidos da redução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6 sob eletrodo modificado com filmes de PLL:GA sob incorporação via ciclagem eletroquímica. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 74

Tabela 3: Parâmetros estatísticos obtidos da redução após incorporação por imersão de 40 min em um becker contendo $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. 78

Tabela 4: Parâmetros voltamétricos obtidos de voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura de potencial na redução de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ de NP em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo.	83
Tabela 5: Efeito da variação de pH em tampão B-R para a redução de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ de NP com eletrodo de carbono vítreo com PLL:GA.	96
Tabela 6: Resultados obtidos para determinação de NIPRIDE [®] em plasma e urina humana.	106
Tabela 7: Parâmetros extraídos dos voltamogramas cíclicos de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ de iodeto de potássio com eletrodo de carbono vítreo. $\nu = 100$ mV s ⁻¹ .	108
Tabela 8: Dados obtidos para oxidação de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ de iodeto de potássio em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo sem filme.	110
Tabela 9: Influência da variação de pH sobre os parâmetros voltamétricos obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ de iodeto de potássio sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PLL:GA. $\nu = 100$ mV s ⁻¹ .	113
Tabela 10: Dados obtidos para oxidação de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ de iodeto de potássio em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo com PLL:GA.	117
Tabela 11: Análise de iodeto de potássio em amostras farmacêuticas pelo método espectrofotométrico [274] e método proposto.	129
Tabela 12: Efeito do pH sobre a oxidação de iodeto liberado na redução prévia de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ de IDU sobre eletrodo de carbono vítreo com e sem filme. $E_r = -0,80$ V e $t = 120$ s.	138
Tabela 13: Parâmetros extraídos dos voltamogramas cíclicos obtidos da oxidação de iodeto gerado de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ de IDU em B-R pH 2,0 em $E = -0,80$ V e $t = 120$ s sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA.	140
APÊNDICE.	198

Tabela A1: Dados obtidos para os processos redox do iodeto gerado em potencial e tempo de condicionamento de $-0,80$ V e 120 s em $1,00 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} de IDU em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo sem filme. 200

ÍNDICE DOS ESQUEMAS.

PARTE A.

CAPÍTULO 1.	1
Esquema 1: Esquema de redução do NP sobre eletrodo de mercúrio, [123].	16
Esquema 2: Esquema para redução de NP sobre eletrodo de mercúrio, [125].	17
Esquema 3: Esquema para redução de NP sobre eletrodo de mercúrio, [126].	17
Esquema 4: Esquema de redução para o NP sobre eletrodo de mercúrio, [131].	18
Esquema 5: Esquema de redução para o NP sobre eletrodo de mercúrio, [132,133].	19
Esquema 6: Esquema de redução para o NP sobre eletrodo de mercúrio, [134].	19
Esquema 7: Esquema para redução de NP sobre eletrodo de mercúrio, [135].	20
Esquema 8: Esquema proposto para reações de comproporcionamento em meio ácido sobre eletrodo de mercúrio [136].	20
Esquema 9: Esquema proposto para redução de NP em meio ácido sob eletrodo de mercúrio [138,139].	21
Esquema 10: Esquema para formação de par iônico entre iodeto e fosfato de tricresila, [195].	26

APÊNDICE.	200
-----------	-----

Esquema A1: Esquema de redução dos cromones, [252].	201
---	-----

ÍNDICE GERAL

PARTE “B”.

CAPÍTULO 1	150
------------	-----

1.1 – NANOELETRÓDOS “ENSEMBLES”.	150
----------------------------------	-----

1.2 – OBJETIVO.	153
-----------------	-----

CAPÍTULO 2.	154
-------------	-----

2.0 – PARTE EXPERIMENTAL.	154
---------------------------	-----

2.1 – INSTRUMENTAÇÃO.	154
-----------------------	-----

2.2 – REAGENTES E PROCEDÊNCIA.	154
--------------------------------	-----

2.3 – PROCEDIMENTO DE DOURAÇÃO DAS MEMBRANAS POLIMÉRICAS.	155
--	-----

2.4 – CONSTRUÇÃO DOS NEEs.	156
----------------------------	-----

CAPÍTULO 3.	160
-------------	-----

CAPÍTULO 3: RESULTADOS E DISCUSSÃO.	160
-------------------------------------	-----

3.1 – CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DAS MEMBRANAS DE POLICARBONADO COBERTAS POR OURO.	160
---	-----

3.1.1 – CARACTERIZAÇÃO MICROSCÓPICA VIA ANÁLISE MEV.	160
3.1.2 – CARACTERIZAÇÃO ÓPTICA.	166
3.1.3 – ANÁLISE MET.	172
3.1.4 – CARATERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS NEEs.	173
3.2 – OXIDAÇÃO DE IODETO SOBRE ARRANJOS DE NANOELETRÓDOS (NEE).	188
3.2.1 – EFEITO DA VARIAÇÃO NA VELOCIDADE DE VARREDURA (v).	190
3.2.2 –CURVA DE CALIBRAÇÃO.	193
3.2.3 – DETERMINAÇÃO DE IODETO EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS COMERCIAIS.	195
CONCLUSÕES.	199
ESTUDOS FUTUROS.	199
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS (PARTE B).	233

ÍNDICE DAS FIGURAS.

PARTE B.

CAPÍTULO 1.	150
-------------	-----

Figura 1: Esquema de preparação “track-etch” das membranas de policarbonato.	152
--	-----

CAPÍTULO 2.	154
Figura 2: Esquema explicativo sobre o processo de deposição química utilizada para preenchimento com ouro nos nanoporos das membranas de policarbonado [1].	156

Figura 3: Representação esquemática de uma membrana compósito dourada utilizada para a fabricação de um NEE. 157

Figura 4: Esquema de construção de um NEE. 158

Figura 5: Esquema de construção de um suporte que serve de acoplagem para o NEE em uma célula eletroquímica. 159

CAPÍTULO 3. 160

Figura 6: Foto de membranas de polycarbonato OSMONICS de 30,0nm. Imagem da esquerda: membrana virgem e da direita: idêntica membrana obtida após deposição de ouro via método “electroless”. 160

Figura 7: Imagens MEV de uma membrana OSMONICS 30,0 nm dourada pelo processo de deposição “electroless”. As micrografias apresentam magnitudes de $4,00 \times 10^3$ em (A); $1,60 \times 10^4$ em (B) e $2,70 \times 10^4$ em (C) vezes com uma energia de 20,0KeV. 161

Figura 8: Imagens MEV de uma membrana SPI PORE 30,0nm dourada através de processo de deposição “electroless”. As micrografias apresentam uma magnitude de $8,00 \times 10^3$ em (A) e $3,50 \times 10^4$ em (B) vezes com uma energia de 20,0KeV. 162

Figura 9: Imagens MEV de uma membrana OSMONICS 220nm dourada através de processo de deposição “electroless”. As micrografias apresentam uma magnitude de $1,20 \times 10^4$ em (A) e $5,50 \times 10^4$ em (B) vezes com uma energia de 30,0KeV. 163

Figura 10: Imagens MEV de uma membrana OSMONICS 30,0nm dourada através de processo de deposição “electroless” seguido de sua dissolução em diclorometano. As micrografias apresentam uma magnitude de $1,18 \times 10^4$ em (A); $1,30 \times 10^4$ em (B) e $8,50 \times 10^3$ em (C) vezes com uma energia de 20,0KeV. 164

Figura 11: Imagem MEV de uma membrana OSMONICS 30,0nm dourada através de processo de deposição “electroless” seguido de sua dissolução em diclorometano. A micrografia apresenta uma magnitude de $5,50 \times 10^3$ vezes com uma energia de 20,0KeV. 165

Figura 12: Imagens MEV de uma membrana OSMONICS 220nm dourada através de processo de deposição “electroless” (6 horas) seguido de sua dissolução em diclorometano. As micrografias apresentam uma magnitude de $6,50 \times 10^3$ em (A); $9,00 \times 10^3$ em (B) e $2,70 \times 10^4$ em (C) vezes com uma energia de 30,0KeV. 166

Figura 13: Fotomicrografia de membranas com poros recobertos por depósitos de ouro com diâmetros crescente de baixo (20,0nm) para cima (150nm) [20]. 167

Figura 14: Fotomicrografias de uma membrana de policarbonato OSMONICS 30,0nm submetida à deposição de ouro via processo “electroless” em função do tempo. A= 30,0; B= 50,0; C= 60,0; D= 80,0; E= 100; F=120 e G= $1,44 \times 10^3$ (minutos) de deposição, respectivamente. 168

Figura 15: Foto dos pedaços da membrana descrito na legenda da Figura 14 após dissoluções em diclorometano. As identificações das suspensões obedecem a mesma ordem descrita na figura anterior. 169

Figura 16: Efeito do tempo de depósito de ouro sobre os espectros de absorção visível das suspensões obtidas após dissolução dos pedaços de membranas em diclorometano conforme legenda da Figura 15. Curvas: (1)= 30,0; (2)= 100 e (3)= 120 (min). 170

Figura 17: Espectros de absorção visível para suspensões obtidos de membranas dissolvidas em diclorometano. Curvas: (1)= 10,0nm; (2)= 30,0nm e (3)= 220nm. 171

Figura 18: Imagens MET de um pedaço de membrana dourada por um período de 12,0 minutos com posterior dissolução em diclorometano. 172

Figura 19: Imagens MET de um pedaço de membrana dourada por um período de 300 minutos com posterior dissolução em diclorometano. 173

Figura 20: Voltamogramas cíclicos obtidos para um eletrodo de ouro (A) e um NEE (B) em solução $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 . $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$. 174

Figura 21: Voltamogramas cíclicos obtidos para 4 diferentes NEEs em solução $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 . $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$. 175

Figura 22: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc em nitrato de sódio sobre eletrodo de ouro convencional (A) e NEE (B). $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$. 178

Figura 23A: Voltamogramas cíclicos obtidos da oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc em nitrato de sódio com macroeletrodo de ouro. Curvas: (1)= 2,00; (2)= 5,00; (3)= 10,0; (4)= 20,0; (5)= 30,0; (6)= 40,0; (7)= 50,0; (8)= 60,0; (9)= 70,0; (10)= 80,0; (11)= 90,0; e (12)= 100 (mV s^{-1}). (B)= respectiva curva de corrente versus raiz quadrada da velocidade de varredura. 180

Figura 24: Voltamogramas cíclicos obtidos de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc em nitrato de sódio com NEE. Curvas: (1)= 2,00; (2)= 5,00; (3)= 10,0; (4)= 20,0; (5)= 30,0; (6)= 40,0; (7)= 50,0; (8)= 60,0; (9)= 70,0; (10)= 80,0; (11)= 90,0; e (12)= 100 (mV s^{-1}). 182

Figura 25: Efeito da velocidade de varredura sobre a corrente de pico anódica obtida da oxidação de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc sobre NEE. 183

Figura 26: Efeito da concentração sobre a densidade de corrente correspondente à oxidação de Fc em nitrato de potássio com o eletrodo de ouro convencional. (A)= voltamogramas cíclicos para oxidação de Fc, curvas: (1)= eletrólito de suporte; (2)= 4,02; (3)= 8,00; (4)= 12,0; (5)= 16,0; (6)= 20,0; (7)= 24,0; (8)= 28,0; (9)= 32,0 e (10)= $36,2 (\mu\text{g mL}^{-1})$. (B)= curva analítica para Fc sobre eletrodo convencional. $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$. 185

Figura 27: Efeito da concentração sobre os voltamogramas cíclicos corresponde oxidação de Fc em de nitrato de potássio sobre NEE. (A)= 186
curvas: (1)= eletrólito de suporte; (2)= 0,200; (3)= 0,240; (4)= 0,280; (5)= 0,320; (6)= 0,360; (7)= 0,400; (8)= 0,480; (9)= 0,640 e (10)= 0,800($\mu\text{g mL}^{-1}$). (B)= curva analítica correspondente. $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 28: Voltamogramas cíclicos correspondentes à oxidação de iodeto 189
em ácido sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ sobre macroeletrodo de ouro (B):
curvas: (1)= eletrólito de suporte; (2)= $5,00 \times 10^{-5}$ e (3)= $7,00 \times 10^{-5}$ (mol L^{-1})
de iodeto e sobre NEE em (A): Curvas: (1)= eletrólito de suporte; (2)=
 $5,00 \times 10^{-6}$ e (3)= $7,00 \times 10^{-6}$ (mol L^{-1}) de iodeto, respectivamente. $\nu = 20$
 mV s^{-1} .

Figura 29A: Voltamogramas cíclicos para oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ 191
de iodeto em ácido sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ sobre macroeletrodo de ouro:
Curvas: (1)= 2,00; (2)= 5,00; (3)= 10,0; (4)= 20,0; (5)= 30,0; (6)= 40,0;
(7)= 50,0; (8)= 60,0; (9)= 70,0; (10)= 80,0; (11)= 90,0 e (12)= $100(\text{mV s}^{-1})$.
(B): Correspondente gráfico de corrente anódica $\times \nu^{1/2}$.

Figura 30A: Voltamogramas cíclicos para oxidação de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ 192
de iodeto em ácido sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ sobre NEE em velocidade de
varredura de: (1)= 2,00; (2)= 5,00; (3)= 10,0; (4)= 20,0; (5)= 30,0; (6)=
40,0; (7)= 50,0; (8)= 60,0; (9)= 70,0; (10)= 80,0; (11)= 90,0 e (12)=
 $100(\text{mV s}^{-1})$. (B): Efeito da velocidade de varredura sobre a corrente de
pico de oxidação de iodeto sobre NEE.

Figura 31A: Voltamogramas cíclicos para oxidação de iodeto em ácido 193
sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ sobre macroeletrodo de ouro. Curvas: (1)=
eletrólito de suporte; (2)= 3,32; (3)= 4,98; (4)= 6,64; (5)= 8,30; (6)=
9,96; (7)= 11,6; (8)= 13,2; (9)= 14,9; (10)= 16,6; (11)= 19,9; (12)= 23,2;
(13)= 26,6; (14)= 29,8 e (15)= $33,2(\mu\text{g mL}^{-1})$ de iodeto. (B)=curva de
calibração correspondente. $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Figura 32: Curvas analíticas correspondentes à oxidação de iodeto de potássio em solução de ácido sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ com o NEE em diferentes intervalos de concentração. $\nu=20 \text{ mV s}^{-1}$. 194

Figura 33A: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de: (1)= eletrólito de suporte; (2)= $0,330 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ de FACOVIT. Adições de KI: (3)= $0,170$; (4)= $0,330$; (5)= $0,500$ e (6)= $0,660 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. (B): Método das adições do padrão de iodeto. $\nu=20 \text{ mV s}^{-1}$. 196

Figura 34A: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de: (1)= eletrólito de suporte; (2)= $0,330 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ de RUBJOVIT. Adições de KI: (3)= $0,170$; (4)= $0,330$; (5)= $0,500$ e (6)= $0,660 \mu\text{g mL}^{-1}$. (B): Método das adições do padrão. $\nu=20 \text{ mV s}^{-1}$. 197

ÍNDICE DAS TABELAS.

PARTE B.

CAPÍTULO 3. 160

Tabela 1: Avaliação da performance de 18 NEEs em solução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$. $\nu=20 \text{ mV s}^{-1}$. 177

Tabela 2: Parâmetros voltamétricos obtidos da oxidação de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc sobre NEE em NaNO_3 . $\nu=20 \text{ mV s}^{-1}$. 179

Tabela 3: Parâmetros extraídos dos voltamogramas cíclicos obtidos de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc analisado com macroeletrodo de ouro em NaNO_3 . 181

Tabela 4: Efeito da velocidade de varredura sobre os parâmetros voltamétricos obtidos da oxidação de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc em solução de nitrato de sódio sobre NEE. 184

Tabela 5: Influência do eletrólito nos parâmetros voltamétricos correspondentes à oxidação de $7,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio sobre NEE. $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$. 190

Tabela 6: Resultados dos ensaios para a determinação de iodeto em formulações farmacêuticas segundo método proposto e metodologia volumétrica [46,47]. 197

APÊNDICE. 200

Tabela A2: Parâmetros obtidos dos voltamogramas cíclicos para oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em solução de ácido sulfúrico 0,500 mol L^{-1} sobre macroeletrodo de ouro convencional. 203

Tabela A3: Parâmetros voltamétricos para oxidação de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em solução de ácido sulfúrico 0,500 mol L^{-1} sobre NEE. 204

CAPÍTULO

1

INTRODUÇÃO.

1.0 - INTRODUÇÃO.

1.1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.

A utilização de técnicas voltamétricas na investigação do comportamento eletroquímico de compostos de interesse farmacêutico e de substâncias biologicamente ativas é reportada na literatura desde longa data [1]. Dentre os métodos eletroquímicos existentes, as técnicas polarográficas e voltamétricas constituem importante ferramenta no estudo destas substâncias, uma vez que, além de informações qualitativas e quantitativas, é possível ainda estabelecer mecanismo e cinética de redução ou oxidação de um dado sistema de interesse. Os métodos desenvolvidos têm possibilitado tanto o monitoramento do fármaco na forma pura quanto na forma disponível comercialmente ou ainda em fluídos biológicos.

O crescente interesse por métodos analíticos cada vez mais seletivos e sensíveis para determinação e monitoramento de fármacos e seus produtos de degradação tem aumentado nos últimos anos, basicamente devido aos grandes avanços na clínica médica, que tem requerido métodos analíticos em níveis de ultra-traços para acompanhamento de compostos farmacêuticos nos mais diversos fluidos biológicos. Em resumo, métodos confiáveis, econômicos e rápidos têm sido o grande alvo de inúmeros pesquisadores na busca por metodologias analíticas cada vez mais eficazes a serem usados nas mais diversas matrizes e níveis de concentração [2].

Os métodos eletroanalíticos têm algumas vantagens gerais sobre outros tipos de procedimentos analíticos. Primeiro, as medidas eletroquímicas são freqüentemente específicas para um estado de oxidação particular de um elemento. Por exemplo, métodos eletroanalíticos tornam possível a determinação da concentração de cada espécie em uma mistura de Ce(III) e Ce(IV), enquanto a maioria dos demais métodos analíticos é capaz somente de revelar a concentração total de cério. Uma segunda vantagem importante é que sua instrumentação é relativamente barata. Por exemplo, um equipamento eletroquímico mais caro, talvez custe cerca de US\$ 20 mil dólares. Ao contrário, muitos equipamentos para espectroscopia podem custar entre US\$ 50 a 250 mil dólares ou mais [3].

Uma boa discussão, abordando o emprego de várias técnicas eletroquímicas para a determinação dos mais variados compostos farmacêuticos em diferentes matrizes pode ser consultada na literatura [4].

Diante do exposto é objetivo do presente trabalho, investigar a construção, caracterização e aplicação de dois tipos de sensores eletroquímicos. A parte “A” da presente tese relata os resultados obtidos com a construção, caracterização e aplicação de um eletrodo de carbono vítreo modificado com o poliaminoácido poli-l-lisina na determinação dos compostos cromoglicato disódico, nitroprussiato de sódio, iodeto de potássio e idoxuridine, enquanto na parte “B” são relatados os resultados obtidos sobre o estudo da construção, caracterização e aplicação de um novo dispositivo denominado de “ensembles” de nano eletrodos, desenvolvido em cooperação com a Universidade de Veneza-Itália.

PARTE

“A”

ELETRODOS

MODIFICADOS

COM

POLI-L-LISINA.

1.2 - ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS (EQM).

A imobilização de microestruturas químicas na superfície de eletrodos tem apresentado notável crescimento na eletroquímica nos últimos anos [4-15]. Um eletrodo inerte utilizado como suporte para a construção de um EQM funciona como um conector para o fluxo de elétrons em um apropriado circuito eletrônico proporcionando condições para que possam ocorrer as transformações redox com um filme imobilizado. Comparado a um eletrodo convencional, um maior controle das características e reatividade na superfície de um eletrodo modificado podem ser alcançadas.

O interesse nesta área é motivado por diversas aplicações a muitos sistemas. Exemplos incluem o desenvolvimento de sistemas eletrocatalíticos que apresentam larga seletividade e reatividade química; revestimentos em semicondutores como fotosensibilizador e propriedades anti-corrosivas; exibidores de eletrocromismo; aparelhos microeletrônicos muito empregados no campo da eletrônica molecular e sensores eletroquímicos. O maior benefício para o seu emprego no campo da eletroanálise tem sido a possibilidade de aceleração de reações de transferência de cargas, acumulação preferencial ou permeação seletiva de analitos em membranas superficiais. Estas etapas podem melhorar a seletividade, reatividade ou estabilidade de métodos analíticos baseados no seu emprego como sensor amperométrico que tem sido extensivamente revisto nos últimos anos [10-12].

Uma conveniente forma de incorporação de um modificador na superfície de um eletrodo pode ser realizada simplesmente pela utilização de uma camada de um filme polimérico. Muitos polímeros são aplicados para revestir superfícies eletródicas simplesmente pela combinação de propriedades de adsorção, atração eletrostática e baixa solubilidade na solução eletrolítica, ou ainda pela utilização de polímeros pré-formados ou obtidos através de polimerização eletroquímica.

A vantagem de pré-concentração de espécies, observada com a utilização de um EQM, pode ser obtida através do recobrimento de uma superfície com uma fina camada de um filme de um polímero de troca iônica [16]. A estratégia de revestimento da superfície de um eletrodo com um polímero de troca iônica é similar ao princípio do método “stripping” voltamétrico. Esta técnica usa eletrodos sólidos revestidos com uma fina camada do polímero que permite uma etapa rápida de pré-concentração e detecção amperométrica simultânea do íon analito redox. A resposta depende da etapa de pré-concentração da espécie eletroativa

incorporada na camada interna do trocador iônico [16]. Se o modificador apresenta propriedade de seletividade é possível determinar analitos redox (metais, compostos farmacêuticos e biológicos) em concentrações submicromolar [16,17]. Os sistemas mais conhecidos de troca iônica são os filmes de Nafion, embora outros modificadores tais como, poliestireno, polivinil, poliacrílico, tosflex e polivinilpiridina tenham atraído particular atenção [17-30]. Em adição, o agente de pré-concentração, pode atuar também como um revestimento permissivo oferecendo seletividade por exclusão de um constituinte não desejado da superfície, enquanto permite o transporte do analito. Exemplos práticos podem ser obtidos pela utilização do agente polidiaminobenzeno [31], lipídeos hidrofílicos [32], ou filmes de Nafion [33].

Polímeros eletronicamente condutores, como polipirrol, politiofeno e polianilina, têm atraído considerável interesse devido à sua habilidade de incorporar ou expelir espécies iônicas durante eletropolimerização oxidativa de seu monômero. Uma vasta literatura concernente à investigação fundamental e aplicações destes polímeros tem sido revista [34-42].

Diferentes tipos de filmes inorgânicos, tais como óxidos metálicos, argilas, zeólitas e filmes de hexanocianoferratos, (azuis da Prússia), podem ser formados na superfície de um eletrodo. O interesse por estes tipos de filmes reside no fato de que os mesmos, freqüentemente apresentam estruturas bem definidas, são térmica e quimicamente estáveis, usualmente baratos e de fácil disponibilidade. Finas camadas destes materiais, como o azul da Prússia e correlatos podem ser formados na superfície de um eletrodo e apresentar interessantes propriedades [43-45].

Os numerosos estudos, resumidos acima, atestam a confiabilidade dos dispositivos amperométricos como uma ferramenta eletroanalítica eficaz que pode ser utilizada na investigação ou na determinação de concentração de diversos compostos. A extensão das possibilidades de aplicações e alta seletividade na pré-concentração e detecção conferem a estes dispositivos a possibilidade de empregos em análises de matrizes complexas tais como, fluidos biológicos, compostos farmacêuticos e amostras ambientais.

O sucesso da pré-concentração e determinação eletroquímica de um analito sobre um eletrodo recoberto com um filme poliônico começa com a escolha do polímero de troca-iônica e da variedade de técnicas disponíveis para detecção, tais como: voltametria de varredura linear, de onda quadrada e pulso diferencial e voltametria de redissolução utilizando-se

eletrodo rotatório e outras.

A escolha do polímero de troca-iônica, a ser usado como modificador, tem levado em consideração, principalmente, à facilidade de se obter filmes estáveis e reprodutíveis sobre a superfície eletródica. A deposição do filme pode ser obtida de diferentes maneiras, onde alguns métodos têm sido primordiais [6]. O procedimento mais simples é baseado na adição do polímero sobre a superfície eletródica, seguida de lenta evaporação do solvente. O outro modo, procedimento bastante efetivo é a preparação envolvendo eletropolimerização, baseada principalmente na oxidação de precursores monoméricos eletroativos [6,46]. Adicionalmente, algumas vezes a estabilidade da camada polimérica é melhorada utilizando-se reações intercruzadas através de adição de contra-íons ou irradiação.

As características da camada polimérica sobre o eletrodo e o conhecimento da interação específica com uma determinada espécie eletroativa ou classe de compostos interfere diretamente sobre a seletividade ou sensibilidade do eletrodo modificado. Uma ampla revisão sobre a avaliação físico-química de eletrodos poliméricos pode ser encontrada na literatura [16,46-48]. Apesar do comportamento eletroquímico de eletrodos modificados ter sido bastante investigada, a aplicação destes sistemas para determinação de compostos farmacêuticos tem sido muito limitada [16,49-51].

Deste modo, o estudo do comportamento eletroquímico de eletrodos modificados com poliaminoácidos iônicos e suas interações com alguns compostos farmacêuticos carregados anionicamente é de grande importância não só na área de eletroanálise, mas em outras áreas correlacionadas, tais como aquelas envolvendo a saúde humana, uma vez que pode ser usado como modelo de interações mais complexas.

1.3 - ELETRODOS MODIFICADOS COM POLIAMINOÁCIDOS.

A utilização de eletrodos modificados com polieletrólitos tem sido bastante investigada devido à facilidade com que se pode ligar reagentes carregados às superfícies eletródicas [18,19,52]. Usualmente uma simples imersão do eletrodo na solução do polímero é suficiente para produzir uma grande quantidade de sítios do ligante ancorado sobre o eletrodo, de modo comparável a procedimentos mais elaborados para recobrimento de superfícies eletródicas.

Dentre estes modificadores, polieletrólitos sintéticos têm recebido particular atenção

devido à sua importância como modelos simplificados de polieletrólitos naturais tais como, proteínas e ácidos nucleicos. O uso destes polieletrólitos sintéticos como reagentes ancorados em superfícies eletródicas, tem permitido, além do estudo de interações mais complexas, aumentar a seletividade e sensibilidade analítica de métodos de detecção através de etapas de pré-concentração ocorrida através de interações específicas de grupos de polieletrólito e a espécie eletroativa.

O uso de eletrodos recobertos por filmes de polieletrólitos com possibilidades analíticas tem se baseado em mecanismos típicos de troca-iônica, na incorporação de pares redox, no recobrimento polimérico conferindo propriedades eletro-catalíticas ao eletrodo ou ainda, com características ligantes capazes de interagir especificamente com o analito através de reações de complexação. Deste modo, é apresentada uma breve exposição de alguns trabalhos relatando o emprego de poliaminoácidos utilizados no recobrimento de superfícies de eletrodos.

A utilização de eletrodo de mercúrio modificado com filmes de polihistidina, (PH) é descrita por MOREIRA; ZHAO e FOGG, [53]. Cu(II) pode ser determinado em níveis de concentração entre $5,00 \times 10^{-9}$ a $4,00 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ com o emprego de técnicas voltamétricas de redissolução catódica.

Segundo LONG e CHEN, [54], PH pode ainda ser imobilizada na superfície de eletrodo de platina e apresenta grande habilidade para catalisar o processos redox do cofator (NAD⁺ e NADH). Um eletrodo polido de Pt foi modificado simplesmente pela sua imersão em solução do monômero seguido de sua secagem a 50°C.

A oxidação catalítica de ácido ascórbico sobre eletrodo modificado com PH tem sido reportado na literatura [55]. Neste trabalho o eletrodo de carbono vítreo foi modificado pela oxidação do monômero em intervalo de potencial definido.

Dopamina e epinefrina também são analisadas sobre eletrodo de fibra de carbono modificada com PH [56]. Além da redução no sobrepotencial redox, os autores promovem a geração de correntes catalíticas para os compostos que permitem a obtenção de limites de detecção ao redor de $8,00 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹.

Análise de citocromo C, mioglobina e hemoglobina é descrita por LI e colaboradores [57] com a utilização de PH quimissorvida sobre um eletrodo de platina. Uma vez que o poliaminoácido atua no controle da atividade catalítica de certas enzimas, a imobilização do modificador favorece a adsorção das espécies e ajuda a manter as suas funções biológicas

inalteradas sem que as mesmas apresentem etapas de degradação.

Ácido ascórbico e dopamina podem ser analisados com eletrodo modificado com polialanina (PA), [58], utilizando a oxidação do monômero sobre eletrodo de carbono vítreo no intervalo de potencial entre 0,5 a 1,3 V (ECS).

De acordo com YU; ZHANG; CHEN [59] e ZHANG e LIN [60], eletrodo de carbono vítreo modificado com poliglicina (PG), também pode ser obtido após oxidação do monômero no intervalo de potencial entre -0,5 a 1,8 V (ECS). O eletrodo assim modificado, foi aplicado para a determinação de ácido ascórbico e dopamina.

Um sensor para monitoramento e determinação de ácido úrico e dopamina sobre eletrodo modificado com PG também é descrito na literatura [61,62]. O polímero pode ser obtido pela oxidação do monômero glicina em tampão fosfato pH 7,0.

Eletrodos modificados pelo poliaminoácido cisteína, (PC), também podem ser obtidos pela oxidação do monômero entre zero a +1,4 V (ECS). A metodologia desenvolvida é aplicada na determinação de ácido úrico em amostras de urina e soro humano [63].

A determinação de Cu (II) também pode ser realizada com eletrodo de ouro modificado após oxidação do monômero PC em tampão fosfato pH 5,0. A grande afinidade do grupo imidazol da cisteína com a superfície eletródica possibilitou a formação de quelatos com cobre (II) e pré-concentração do metal. O limite de detecção foi estimado em 25,0 ng L⁻¹ [64].

Eletrodo de carbono vítreo modificado com poliácidoglutâmico (PG) também pode ser obtido através de ciclagem de potencial em solução do monômero utilizando intervalo de potencial entre -0,8 a 2,0 V (ECS). A aplicação do dispositivo [65] para a determinação de ácido ascórbico mostrou um decréscimo de 0,4 V no sobrepotencial além de amplificação das correntes para a oxidação do composto.

Eletrodos modificados com PG são bastante seletivos para hidrazina [66]. Um eletrodo de fibra de carbono modificado com PG foi empregado para análise de derivados da hidrazina utilizando eletroforese capilar [67]. Hidrazina, fenilhidrazina, semicarbazida e isoniazida podem ser analisadas através da imobilização do poliaminoácido sobre eletrodo de fibra de carbono.

NARASIAH e MITRA [68,69], têm mostrado a imobilização de politirosina, (PT), sobre eletrodo de platina pela eletropolimerização do monômero que pode ser conduzido, tanto em meio ácido quanto alcalino. A aplicação do dispositivo mostrou-se adequado para

análise de ferricianeto e benzoquinona.

Dentre a grande diversidade de eletrodos modificados com diferentes poliaminoácidos a poli-L-lisina (PLL) tem recebido maior atenção e os principais estudos disponíveis na literatura são mostrados a seguir.

1.4 - POLI - L - LISINA.

O polímero poli-L-lisina (PLL) é um poliaminoácido sintético obtido pela condensação de várias unidades de seu monômero, lisina. Esta unidade monomérica é um α -aminoácido dotado de uma cadeia de hidrocarbonetos com cinco grupamentos CH_2 e uma outra função $-\text{NH}_2$ em posição ϵ . Comercialmente pode ser encontrado sobre diversos pesos moleculares resultantes do número de unidades matriciais utilizadas para sua confecção. O polímero apresenta um $\text{pK}_a = 10,7$ [70]. As estruturas do monômero e do polímero, bem como a equação de formação do poliaminoácido pode ser vista na Figura A1 no apêndice.

De acordo com a literatura [71,72], as reações de formação do polímero ocorrem entre as unidades monoméricas da lisina através da formação de ligações peptídicas entre os resíduos $\alpha(-\text{NH}_2)$ de uma unidade com o terminal $(-\text{OH})$ da função carboxílica de uma outra matriz gerando a correspondente função peptídica. A estrutura final do polímero apresenta as funções peptídicas e o terminal $\epsilon(-\text{NH}_2)$. A utilização de técnicas espectroscópicas RAMAN possibilitou a identificação da função amida no polímero cujas bandas são caracterizadas em número de onda igual a 1.645 e 1.670 cm^{-1} para as conformações α -helicoidal e β -laminar, respectivamente [71], cuja representação esquemática deste modelo, considerando as possíveis transições é apresentada na Figura A2 no apêndice.

Este polímero, quando utilizado no revestimento de superfícies eletródicas é capaz de promover interação com ânions, uma vez que é dotado de um grupamento amino-protonado em valores de pH abaixo de 11,0 [70] e a possibilidade de complexação pela função amina desprotonada em valores de pH superiores. Sua utilização no campo da eletroanálise e bioeletroquímica tem mostrado promissores resultados em diversos estudos nas últimas duas décadas, os quais são apresentados na forma resumida a seguir.

Em trabalhos pioneiros, ANSON e colaboradores [18,19,70], descrevem a utilização da PLL protonada sobre uma superfície de carbono pirolítico, obtido pelo gotejamento de uma

alíquota de solução seguido de evaporação a 80°C por 30 s. Este procedimento assegura a mudança de conformação de uma estrutura α -helicoidal para uma β -laminar com maior aderência sobre a superfície do grafite. O eletrodo assim modificado foi utilizado para esclarecer modelo mecanístico de transporte de carga usando o sistema ($\text{Fe}^{\text{III/II}}$ -EDTA).

A adsorção espontânea da PLL sobre eletrodo de mercúrio, (HMDE), foi utilizada para monitoramento do antiasmático nedocromil de sódio em baixos níveis de concentração [73]. A comparação dos resultados obtidos mostrou que o sinal voltamétrico é mais intenso na presença do poliaminoácido. A mesma metodologia foi aplicada no estudo do comportamento voltamétrico de nitroprussiato de sódio sobre eletrodo de mercúrio. Na presença de PLL, a técnica voltamétrica de redissolução mostrou uma corrente de pico sete vezes maior, mostrando o efeito da interação eletrostática e pré-concentração do fármaco [74].

A adsorção da PLL na superfície da gota pendente de mercúrio para a investigação do comportamento voltamétrico e determinação de hexacianoferrato de potássio também é descrita por MOREIRA e FOGG, [75]. O complexo pode ser determinado em níveis de $2,00 \times 10^{-8}$ a $1,70 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando a técnica voltamétrica de redissolução catódica.

Do mesmo modo, a utilização da PLL no recobrimento do eletrodo de mercúrio também permite a análise voltamétrica de ceftazidime em matrizes biológicas. A adição de PLL na célula eletroquímica provoca grande incremento de corrente propiciando um método sensível e seletivo para análise de ceftazidime em urina humana (limite de detecção de $1,00 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ [76]).

Um estudo de investigação das potencialidades de troca iônica da PLL sobre eletrodo de grafite pirolítico foi realizado por BIANCO e colaboradores [77,78]. Nestes trabalhos são descritos o emprego dos complexos aniônicos hexacianoferrato (III), hexacloroirideto e o catiônico hexaaminorutênio (III), analisados através de suas interações eletrostáticas com o filme. Um eletrodo de grafite pirolítico foi modificado pelo gotejamento de uma alíquota de 2,0 μL de uma solução aquosa de PLL 0,500% m/v seguido de secagem com a utilização de aquecimento a 80°C por 30 s. Os experimentos mostraram que a PLL pré-concentra os íons aniônicos na superfície modificada, enquanto uma leve atenuação de corrente foi observado em relação ao íon catiônico, provavelmente devido à repulsão eletrostática, $\text{pK}_{\text{aPLL}}=10,7$ [70]. A metodologia foi aplicada para a proteína ferredoxin e a enzima hidrogenase, mostrando que o eletrodo modificado com a PLL constitui um elegante procedimento para a detecção de respostas voltamétricas promovidas por proteínas carregadas negativamente.

Um estudo sobre o comportamento voltamétrico da PLL sobre a superfície dos substratos de carbono vítreo, platina e eletrodo de carbono impresso, foi realizado por FOGG e colaboradores [79]. Os eletrodos foram tratados de forma similar com suas superfícies recobertas com alíquotas do polímero seguido de sua evaporação a 80°C por 2 min e testados para os ânions hexacianoferrato e trioxalatocobalto(III) como espécies modelo. A comparação dos resultados obtidos com o eletrodo na ausência e presença de PLL mostra que o sistema melhora a reversibilidade do sistema $\text{Fe}^{\text{III/II}}$ na presença da PLL, devido uma diminuição no ΔE para o processo reversível para o par redox e aumento na sensibilidade do sinal promovido pelo processo de pré-concentração fornecido pelo polímero. Segundo suas conclusões, a PLL adere mais fortemente em superfícies rugosas do que em substratos cuidadosamente polidos.

Estudos de empacotamento da PLL sobre superfícies eletródicas foram realizados com o intuito de monitorar sistemas enzimáticos por MIZUTANI e colaboradores [80-86]. Diversos eletrodos foram utilizados como suporte para aprisionamento de enzimas através da utilização de mediadores, tais como ácido 3-mercaptopropiônico, 4-estirenosulfonato e PLL. Glicose, ácido láctico, colina e etanol podem ser monitorados amperometricamente pela utilização do biosensor.

1.5 - INTERAÇÃO ENTRE ALGUNS COMPOSTOS FARMACÊUTICOS E POLIAMINOÁCIDOS.

O estudo das interações entre o poliaminoácido PLL e compostos de interesse biológico e farmacêutico vem despertando grande interesse nos últimos anos como modelo de interações de biopolímeros para a comparação de reações mais complexas, tais como, interação entre o fármaco e polipeptídios, proteínas e enzimas, assim como, no desenvolvimento de sistemas de liberação gradativa de drogas.

Este composto por ser um polieletrólito sintético apresenta dupla funcionalidade: por possuir cadeias longas portadoras de grupos funcionais como amino pode agir como nucleófilo reativo para moléculas contendo íons metálicos ou grupos específicos do substrato e/ou trapeamento de intermediários reativos, e por apresentar sítios carregados disponíveis para interações eletrostáticas $\text{pK}_{\text{PLL}} = 10,7$ pode ser útil no pré-acúmulo de alguns fármacos também carregados anionicamente em intervalos de pH definidos [70].

A ação dos fármacos é resultante de suas propriedades físico-químicas. Assim alguns

fármacos requerem a formação de camadas monomoleculares sobre a área de algumas células, atuando em doses relativamente elevadas, enquanto que a maioria das outras drogas age em doses baixíssimas, sendo sua atividade atribuída à complexação com sítios específicos localizados em macromoléculas do organismo. Entretanto, o estudo destas interações é complexo, pois envolve diversos mecanismos de ação entre moléculas extremamente complexas como proteínas, enzimas etc. Assim, o poliaminoácido pode ser altamente relevante como modelo simplificado destas interações, pois possui grupos e estrutura bem definidos e orientados.

Embora alguns estudos na literatura mostrem que os grupos terminais amino do poliaminoácido PLL podem realizar interações específicas com compostos farmacêuticos, nenhum estudo utilizando-se oxidação ou redução destes compostos sobre eletrodos de Pt, ouro ou carbono modificados com PLL pôde ser encontrado na literatura.

Por considerarmos de alta relevância o entendimento do mecanismo de ação de novos fármacos no combate à infecção, e que grupos lisina formam as principais ramificações terminais na parede do peptidoglicano constituinte da parede celular, entendemos que seria vantajoso investigar modelos biomiméticos destas interações utilizando-se o poliaminoácido PLL imobilizado sobre eletrodo sólido.

Desta forma, e tendo em vista as interações envolvendo o poliaminoácido PLL em solução e sobre eletrodos de mercúrio com diversos compostos farmacêuticos carregados negativamente, pretende-se investigar a formação de filmes estáveis de PLL sobre eletrodos sólidos com a finalidade de aplicar no estudo de interações entre o polímero imobilizado e alguns compostos de interesse clínico.

A seguir serão apresentadas as características e revisão bibliográfica de cada composto farmacêutico investigado no presente trabalho.

1.6 – CROMOGLICATO DISÓDICO (CGDS).

1.6.1 – CARACTERÍSTICAS GERAIS.

Cromoglicato disódico, (CGDS), (ácido 5,5'-[(2-hidroxi-1,3-propanedil) bis-(oxi)] bis [4-oxo-4-H-1-benzopirano-2-carboxílico]), cuja estrutura molecular é mostrada na Figura 1, é um fármaco amplamente utilizado no tratamento profilático da asma brônquica [87,88].

Possui propriedades antiinflamatórias específicas quando administrado diretamente na mucosa brônquica. Inibe significativamente as fases iniciais e tardias da reação asmática alérgeno-induzida, mas não reverte o broncoespasmo. É um bloqueador eficaz da fase inicial da reação alérgica, pois inibe a liberação de histamina dos mastócitos; inibe os leucotrienos e outros mediadores da inflamação. Outra possível via de atuação do CGDS é na inibição no processo de liberação da histamina e de outros autacóides sensibilizados. Atua com ação imediata no transporte de cálcio através da membrana do mastócito prevenindo a desgranulação. Provavelmente fosforiza rápida e seletivamente as proteínas de alto peso molecular [89]. CGDS apresenta baixa absorção gastrointestinal devido à pobre solubilidade em compostos lipídicos. Desta forma, é comumente administrado na forma de inalação de 20 mg de CGDS, dos quais aproximadamente 4,0% da dose nominal é absorvida, 2,0% é excretada na urina e 94% nas fezes [90-92].

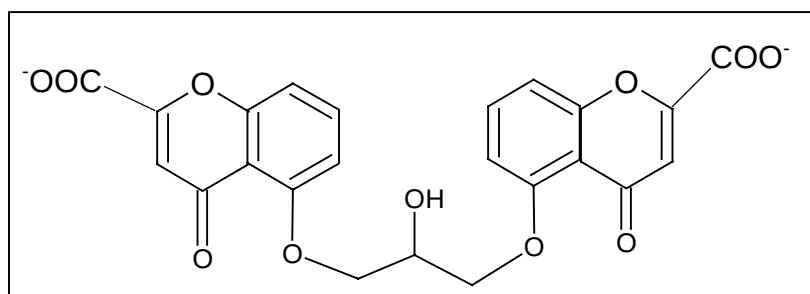


Figura 1: Estrutura molecular do cromoglicato disódico.

O desenvolvimento de métodos analíticos capazes de quantificar CGDS nas mais diversas matrizes tem sido extensivamente investigado por diversos pesquisadores:

Dentre os métodos espectrofotométricos, CGDS pode ser determinado através da análise direta utilizando absorção em λ_{max} de 326 nm [93]. TILLMAN e WHYMARCK [94], têm usado a técnica espectrofotométrica para determinação de CGDS e de seus produtos de hidrólise obtidos em solução alcalina. A aplicação da metodologia proposta apresentou baixo

limite de detecção 0,10 ng/100 mL⁻¹ do fármaco.

Diversas metodologias empregando técnica de cromatografia líquida para a determinação de CGDS são propostas na literatura [91,95-102]. Após prévia extração do fármaco em urina humana, CGDS pode ser determinado por HPLC alcançando limite de detecção de 0,05 mg L⁻¹ [91].

A aplicação de técnica de cromatografia líquida com detecção UV empregada para a análise e determinação de CGDS em formulações farmacêuticas também é descrita [95,96]. Formulações farmacêuticas de CGDS contido em solução, cápsulas, colírios e gel [97,98] podem ser analisadas em concentrações entre 1,0 a 11 µg mL⁻¹. HPLC com detecção espectrofotométrica em comprimento de onda de 325 nm foi o procedimento escolhido por SEGALL e colaboradores [99], para estabelecer metodologia para monitoramento de CGDS. Bons valores de precisão, seletividade e obtenção de baixos limites de detecção comprovaram a precisão da metodologia e curva analítica para CGDS foi observada entre 20 a 60 µg mL⁻¹. Método de HPLC para a validação e determinação de CGDS foi desenvolvido por MANSFIELD e colaboradores [100]. Os melhores parâmetros foram investigados e permitiram a direta quantificação do fármaco livre de impurezas contidas em amostra farmacêuticas. Os relatos descrevem metodologia, reprodutível e seletiva para o monitoramento do composto apresentando precisão de 4,0%. Recuperação de CGDS em urina humana é descrita por GARDNER [101]. Amostras de voluntários submetidos à administração do fármaco tiveram suas urinas coletadas e analisadas pela metodologia de HPLC. Prévia investigação dos melhores parâmetros experimentais permitiu a dosagem do fármaco com índices de recuperação ao redor de 98,2 % sem interferência dos constituintes presentes na matriz biológica. Curva de calibração para o fármaco é reportada entre 0,05 a 20 µg cm⁻³. A determinação de CGDS em urina humana utilizando HPLC com detecção fluorimétrica é descrita por MAWATARI e colaboradores [102]. Utilizando as melhores condições analíticas foi possível estabelecer uma curva de calibração para CGDS entre 38 a 2,3x10³ ng mL⁻¹. Média de recuperação da amostra administrada aos voluntários foi aferida em valores de (99±2,4%) (n=6), comprovando a validade do procedimento.

A aplicação de técnica de radioimunoensaio para a detecção de CGDS em plasma humano é proposta por BROWN e colaboradores [103]. Concentração ao redor de 0,93 nmol L⁻¹ em plasma humano permite ser quantificado pelo procedimento descrito em voluntários submetido à prévia administração do composto.

Os únicos trabalhos envolvendo técnicas eletroquímicas empregadas para a determinação de CGDS são descritos por FOGG e FAYAD [104] e MOREIRA e colaboradores [105], que utilizaram a polarografia de pulso diferencial e a voltametria de redissolução adsortiva com varredura de pulso diferencial, respectivamente, para monitoramento e quantificação do fármaco em urina. Segundo FOGG e FAYAD [104], CGDS exibe um único pico polarográfico com características de processo irreversível em potencial ao redor de -0,8 V, (ECS), fortemente dependente da variação de pH ($pK_{a1} = pK_{a2} = 2,0$) [104]. Utilizando a metodologia proposta, os autores quantificam CGDS em urina humana com índices de recuperação de 95% e desvio padrão de 5,0% entre as medidas e limite de detecção de $0,050 \mu\text{g mL}^{-1}$. Porém requer longos procedimentos de extração da espécie além do emprego de gelatina para suprimir os efeitos indesejáveis de adsorção do composto na gota de mercúrio.

Em outra comunicação, MOREIRA e colaboradores [105], descrevem a aplicação de metodologia voltamétrica de redissolução catódica para a determinação de CGDS em urina humana. Utilizando as melhores condições experimentais, tais como, potencial de acúmulo de $E_{pa} = -0,6 \text{ V}$, solução tampão acetato pH 4,5, tempo de deposição de 15 s e monitoramento do pico em $E_{pa} = -0,87 \text{ V}$ (ECS), os autores demonstram que o método permite a construção de curva analítica na faixa de concentração entre $2,5 \times 10^{-8}$ a $2,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de detecção ao redor de $1,0 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$. Entretanto, o método requer análise em tempos curtos de pré-concentração uma vez que sofre potencial interferência da adsorção de proteínas em tempos longos.

1.7 - NITROPRUSSIATO (NP).

1.7.1 – CARACTERÍSTICAS GERAIS.

Nitroprussiato de sódio (NP), pentakis(ciano-C)nitrosilferrato (II), cuja fórmula molecular é $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$ é um complexo metálico com alta aplicabilidade na clínica médica devido a liberação de NO na corrente sanguínea. Apresenta-se na coloração marron avermelhado, praticamente inodoro e prontamente solúvel em água.

A ação do NP como hipotensor e vasodilatador, inicia-se logo após a sua administração, cujo tempo de meia vida é de apenas alguns minutos. Sua atuação é rápida e age exclusivamente na musculatura vascular, independentemente do sistema nervoso autônomo e a pressão arterial do paciente pode ser regulada alterando a velocidade de infusão. Em doses terapêuticas, a substância é completamente metabolizada em poucos minutos e sua degradação ocorre nos eritrócitos, onde NP se desintegra depois de entrar em contacto com a hemoglobina com formação de cianometahemoglobina, Fe(II), cianeto e liberação de óxido de nitrogênio [106-108].

Deste modo, é indicado no controle da pressão sanguínea, como encefalopatia hipertensiva, hemorragia cerebral, descompensação cardíaca aguda acompanhada por edema pulmonar, aneurisma dessecante, nefrite glomerular aguda, na ressecção cirúrgica de feocromocitoma, na pronta correção da isquemia dos vasos periféricos provenientes de envenenamentos com drogas contendo ergotamina, dentre outros, [106-108].

Estudos “*in vivo*” e “*in vitro*” têm mostrado que o NP além de liberar NO, pode também liberar cianeto quando entra em contacto com o fígado, sangue, eritrócitos, plasma e urina. Esta liberação é não enzimática e em curto tempo inibe a reação do mecanismo de ação da droga. O cianeto liberado é convertido pela enzima rodanase (transulfurase) em tiocianato que é excretado [106,109].

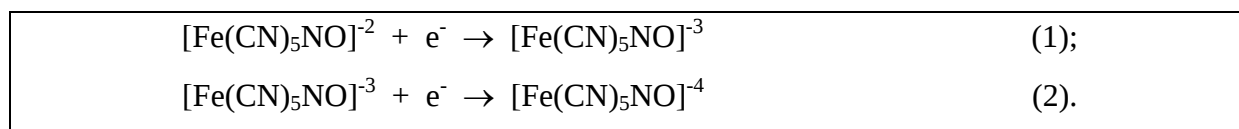
Desde a metade do século 19 que o íon NP vem sendo objeto de estudos científicos. Todavia, poucos são as metodologias encontradas na literatura para o seu monitoramento direto, enquanto vasta informação pode ser obtida para seu monitoramento indireto através de reações com outros compostos, bem como da sua utilização para a determinação de outras substâncias.

Os principais métodos analíticos para a determinação do fármaco baseiam-se principalmente na utilização de técnicas cromatográficas [110,111] e espectrofotométricas

[112-122].

A aplicação de técnicas eletroquímicas na investigação sobre o processo redox do NP é bem documentada na literatura. Todavia, os estudos disponíveis para o fármaco somente relatam a utilização de eletrodo de mercúrio em meio aquoso e em meio orgânico, cujas principais abordagens serão discutidas a seguir:

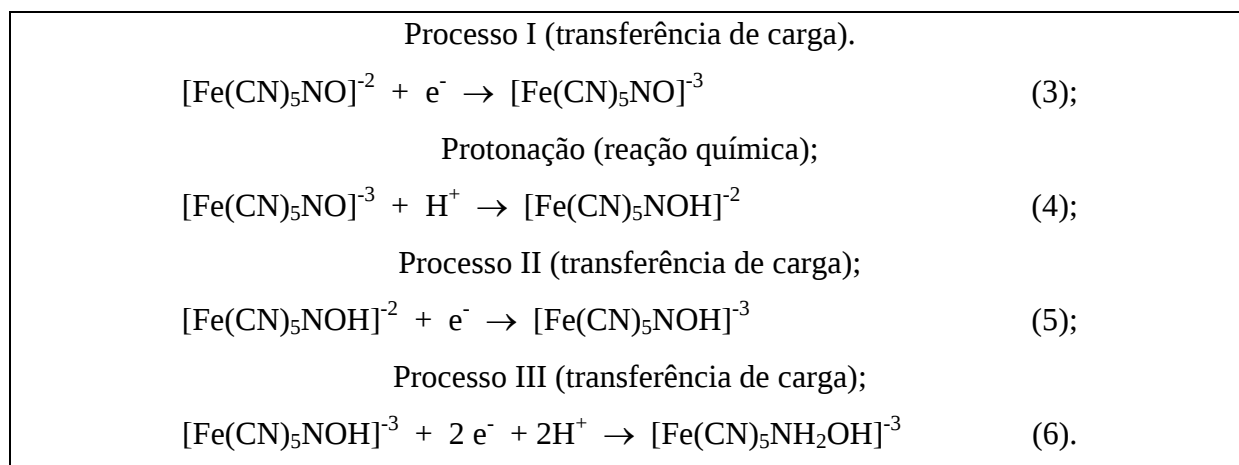
Um estudo pioneiro sobre o comportamento polarográfico, empregando técnica de corrente contínua para investigação de NP, foi realizado por KOLTHOFF e TOREN [123]. O composto exibe três ondas de redução no intervalo de pH entre 6,0 a 10 em potenciais ao redor de -0,4; -0,6 e -1,2 V (ECS), cujo mecanismo de redução é mostrado no esquema 1. Os autores postularam que as duas primeiras ondas de redução são reversíveis e envolvem transferência de apenas um elétron em cada etapa (equações 1 e 2 do esquema 1). A terceira etapa de redução é atribuída a um processo irreversível e o número de elétrons varia de 1,2 a 2,3 no intervalo de pH investigado. Segundo os autores, o produto da segunda etapa, $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-4}$, pode ser seguido de uma decomposição hidrolítica produzindo $(\text{HNO})_2$ e $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NOH}]^{-4}$. Portanto, é de se esperar que o terceiro processo de redução do NP seja completamente irreversível, [124].



Esquema 1: Esquema de redução do NP sobre eletrodo de mercúrio, [123].

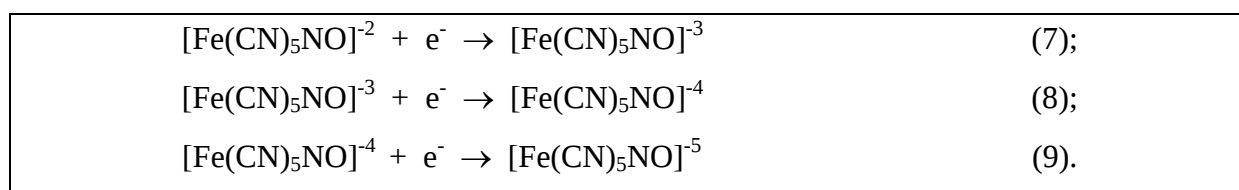
MASEK e MASLOVA [125], estudaram o comportamento voltamétrico de NP em tampão fosfato sob eletrodo de mercúrio e seus produtos de redução através de eletrólise a potencial controlado para identificar os produtos finais do processo eletródico, como mostra o esquema 2:

De acordo com seus resultados, após a primeira etapa de transferência eletrônica (equação 3), o produto sofre protonação gerando a espécie indicada na equação 4, seguida de mais dois processos eletrônico, culminando com a geração da espécie $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NH}_2\text{OH}]^{-3}$ obtida como produto final, equação 6.



Esquema 2: Esquema para redução de NP sobre eletrodo de mercúrio, [125].

KASHYAP; SHARMA e KUMAR [126] avaliaram a influência da composição de diversos eletrólitos de suporte sobre as ondas polarográficas de corrente contínua obtidas para a redução de NP. De acordo com seus resultados obtidos em cloreto de potássio, brometo de potássio, sulfato de potássio acetato e formiato de potássio, NP é reduzido polarograficamente em 3 ondas, nos quais as duas primeiras são atribuídas a processos reversíveis de transferência de carga (equações 7 e 8) e somente a última etapa apresenta características de processo irreversível (equação 9). O potencial de pico é nitidamente dependente da composição do eletrólito de suporte utilizado nas medidas. As etapas são mostradas no esquema 3.



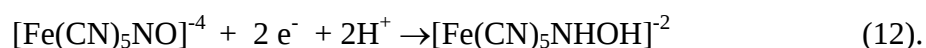
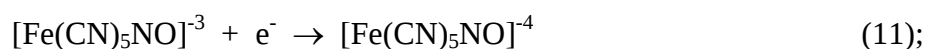
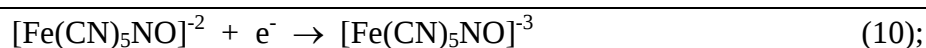
Esquema 3: Esquema para redução de NP sobre eletrodo de mercúrio, [126].

Em outro trabalho, os mesmos pesquisadores [127], investigaram o comportamento polarográfico de corrente contínua de NP em diversos valores de pH. Em valor de pH < 4,0, NP exibe somente a primeira etapa eletrônica (equação 7) e a partir de pH 6,0 é possível observar a segunda etapa de transferência de carga (equação 8). A terceira onda de redução do composto é observada apenas em valores de 6,4 < pH < 10,3 (equação 9), enquanto em valores bastante alcalino é reportada a total supressão da segunda onda do NP (equação 8).

Extensiva investigação sobre o comportamento eletroquímico do NP e metodologia para sua determinação utilizando técnicas polarográficas de pulso diferencial e de alta resolução sobre eletrodo de mercúrio é apresentado por LEEUWENKAMP e colaboradores [128]. O emprego de ambas as técnicas em valores de pH de 2,0 a 9,0 (B-R), possibilitou obtenção de curva de calibração na faixa de 4,00 a $1,00 \times 10^3$ ng mL⁻¹, utilizando o primeiro pico para a redução do composto. Em outro trabalho [129], os mesmos autores mostram outra metodologia eletroquímica baseada no emprego de polarografia de pulso diferencial e de alta resolução para NP sobre eletrodo de mercúrio. Curva de calibração apresenta linearidade entre 30,0 a $1,00 \times 10^3$ ng mL⁻¹ com limite de detecção de 15,0 ng mL⁻¹. A aplicação do presente procedimento em soro, plasma e sangue apresentou índices de recuperação de 85%.

KAMEL e colaboradores [130] também investigaram o comportamento polarográfico de corrente contínua do NP em meio aquoso. Segundo seus resultados, o composto exibe três ondas de redução em $E_{1/2} = -0,38$; $-0,70$ e $-1,45$ V (ECS) em cloreto de potássio. A metodologia não reporta aplicação.

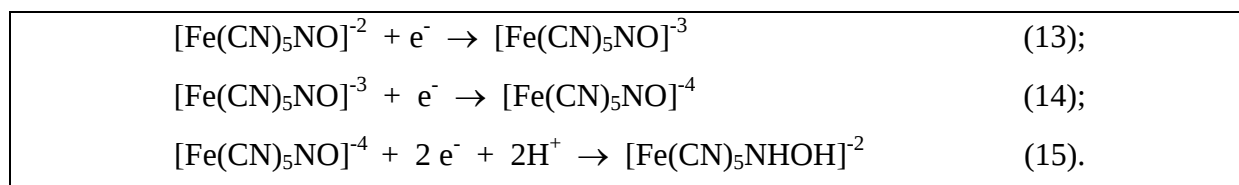
GOMAA; EWADY e ASKALANY [131] apresentam seus resultados obtidos da redução polarográfica de corrente contínua de NP sobre eletrodo de mercúrio. Três ondas foram observadas em fluoreto, brometo, iodeto e sulfato de sódio. Os potenciais são extremamente dependentes da composição destes eletrólitos. Neste trabalho é proposto um mecanismo para a redução do composto, segundo o esquema 4. Segundo os pesquisadores, as duas primeiras etapas são reversíveis e somente o terceiro processo é irreversível. Nenhum estudo quantitativo é reportado.



Esquema 4: Esquema de redução para o NP sobre eletrodo de mercúrio, [131].

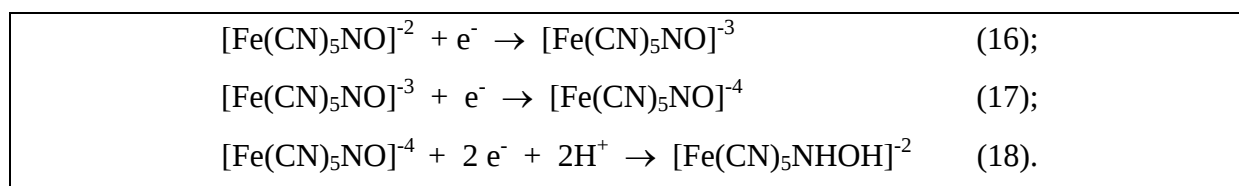
ASKALANY; GOMAA e EWADY [132,133] realizaram estudos polarográficos de corrente contínua de NP utilizando diversos eletrólitos. Soluções de fluoreto, cloreto, brometo, sulfato e sulfito de sódio, foram utilizadas como eletrólitos de suporte. Em todos os sistemas utilizados, NP exibe três ondas de redução em valores de potenciais dependentes da

composição de cada eletrólito. Neste trabalho são postuladas as reversibilidades dos dois primeiros processos eletródicos envolvendo um elétron em cada etapa. A terceira etapa é atribuída a um processo irreversível com (n=2). O mecanismo de redução do composto pode ser representado pelo esquema 5. Os referidos trabalhos não reportam qualquer ensaio quantitativo para o composto.



Esquema 5: Esquema de redução para o NP sobre eletrodo de mercúrio, [132,133].

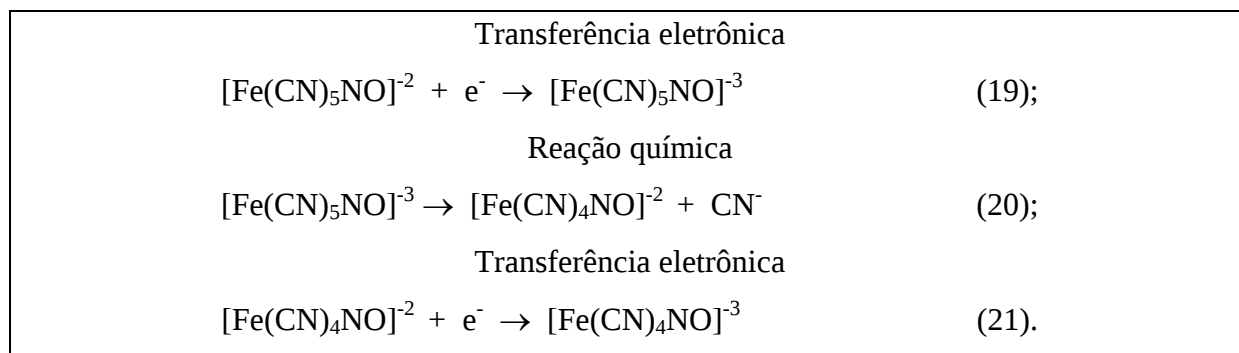
Em outro trabalho ASKALANY [134], apresenta novos resultados polarográficos com o emprego de técnicas de corrente contínua e alternada para o NP sobre eletrodo de mercúrio. O pesquisador investiga o comportamento do composto em mistura de metanol (de 5,0 a 70%) e cloreto de potássio. De acordo com seus achados, NP exhibe 3 etapas de redução, segundo mecanismo mostrado no esquema 6. Nestas condições, o processo de transferência de carga apresenta reversibilidade para as duas etapas iniciais de NP. Nenhuma referência sobre aplicação da metodologia para a quantificação do composto é formulada.



Esquema 6: Esquema de redução para o NP sobre eletrodo de mercúrio, [134].

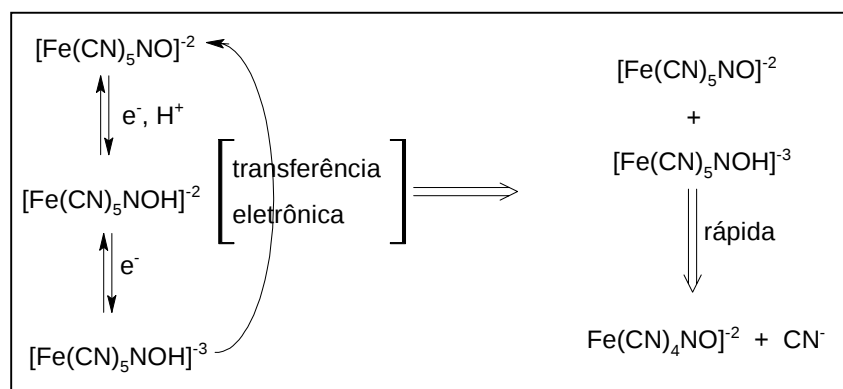
A redução eletroquímica do nitroprussiato de tetrabutilamônio em meio aprótico foi realizada por BOWDEN e colaboradores [135] sobre eletrodo de mercúrio. A utilização de técnicas eletroquímicas, tais como, polarografia de corrente contínua, voltametria cíclica e coulometria, aplicadas em diclorometano ou acetonitrila permitiu formular uma proposta mecanística para a redução do composto, segundo esquema 7. De acordo com seus resultados, NP exhibe somente duas ondas de redução em potenciais ao redor de -0,9 e -1,3 V (ECS), apresentando reversibilidade somente para a segunda onda de redução do fármaco. Indicações

de liberação de cianeto, do ligante axial são formuladas.



Esquema 7: Esquema para redução de NP sobre eletrodo de mercúrio, [135].

O comportamento polarográfico e voltamétrico do NP sobre eletrodo de mercúrio em meio ácido (B-R) é reportado por CARAPUÇA; SIMAO e FOGG [136]. Neste trabalho são mencionadas reações de comproporcionamento entre o NP original e o(s) produto(s) gerados após a segunda redução do composto, conforme mostra o esquema 8. Segundo os referidos autores, o primeiro processo eletródico é governado por difusão e corresponde à transferência de um elétron sendo dependente do pH. O trabalho não menciona qualquer análise quantitativa.



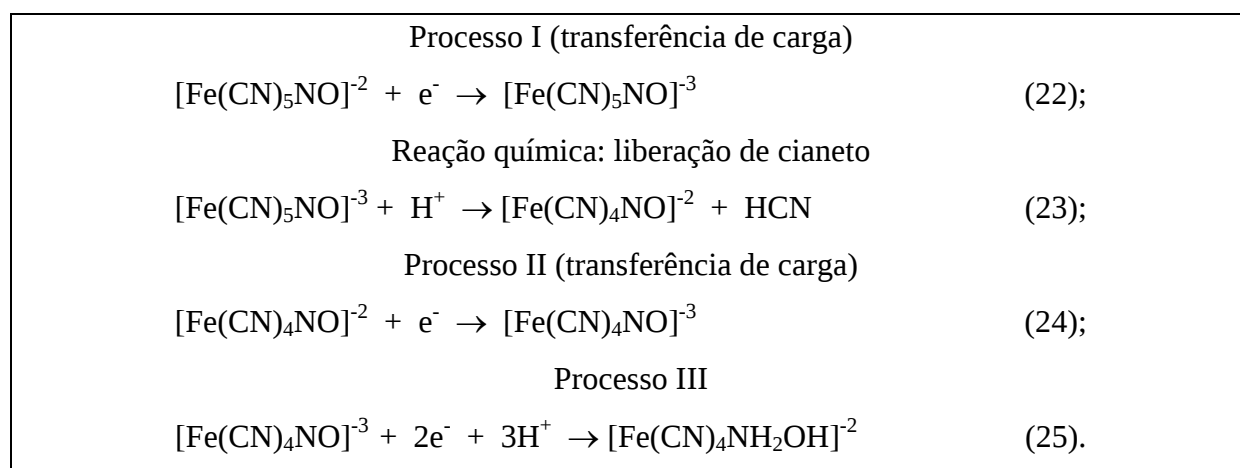
Esquema 8: Esquema proposto para reações de comproporcionamento em meio ácido sobre eletrodo de mercúrio [136].

Um estudo mecanístico e quantitativo do NP, utilizando as técnicas polarográficas de pulso diferencial e a voltametria de onda quadrada é apresentado por CARAPUÇA; SIMAO e FOGG [137]. Segundo os autores, NP pode ser determinado em níveis de $7,00 \times 10^{-8}$ a

$9,80 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ em meio aquoso de pH 3,0.

Mais recentemente, CARAPUÇA e colaboradores [138,139] têm apresentando novas investigações sobre o mecanismo de redução do NP em meio ácido sobre eletrodo de mercúrio conforme mostrado no esquema 9.

Segundo os autores, estudos de eletrólise a potencial constante e identificação dos produtos mostram que a irreversibilidade da primeira etapa de redução é atribuída à perda de cianeto axial em meio ácido e não a formação da espécie protonada, como descrito por MASEK e MASLOVA [125]. A segunda etapa de redução (equação 24) corresponde à redução da espécie $[\text{Fe}(\text{CN})_4\text{NO}]^{-2}$ resultante e a terceira etapa de redução (equação 25) corresponde a um processo com múltiplas transferência eletrônica gerando hidroxilamina.



Esquema 9: Esquema proposto para redução de NP em meio ácido sob eletrodo de mercúrio [138,139].

A aplicação de técnica voltamétrica de redissolução catódica de pulso diferencial na análise de NP é descrita por PIRZAD e colaboradores [74]. Neste trabalho é reportado o emprego do poliaminoácido poli-l-lisina (PLL) adsorvido no eletrodo de gota estática de mercúrio para pré-concentração de NP. O método permite a obtenção de curva analítica para o fármaco, utilizando-se a primeira onda de redução até $1,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ em valores de pH ácido.

O único trabalho envolvendo a utilização de um eletrodo de carbono vítreo para investigação de NP é descrito por FOGG; ARCINIEGA e ALONSO [140]. A determinação amperométrica de NP foi conduzido em $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de hidróxido de sódio (pH 13,7), através

do monitoramento da oxidação da base conjugada do NP, $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-4}$, gerada em meio alcalino, segundo a equação 26.



O método permitiu a construção de uma curva de calibração linear para NP no intervalo de $1,00 \times 10^{-6}$ a $5,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ utilizando análise por injeção em fluxo. No mesmo trabalho é descrito o emprego de eletrodo de mercúrio em B-R pH 8,0 sob potencial de $E_{pc} = -1,25$ V (ECS). Uma curva analítica linear na faixa de $2,00 \times 10^{-5}$ a $2,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ também foi obtida através da análise em fluxo.

Deste modo, considerando a grande relevância clínica de NP durante as intervenções cirúrgicas para controle da pressão arterial devido a liberação de NO diretamente na corrente sanguínea seria de grande relevância a investigação deste sistema sobre eletrodos recobertos por filmes de PLL para o entendimento das interações específicas entre o fármaco e o poliaminoácido que atua como modelo biomimético de sistemas complexos, tais como enzimas e proteínas. Assim o eletrodo recoberto por filmes de polieletrólito poderia ser útil, tanto na imobilização do fármaco como para investigar a possível liberação de NO durante medidas voltamétricas. Desta forma, pretende-se investigar o comportamento voltamétrico de NP sobre eletrodo de carbono vítreo com e sem filmes de PLL e estabelecer uma possível interação entre PLL e o fármaco além de novo método analítico para o monitoramento e determinação da espécie.

1.8 – IODETO DE POTÁSSIO.

Atualmente, o uso freqüente de sais iodados na alimentação constitui uma rica fonte de iodeto que é metabolizado na tireóide para a síntese de hormônios [141]. Os hormônios tireóideos incluem princípios ativos da glândula tireóide, bem como suas preparações sintéticas. São usados, principalmente, no tratamento do hipotireoidismo ou mixedema e no bócio não endêmico simples. Todavia, são também úteis no diagnóstico de hipertireoidismo e em casos de carcinomas da tireóide dependentes da tireotrofina e em tireoidite fibrótica crônica ou linfocítica. Hormônios da tireóide constituem terapia de reposição vitalícia para pacientes com hipotireoidismo. Drogas antitireóidicas são substâncias que inibem a síntese ou a liberação de hormônios da tireóide ou que interferem com suas ações metabólicas em nível celular [142].

Existem numerosos compostos de interesse farmacológico contendo iodo. Estes compreendem substâncias contendo iodo, iodetos inorgânicos e diversos compostos orgânicos iodados. Os compostos à base de iodetos são utilizados em numerosas aplicações especializadas; conseqüentemente, a farmacologia do iodeto é muito diversificada e bastante subdividida e suas substâncias são consideradas principalmente pelas suas ações terapêuticas [143].

O iodeto tem larga distribuição extracelular e sua concentração na água dos glóbulos vermelhos é quase idêntica àquela encontrada na água do plasma. Além disso, o iodeto é acumulado na tireóide em tal proporção que a concentração de iodeto livre na glândula é 50 vezes maior àquela encontrada no plasma. A concentração de iodeto inorgânico no plasma corresponde entre 10 a 20% da concentração total de iodo [143].

O iodeto pode ser excretado do organismo pelo suor, fezes e leite das quais em média, 98% de uma dosagem do composto, administrado a um indivíduo atireóidico pode ser recuperada na urina [143].

Outras aplicações medicamentosas dos iodetos inorgânicos são relatadas na literatura. Sua utilização como agente mucolítico, expectorante e antitussígeno ganha notoriedade por apresentar eficácia no tratamento do aparelho respiratório acometido por indesejáveis perturbações [144].

Deste modo, existe uma alta demanda por métodos analíticos para a determinação de iodeto nas mais diversas matrizes e níveis de concentração. Os principais métodos para a sua

análise baseiam-se principalmente nas técnicas de espectroscopia atômica de emissão por plasma (ICP-AES) [145-147]; cromatografia iônica [148-155]; cromatografia gasosa [156]; cromatografia eletrocapilar [157]; cromatografia líquida de alta resolução, (HPLC) [158-162]; espectrofotometria [163-179]; técnicas de injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica [175-179].

O emprego de técnicas eletroquímicas tem sido utilizado tanto para estudo do comportamento eletroquímico de iodeto, bem como para a sua determinação nas mais variadas matrizes.

A determinação de iodeto através de técnicas potenciométricas é descrita por diversos autores [180-186]: membranas de PVC construídas de quelatos do furfural de Cu(II), Mn(II), Ni(II), Co(II) e zinco, encontram emprego para a determinação de iodeto [182]. Membrana de PVC com complexo de tetraazanuleno de níquel(II) foi obtida por YING e colaboradores [182]. Membrana de PVC com o complexo (benzoin)semietilenodiamina de mercúrio pode ser utilizado como sensor potenciométrico, segundo procedimento descrito por SONG e colaboradores [183]. Um eletrodo de prata para fins potenciométrico para o monitoramento de iodeto tem sido produzido através da técnica de deposição molecular de porfirinas solúveis em água [184].

Técnicas potenciométricas acopladas a sistemas de injeção em fluxo também têm encontrado notória aplicação para a determinação de iodeto. NAJIB e OTHMAN [185] descrevem metodologia para a determinação simultânea de cloreto, iodeto e brometo pela utilização de sistema FIA com detecção eletroquímica utilizando um eletrodo íon-seletivo. A performance da resposta para iodeto utilizando um eletrodo íon-seletivo comercial acoplado a sistema FIA é reportada em outro trabalho [186].

A utilização de técnicas stripping voltamétricas de redissolução anódica para pré-concentrar e determinar iodeto é descrita por GUANGHAN e colaboradores [187]. O procedimento envolve a utilização de um eletrodo de pasta de carbono e adição de 600µL do surfactante cetiltrimetilamonio diretamente na célula eletroquímica.

A utilização de eletrodos modificados empregados na eletroanálise também constitui uma nova fronteira da eletroquímica utilizada para a investigação do comportamento eletroquímico de muitas espécies de interesse. Dentro deste contexto, YANO [188] propõe um procedimento de modificação da superfície de um eletrodo de platina com o polímero poli(N-N- dimetilnilina/poli(o-cloroanilina) para investigação das propriedades

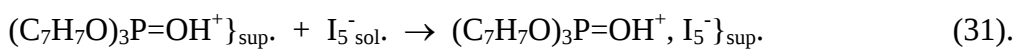
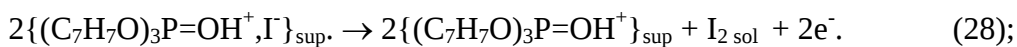
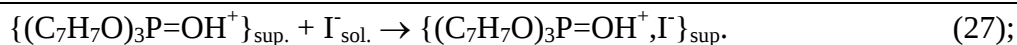
permiseletivas do iodeto no filme polimérico. Em outros trabalhos, YANO; SHIMOYAMA e OGURA [189,190] mostram que eletrodos de platina modificados com filmes do polímero poli(o-fenilenediamina) também apresentam características semelhantes de permiseletividade para halogênios, tais como brometo e iodeto, enquanto espécies catiônica, como Fe(II), Ti(I) e Mn(II) são repelidas da superfície modificada. As metodologias descritas não reportam aplicações para quantificação de iodeto.

TANG; KINATI e SHIOTANI [191,192] mostram o comportamento eletroquímico do iodeto analisado com eletrodo de disco de platina modificado com polianilina. Neste trabalho, é admitida a existência da espécie triiodeto, $[I_3]^-$ que apresenta interação com o agente modificador.

Eletrodo de pasta de carbono também foi o substrato eletródico utilizado para a construção de um sensor para iodeto [193]. Na construção do eletrodo foi utilizada pasta de carbono e o alcalóide cinchonina ($C_{19}H_{22}N_2O$). O modificador apresenta dois átomos de nitrogênio na forma de uma amina terciária com possibilidade de serem protonados formando ($R-NH_3^+$), que podem atuar como agente de pré-concentração de espécies aniônicas. A formação de par iônico entre cinchonina protonada e iodeto foi monitorada por técnicas voltamétricas e comprovada pela utilização de dados cristalográficos e espectrofotometria UV.

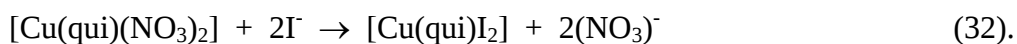
Fulereo C_{60} são membranas de lipídios que apresentam alta hidrofobicidade capaz de dissolver iodo molecular. Esta propriedade foi explorada por WANG e colaboradores [194] para determinação de iodeto. A formação de complexo entre $(C_{60})I_2 + I^-_{\text{solução}}$ gerando $(C_{60})I_3^-$ é proposta e mostra que a sensibilidade do sensor é amplificada em mais de 100 vezes.

A modificação de eletrodo de pasta de carbono com o agente tensoativo fosfato de tricresil é descrita por SVANCARA e colaboradores [195]. A formação de par iônico e efeitos de sinergismos, fornecidos pelo modificador, foram utilizados para pré-concentração e extração de iodeto. A considerável afinidade do modificador retido na pasta de carbono em meio ácido é devido à função éster da molécula orgânica que pode ser protonada aumentando, desta forma, a capacidade lipofílica do composto favorecendo a formação de par iônico estável com ânions volumosos. As possibilidades de interação desta molécula para o estudo de iodeto podem ser expressas pelas equações do esquema 10.



Esquema 10: Esquema para formação de par iônico entre iodeto e fosfato de tricresila, [195].

A utilização do complexo de quinina, $[Cu(qui)(NO_3)_2]$, um alcalóide que apresenta forte atividade antimalárica, na formação de um outro complexo que pode ser obtido por troca-iônica com o iodeto formando $[Cu(qui)I_2]$ é descrita por YEOM; WON e SHIM [196]. Neste trabalho, quinina é incorporada em um eletrodo de pasta de carbono para análise de iodeto. A formação de um novo complexo foi monitorada por meios de técnicas voltamétricas, espectros de absorção na região do UV-vis, FTIR, ICP-AES e análise elementar. A reação de troca iônica compensatória entre os terminais nitrato da quinina e iodeto em solução aquosa pode ser representada pela seguinte expressão:



Eletrodo de pasta de carbono modificado com sal de Friedel's, $(Ca_4Al_2(OH)_{12}Cl_2 \cdot 4H_2O)$, para análise de iodeto também é descrito por WALCARIUS e colaboradores [197]. Reação de troca iônica compensatória entre o cloreto, impregnado na pasta de carbono, e o iodeto em solução, permitiu a caracterização do comportamento eletroquímico do halogênio pela liberação de cloreto para a solução e aprisionamento de iodeto.

Em recente comunicação, WU e colaboradores [198] descrevem a utilização de um eletrodo de carbono vítreo modificado com quitosana para o estudo do comportamento eletroquímico de iodeto. Quitosana é um biopolímero derivado da celulose que apresenta propriedades para adsorver metais, corantes, proteínas e halogênios. Segundo os autores, o agente modificador apresenta a propriedade de formação de complexo com iodeto, que foi utilizada para monitoramento do haleto.

1.9 – IDOXURIDINE.

Idoxuridine [2'-deoxy-5-iodouridine], (IDU), cuja estrutura é mostrada na Figura 2, é um potente agente antiviral pertencente a família das pirimidinas iodada. Foi sintetizado pela primeira vez em 1950 e inicialmente utilizado como droga antitumor da década de 60. Apresenta-se na forma de um pó branco, quase inodoro. Sua fórmula molecular é composta de uma base nitrogenada iodada diretamente ligada a um terminal desoxiribose. Tem como peso molecular 354 g mol^{-1} , $\text{pKa} = 8,25$ e pronta solubilidade em solução de pH alcalino, além de dioxano e metanol. É um potente agente contra varíola, vaccínia, herpes, varicela-zoster, citomegalia e poliomias. Em adição, o fármaco apresenta potencialidade no tratamento tópico de ceratoconjuntivite herpética. A droga é rapidamente inativada por enzimas tissulares, denominadas nucleotidases, presentes principalmente, no fígado e cérebro, motivo pelo qual é administrada por via intravenosa ou aplicação tópica. Após a administração por via intravenosa, mantém-se em circulação somente por cerca de 30 min, sendo metabolizada em iodouracil e uracil. Esta via de administração da substância já foi utilizada no tratamento da encefalite por herpes simples e na varicela disseminada em pacientes imunodeprimidos; entretanto, a terapêutica é acompanhada de depressão medular e hepatotoxicidade. A droga apresenta como característica a inibição e replicação de vírus do DNA por competição com a timina na formação deste ácido nucléico. Desta forma, o DNA formado pode apresentar defeitos, sofrendo ruptura e dando a morte viral. É uma droga tóxica que pode agir da mesma forma no DNA celular, provocando diminuição da multiplicação das células do hospedeiro [199]. Deste modo, devido as suas características mutagênicas não tem sido recomendado para uso sistêmico [199]. Por conseguinte, os efeitos antiviral do IDU, podem depender de três mecanismos: (a) formação de um DNA contendo IDU que é funcionalmente deficiente; (b) inibição direta de enzimas envolvidas na incorporação da timidina no DNA e (c) na ralação de inibição dos derivados do IDU em relação às mesmas enzimas [200-202].

Durante a infusão de IDU, as concentração do fármaco podem ser mensuradas em valores entre $9,00$ a $36,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ em soro; entre $45,0$ a $1,00 \times 10^3 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ em urina e em fluidos cerebrospinal com atividade de $833 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. Nenhuma espécie pode ser detectada nos referidos fluidos biológicos após cessação da droga. A concentração mínima inibitória de IDU varia entre $5,00$ a $10,0 \text{ } \mu\text{g}$ por $0,400 \text{ mL}$ do composto dependendo do objetivo de seu emprego [203].

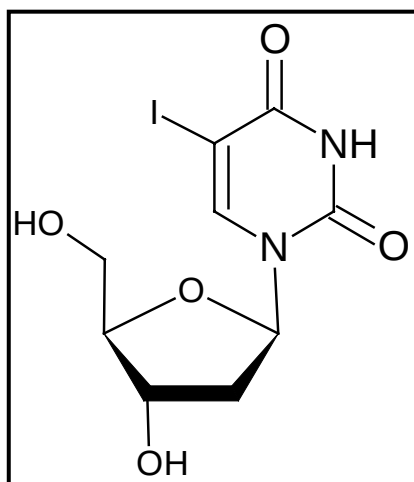


Figura 2: Fórmula estrutural do idoxuridine.

Os principais métodos analíticos para a determinação do fármaco baseiam-se principalmente nas técnicas de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) [204-208] e cromatografia líquida [209].

Um procedimento para avaliar a estabilidade além de estabelecer metodologia para determinação de IDU é reportado por SIMPSON e ZAPPALA [210]. Hidrólise por aquecimento e irradiação de solução de IDU com lâmpada germicidal promove a formação de produtos de decomposição do fármaco que podem ser monitorados espectrofotometricamente. A estabilidade de IDU e outros halo-derivados, tais como, flúor, cloro e bromo em mesma posição no anel uracil foi avaliada em solução ácida, neutra e alcalina [211], utilizando técnica de cromatografia líquida e detecção espectrofotométrica para a identificação dos produtos finais. Processo empregando hidrólise ácida do IDU também pode ser encontrado na literatura. GARRETT; SUZUKI e WEBER [212], empregando técnica espectrofotométrica e cromatografia de camada delgada, apresentam proposta mecanística para a liberação de iodeto do fármaco IDU. Neste ensaio, é atribuída a liberação de iodeto do fragmento iodouracil catalisada pela ação do carboidrato ribose, que também é um dos constituintes do composto. A cinética desta liberação apresenta característica de primeira ordem e o teor de iodeto liberado foi quantificado por testes iodométrico.

Outros relatos na literatura, também mostram que IDU e demais pirimidina halogenada podem sofrer liberação de seu halogênio através de vários processos:

SETHI; NELSON e McCLOSKEY [213], empregando método de espectrometria de

massa com bombardeamento atômico em diversos halonucleosídeos em matriz de glicerol deuterado, mostram que IDU sofrer substituição de seu haleto por hidrogênio.

O emprego de lâmpadas germicidal e ultravioleta na fotólise de diversas pirimidinas iodadas é descrito por RAHN e SELLIN [214,215]. A exposição à radiação desta classe de compostos promove a liberação de iodeto, o qual foi monitorado por espectrofotometria, cromatografia e com a utilização de eletrodo íon-seletivo. O emprego de irradiação de IDU por um período de 18 h promove a conversão de 90% do composto original a iodeto.

Vários compostos halogenados foram analisados pelo grupo de trabalho do professor HILP [216]. O emprego de técnica de frasco de combustão de oxigênio possibilitou a comparação do teor de muitos halogênios presentes na estrutura de diversos compostos. O emprego da referida técnica possibilitou a quantificação de iodeto contido no IDU com um desvio padrão de 0,09%.

MASSAGLIA; ROSA e SOSI [217] mostram que iodopirimidinas podem liberar seu halogênio após reação de hidrólise parcial dos compostos. A aplicação de técnica cromatográfica de camada delgada para processos de separação na análise de produtos de hidrólise de iodopirimidina obtidas por radiólise é descrita. Isótopos de iodeto ¹²⁵I e ¹³¹I foram permutados com o halogênio original dos compostos e checados por auto-radiografia. Os resultados mostraram que iodeto é o maior produto resultante da degradação de IDU.

Digestão enzimática, desalogenação hepática e incubação em soro também são metodologia reportados na literatura para a desalogenação de compostos iodados [218-220]. A aplicação de técnica cromatográfica na detecção de isótopos de iodeto marcados no IDU pode ser utilizada como ferramenta quantitativa de iodeto excretado em urina humana. Ressonância magnética nuclear e cromatografia de camada delgada são ágeis para identificar produtos de hidrólise enzimática do IDU.

Análise térmica empregando DSC foi a técnica escolhida por OLAFSSON; BRYAN e LAU [221], para investigar uma série de 5-halo-deoxiuridina substituídos. De acordo com seus relatos, toda a série estudada apresenta picos endotérmicos na região de 400°C atribuídos a fusão dos compostos, seguido de outros picos exotérmicos em temperaturas mais elevadas correspondentes a clivagem das ligações glicosídicas existentes nos compostos. A liberação de iodeto do IDU foi confirmada através de testes com amido comprovando também a liberação de halogênios dos compostos analisados.

A utilização de eletrólise a potencial controlado para geração de produtos dos

compostos derivados de bromoanilina e iodoanilina é descrita por KADAR e colaboradores [222]. A aplicação de técnicas voltamétricas, cromatografia gasosa e espectrometria de massa possibilitaram a identificação dos produtos. Segundo seus resultados, os halogênios destes compostos podem ser eliminados com geração de dímeros de suas respectivas matrizes e os haletos podem ser monitorados por aplicação de curvas de corrente vs potencial.

Somente um método eletroquímico para a determinação de IDU pode ser encontrado na literatura [223]. Neste trabalho, são reportados o comportamento voltamétrico e polarográfico de pulso diferencial dos compostos IDU e 5-(2-bromovinil)-2'-deoxuridine sob eletrodo de mercúrio. Segundo os autores, a redução de IDU ocorre pela transferência eletrônica de dois elétrons e clivagem da ligação halogênio-carbono em potencial de -0,97 V (ECS) em tampão fosfato pH 7,0. Curvas de calibração foram obtidas somente na faixa de concentração entre 1,00 a $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ para ambos os compostos na presença de 1,0% de gelatina, que suprime máximos polarográficos.

Desta forma, a análise dos principais métodos analíticos utilizados para a determinação de CGDS, NP, iodeto e IDU encontrados na literatura mostram diversas metodologias baseadas, principalmente nas técnicas espectrofotométricas, cromatográficas e eletroquímicas. De uma forma mais geral, as metodologias apresentadas requerem altas concentrações dos compostos ou a necessidade de sofisticados equipamentos, como é o caso das técnicas cromatográficas ou são complicados devido a um grande número de etapas de extração das amostras, como os métodos espectrofotométricos. Deste modo, considerando que a aplicação de técnicas eletroquímicas na análise dos compostos farmacêuticos tem ganhado notoriedade por fornecer métodos analíticos confiáveis, sensíveis e de baixo custo é de nosso interesse investigar o comportamento eletroquímico dos referidos compostos com eletrodo de carbono vítreo modificado com o poliaminoácido PLL e estabelecer metodologias eletroanalíticas para o monitoramento destes fármacos baseadas em eletrodos modificados. Por fim, seria vantajoso investigar modelos de interações do poliaminoácido PLL imobilizado na superfície do eletrodo com fármacos pertencentes a classes diferenciadas e avaliar modelos miméticos desta interação, bem como investigar a possibilidade de construção de modelos de liberação gradativa de drogas.

1.10 - OBJETIVO.

Uma vez que a literatura reporta o sucesso na utilização e aplicação de eletrodos modificados com os mais diversos agentes modificadores de superfícies e, considerando que o polímero PLL tem mostrado potencialidades quando utilizado como revestimento de superfícies eletródicas na investigação de processos eletroquímicos dos mais diversificados é objetivo do presente trabalho investigar novas formas de imobilização do poliaminoácido PLL na superfície do eletrodo de carbono vítreo e avaliar a sua interação com diferentes classes de fármacos de interesse clínico.

Em virtude da inexistência de metodologias eletroquímicas baseadas em eletrodo de carbono vítreo com e sem modificação com polímeros de troca iônica aplicado na análise de CGDS este trabalho tem como finalidade estudar o comportamento voltamétrico de redução do agente anti-asmático e propor metodologia eletroanalítica para a sua direta quantificação com eletrodo modificado com PLL.

Considerando que estudos eletroquímicos prévios sobre o composto NP foram realizados somente sob eletrodo de mercúrio é objetivo do presente trabalho estudar o comportamento voltamétrico de redução do hipotensor NP sobre eletrodo de carbono vítreo com e sem filmes de PLL e propor método para a sua quantificação em fluidos biológicos, tais como plasma e urina humana.

Considerando que as metodologias descritas na literatura para análise de iodeto reporta um número consideravelmente elevado de procedimentos eletroquímicos utilizando eletrodos modificados com os mais variados agentes modificadores com relativo sucesso em seus empregos, tem-se como finalidade, avaliar a interação do iodeto com o poliaminoácido PLL imobilizado na superfície do eletrodo de carbono vítreo além de propor nova metodologia para a sua direta quantificação em formulações farmacêuticas.

Uma vez que o único método eletroquímico reportado na literatura para a determinação de IDU é baseado em eletrodo de mercúrio, pretende utilizar o eletrodo de carbono vítreo com a finalidade de estudar o comportamento do IDU tanto na presença como na ausência de PLL e propor nova metodologia analítica para a sua determinação em urina humana baseado em eletrodo modificado com poliaminoácido PLL.

CAPÍTULO

1

INTRODUÇÃO.

PARTE

“B”

ARRANJOS DE

NANO

ELETRODOS.

CAPÍTULO 1.0.

1.1 – ARRANJOS DE NANOELETRÓDOS.

Os nanoeletrodos (NE) são resultados de considerável interesse teórico e prático e têm sido desenvolvidos muito recentemente [1-5]. Arranjo de nanoeletrodos, chamados de “Ensembles” (NEE), é um conjunto não ordenado de eletrodos nanoscópicos construídos em membrana de polycarbonato ou poliéster como hospedeiro de metais depositados quimicamente no interior de seus poros [1].

A técnica usualmente consiste na ativação das membranas de ultra-filtração de modo a favorecer cineticamente a redução do metal na interface polímero-solução. O resultado final deste processo é a obtenção de uma membrana preenchida do metal, (ouro), no qual é recoberta de uma camada do metal sobre as respectivas superfícies. Na fase de construção destes dispositivos, uma das camadas externas apresenta-se destacada da superfície da membrana na forma de discos cilíndricos de ouro que são formados nos poros destes materiais [1].

O trabalho final compreende a fixação de uma fita de cobre na superfície do ouro que recobre a membrana que atua na condução da corrente elétrica para o eletrodo e a aplicação de uma outra camada de fita que funciona como isolante elétrico e reforça a conexão. Antes da aplicação desta fita é definido o espaço no qual é delimitada a área do NEE que será exposta à solução. Esta área é definida como a área geométrica, (A_{geo}), dos NEEs, enquanto a área ativa, (A_{at}), destes dispositivos é a soma das áreas dos simples nanodiscos. Um outro importante parâmetro é a área eletródica fracionária, (A_{ef}), que é definida como a relação entre a área ativa e a geométrica ($A_{ef} = A_{at}/A_{geo}$) [1]. Para as membranas comumente utilizadas, este parâmetro é um número na ordem de 10^{-3} .

Para um eletrodo convencional de área igual à área geométrica de um NEE, em ambos os casos, as expressões de corrente são proporcionais às suas respectivas áreas. Nisto segue, que a relação sinal/ruído, observada em um NEE, será igual à relação sinal/ruído verificado em eletrodo convencional de mesma área dividido pela área eletródica fracionária. Desta forma, e como esta relação resume-se em um número muito pequeno, (cerca de 10^{-3}), esta razão é muito maior do que aquela observada nos eletrodos convencionais [1].

Este fato é responsável pela obtenção de limites de detecção significativamente inferiores aos eletrodos convencionais. Esta peculiaridade apresenta resultados com sinal analítico, (corrente Faradaica), destacado dos ruídos, (corrente residual), para valores de corrente bastante baixa, em concentrações inferiores do analito. Esta característica, possibilita a utilização eletroanalítica dos NEEs na quantificação de substratos em concentrações de ultra-traços. A corrente capacitiva observada nos macro-eletrodos pode ser representada por: $i_{c,m} = \nu C_d A_{geo}$; onde ν = velocidade de varredura; C_d é a capacitância da dupla camada elétrica; A_{geo} = área geométrica e $i_{c,m}$ = corrente capacitiva nos macro-eletrodos, [1]. A corrente capacitiva observada nos NEEs, ($i_{c,NEE}$), é dado por: $i_{c,NEE} = \nu C_d A_{at}$; onde A_{at} é a área ativa do NEE [1].

A diminuição da superfície eletródica da escala milimétrica em eletrodos tradicionais para a micrométrica ou nanométrica determina algumas características importantes, tais como a redução drástica da queda ôhmica, graças à pequena corrente de eletrólise que flui na célula eletroquímica; além de um aumento na velocidade do transporte de massa para a superfície eletródica, observados em geometrias muito pequenas. Uma outra grande vantagem observada em eletrodos de pequena dimensão é uma substancial redução da corrente capacitiva na dupla camada elétrica. Isto ocorre, devido esta corrente ser proporcional apenas à área eletródica efetiva e, conseqüentemente, permite um melhoramento na resolução das curvas voltamétricas devido ao aumento na discriminação entre a corrente faradaica e a capacitiva, maximizando desta forma, a relação sinal-ruído [6].

A construção de um NEE envolve diferentes metodologias [1,6-8]. O método “template” comumente usado para obtenção de nanopartículas, consiste na síntese de nanoestruturas de um material desejado nos poros de uma membrana de ultra-filtração [1]. Uma grande variedade de membranas plásticas “track-etched” pode ser encontrada comercialmente e possibilita de um lado a construção de um conjunto de eletrodos na forma de discos de ouro com um diâmetro mínimo de 10 nm. A membrana utilizada é uma membrana de ultra-filtração, comumente comercializada que se caracteriza por possuir nanoporos cilíndricos. Estas membranas apresentam diâmetro médio de 47 mm e 6 μ m de espessura e uma densidade média de $6,0 \times 10^8$ poros por centímetro quadrado [1]. São facilmente dissolvidas em muitos solventes orgânicos e atacadas por álcalis. Por ser bastante transparente é fotoinativa na região do visível, facilita a investigação

espectrofotométrica de nanopartículas agregadas em seus poros. As superfícies destas membranas são revestidas com um extrato de polivinilpirrolidone (PVP) que fornece um caráter parcialmente hidrofílico à superfície, devido o PVP apresentar um oxigênio em sua estrutura que facilita o processo de deposição de ouro.

Os poros destas membranas são obtidos utilizando-se processo “track-etch”, mostrado na Figura 1.

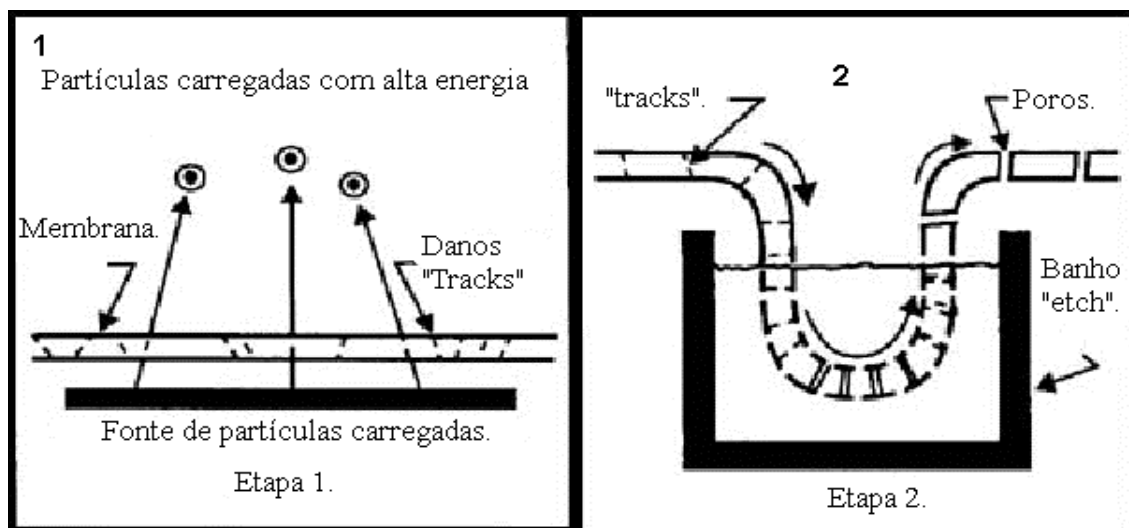


Figura 1: Esquema de preparação “track-etch” das membranas de policarbonato.

Em uma fase inicial (Figura 1 etapa 1) a membrana de policarbonato sofre um bombardeio de raios colimados de partículas altamente carregadas de energia em um reator nuclear. Este processo favorece a criação de percursos com defeitos perpendiculares à superfície da membrana com um desvio de aproximadamente 30°. Posteriormente, esta membrana, previamente bombardeada é imersa em uma solução alcalina para formar os cilindros em correspondência aos traços obtidos com o processo anterior, (Figura 1 etapa 2).

A técnica geralmente utilizada para depósito de nanofibras de ouro no interior dos poros destas membranas tem sido bastante documentada na literatura [1]. O processo baseia-se na deposição de ouro sobre um material não condutor, como é o caso destas membranas.

Muitos trabalhos disponíveis na literatura reportam diversas aplicações destes dispositivos [1-5, 9-17].

1.2 – OBJETIVO.

Os NEEs têm sido aplicados no estudo eletroquímico de pequenas moléculas com comportamento redox reversível e comumente empregados como mediadores redox em biosensores. Estes estudos têm verificado a efetiva possibilidade de operar com os NEEs e com a voltametria cíclica usando concentrações sub-micromolar de mediadores. Os principais mediadores investigados até o presente momento, baseiam-se em simples soluções sintéticas de derivados hidrossolúveis do ferroceno, complexo de rutênio [2], moléculas redox orgânicas, tais como fenotiazinas e viologênio [5]. Deste modo, a utilização destes eletrodos tem permitido a diminuição no limite de detecção e melhoramento da difusão das espécies à superfície eletródica.

O objetivo do presente trabalho é investigar a construção, caracterização e aplicação destes novos dispositivos com o intuito de desenvolver sensores eletroquímicos com alta sensibilidade para emprego na análise de iodeto de potássio. A aplicação deste tipo de eletrodo pode ser importante na análise clínica, pois permite o monitoramento de fármacos contidos em formulações farmacêuticas e/ou fluidos biológicos, melhorando substancialmente os limites de detecção em relação à sensores análogos que empregam eletrodos convencionais e minimizam os efeitos dos interferentes eletroativos que podem estar presentes em amostras biológicas e podem apresentar sinais indesejáveis, como ácido ascórbico, uréia, creatinina e ácido úrico [2,5].

CAPÍTULO

2

PARTE

EXPERIMENTAL.

2.0 - PARTE EXPERIMENTAL.

2.1 - EQUIPAMENTOS.

Todas as medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato modelo 362 da EG & G Instruments Princeton Applied Research, interfaciado a um programa AVOLM desenvolvido pelo Grupo de Materiais Eletroquímicos e Métodos Eletroanalíticos do Instituto de Química de São Carlos – da Universidade de São Paulo (USP/SC) e sistema de 3 eletrodos da EG & G Parc. Um eletrodo de Ag/AgCl em KCl (3,00 mol L⁻¹) e um contra eletrodo de fio de platina foram utilizados como eletrodos de referência e auxiliar. Eletrodos de carbono vítreo com área de 0,031cm², carbono espectroscópico com área de 0,332cm² e grafite pirolítico com área de 0,031cm² envolvidos em Teflon[®] foram utilizados como eletrodos de trabalho. Também foram utilizados eletrodos de ouro e platina com área igual a 0,049cm² envolvidos em vidro.

As medidas de pH foram realizadas em um pHmetro da marca Micronal, modelo B222 com eletrodo de vidro combinado, previamente calibrado.

As medidas espectrofotométricas foram realizadas em um espectrofotômetro UV-visível da Hewlett Packard modelo 8453 interfaciado em um programa UV-visible Chemstation Software da Hewlett Packard modelo HP- 845X. Todos os experimentos foram conduzidos em cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

As análises MEV foram realizadas em um microscópico de varredura eletrônica JEOL-JSM-T330A. As amostras de solução aquosa de PLL foram depositadas sobre lamínulas de vidro e coladas em suporte de alumínio com 12 mm de diâmetro, seguido da aplicação de uma cobertura de ouro, depositado por “sputtering” através de um metalizador EDWARD S150B.

2.2 – REAGENTES E MATERIAL.

O sistema de solução tampão utilizado nas medidas voltamétricas foi o Britton-Robinson (B-R) 4,00x10⁻² mol L⁻¹, no intervalo de pH de 2,0 a 12,0, obtido pela mistura de ácido acético, ácido ortofosfórico e ácido bórico, com os valores de pH ajustados por adição de hidróxido de sódio 0,100 mol L⁻¹. Preparou-se uma solução tampão fosfato 0,200 mol L⁻¹ obtido pela mistura de hidrogenofosfato de sódio e dihidrogenofosfato de sódio com os valores de pH ajustados por misturas de alíquotas correspondentes a cada

uma das formas salina. Em valores de pH 1,0-2,0 utilizou-se o sistema HCl/KCl 0,200 mol L⁻¹, obtido pela mistura de ácido clorídrico e cloreto de potássio com os valores de pH ajustados. Em valores de pH entre 3,0 a 5,6 utilizou-se solução tampão acetato 0,200 mol L⁻¹ obtido pela mistura de ácido acético e acetato de sódio. Utilizou-se, uma ainda solução de nitrato de potássio 1,00 mol L⁻¹.

Soluções estoque de ferricianeto de potássio 1,00x10⁻² mol L⁻¹, ácido perclórico 1,25 mol L⁻¹, nitroprussiato 1,00x10⁻² mol L⁻¹, cromoglicato disódico 1,00x10⁻² mol L⁻¹, glutaraldeído, cloreto de sódio 3,00 mol L⁻¹, sulfadiazina 1,00x10⁻² mol L⁻¹, N-(1-naftil) etilenodiamino 2,00x10⁻² mol L⁻¹, ácido clorídrico 0,500 mol L⁻¹, idoxuridine 1,00x10⁻² mol L⁻¹, iodato de potássio 1,00x10⁻² mol L⁻¹, periodato de potássio 1,00x10⁻² mol L⁻¹, cloreto de potássio 1,00x10⁻² mol L⁻¹, brometo de potássio 1,00x10⁻² mol L⁻¹, fluoreto de potássio 1,00x10⁻² mol L⁻¹, iodeto de potássio 1,00x10⁻² mol L⁻¹; e tiocianato de potássio 1,00x10⁻² mol L⁻¹, foram obtidas pela dissolução dos compostos em água deionizada em sistema milli-Q (milipore).

Soluções de trabalho do polímero poli-l-lisina (Sigma) (pesos moleculares= 7,43x10⁴ e 3,24x10⁴) foram obtidas pela dissolução de 10,0 mg do composto em 1,0 mL (solução a 1,00% m/v) em água deionizada. Alíquotas de 1,0 mL foram mantidas em frascos hermeticamente fechados em freezer e descongeladas diariamente para uso.

2.3 – LIMPEZA E INCORPORAÇÃO DE PLL AO ELETRODO.

2.3.1 – SEM GLUTARALDEIDO.

Os eletrodos de carbono vítreo, ouro, platina e carbono espectroscópico foram submetidos a polimento com alumina 0,3 µm dispersa em tecido de veludo, seguido de lavagens em água e ultrasson por 20 min. Os eletrodos de grafite pirolítico, além deste procedimento, tiveram suas superfícies lixadas com lixa nº 320. Após esse tratamento, alíquotas de 10 µL de PLL (1,00 % m/v) foram adicionadas nas superfícies dos eletrodos de carbono vítreo, platina, ouro e carbono pirolítico, enquanto para o eletrodo de carbono espectroscópico foram utilizadas alíquotas de 20 µL do poliaminoácido, seguida de evaporação do solvente utilizando estufa com uma temperatura controlada a 80 °C, seguido de resfriamento à temperatura ambiente.

2.3.2 - COM GLUTARALDEIDO.

De modo geral, o eletrodo de trabalho (carbono vítreo) após todo o tratamento de limpeza, conforme anteriormente mencionado, recebeu em sua superfície uma alíquota de 10 µL de uma mistura de iguais volumes de PLL e glutaraldeído previamente preparada, seguido de volatilização do solvente. A remoção dos filmes de poli-l-lisina:glutaraldeído da superfície do eletrodo pode ser facilmente obtida pela sua limpeza mecânica com a utilização de alumina em um pedaço de tecido de veludo seguido de lavagem em banho em ultrassom.

2.4. - TRATAMENTO DAS AMOSTRAS EM FLUIDOS BIOLÓGICOS.

2.4.1- PLASMA.

Plasma sanguíneo foi obtido pela centrifugação de sangue humano a 5.000 rpm por um período de 10 min seguido de seu congelamento. Antes de seu uso, o plasma foi degelado em temperatura ambiente.

A solução da amostra hospitalar NIPRIDE® (BIOLAB) foi obtida pela direta dissolução de 26,3 mg do composto em água desionizada em um balão volumétrico de 10 mL ($1,00 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹). Uma alíquota desta solução foi adicionada a um tubo de centrífuga contendo 1,50 mL de plasma sanguíneo, e 6,0 mL de ácido perclórico 1,25 mol L⁻¹ seguido de nova centrifugação a 5.000 rpm por mais 10 min. As medidas foram realizadas pela tomada de uma alíquota do material sobrenadante adicionado a um becker em solução tampão em valor de pH igual ao contido na cela eletroquímica.

2.4.2 – URINA.

Amostras de urina humana, (1,0 mL), fortificadas por NIPRIDE foram adicionadas em um balão volumétrico e diluído em 10 mL com água deionizada. Alíquotas desta amostra foram removidas e analisadas, utilizando o registro de curvas voltamétricas sem qualquer outro tratamento prévio. O mesmo procedimento foi conduzido para análise de CGDS e IDU em urina humana.

Para a realização dos estudos espectrofotométricos para o NIPRIDE®, alíquotas de uma solução de trabalho foram adicionadas em plasma ou urina contidos em balões volumétricos de 10 mL na presença de hidróxido de sódio, seguido da adição de

sulfadiazina e ácido clorídrico e completado ao menisco. Posteriormente, alíquotas de 3,0 mL desta mistura foram pipetadas diretamente em uma cubeta seguida da adição de N-(1-naftil)etilenodiamina necessário para a formação do cromóforo seguido de agitação por um tempo de um minuto e subsequente análise em comprimento de onda 544 nm. Todos os ensaios foram conduzidos através da utilização do método das adições do padrão.

2.5 – FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS ANALISADAS NO PRESENTE TRABALHO.

Soluções dos compostos farmacêuticos NIPRIDE[®] (BIOLAB), IODETO DE POTÁSSIO[®] (TEUTO), EXPEC[®] (LEGRAND), foram analisadas diretamente sem necessidade de prévio tratamento.

2.0 – PARTE EXPERIMENTAL.

2.1 – INSTRUMENTAÇÃO.

Todas as medidas voltamétricas foram conduzidas em um potenciostato/galvanostato CH Instruments Electrochemical Analyzer modelo 620A, interfaciado a um computador munido de seu respectivo software. Os eletrodos de referência e auxiliar utilizados em todos os experimentos foram Ag/AgCl (em KCl 3,00 mol L⁻¹) e uma espiral de platina, respectivamente. Os eletrodos de trabalho utilizados foram os NEEs, construídos conforme descrição abaixo, e um macroeletrodo convencional de ouro de 4,0 mm de diâmetro, correspondente a uma área geométrica de 0,126cm², foi utilizado como resposta comparativa com os NEEs.

As medidas de pH foram realizadas utilizando-se um pHmetro Metrohm 605 equipado com um eletrodo de vidro combinado, previamente calibrado.

As medidas espectrofotométricas foram realizadas em um espectrofotômetro Lambda 2 da Perkin Elmer, utilizando-se cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico.

Os estudo morfológicos das membradas douradas e dos nanoelementos foram realizados no laboratório de microscopia eletrônica empregando técnicas de varredura eletrônica de superfície (MEV), utilizando-se um instrumento JEOL JSM 5600, enquanto as análises de varreduras eletrônica de transmissão (MET), foram realizadas em um instrumento JEOL JEM 3010, ambos equipados com um espectroscópio de dispersão de energia (EDS).

2.2 – REAGENTES E MATERIAL.

Os reagentes utilizados no presente estudo foram: ácido trifluoroacético; nitrato de prata; formaldeído; ácido nítrico; nitrato de sódio; hexafluorofosfato di trimetilaminoferroceno (Fc); ácido sulfúrico; iodeto de potássio; diclorometano; ácido clorídrico; cloreto estanhoso; ácido fosfórico; ácido perclórico; tiocianato de potássio; nitrato de prata, solução amoniacal; metanol; sulfito de sódio; solução Oromerse (Italgalvano S.P.A.) e os compostos farmacêuticos FACOVIT[®] (Teofarma srl) e RUBJOVIT[®] (SIFI S.P.A). Membranas de ultra filtração de 10 30 e 220 nm foram obtidas da Osmonics Laboratory Products e SPI PORE. Todas as soluções foram

obtidas pela dissolução dos compostos em água desionizada em sistema milli-Q (milipore).

2.3 – PROCEDIMENTO DE DOURAÇÃO DAS MEMBRANAS POLIMÉRICAS.

A obtenção das matrizes utilizadas na construção dos NEEs foi efetuada através da deposição de ouro elementar nos nanoporos das membranas de polycarbonato, comercialmente disponíveis, conforme especificado:

1. Banho em ultra-som por três minutos. Este procedimento assegura a hidratação dos nanocanais para recepção dos agentes químicos posteriores;
2. Ativação das membranas hospedeiras em solução $0,026 \text{ mol L}^{-1}$ de SnCl_2 em ácido trifluoracético ($0,070 \text{ mol L}^{-1}$) em solução água/metanol (1:1 v/v) por um período de 45 min. Nesta etapa, ocorre a coordenação de Sn^{2+} na superfície na membrana devido à reação do metal com as funções amina e carbonílica do PVP;
3. Após uma perfeita lavagem da matriz com metanol, a membrana/ Sn^{+2} é submetida à deposição de Ag em solução amoniacal de nitrato de prata ($0,030 \text{ mol L}^{-1}$) por 10 min. Este procedimento assegura a reação redox na superfície da membrana elevando o estado de oxidação do estanho para (+4) e reduzindo íon prata (+) a prata elementar;
4. A membrana revertida com prata sofre imersão em solução $8,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2$ na presença de $0,100 \text{ mol L}^{-1}$ de sulfito de sódio e formaldeído ($0,600 \text{ mol L}^{-1}$) por um período de 24 h a zero grau Celsius em criostato termostatizado para favorecer uma deposição mais homogênea. Este procedimento favorece o lento deslocamento galvânico da prata, enquanto o Au^+ é reduzido na superfície da membrana a ouro metálico;
5. Após o processo de deposição das partículas de ouro por um período de 24 h, a membrana permanece, por um período de 12 h, em solução de ácido nítrico (25,0%) para dissolver os resíduos de estanho e prata remanescentes na superfície da membrana, seguido de secagem em condições ambientais.

Este processo é mostrado na Figura 2.

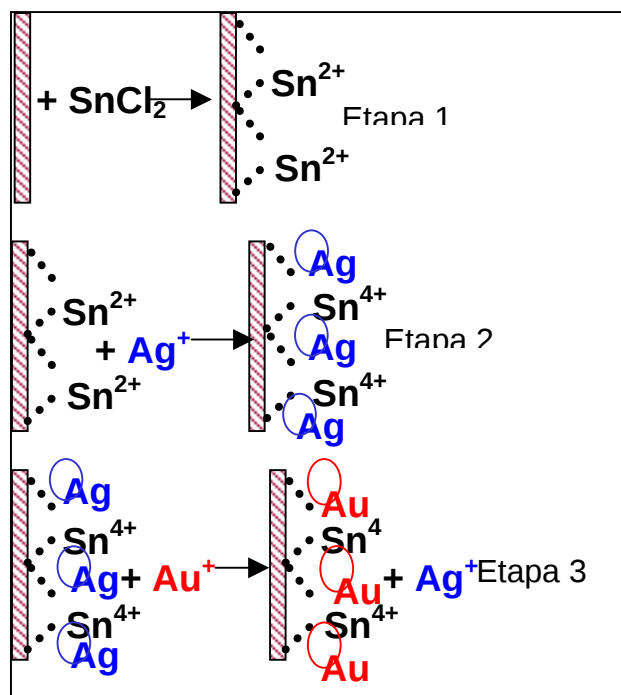


Figura 2: Esquema explicativo sobre o processo de deposição química utilizada para preenchimento com ouro nos nanoporos das membranas de polycarbonado [1].

2.4 – CONSTRUÇÃO DOS NEEs.

Para a construção de todos os NEEs utilizados no presente trabalho empregaram-se membranas OSMONICS de 30 nm. O procedimento para a sua construção é detalhado abaixo. Destaca-se, ainda que com uma única membrana dourada é possível construir 20 (vinte) NEEs.

1. O extrato superficial superior de ouro é removido da membrana simplesmente com a utilização de uma fita scotch do tipo “Magic” (produzido pela 3M). Este processo é comumente chamado de “pelagem” e mostrado na Figura 3.
2. Um pedaço de fita de cobre condutor (6,0x40 mm), é fixado sobre um pequeno quadrado de alumínio adesivo (não condutor) de um cm de lado;
3. Na parte central do quadrado de alumínio, previamente aderido à fita de cobre, é fixado um pedaço da membrana dourada de aproximadamente 5,0x5,0 mm com sua face inferior dourada e original que funcionará como contacto elétrico e garantirá o fluxo

eletrônico proveniente do potenciostato aos nanodiscos e vice-versa;

4. Após esta etapa, os NEEs são submetidos à temperatura de 150°C em estufa por 30 min. Este procedimento assegura ao polímero policarbonato uma transição vítrea e garante que os nanofios de ouro se fixem no interior dos poros da matriz hospedeira impedindo, desta forma, infiltrações da solução contida na célula eletroquímica;
5. Finalmente, é aplicado a este conjunto, uma fita reforçante com a finalidade de isolar e delimitar a área de trabalho. O diâmetro dos NEEs trabalhados foi de 3,0 mm, correspondente a uma área de 0,07 cm², previamente definida através da realização de um furo na fita aplicada no final de todo o processo. Este processo é esquematizado e mostrado na Figura 4.

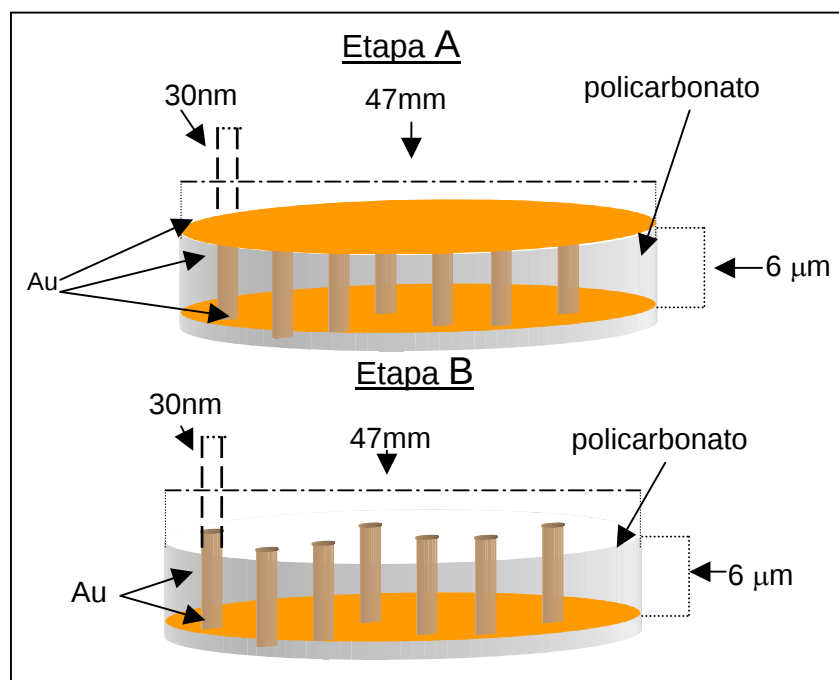


Figura 3: Representação esquemática de uma membrana compósito dourada utilizada para a fabricação de um NEE.

A referida figura, (etapa A), mostra o perfil de uma membrana recém dourada utilizando o processo de deposição "eletroless". Todas as medidas originais da membrana, anteriormente mencionada são mantidas diferindo, somente, no preenchimento dos poros com as nanofibras de ouro e os extratos superficiais do metal. Na etapa (B), a face superior do extrato superficial de ouro é removida de modo que os nanoelementos possam emergir na forma de discos cilíndricos e isolados. Todavia, o extrato inferior do metal deve ser mantido para efetuar o contato elétrico entre os nanoelementos e o conjunto eletródico.

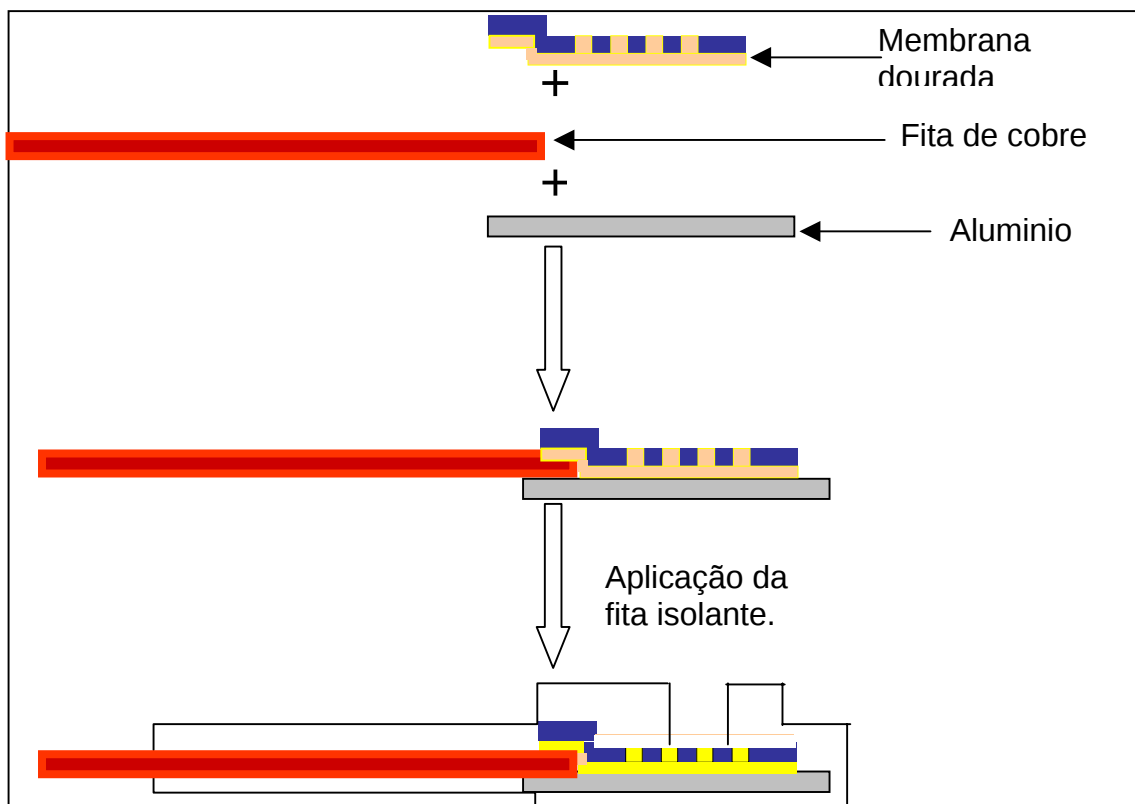


Figura 4: Esquema de construção de um NEE.

Por fim, este dispositivo é conectado em um suporte e ligado em um potenciostato. A ilustração é mostrada na Figura 5.

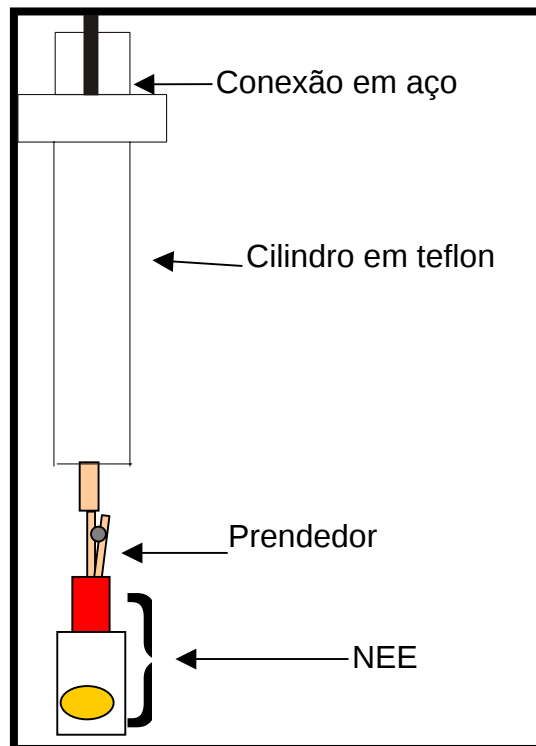


Figura 5: Esquema de construção de um suporte que serve de acoplagem para o NEE em uma célula eletroquímica.

CAPÍTULO

3

RESULTADOS

E

DISCUSSÃO.

3.0 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.

3.1 – CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE FILMES DE POLI-L-LISINA.

Os estudos morfológicos e topográficos de filmes de PLL foram obtidos através da dispersão de uma alíquota do polímero sobre lamínulas de vidro, conforme descrição na parte experimental. A Figura 3A mostra as micrografias de varredura de superfície, (MEV) de um filme de PLL em estufa a 80 °C, e aquele obtido após volatilização do solvente em condições de temperatura e pressão ambiental, Figura 3B.

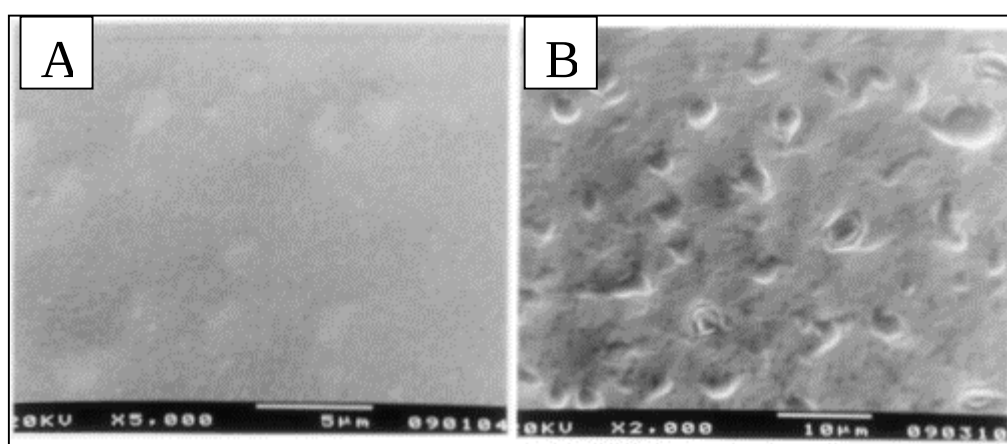


Figura 3: Micrografias de varredura de superfície obtidas de filmes de PLL depositados sobre lamínulas de vidro:(A) secagem a 80 °C em estufa e (B) seco à temperatura ambiente.

A análise dos resultados para filmes de PLL obtidos sob aquecimento, (Figura 3A), mostra uma superfície bastante homogênea e bem distribuída. Por outro lado, quando estes filmes são obtidos utilizando secagem em condições ambientais (Figura 3B), os mesmos se apresentam com bastantes erupções. Estes resultados evidenciam que o poliaminoácido PLL sob temperatura ao redor de 80 °C promove a mudança conformacional de uma transição α -helicoidal para β -laminar, o que confere melhor aderência do filme do poliaminoácido sobre superfícies eletródicas, conforme diagnosticado previamente [70,72].

3.1.1 – CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA.

A Resposta voltamétrica dos filmes de PLL imobilizados sobre diferentes materiais eletródicos foram investigadas utilizando-se soluções do poliaminoácido ($PM=7,43 \times 10^3$). Após deposição de 10 μL de uma solução (1,00% m/v) de PLL, o eletrodo foi submetido a aquecimento em estufa a 80 $^{\circ}\text{C}$ por 10 min. Nesta primeira etapa testaram-se eletrodos de platina, ouro, carbono espectroscópico, grafite pirolítico e carbono vítreo modificados com PLL, tomando-se como padrão soluções de hexacianoferrato de potássio segundo a literatura [18,77-79].

O voltamograma cíclico obtido da redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em KNO_3 1,00 mol L^{-1} com eletrodo de carbono vítreo é mostrado na Figura 4B, enquanto sobre o eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL para a redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ pode ser observado na Figura 4A.

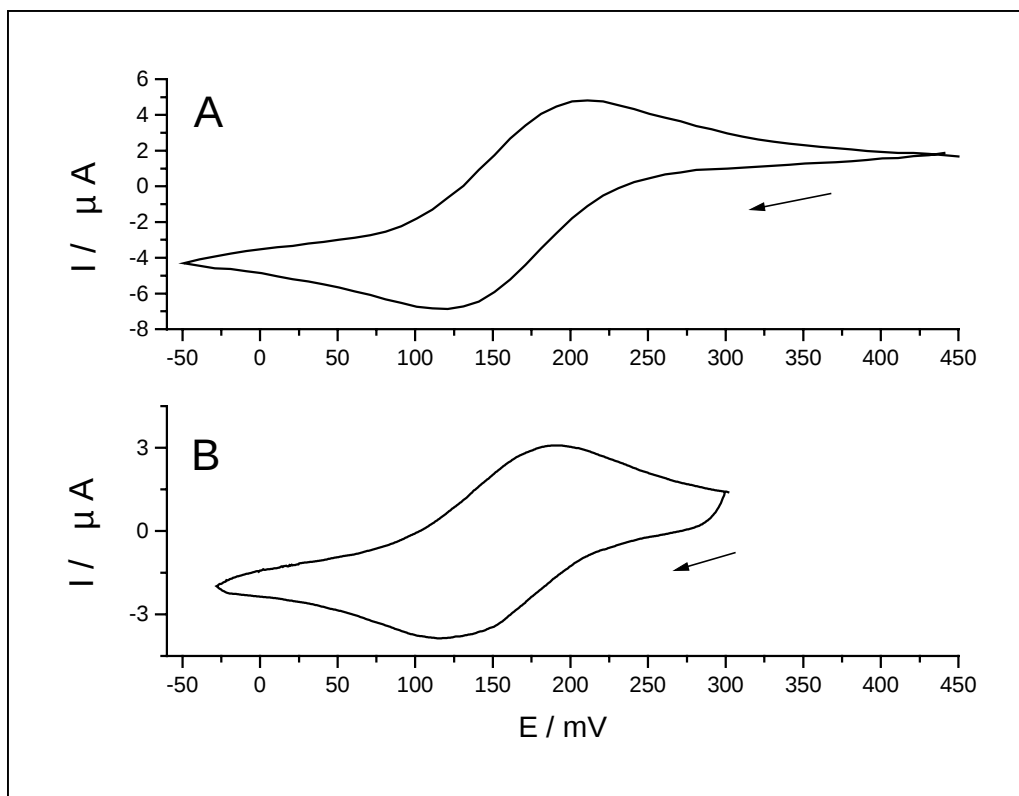


Figura 4A: Voltamogramas cíclicos da redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em 1,00 mol L^{-1} de KNO_3 com eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL. (B): $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ com eletrodo de carbono vítreo sem filmes de PLL. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Conforme descrito na literatura [224], a redução do par Fe(III)/Fe(II) no complexo ocorre em $E_{pc} = +0,12$ V, com um pico anódico na varredura reversa em $E_{pa} = +0,18$ V. Os valores de $E_{pa} - E_{pc}$ (ΔE_p) obtidos dos voltamogramas são de 60 mV. Uma relação linear entre corrente de pico catódico e raiz quadrada da velocidade de varredura foi observada no intervalo de varredura de potencial investigado entre 10 a 500 mV s^{-1} , segundo a equação: $i(\mu\text{A}) = -4,32 + 2,54v^{1/2}$, onde $v^{1/2}$ = raiz quadrada da velocidade de varredura. Segundo BARD [225], a razão de i_{pa}/i_{pc} pode ser calculada pela seguinte expressão: $i_{pa}/i_{pc} = (i_{pa}/i_{pc}) + 0,485(i_{sp})/i_{pc} + 0,86$, onde: i_{pa} = corrente de pico anódico e i_{pc} = corrente de pico catódico, e mostrou valores de i_{pa}/i_{pc} ao redor de um. Estes resultados mostram que a redução do complexo em meio neutro sobre eletrodo de carbono vítreo é controlada por um processo difusional e ocorre através da transferência reversível de um elétron [225]. Na Figura 4A é mostrado voltamograma cíclico obtido sobre eletrodo de carbono vítreo revestido com PLL em solução de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} de ferricianeto em solução de KNO_3 1,00 mol L^{-1} . O voltamograma cíclico mostra que o par redox $\text{Fe}^{\text{III/II}}$ apresenta características semelhantes ao eletrodo sem PLL, com um par de picos em $E_{pc} = +0,13$ e $E_{pa} = 0,20$ V (Figura 4A). Entretanto, a posterior lavagem e transferência do eletrodo para nova solução de 1,00 mol L^{-1} de KNO_3 , revela que a espécie não foi incorporada na superfície do eletrodo, pois nenhum pico é observado nos voltamogramas cíclicos. O tempo de exposição do eletrodo com PLL a solução de ferricianeto foi variado entre 10 a 180 min, porém não se observa nenhum pico de redução do ferricianeto quando o eletrodo é transportado para nova solução de KNO_3 .

A Figura 5 mostra varreduras sucessivas de potencial para redução de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL em solução de KNO_3 [78].

Os voltamogramas cíclicos não mostram nenhum aumento de corrente nas varreduras sucessivas de potencial mesmo utilizando concentrações mais baixas de hexacianoferrato (III) mostrando que o analito não é incorporado nos filmes de PLL em função da varredura de potencial. Do mesmo modo, a transferência do eletrodo modificado com PLL e hexacianoferrato para nova solução de eletrólito suporte mostra voltamogramas cíclicos com total ausência do pico correspondente ao par redox Fe(III)/Fe(II). O procedimento foi repetido por imersão do eletrodo, por adição de alíquotas de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ ao eletrodo previamente modificado com PLL e não foi observada a formação de um filme estável o suficiente para permanecer, quando transferido para nova solução contendo somente o eletrólito suporte.

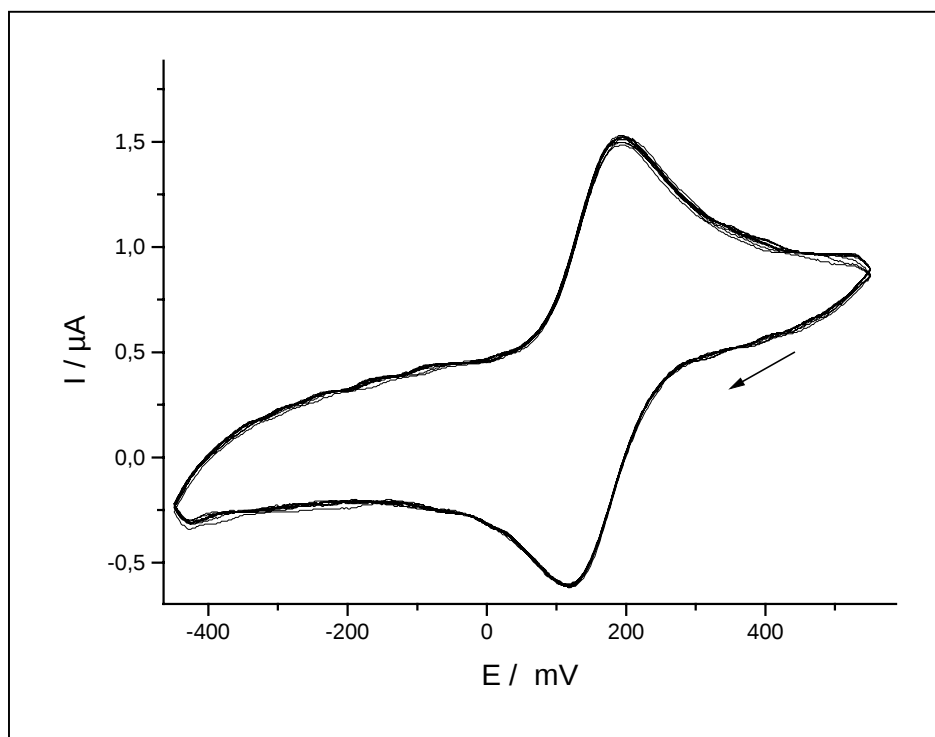


Figura 5: Voltamogramas de varredura sucessiva de potencial, (10 ciclos), para redução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto em solução de KNO_3 sobre eletrodo de carbono vítreo revestido com PLL. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

No entanto, voltamogramas cíclicos registrados para $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto sobre eletrodo de carbono vítreo com e sem filmes de PLL (Figura 6) mostra que sob eletrodo modificado com PLL a corrente de pico é maior (três vezes), mostrando que o polímero catiônico pode estar atuando como agente de pré-concentração do íon hexacianoferrato, entretanto, não retém o ânion na superfície quando transferido para outro ambiente.

Os testes prévios foram repetidos sobre eletrodos de ouro e resultados semelhantes foram obtidos, como mostra a Figura 7.

Sobre eletrodo de ouro o perfil da curva voltamétrica se assemelha àquela obtida para o eletrodo de carbono vítreo. O sistema apresenta-se com característica de um par de picos reversíveis em potencial de $E_{pc} = +0,12 \text{ V}$ e $E_{pa} = +0,15 \text{ V}$, com valores de i_{pa}/i_{pc} próximo a unidade. Relações lineares entre i_{pa} vs $\nu^{1/2}$ são obtidas segundo a equação: $[(i_{\mu A}) = 0,460 + 1,94 \nu^{1/2}]$, onde $\nu^{1/2}$ = raiz quadrada da velocidade de varredura, indicando que o processo é controlado por difusão [225]. O comportamento de eletrodo de ouro revestido com

PLL, conforme descrição anteriormente e imerso na célula eletroquímica na presença de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto é mostrado na Figura 7B.

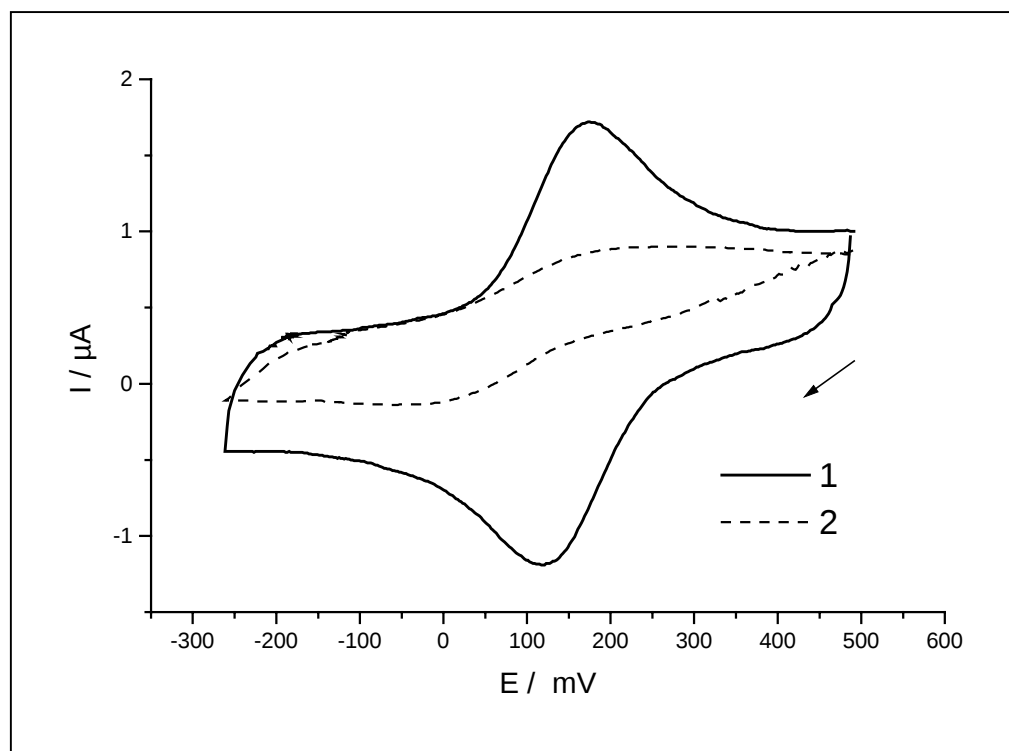


Figura 6: Voltamogramas cíclicos para redução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto sobre eletrodo de carbono vítreo com PLL (curva a) e sem PLL (curva 2). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Voltamogramas cíclicos obtidos após varredura sucessiva de potencial não apresentam sinais de incorporação do analito, uma vez que não se constata incremento de corrente entre os registros consecutivos. Após registros sucessivos em solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ e posterior transferência do eletrodo para a célula eletroquímica contendo somente o eletrólito de suporte o voltamograma cíclico não apresenta qualquer sinal voltamétrico, mostrando a não aderência do filme. De modo semelhante aos resultados obtidos para eletrodo de carbono vítreo é possível constatar que a presença do polímero modificador na superfície do eletrodo de ouro também possibilita a pré-concentração do analito na superfície do eletrodo. Todavia, a análise *ex-situ* da espécie não é viável, possivelmente devido à migração da espécie para o eletrólito de suporte e/ou a remoção da película modificadora (PLL é solúvel em água) na superfície do substrato, quando se processa a transferência do eletrodo para célula contendo somente o eletrólito de suporte.

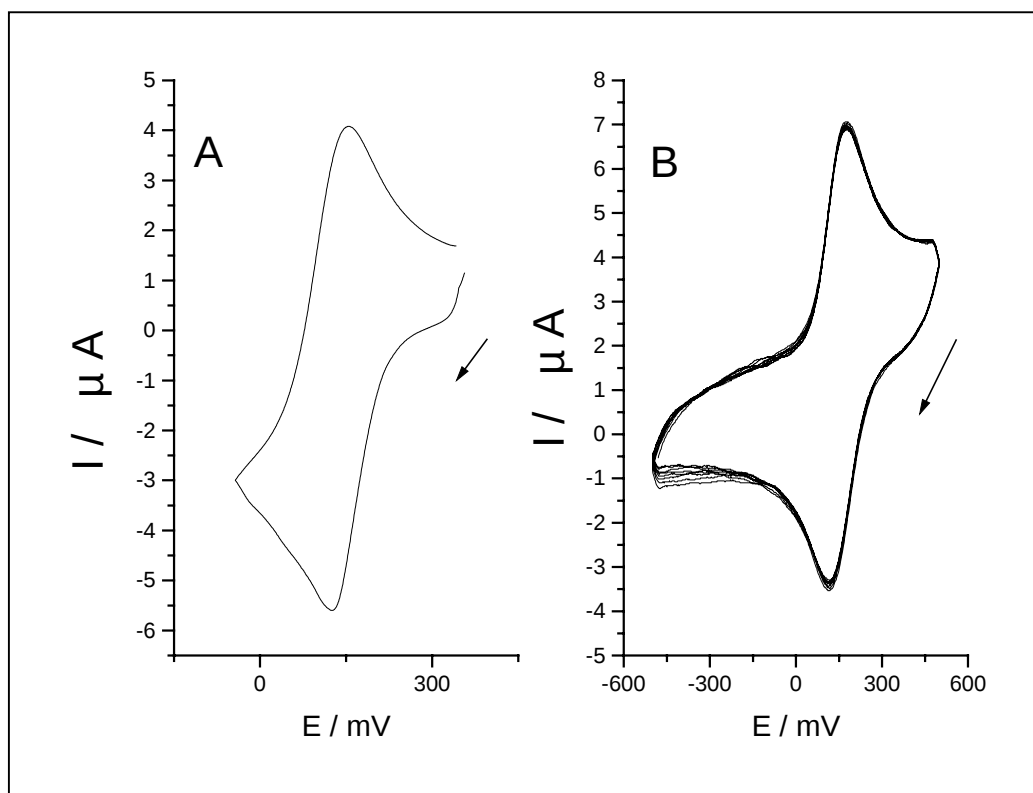


Figura 7A: Voltamograma cíclico para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em KNO_3 sobre eletrodo de ouro polido. (B): Voltamogramas cíclicos com varredura sucessiva de potencial (10 ciclos) para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto sobre eletrodo de ouro modificado com PLL. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

O comportamento do eletrodo de platina na ausência e presença do polímero modificador em nitrato de potássio contendo ferricianeto é mostrado na Figura 8.

A curva voltamétrica obtida para a redução do complexo sobre platina é semelhante àquelas obtidas com os substratos anteriores, apresentando potenciais de redução do par $\text{Fe}^{\text{III/II}}$ em potenciais de $E_{\text{pc}} = +0,12 \text{ V}$ e $E_{\text{pa}} = +0,18 \text{ V}$. Os valores de $\Delta E_p = 60 \text{ mV}$ e $i_{\text{pa}}/i_{\text{pc}}$ próximos a unidade foram obtidos, mostrando comportamento próximo daquele esperado para um par redox envolvendo transferência reversível de um elétron [225]. O efeito da velocidade de varredura sobre a corrente de pico catódica mostra um comportamento com proporcionalidade à raiz quadrada da velocidade de varredura [$i_{\text{pc}} (\mu\text{A}) = 0,82 + 1,50 \nu^{1/2}$], onde $\nu^{1/2}$ = raiz quadrada da velocidade de varredura, e é típico de processo eletródico governado por difusão [225].

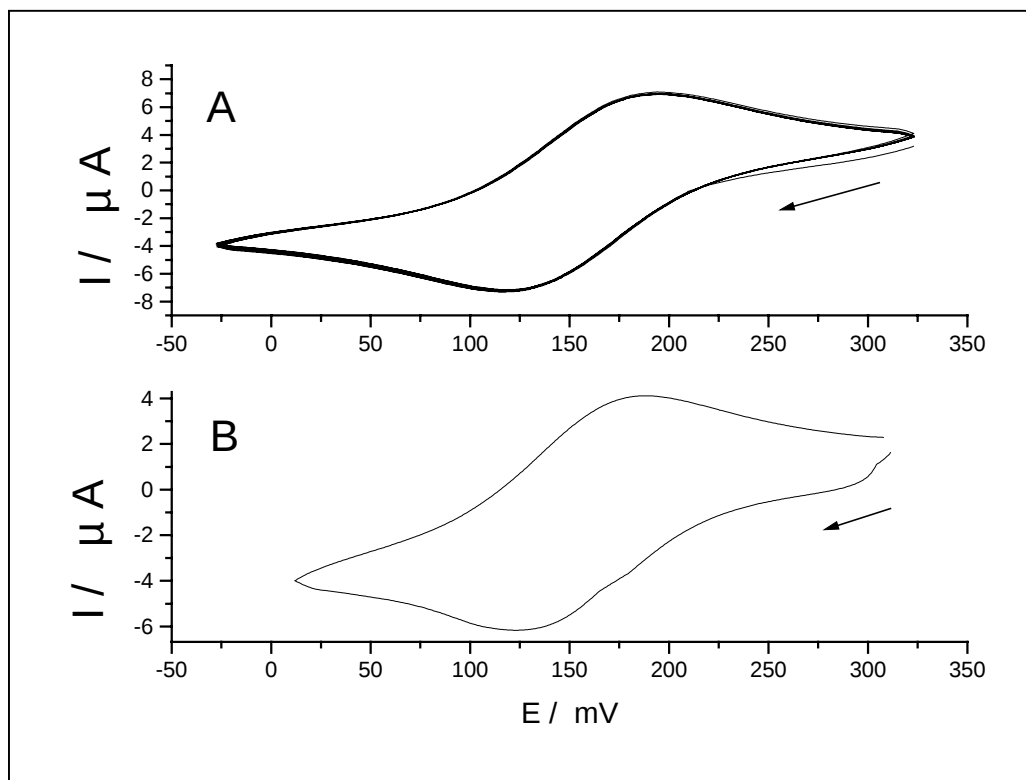


Figura 8B: Voltamograma cíclico para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto em KNO_3 sobre eletrodo de platina sem filme. (A): Voltamogramas cíclicos de varredura sucessiva de potencial (10 ciclos) para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em KNO_3 com eletrodo de platina modificado com PLL. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Voltamogramas cíclicos para ferricianeto obtidos sobre eletrodo de platina modificado com PLL mostram comportamento similar ao observado para carbono vítreo e ouro: nenhum incremento de corrente é observado quando se realizam ciclagens eletroquímica de potencial (Figura 8A). A mudança de matriz do eletrodo para a célula eletroquímica contendo somente o eletrólito de suporte, à semelhança dos resultados anteriormente discutidos para os demais eletrodos é acompanhada da perda do sinal voltamétrico.

Os resultados obtidos com os eletrodos de carbono vítreo, ouro e platina são bastante semelhantes entre si, mostrando um comportamento onde a falta de aderência do modificador nas superfícies dos substratos é observada. Semelhantes resultados também foram observados por FOGG e colaboradores [79], que estudou o comportamento da PLL nas superfícies da platina, carbono vítreo e *screen-printed* no sistema hexacianoferrato (III). Segundo os autores, maiores estabilidades são observadas em superfícies rugosas. Deste modo, a seguir

investigou-se a utilização de eletrodos de carbono espectroscópico e pirolítico, com o intuito de melhorar a estabilidade do filme com o uso de eletrodos de superfícies mais rugosas.

Voltamogramas cíclicos obtidos para a redução de $3,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto sobre eletrodo de carbono espectroscópico são mostrados na Figura 9. A curva voltamétrica apresenta um par de picos em $E_{pc} = +0,11 \text{ V}$, $E_{pa} = +0,17 \text{ V}$ e valores de $\Delta E = 60 \text{ mV}$ (Figura 9A). Estes resultados mostram apenas um pequeno deslocamento nos valores do potencial de redução do par $\text{Fe}^{\text{III/II}}$ em carbono espectroscópico. De forma semelhante aos substratos anteriores, a razão i_{pa}/i_{pc} foi observada em valores próximos à unidade em todos os valores de velocidade de varredura investigados. A Figura 9B mostra um conjunto de voltamogramas cíclicos obtidos sob varreduras sucessivas para a redução de $3,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto sobre o eletrodo de carbono espectroscópico modificado com PLL (1,00% m/v). O eletrodo modificado apresenta um par de picos reversível de $\text{Fe}^{\text{III/II}}$ em potenciais de $E_{pc} = +0,11$ e $E_{pa} = +0,17 \text{ V}$, o que mostra que a modificação da superfície do eletrodo de carbono espectroscópico não apresenta diferença nos valores de potenciais quando comparado com o eletrodo sem o poliaminoácido. A análise da figura mostra que a corrente de pico catódica e anódica aumentam respectivamente com o número de varreduras sucessivas de potencial, até atingir um valor constante após 50 ciclos. Este comportamento mostra que a espécie aniônica é incorporada sucessivamente no polímero catiônico $pK_a = 10,7$ [70], em função do aumento do número de varreduras de potencial. A remoção deste eletrodo para uma nova célula eletroquímica contendo apenas eletrólito suporte, em contraste aos outros eletrodos testados, origina voltamogramas cíclicos com características semelhantes às aquelas obtidas anteriormente. Entretanto, uma boa retenção do analito na película modificadora é observada, uma vez que a curva voltamétrica mostra um par de picos em valores de potenciais inalterados, mostrando que a espécie é retida na superfície do carbono espectroscópico modificado, como mostra a Figura 10A.

Entretanto, os resultados obtidos através das leituras de correntes das curvas voltamétricas em intervalos de 10 min entre cada varredura, foram comparados por um período de duas horas em solução contendo somente o eletrólito suporte, e observa-se que a corrente decai sucessivamente, provavelmente devido à migração do analito para o eletrólito de suporte, como pode ser visto no gráfico de i_p vs tempo, mostrado na Figura 10B.

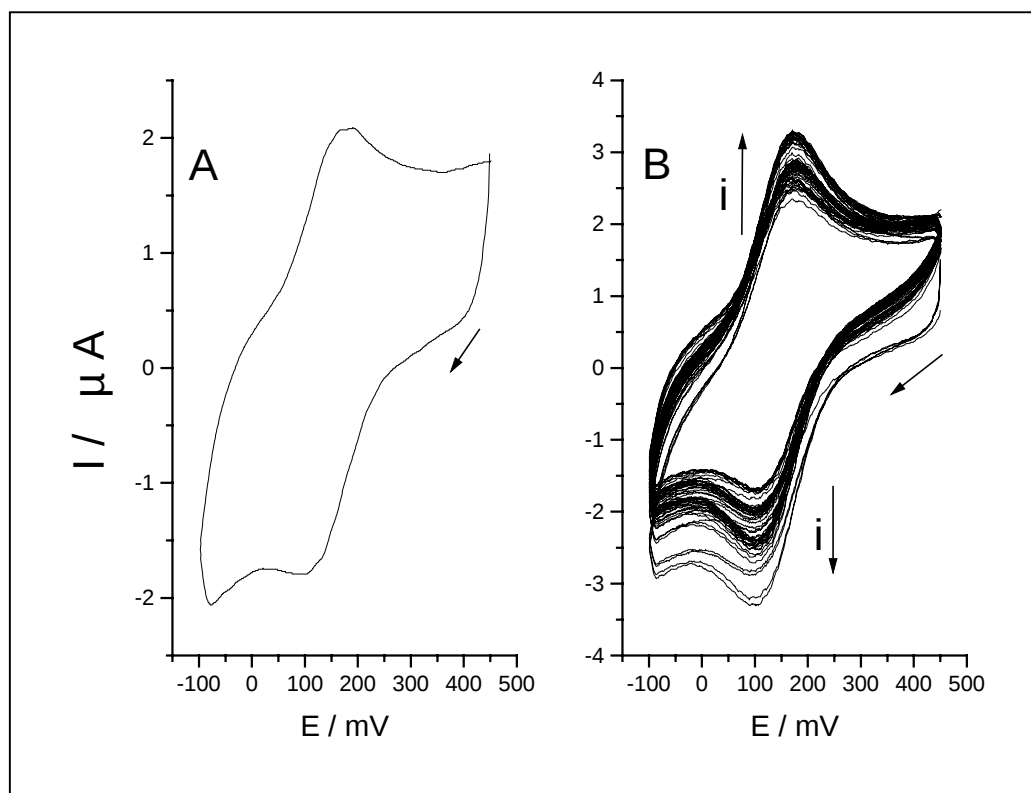


Figura 9A: Voltamograma cíclico para redução de $3,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto em solução de KNO_3 com eletrodo de carbono espectroscópico sem PLL. (B): Voltamogramas cíclicos registrados sucessivamente, (50 ciclos) para a redução de $3,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ferricianeto em solução KNO_3 com eletrodo de carbono espectroscópico modificado com PLL (1,00% m/v). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Com o intuito de potencializar a carga eletrostática da PLL e, assim, ampliar a retenção de cargas contrárias em sua superfície efetuou-se, a seguir, novos estudos com PLL (1,00% m/v) pré-protonada com uma mistura do polímero de PLL e igual volume de ácido sulfúrico pH 2,3. A mistura foi gotejada sobre a superfície do eletrodo de carbono espectroscópico e posteriormente aquecida a 80°C por 30 s. Os resultados obtidos após imersão do eletrodo modificado em solução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de hexacianoferrato mostram que a redução da espécie iônica no eletrodo modificado com PLL pré-protonada com H_2SO_4 não apresenta mudanças nos processos redox anteriormente observados e apresentados para o complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$. Entretanto, quando o eletrodo é removido e imerso diretamente na célula eletroquímica contendo somente o eletrólito de suporte observa-se uma clara

diminuição da corrente de pico até quase total supressão do sinal após registros consecutivos de 20 ciclos.

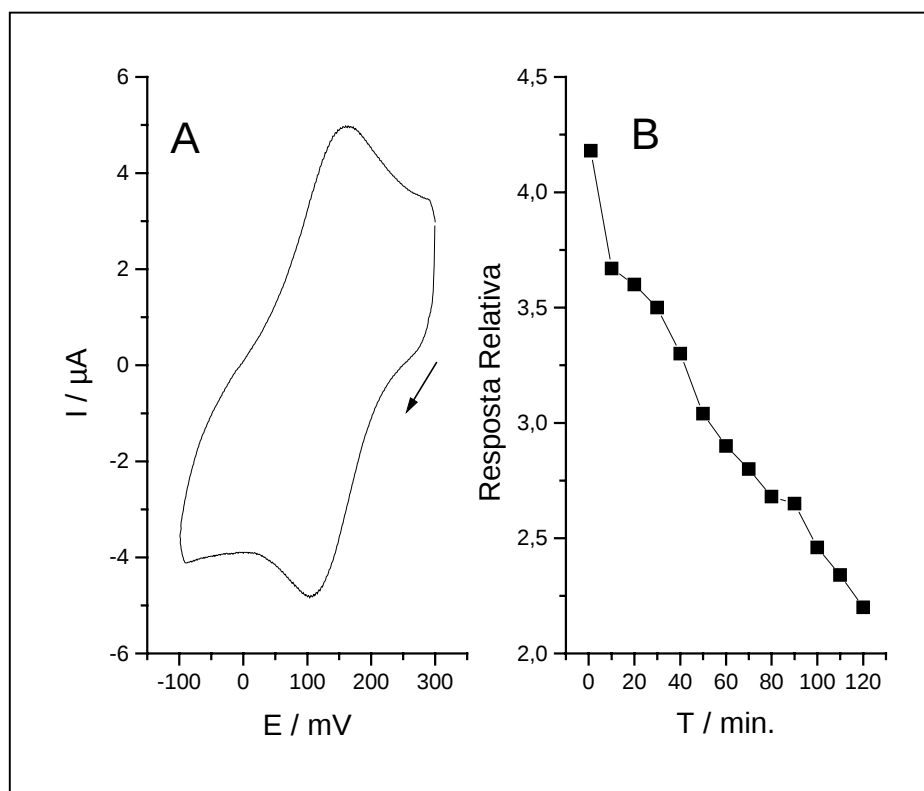


Figura 10 A: Voltamograma cíclico registrado para eletrodo de carbono espectroscópico modificado com PLL (1,00% m/v) obtido somente em KNO_3 após alcance do estado de saturação em $3,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de $[Fe(CN)_6]^{-3}$. (B): Efeito dos registros voltamétricos obtidos em função do tempo sobre o sinal do $[Fe(CN)_6]^{-3}$ incorporado no eletrodo modificado com PLL em solução contendo somente o eletrólito. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Voltamogramas cíclicos obtidos para eletrodo de carbono pirolítico sem PLL mostram comportamento semelhante ao descrito para eletrodo de carbono espectroscópico, como mostra a Figura 11.

Voltamogramas cíclicos obtidos para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[Fe(CN)_6]^{-3}$ sobre eletrodo de carbono pirolítico (Figura 11B), mostram um par de picos em valores de potenciais semelhantes aos observados para os demais eletrodos investigados. Os valores da razão i_{pa}/i_{pc} apresentaram valores constantes e próximos à unidade em todos os valores de ν investigados. Estes resultados mostram que a espécie aniônica é reduzida sobre eletrodo de

carbono pirolítico e apresenta características de um processo eletródico reversível [225], conforme também observado para os demais eletrodos utilizados na presente caracterização. O efeito da transposição deste eletrodo para uma nova solução de eletrólito suporte é mostrado na (Figura 11A curva 2). A análise dos resultados mostra que a espécie padrão não permanece retida na superfície do eletrodo modificado após a realização de sua incorporação eletroquímica (Figura 11A curva 1). A transposição do eletrodo após amostragem de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ é acompanhada da supressão do sinal monitorado, conforme anteriormente obtidos para os demais eletrodos utilizados e os diagnósticos destes resultados foram previamente discutidos.

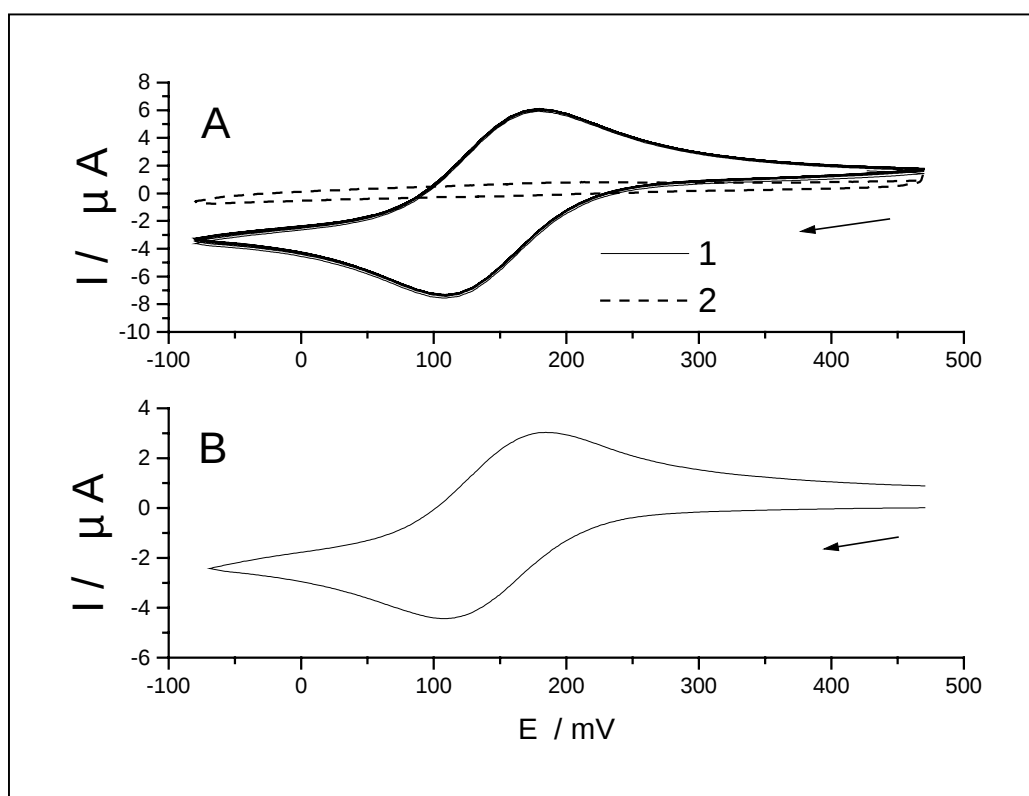


Figura 11B: Voltamograma cíclico para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em solução KNO_3 com eletrodo de carbono pirolítico. (A): Voltamogramas cíclicos para redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ sobre eletrodo de carbono pirolítico modificado com PLL. Curvas em 1 ciclagem de potencial (10 ciclos) em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ e 2 transferência do eletrodo carregado de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ para o eletrólito de suporte. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Em seguida, utilizou-se lixa nº 320 com o objetivo de obtenção de uma superfície mais rugosa sobre o eletrodo de carbono pirolítico com a finalidade de melhor retenção dos filmes.

Os procedimentos relativos a esta etapa do trabalho consistiram em lixar a referida superfície seguido da deposição de uma alíquota de PLL gotejada na superfície pré-tratada e aquecimento a 80 °C em estufa. Após resfriamento do eletrodo em condições normais, o mesmo foi imerso em solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ diretamente na célula e submetido à incorporação eletroquímica do complexo. Os resultados deste experimento são mostrados na Figura 12.

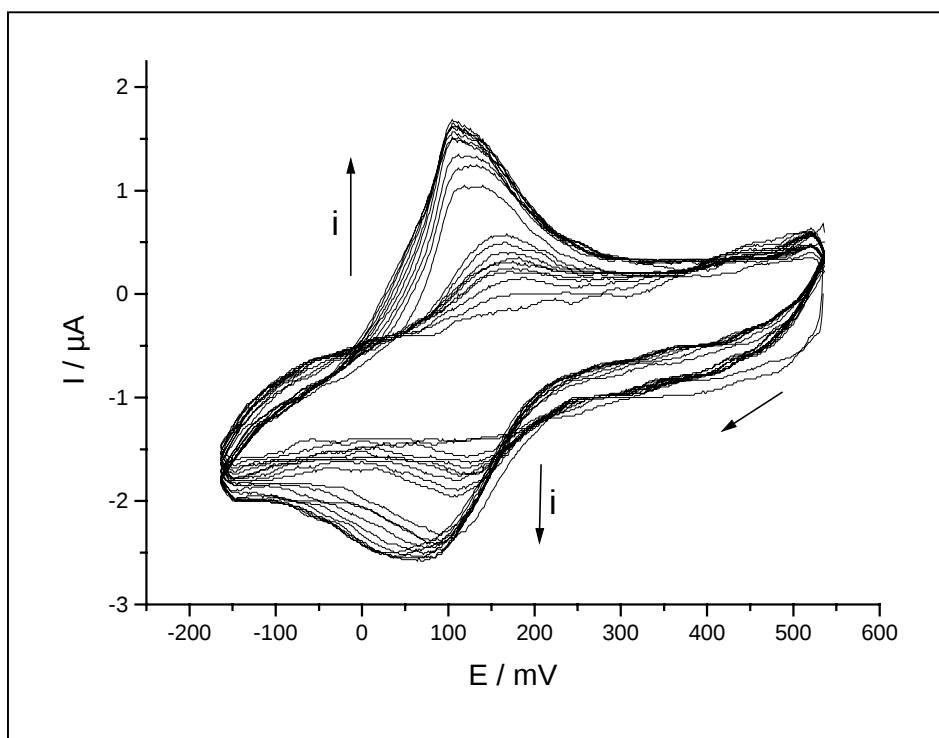


Figura 12: Voltamogramas cíclicos de varredura sucessiva de potencial (20 ciclos) para redução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ em KNO_3 com eletrodo de grafite pirolítico pré-lixado e modificado com PLL. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

As curvas mostram a incorporação eletroquímica do ferricianeto na superfície do eletrodo previamente lixado e modificado com PLL (1,00% m/v) através do sucessivo aumento de corrente de pico catódica e anódica. Os voltamogramas cíclicos obtidos após a transposição deste eletrodo previamente modificado com PLL+ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ para a célula eletroquímica contendo somente o eletrólito de suporte é mostrada na Figura 13.

O registro dos voltamogramas cíclicos obtidos da espécie padrão retido no filme de PLL mostra uma boa retenção do ânion $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ sobre o filme formado embora uma

menor concentração do ânion sobre o eletrodo seja verificado pelos menores valores de corrente. Uma diminuição de 30% de corrente é observado após 30 ciclos registrados sucessivamente. Este comportamento mostra que o filme obtido na superfície do eletrodo de carbono pirolítico pré-tratado apresenta uma apreciável propriedade de pré-concentrar o ânion, porém, a estabilidade é comparável com os resultados obtidos para eletrodo de carbono espectroscópico. Estes resultados estão de acordo com relatos da literatura [77-79], que reportam que o polímero PLL somente apresenta retenção em superfície rugosa.

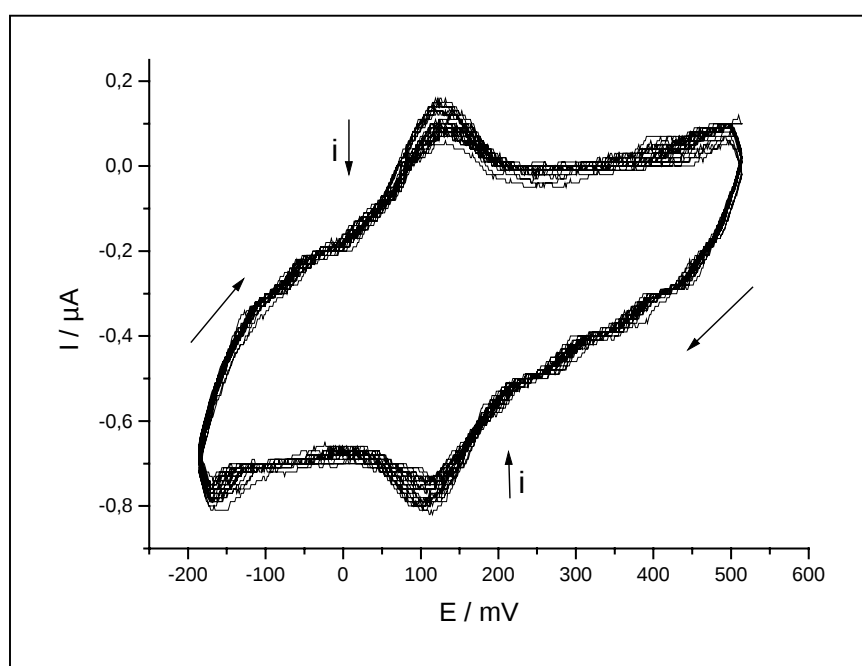


Figura 13: Voltamogramas cíclicos consecutivos (30 ciclos) obtidos em KNO_3 após incorporação em $1,00 \times 10^{-4}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados mostram que uma melhor aderência do poliaminoácido pode ser obtida sobre a superfície de carbono pirolítico pré-tratada, o que possibilita a obtenção de uma superfície bastante rugosa. O filme, como observado previamente [77-79], apresenta-se adequado para a pré-concentração de ânions com o eletrodo modificado imerso diretamente em solução. A transferência do eletrodo carregado para a nova solução contendo somente o eletrólito de suporte não apresenta estabilidade do sinal após diversas varreduras. Deste modo, utilizando-se as melhores condições experimentais investigou-se, a seguir, a possibilidade de se usar os filmes de PLL sobre eletrodo de carbono pirolítico para estudo da interação e pré-concentração de CGDS.

3.2 – APLICAÇÃO DO ELETRODO DE CARBONO PIROLÍTICO MODIFICADO COM PLL NA ANÁLISE DE CROMOGLICATO DISÓDICO.

Considerando que os estudos eletroquímicos sobre a redução de cromoglicato disódico (CGDS), são limitados a eletrodos de mercúrio, investigou-se inicialmente a redução do fármaco sobre eletrodo de carbono pirolítico.

Os voltamogramas cíclicos, obtidos para as mesmas condições experimentais, apresentados na Figura 14 mostram o contraste entre a redução de CGDS sobre eletrodo de carbono pirolítico sem e com modificação por filmes de PLL. Como pode ser observada na Curva 2 da Figura 14, a curva obtida em eletrodo modificado por PLL exibe um aumento na intensidade de corrente da ordem de 10 vezes, mostrando as propriedades de pré-concentração do poliaminoácido sobre o eletrodo. Todas as leituras de corrente efetuadas nesta análise foram obtidas por extrapolação da linha base no voltamograma registrado na presença do fármaco. O aumento observado para a corrente capacitiva no eletrodo modificado corresponde ao efeito da utilização de lixa na superfície do eletrodo.

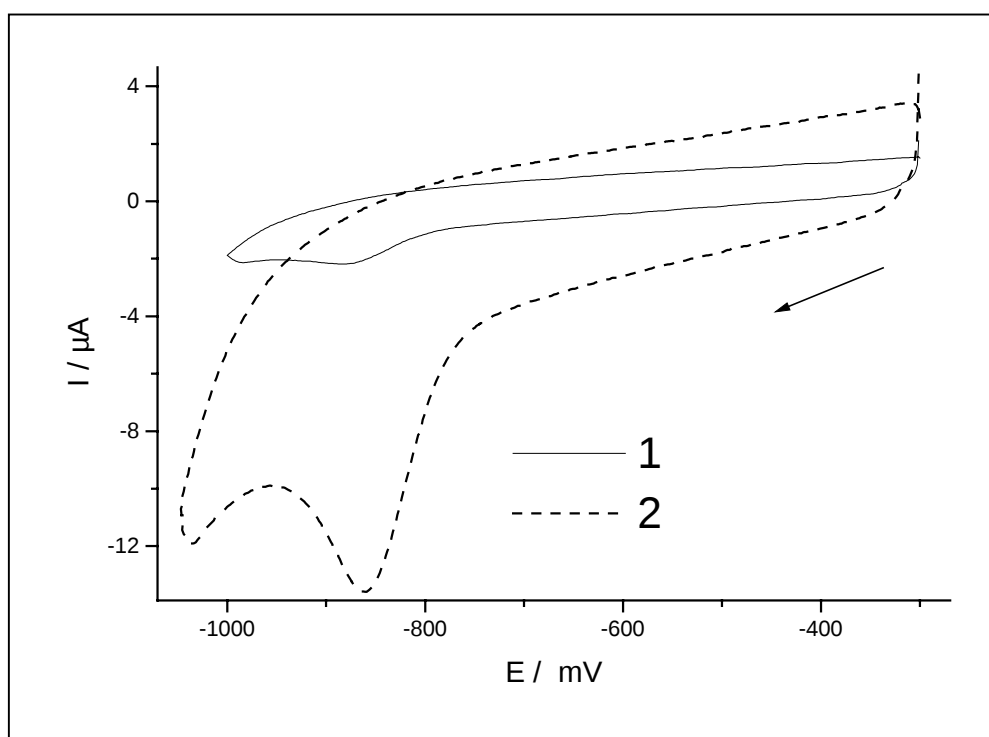


Figura 14: Voltamogramas cíclicos obtidos para redução de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em B-R pH 4,0, sobre eletrodo de carbono pirolítico com (curva 2) e sem (curva 1) PLL. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Em eletrodo de carbono pirolítico sem modificador, o voltamograma cíclico correspondente à redução de CGDS em meio aquoso, apresenta um pico catódico em $E_p = -0,87$ V vs Ag/AgCl como mostra a curva 1 da Figura 14. Resultados obtidos para a redução do CDDS em diferentes valores de pH mostram que o fármaco é reduzido em eletrodo de carbono pirolítico em um único pico no intervalo de $1,0 \leq \text{pH} \leq 7,0$ em tampão B-R, acetato e HCl/KCl. O potencial de pico desloca-se para valores mais negativo de potencial com o aumento do pH, como mostra a curva “A” da Figura 15. A relação entre E_p vs pH segue uma relação linear no intervalo de $1,0 \leq \text{pH} \leq 7,0$, segundo a equação: $E_p(\text{mV}) = -583 + 69,1\text{pH}$; $R = 0,995$ ($n = 11$). A intensidade do pico diminui fortemente em solução neutra e sua altura é negligenciável em valores de $\text{pH} > 8,0$.

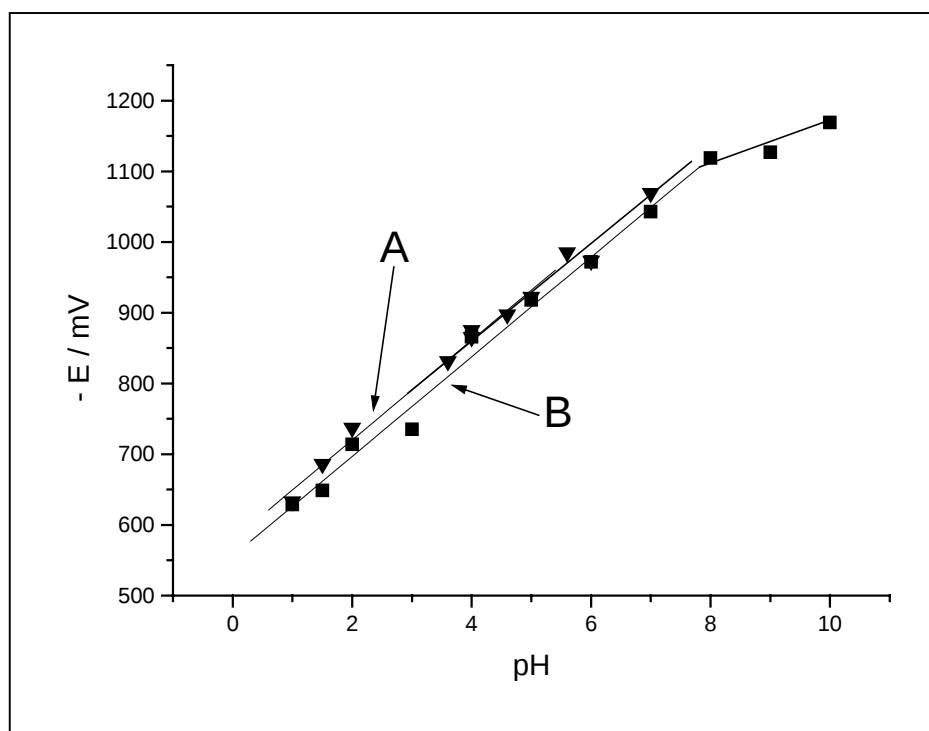


Figura 15: Efeito do pH sobre o potencial de redução de $2,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de CGDS.

Curva “A” sem PLL e “B” com PLL.

De acordo com a literatura [226] a redução de CGDS sobre eletrodo de carbono vítreo é semelhante ao comportamento verificado em eletrodo de mercúrio. A redução de CGDS ocorre através da redução do grupo carbonila, na forma protonada no anel do grupo cromona, (cujo esquema de redução desta classe de compostos é mostrada no Esquema A1 no apêndice), gerando o álcool correspondente após transferência de dois elétrons [226]. A transferência de dois elétrons foi confirmada experimentalmente com medidas

cronoamperométricas em potencial fixo de -1,0 V, utilizando-se rede de platina com área geométrica suficiente para exaurir todo o material em tempos de até 60 min. Para concentrações de CGDS iguais a $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ obteve-se uma curva de decaimento, cuja integração da área (i versus t), forneceu uma carga de 4,25C. A utilização da relação: $N=Q/(n.96500)$, onde: Q = carga gerada; n = número de moles, fornece valores de N (número de elétrons)=2,20.

O efeito da variação da concentração CGDS sobre a curva voltamétrica mostra uma relação linear entre i_p vs concentração no intervalo de $5,55 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $8,54 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, como mostra a Figura 16. Entretanto, a curva não cruza a origem, sugerindo que provavelmente o sistema envolve um processo eletródico complicado por adsorção [225]. Em adição, observa-se um acentuado deslocamento de potencial de pico para valores mais elevados de potencial com o aumento na concentração de CGDS. Este comportamento é típico de processo eletródico envolvendo forte adsorção do produto sobre o eletrodo [227,228].

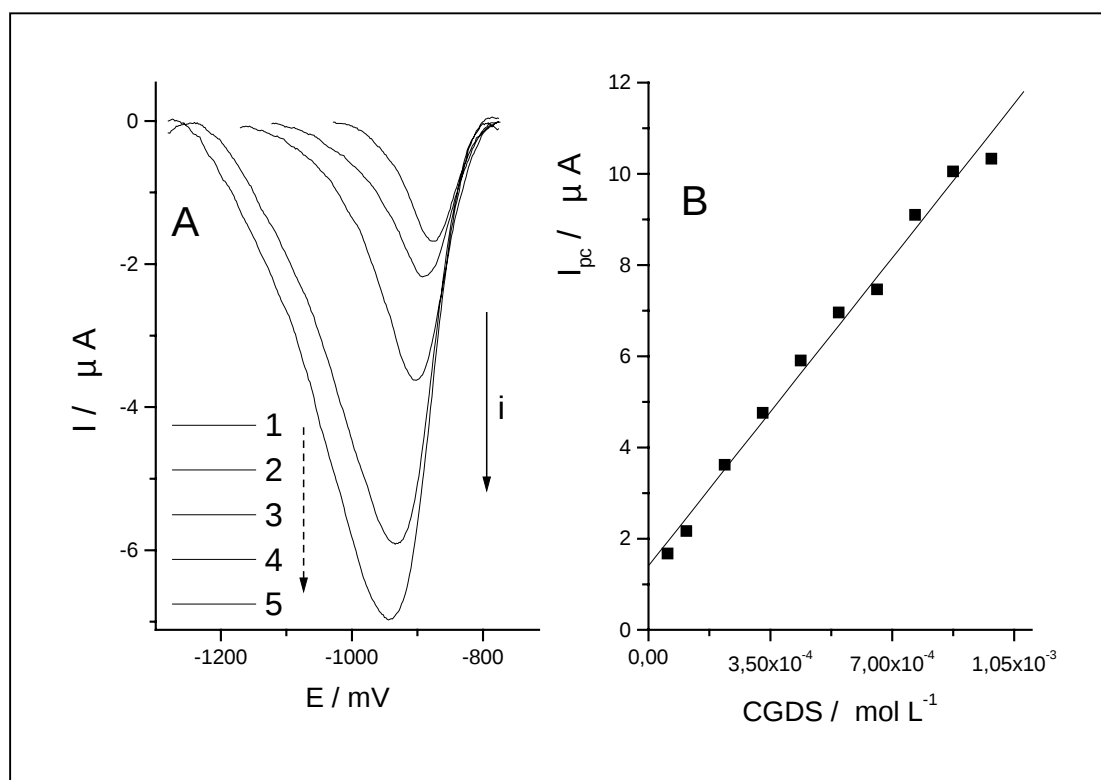


Figura 16A: Voltamogramas de varredura linear para redução de CGDS sobre eletrodo de carbono vítreo sem PLL em B-R pH 4,0. Curvas (1-5) adições sucessivas de $5,47 \times 10^{-5}$; $1,09 \times 10^{-4}$; $2,19 \times 10^{-4}$; $4,38 \times 10^{-4}$ e $5,47 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS, respectivamente.

(B): Regressão linear dos dados extraídos de (A). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A forte adsorção do produto reduzido na superfície do eletrodo é confirmada nos voltamogramas registrados nas varreduras sucessivas após a obtenção do primeiro ciclo que mostra sucessivo decréscimo de corrente até a completa ausência do pico de redução após 5 ciclos, como mostra a Figura 17.

A influência da velocidade de varredura de potencial sobre o pico de redução de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de CGDS sobre eletrodo de carbono pirolítico foi investigado no intervalo de 10 a 150 mV s⁻¹ e a corrente de pico aumenta em função do aumento na velocidade de varredura mostrando uma relação linear de i_p vs $v^{1/2}$ ($v^{1/2}$ = raiz quadrada da velocidade de varredura em mV s⁻¹), segundo a equação: $i_p(\mu A) = 0,212 + 0,406v^{1/2}$, $R=0,995$, ($n=11$). Este comportamento sugere que o processo eletródico é controlado por difusão, [229].

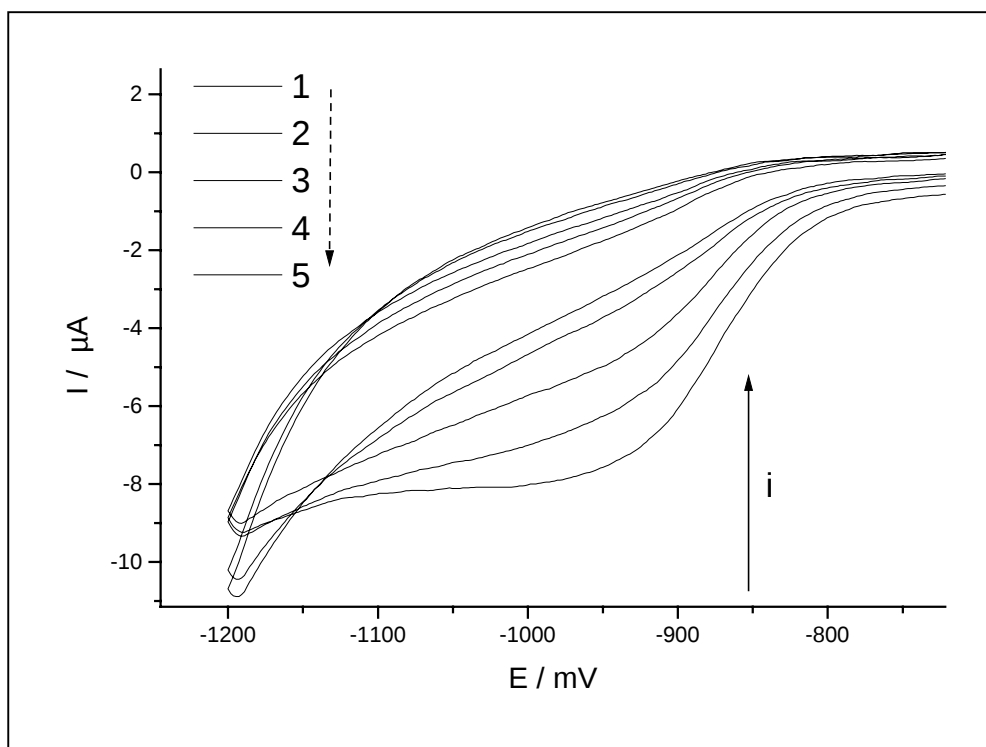


Figura 17: Voltamogramas cíclicos obtidos para redução de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de CGDS em B-R pH 4,0 sobre eletrodo de carbono pirolítico sem PLL. $v = 100$ mV s⁻¹.

O comportamento eletroquímico de CGDS sobre eletrodo de carbono pirolítico modificado por filmes de PLL foi investigado para comparação utilizando-se soluções $2,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de CGDS em tampão B-R. A redução do fármaco sobre eletrodo modificado com PLL (curva 2 na Figura 14), apresenta pico de redução bem definido em todo o intervalo de $2,0 \leq \text{pH} \leq 10,0$. O potencial de pico é deslocado para valores mais negativos

de potencial com o aumento nos valores de pH, como mostra a Curva “B” da Figura 15. A relação entre E_p vs pH mostra uma relação linear no intervalo de $2,0 \leq \text{pH} \leq 8,0$, segundo a equação: $E_p(\text{mV}) = -556 + 70,4\text{pH}$; $R = 0,995$ ($n = 9$). Considerando que o processo de redução ocorre segundo transferência de dois elétrons [226], o coeficiente angular de 70,4 mV/pH por unidades de pH sugere que o cálculo do número de prótons envolvidos no sistema é igual a 2,4. Assim, o comportamento voltamétrico é consistente com aquele verificado no eletrodo de mercúrio, onde dois elétrons e dois prótons estão envolvidos na redução do composto sobre eletrodo de carbono pirolítico com e sem a modificação da superfície com filmes de PLL em meio neutro e ácido.

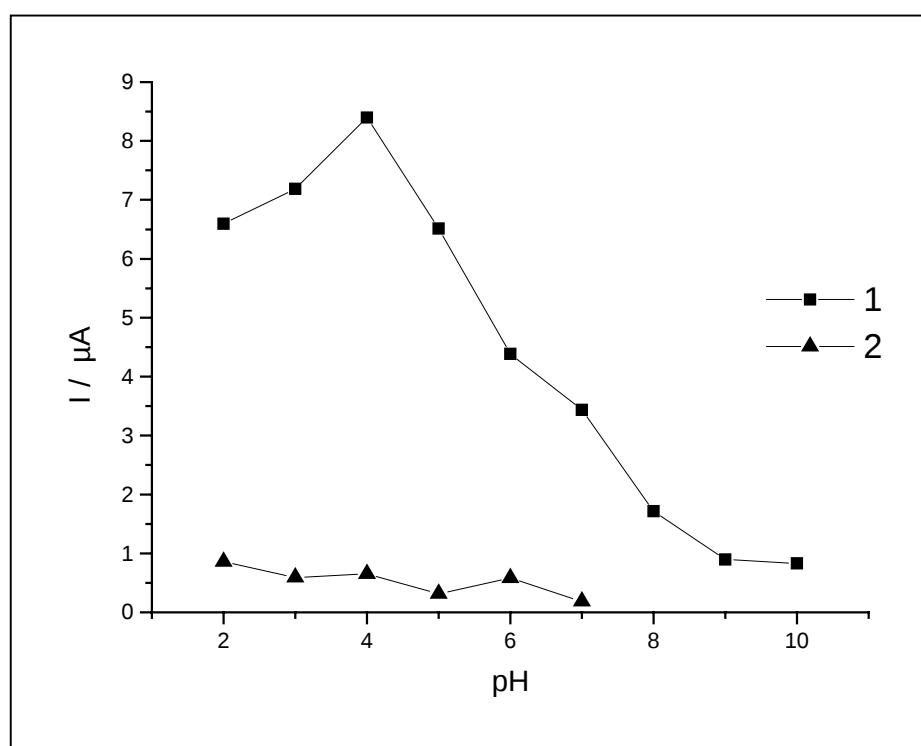


Figura 18: Efeito do pH da solução sobre a corrente de redução de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS. Curva 1 com PLL e 2 sem PLL.

Em adição, a corrente de pico é fortemente dependente da variação de pH, como mostra a Figura 18. Em solução ácida a intensidade de corrente de pico é muito maior que em solução neutra ou ligeiramente alcalina ($\text{pH} \leq 8,0$) com total supressão em valores de $\text{pH} > 10$. De acordo com a literatura (70), PLL apresenta grupos aminos carregados positivamente neste intervalo de $\text{pH} < 11,0$ $\text{pK}_{a\text{PLL}} = 10,7$. Por outro lado, CGDS atua como um ânion em toda a série de pH investigado devido à desprotonação dos grupos carboxilatos, ($\text{pK}_{a1} = \text{pK}_{a2} = 2,0$) (104). Deste modo, a pré-concentração do fármaco sobre a superfície do eletrodo de carbono

pirolítico modificado por filmes de PLL poderia ser atribuída à interação eletrostática entre o poliaminoácido carregado e o fármaco. Assim, para fins analíticos escolheu-se B-R pH 4,0 como valor de pH apropriado para análise do fármaco por apresentar valores de correntes mais intensos e melhor resolução dos voltamogramas obtidos.

A propriedade de pré-concentração de CGDS sobre eletrodo recoberto por filme de PLL foi investigada a seguir com o intuito de otimizar as melhores condições experimentais para desenvolvimento de um método analítico para a determinação do fármaco.

Curvas voltamétricas foram registradas após imersão do eletrodo modificado pelo filme em solução contendo $2,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de CGDS por um período de 60s. O eletrodo modificado com PLL+CGDS foi então transferido para a célula eletroquímica contendo somente o eletrólito de suporte, (tampão B-R pH 4,0), e o voltamograma apresenta características similares às aquelas mostradas na Curva 2 da Figura 14. A comparação com o voltamograma obtido para a redução do fármaco sobre eletrodo pirolítico mostra características semelhantes, que sugerem que o filme de PLL interage com CGDS. No entanto, voltamogramas cíclicos registrados sucessivamente sobre o mesmo eletrodo mostram uma acentuada diminuição na intensidade de pico nas varreduras subsequentes. Resultados idênticos foram obtidos para os voltamogramas cíclicos obtidos com filmes de PLL, imerso diretamente na célula eletroquímica contendo $2,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de CGDS utilizando agitação de dois minutos antes da medida (os quais são apresentados na Figura 19). Uma diminuição de 65% de corrente foi obtida após cinco medidas, mostrando que a superfície modificada não é recuperada usando simples agitação da solução, mesmo em contacto com a solução de CGDS.

Este comportamento foi também observado previamente com o eletrodo de carbono pirolítico sem modificação, mostrando que a diminuição do sinal não ocorre devido à perda do filme de PLL. Os resultados são indicativos de que o(s) produto(s) gerado(s) após a transferência eletrônica, seria(m) eletroinativos e este(s) não removido(s) da superfície do eletrodo modificado por ciclagem ou agitação e, portanto, impedindo a regeneração da superfície ativa do eletrodo.

Deste modo, investigou-se a seguir a possibilidade de regeneração do filme após a primeira varredura de potencial, pois propiciaria a vantagem de se usar o eletrodo sem preparação prévia a cada medida. Para tal, a influência da composição do eletrólito na limpeza do eletrodo foi estudada registrando-se voltamogramas cíclicos com lavagens com água, KCl, KNO₃ e NaOH, entre a primeira e as varreduras subsequentes. Após cada lavagem o eletrodo modificado foi enxaguado com água desionizada e re-amostrado por 60s na mesma solução

de CGDS antes da obtenção de novo voltamograma. Os valores das correntes de pico, obtidos após várias repetições, utilizando lavagens com diferentes eletrólitos são mostradas na Figura 20.

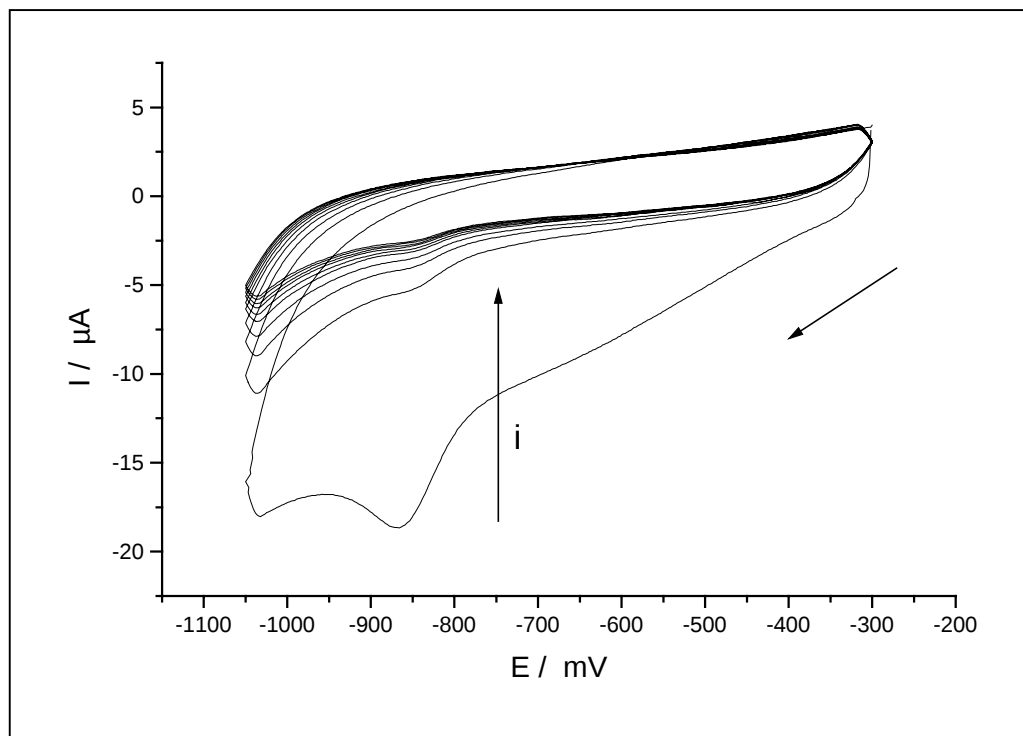


Figura 19: Voltamogramas cíclicos com varreduras consecutivas realizadas para redução de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em B-R pH 4,0, sobre eletrodo de carbono pirolítico modificado com PLL. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados mostraram que a lavagem do eletrodo modificado com PLL com água desionizada, KNO_3 e KCl não impede o sucessivo decaimento na resposta voltamétrica. Entretanto, o efeito é muito menos marcante quando o eletrodo é submetido à lavagem com hidróxido de sódio ($3,00 \text{ mol L}^{-1}$) antes da varredura de potencial. A lavagem do eletrodo com $\text{NaOH } 3,00 \text{ mol L}^{-1}$ mostra não promover deslocamento de potencial e observa-se apenas uma pequena variação entre as medidas de corrente, como mostra a Curva 4 da Figura 20. O coeficiente de variação entre as medidas de corrente é igual a 3,59%, [230-232]. Este resultado indica que a lavagem do eletrodo modificado, com solução alcalina, provavelmente restaura o desempenho do filme devido à momentânea desprotonação do filme de PLL na superfície do eletrodo, que libera o produto gerado da redução do fármaco retido nos sítios ativos do filme. Desta forma, o uso de eletrodo modificado com PLL na pré-concentração de CGDS com etapa de limpeza com NaOH antes de cada medida permite que o dispositivo

modificado possa ser usado em análises consecutivas com o mesmo filme. Estes resultados mostram que este procedimento experimental não destrói o filme de PLL, mas remove a contaminação do produto de redução de CGDS.

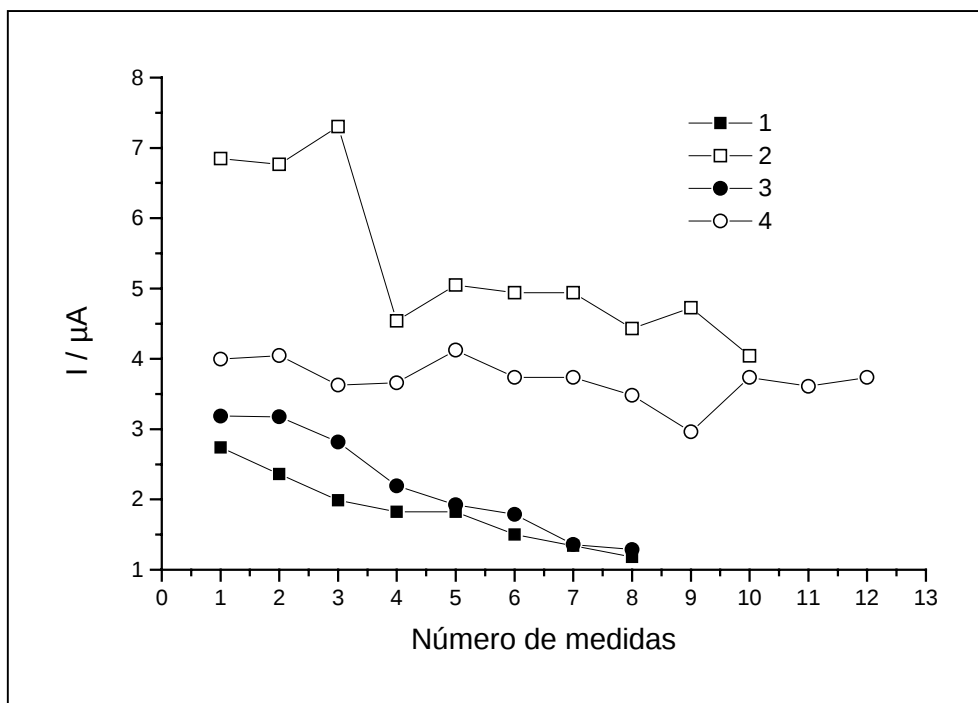


Figura 20: Efeito da composição do eletrólito usado na lavagem do filme de PLL sobre o sinal de $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em B-R pH 4,0. Curvas: 1 H₂O; 2 KCl ($3,00 \text{ mol L}^{-1}$); 3 KNO₃ ($3,00 \text{ mol L}^{-1}$) e 4 NaOH ($3,00 \text{ mol L}^{-1}$), respectivamente.

Posteriormente, investigou-se a influência da concentração do hidróxido de sódio na lavagem e recuperação do filme modificador, utilizando-se o mesmo procedimento anteriormente descrito. Soluções de hidróxido de sódio foram avaliadas em concentrações de $1,00 \times 10^{-5}$, $1,00 \times 10^{-2}$ e $1,00 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados, expressos em valores de coeficiente de variação entre as medidas [230,232], obtidos das leituras de corrente dos voltamogramas cíclicos, para as concentrações $1,00 \times 10^{-5}$; $1,00 \times 10^{-2}$, $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH, são: 24,5; 19,5 e 12,8% respectivamente, para $n=20$. Os resultados mostraram que a utilização de solução de hidróxido de sódio $3,00 \text{ mol L}^{-1}$ apresentou as melhores condições de regeneração do filme impregnado com o produto da redução do CGDS.

O efeito da concentração de CGDS sobre a corrente de pico obtida em eletrodo modificado com PLL foi investigada testando diferentes intervalos de concentração entre $0,100$ a $6,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; $1,00$ a $7,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e $10,0$ a $200 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Para tal, utilizou-se tempo

de acúmulo de 30 s, lavagem do eletrodo com NaOH entre as medidas, enxágüe com água e re-colocação do eletrodo em tampão B-R pH 4,0. Nenhuma variação de corrente foi obtida no intervalo entre 10,0 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sugerindo que a resposta voltamétrica é limitada por um efeito de saturação dos sítios ativos do filme de PLL na superfície do eletrodo. Entretanto, o gráfico de i_p vs concentração mostra sempre uma relação linear no intervalo de concentração entre 1,00 a 3,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,100 a 3,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ segundo a equação: $i_p(\mu\text{A}) = 0,440 + 0,560 C$, onde ($C = \mu\text{mol L}^{-1}$), $R = 0,995$; ($n=3$), $i_p(\mu\text{A}) = 0,090 + 0,960 C$, onde ($C = \mu\text{mol L}^{-1}$), $R = 0,996$ ($n= 5$), respectivamente. Observa-se que acima de 3,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a corrente de pico permanece inalterada na forma de um “plateau”. Este comportamento é indicativo de que o aumento da corrente é proporcional à concentração do analito, porém é limitada pela quantidade de grupos aminos disponíveis nos filmes de PLL que se mantém aproximadamente constantes na superfície do eletrodo, (Figura 21).

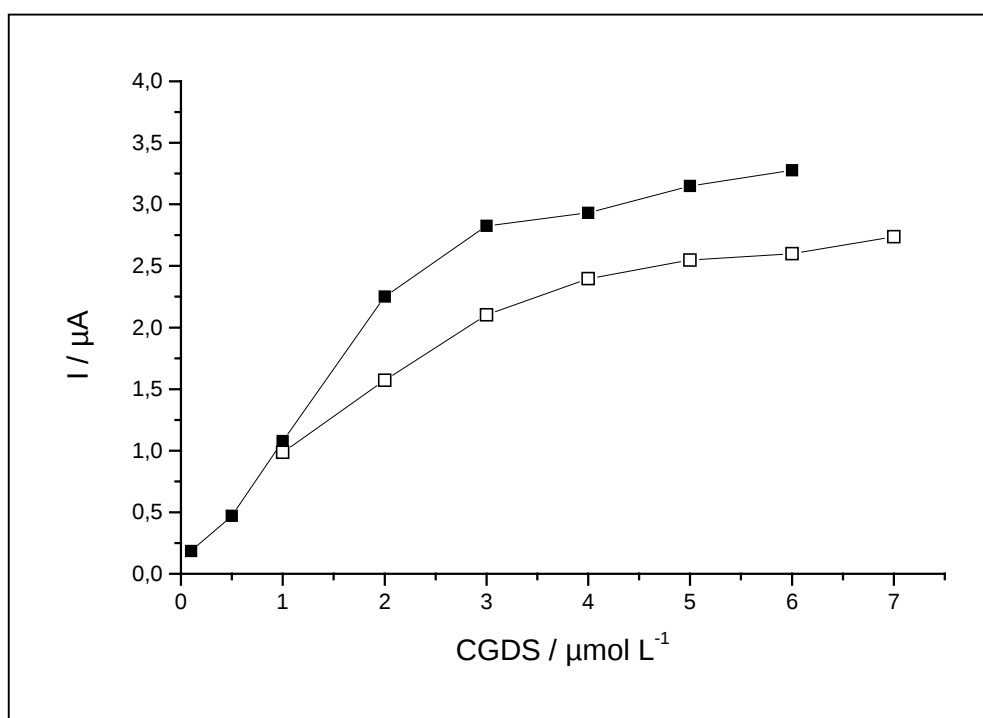


Figura 21: Efeito da concentração de CGDS sobre a corrente de pico do eletrodo de carbono pirolítico modificado por PLL e submetido a lavagem com NaOH ($3,00\text{mol L}^{-1}$) entre cada voltamograma.

A dependência da velocidade de varredura na corrente de pico obtidas dos voltamogramas cíclicos para o eletrodo modificado com PLL imerso diretamente em solução

tampão B-R pH 4,0 contendo $2,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de CGDS foi investigado em intervalo de v entre 0,01 a 1,0 V s⁻¹. O eletrodo modificado foi lavado com NaOH, seguido de água e re-colocado na célula eletroquímica entre cada medida. A corrente de pico aumenta linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura, conforme mostra a Figura 22, mostrando que a reação no eletrodo é governada por um processo de difusão, [229].

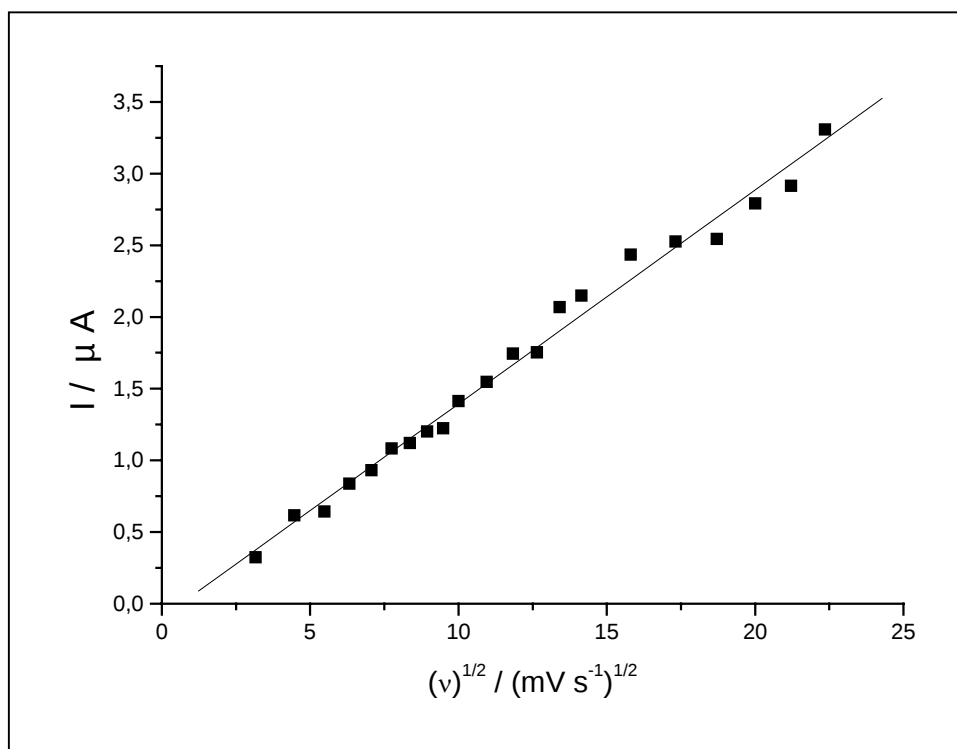


Figura 22: Relação entre a corrente de pico de redução obtido de $2,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de CGDS em B-R pH 4,0 e a raiz quadrada da velocidade de varredura sob eletrodo modificado com PLL em solução de CGDS na célula eletroquímica com lavagens com NaOH entre as medidas.

Levando-se em consideração que os grupos amino disponíveis no filme de PLL afetam diretamente a pré-concentração da droga e conseqüentemente o intervalo de aplicabilidade analítica, o efeito da concentração de PLL nos filmes ancorados na superfície do eletrodo foi investigado através do gotejamento de alíquotas de 10 μL de soluções de PLL (peso molecular $\approx 7,73 \times 10^4$) com concentrações de 0,050%; 0,100%; 0,500% e 1,00% (m/v). Os filmes foram tratados como descrito na parte experimental e os voltamogramas cíclicos registrados com o eletrodo modificado, imerso em solução de $2,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de CGDS em tampão B-R pH 4,0. Os respectivos voltamogramas obtidos são mostrados na Figura 23.

Filmes de PLL compostos por maior concentrações do poliaminoácido (1,00% m/v), apresentam maior intensidade de corrente mostrando maior disponibilidade de sítios ativos para interação com o fármaco e foram escolhidos para os trabalhos subseqüentes.

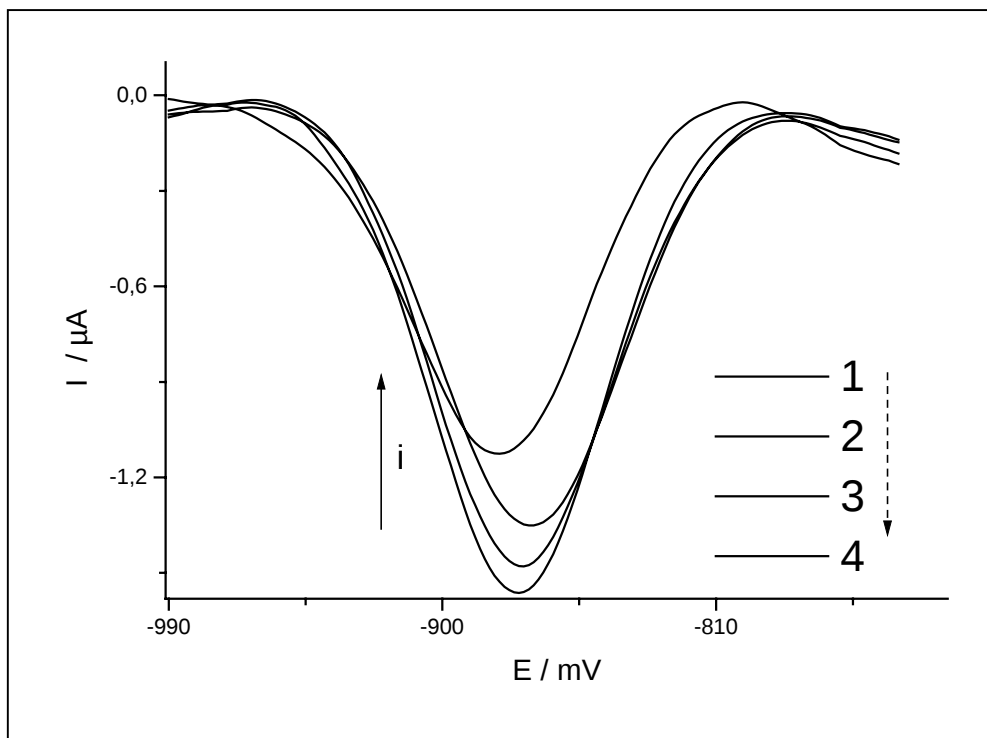


Figura 23: Efeito da concentração de PLL sobre o sinal voltamétrico registrado para redução de $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em B-R pH 4,0, sobre eletrodo de carbono pirolítico modificado com PLL em concentração de: curvas 1 (1,00%); 2 (0,500%); 3 (0,100%) e 4 (0,050%) (m/v) de PLL. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

3.2.1 – CURVA ANALÍTICA E DETERMINAÇÃO DE CGDS EM URINA HUMANA.

Utilizando filmes de PLL compostos por alta concentração do poliaminoácido (1,00% m/v) na composição, foi verificado que CGDS pode ser pré-concentrado sucessivamente na superfície do eletrodo sem qualquer etapa de limpeza desde que a concentração utilizada seja menor que $3,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ e não promova a saturação dos sítios ativos dos filmes de PLL na superfície do eletrodo.

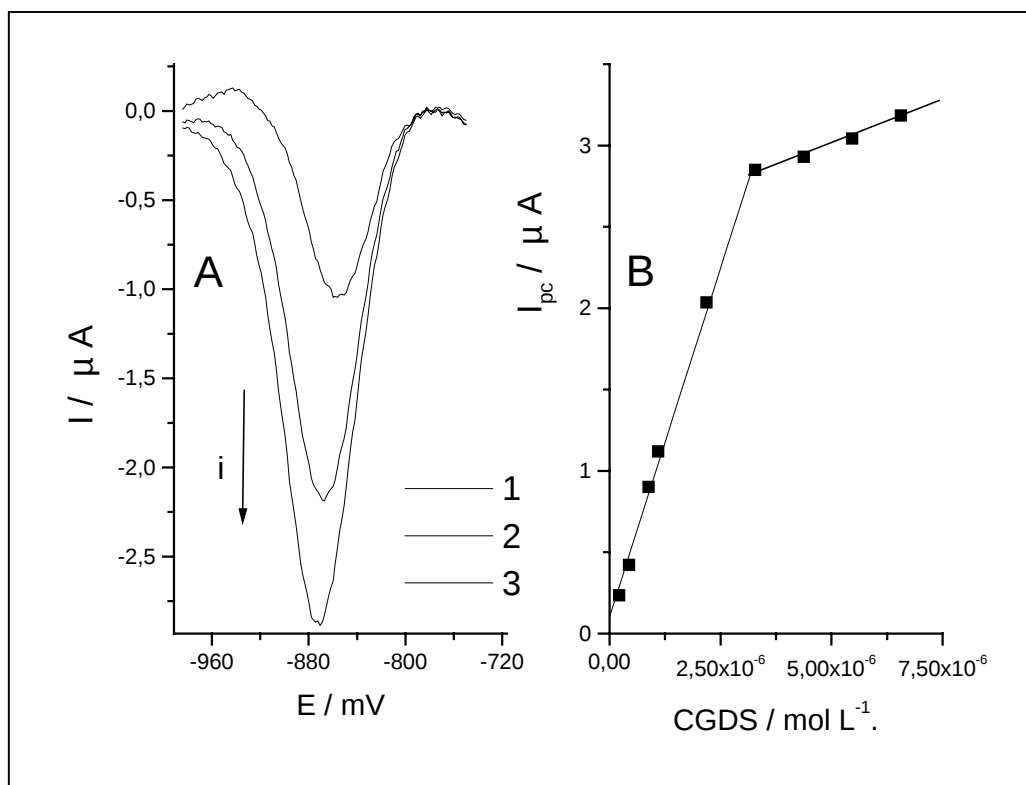


Figura 24A: Voltamogramas de varredura linear obtidos para a redução de CGDS sobre eletrodo de carbono pirolítico modificado com filmes de PLL (1,00% m/v). Curvas (1) $8,76 \times 10^{-7}$; (2) $2,19 \times 10^{-6}$ e (3) $3,28 \times 10^{-6}$ ($mol L^{-1}$) em B-R pH 4,0, respectivamente, sem lavagem intermediária do eletrodo. (B): Curva analítica obtida dos respectivos voltamogramas. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Utilizando-se as condições experimentais definidas anteriormente, voltamogramas obtidos para eletrodo modificado por filmes de PLL imersos diretamente em solução contendo CGDS são mostrados na Figura 24A. A respectiva curva analítica para a determinação de CGDS foi construída e uma relação linear foi observada entre as concentrações de $2,19 \times 10^{-6}$ a $3,28 \times 10^{-6} \text{ mol mL}^{-1}$, segundo a equação: $i_p(\mu A) = 0,105 + 8,56 \times 10^5, C \text{ (C mol L}^{-1}\text{)}$, como mostra a Figura 24B.

A repetibilidade das medidas foi testada através de 10 repetições de voltamogramas cíclicos, (50 mV s^{-1}), registrados para eletrodo de carbono pirolítico modificado com PLL na presença de $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em tampão B-R pH 4,0. Valores médios de corrente de pico, de $3,27 \pm 0,118 (\mu A)$ foram obtidos com coeficiente de variação calculado em torno de 3,59%. O limite de detecção foi calculado em $2,10 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando-se o desvio padrão de três medidas, obtidas da solução do eletrólito suporte, dividida pela tangente da curva mostrada na Figura 24B, [230-232].

A possibilidade de aplicação analítica dos eletrodos modificados com PLL para determinação de CGDS em fluido biológico foi testada através da análise de uma amostra de urina humana contaminada propositalmente com CGDS e submetendo-se o eletrodo modificado com o poliaminoácido ao método da adição de soluções do padrão [230-232]. O procedimento usado foi o seguinte: 50 μL de uma amostra de urina humana de um indivíduo saudável fortificada com $5,51 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS foram transferidas para um becker contendo 10 mL de solução tampão B-R pH 4,0. O eletrodo modificado com PLL foi imerso nesta solução durante 60s sob agitação. Após esta etapa de acúmulo, o eletrodo foi removido e lavado com água bidestilada e transferido para a célula eletroquímica contendo nova solução tampão B-R pH 4,0. O pico observado no voltamograma, (Figura 25 curva 1), foi registrado e o procedimento repetido após três adições do padrão de CGDS em cada análise. O aumento de corrente varia linearmente com a concentração do padrão de CGDS na urina humana e os resultados obtidos para recuperação de CGDS adicionado na amostra de urina mostraram um valor de 99,8% com um coeficiente de correlação de 0,998. Um desvio padrão relativo de 0,062 ($n=5$) foi obtido na repetição da análise tomando-se urina contaminada por $5,51 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS, [232].

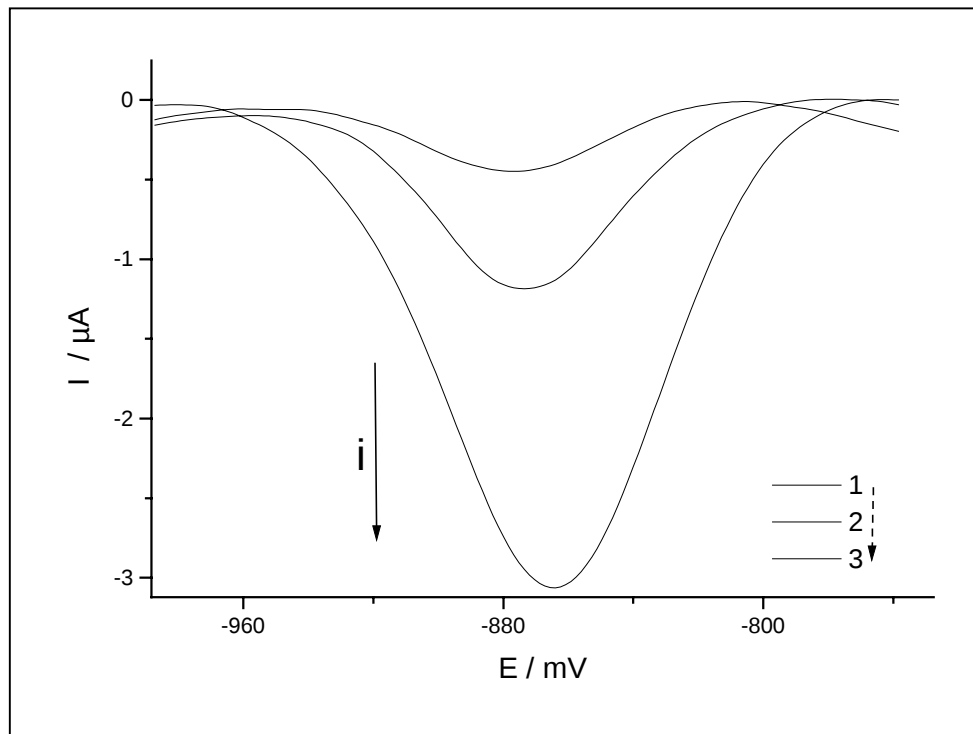


Figura 25: Voltamogramas de varredura linear obtidos para redução de $5,51 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de CGDS em urina (curva 1). Adições de $8,20 \times 10^{-7}$ e $2,19 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do padrão, (curvas 2 e 3), respectivamente em B-R pH 4,0. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados indicam que o eletrodo modificado por filmes de PLL pode ser aplicado para pré-concentração do fármaco em amostras complexas como fluido biológico com execução de medida realizada em outro ambiente pela simples transferência do eletrodo, minimizando a interferência de prováveis outros contaminantes da amostra.

A eficiência do método voltamétrico desenvolvido para a quantificação de CGDS em urina humana foi testada a seguir através da comparação dos resultados previamente obtidos com a análise do fármaco via estudo espectrofotométrico mostrado a seguir [94].

Segundo metodologia descrita por TILLMAN e WHYMARCK [94], CGDS pode ser determinado diretamente através de ensaio espectrofotométrico na região do ultravioleta, ($\lambda = 328\text{nm}$) (Figura 26A). Apesar de baixa seletividade, uma vez que a maioria dos compostos farmacêuticos apresenta bandas de absorção nesta região, o método tem sido utilizado para análise do fármaco e foi adotado para comparação. A utilização do referido procedimento possibilitou a construção de uma curva analítica para CGDS, conforme mostra a Figura 26B.

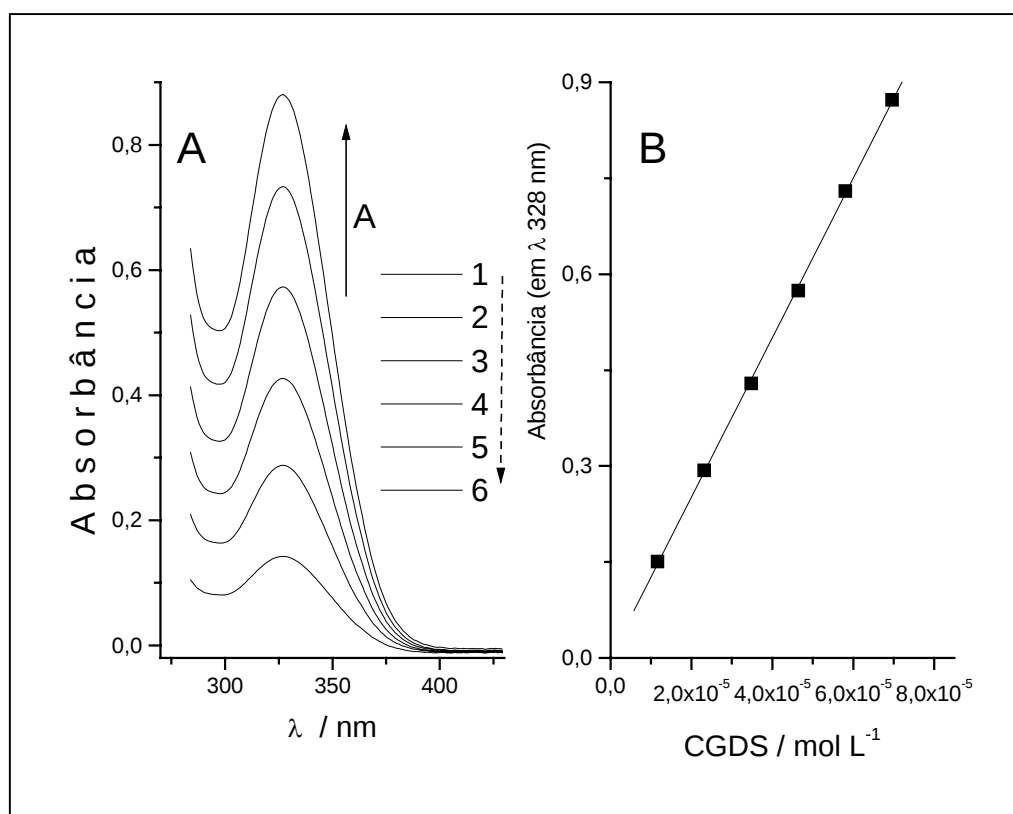


Figura 26A: Espectros de absorção na região UV para CGDS em concentração de: curvas (1) 1,16; (2) 2,30; (3) 3,48; (4) 4,60; (5) 5,80 e (6) 6,90($\times 10^{-5}\text{mol L}^{-1}$), respectivamente. (B): curva analítica para CGDS obtida dos espectros de (A) do fármaco em $\lambda = 328\text{nm}$.

O método permite a construção de uma curva analítica com relação linear entre absorbância e concentração no intervalo de $1,16$ a $6,90 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, segundo equação: $A = 0,002 + 1,25C$, onde C concentração (mol L^{-1}), $R = 0,999$ ($n=6$).

O método espectrofotométrico foi, então a seguir, aplicado para a determinação de CGDS em urina com diluição da amostra, (parte experimental), sem qualquer tratamento prévio da amostra. Os resultados obtidos deste estudo são mostrados na Figura 27A.

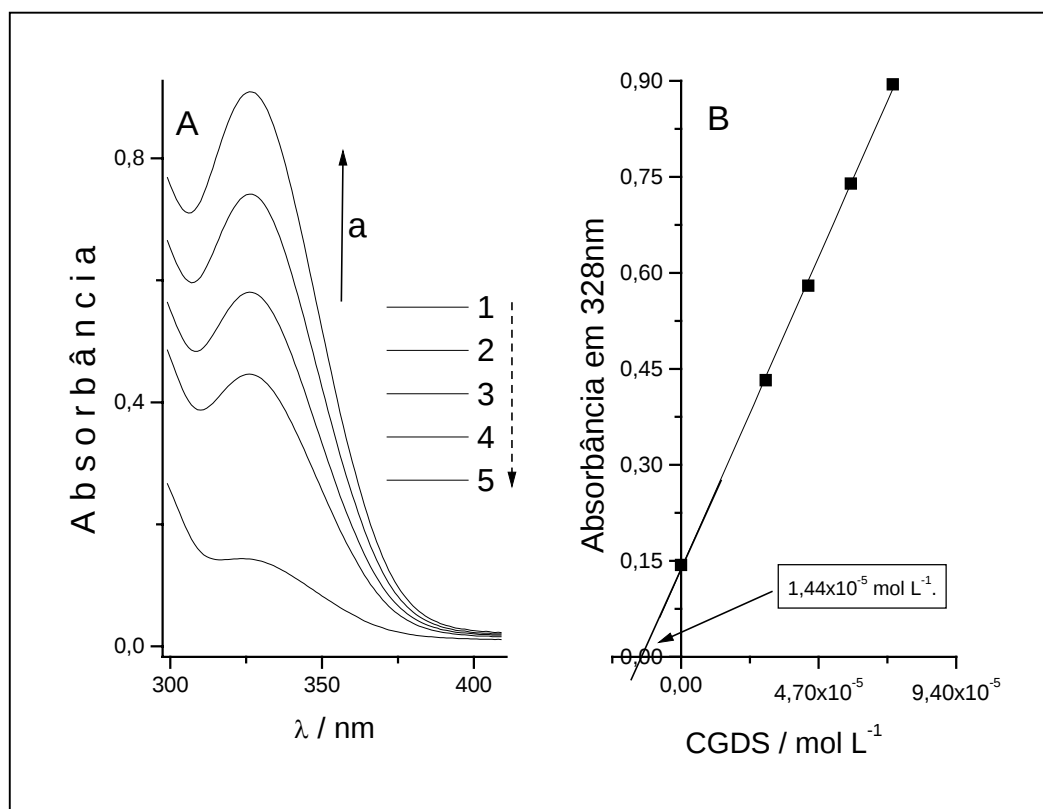


Figura 27A: Espectros de absorção UV em urina contaminada por CGDS em : curva (1) $1,45 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e após adições do padrão, em concentrações de (2) 2,90; (3) 4,35; (4) 5,80 e (5) $7,25 (\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1})$. (B): método das adições do padrão de CGDS.

A análise dos dados obtidos da aplicação de metodologia espectrofotométrica para a determinação de CGDS em urina mostrou índice de correlação de $99,3\% \pm 0,35$, com coeficiente de variação igual a 0,35%, como mostra a Figura 27B. A regressão linear dos dados fornece valores de: $A (328 \text{ nm}) = 0,137 + 1,03 \times 10^4 C$, onde C concentração (mol L^{-1}), $R = 0,999$ ($n=5$). Os respectivos parâmetros correspondentes ao método espectrofotométrico e voltamétrico aplicados na análise de CGDS são comparados e mostrados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores comparativos para correlação de CGDS em urina humana obtidos através de técnica espectrofotométrica e voltamétrica com eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL.

Método.	CGDS (mol L^{-1}) adicionada à amostra de urina humana.	CGDS (mol L^{-1}) encontrado.	Correlação (%).
Espectrofotométrico [94]	$1,45 \times 10^{-5}$	$1,44 \times 10^{-5}$	$99,3 \pm 0,35$
Voltamétrico (Proposto)	$5,04 \times 10^{-7}$	$5,03 \times 10^{-7}$	$99,8 \pm 0,06$

Valores de correlação para o fármaco em urina apresentam-se bastante próximos entre si. Em adição, a metodologia para determinação de CGDS baseado em voltametria com eletrodo modificado com PLL mostra que o fármaco pode ser analisado em concentrações muito inferiores àquela referida no procedimento espectrofotométrico.

Deste modo é possível constatar que o método desenvolvido baseado no eletrodo de carbono pirolítico modificado com PLL mostra que o fármaco apresenta forte interação eletrostática com os grupos amino do poliaminoácido. A modificação do eletrodo também indica a possibilidade de se determinar o fármaco através de um método que fornece melhor sensibilidade e seletividade para a sua determinação em eletrodo sólido. A facilidade e rapidez na preparação do eletrodo constitui uma interessante vantagem sobre outras técnicas mais sofisticadas usadas para análise de CGDS.

Tendo em vista que o poliaminoácido pode mimetizar sistemas biológicos complexo como proteínas e enzimas o mesmo poderia ser utilizado para o transporte de macro-ânions hemolíticos e lipofóbicos, como o fármaco analisado, para órgãos responsáveis pela sua metabolização. Exemplo deste procedimento pode ser exposto pela condução de ácidos graxos para o fígado conduzido pelo soro-albumina, uma proteína que não contém carboidratos e constitui mais de 50% das proteínas existentes no soro humano [233]. Em outra abordagem, ASPURU e ZATON [90], também mostra que CGDS e os derivados benzopiranos podem ligar-se com soro-albumina e conduzidos na corrente sanguínea até o fígado e rins com posterior excreção na bile. Esta condução é realizada devido à capacidade de ligação com a droga através de sítios apolares da proteína que permite o seu transporte no sangue humano.

3.3 – ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM FILMES DE POLI-L-LISINA:GLUTARALDEÍDO.

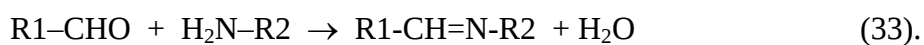
3.3.1 – GLUTARALDEÍDO.

Uma vez que os filmes do poliaminoácido PLL, sobre eletrodo de carbono pirolítico, não apresentaram estabilidade satisfatória que permitisse sua transferência, de uma solução de amostragem após etapa de pré-acúmulo, para uma outra solução contendo somente o eletrólito suporte, devido a fenômenos de migração para a solução eletrolítica, testou-se a seguir, uma outra metodologia para a sua imobilização em superfícies de eletrodo de carbono vítreo, utilizando-se o glutaraldeído, que poderia proporcionar maior aderência do filme de PLL.

O glutaraldeído (GA), tem sido utilizado como agente de imobilização de materiais biológicos, tais como proteínas em fibras ópticas, [234], na ligação cruzada com anticorpos e antígenos [235,236], tecido animal [237], dentre outros, (sobre matrizes sólidas nas últimas décadas). Vários são os suportes condutores e as técnicas de imobilização utilizadas. Dentre os quais se destacam; eletrodos de carbono vítreo [238-240]; eletrodos de ouro, [241-244], eletrodos de platina [235,236,245-248], amplamente empregados para imobilização de enzimas.

A imobilização de aminoácidos utilizando GA tem sido descrita na literatura [249-252]. O GA atua por ligação cruzada intermolecular, uma vez que é um reagente bifuncional, sobre os grupos amino residual livre destes materiais biológicos e permite a construção de eletrodos modificados estáveis até valores extremos de pH e temperatura. Também é conhecido na literatura [253-258], que compostos carbonílicos reagem com aminoácidos formando bases de Schiff. Estes compostos podem ser obtidos pela condensação de aldeídos e cetonas com aminas primárias, o qual foi primeiramente reportado por HUGO SCHIFF em 1864, [259], com largo emprego no campo analítico. Do ponto de vista eletroquímico, as bases de Schiff, vêm sendo reportadas nos últimos 30 anos na investigação de vários sistemas, [257].

A reação que ocorre entre os grupamentos aldeídicos com os grupos amino terminais existentes em aminoácidos, proteínas e materiais biológicos em geral, pode ser representada pela seguinte expressão:



O produto desta reação ($R1-CH=N-R2$) é eletroquimicamente reativo e pode ser reduzido em uma ampla faixa de pH através de um processo envolvendo dois elétrons [254,258]. O envolvimento de prótons nesta reação pode ser observado pelo nítido

deslocamento do $E_{1/2}$ de algumas bases de Schiff estudadas por SEVILLA e colaboradores [257] com o aumento nos valores de pH. O comportamento polarográfico de algumas bases de Schiff obtidas pela condensação de aminoácidos com compostos carbonílicos é descrito [254-258]. O pKa da base de Schiff obtida pela reação entre o aminoácido l-lisina e o cofator piridoxal-5-fosfato é de 10,2 [257] e mostra que o grupamento amino em posição ϵ permanece inalteradamente protonado em altos valores de pH.

Assim, se considerarmos que PLL apresenta grupos aminos passíveis para reação com GA, esta interação poderia ser utilizada para melhorar o método de preparação de eletrodos modificados com PLL. Para tal, poder-se-ia utilizar a reação cruzada com o GA em baixo grau de polimerização com possibilidade de ampliar a capacidade de retenção da membrana polimérica. Como a razão entre GA:PLL pode influenciar a porcentagem de grupos aminos disponíveis no poliaminoácido, o objetivo do presente trabalho é investigar as melhores condições experimentais para uso de GA, tal que a retenção da PLL na superfície do eletrodo de carbono vítreo seja melhorada sem comprometimento de suas propriedades policationicas para interagir com o analito de interesse.

Deste modo o produto da reação entre PLL e GA, obtida após a mistura dos reagentes em tampão acetato pH 5,6 foi caracterizado inicialmente por técnicas espectrofotométricas antes de ser depositado sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo. O espectro de absorção do GA em solução B-R pH 7,0 na região UV-Visível apresenta três bandas de absorção em 208, 234 e 292nm, como mostra a Figura 28A. A PLL, em solução B-R pH 7,0 é caracterizada por uma banda intensa em 214 nm, como mostra a Figura 28B. O espectro de absorção da solução contendo misturas de GA $3,00 \times 10^{-2}\%$ m/m e PLL entre concentração de $6,00 \times 10^{-3}$ a $3,00 \times 10^{-2}\%$ m/m apresenta o surgimento de nova banda de absorção em comprimento de onda ao redor de 360 nm, como mostra a Figura 28C, o qual é característico da absorção da função imina relacionada à base de Schiff [260], comprovando a interação entre PLL:GA.

Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de carbono vítreo modificado pela transferência da mistura PLL:GA (50,0% m/m) sobre a superfície após etapa de evaporação do solvente e imersão em solução tampão acetato pH 5,6 são mostrados na Figura 29. A redução do grupo (-CH=N-) da base de Schiff gerada pela reação amino+aldeído produz uma onda bem definida em potenciais próximos a -1,06 V, verificado previamente em outros estudos polarográficos [260]. O pico diminui em função das varreduras consecutivas e desaparece após quatro ciclos seguintes. Por outro lado, o filme formado não exhibe qualquer sítio eletroativo no intervalo de potencial entre -0,8 V a +1,5 V. Deste modo, escolheu-se este

intervalo de potencial para fins analíticos e todas as leituras de corrente tomadas em todos os experimentos foram realizadas por extrapolação da linha base no próprio voltamograma cíclico.

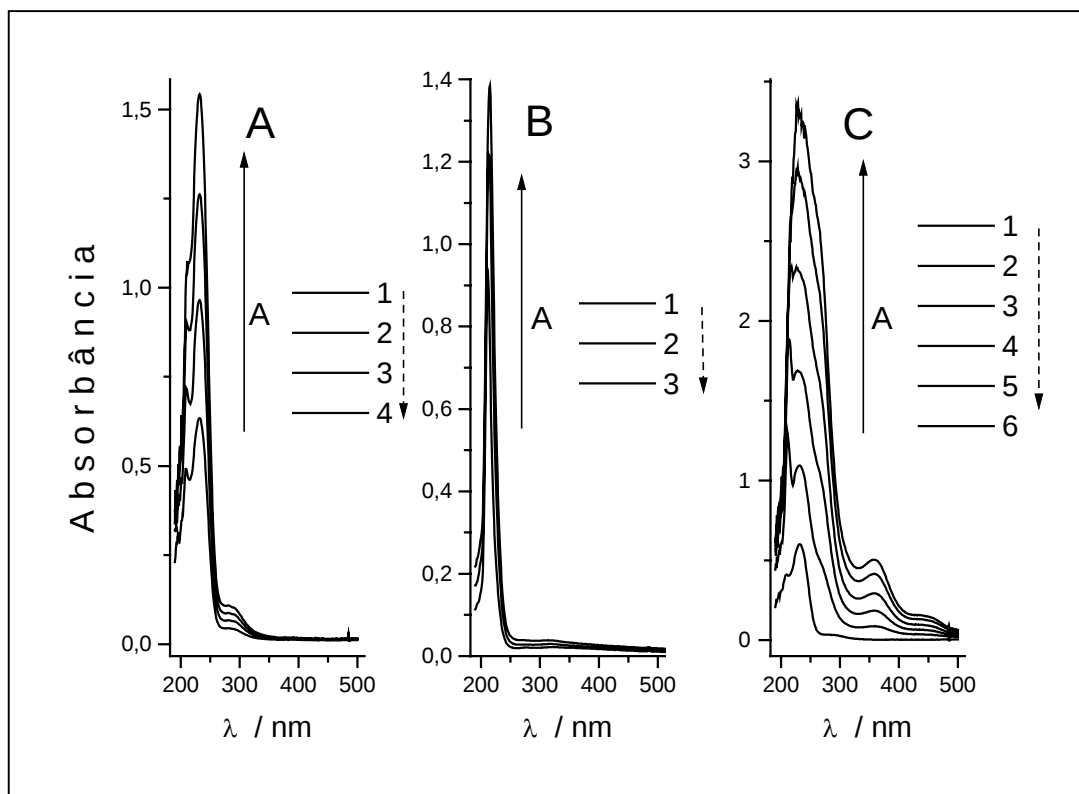


Figura 28A: Espectros de UV de solução de GA. Curvas: (1) $3,30 \times 10^{-2}\%$ m/m; (2) $5,00 \times 10^{-2}\%$ m/m; (3) $6,60 \times 10^{-2}\%$ m/m e (4) $8,30 \times 10^{-2}\%$ m/m em B-R pH 7,0. (B): Espectros de UV para solução de PLL em B-R pH 7,0. Curva: (1) $3,00 \times 10^{-2}$ m/v; (2) $6,00 \times 10^{-2}$ m/v e (3) $1,00 \times 10^{-1}\%$ m/v. (C): Misturas de soluções de GA:PLL em B-R pH 7,0. Curvas: (1) $3,30 \times 10^{-2}\%$ m/m de GA com adições de PLL: curvas: (2) 0,60; (3) 1,30; (4) 2,00; (5) 2,60 e (6) $3,30 (\times 10^{-2}\%$ m/m).

A seguir investigou-se a caracterização voltamétrica dos filmes de PLL:GA imobilizados sobre eletrodo de carbono vítreo, utilizando-se o sistema $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em meio aquoso pH 5,6 como modelo de analito por ter seu comportamento eletroquímico bastante conhecido. A Figura 30 mostra um conjunto de voltamogramas cíclicos registrados sob varredura sucessiva de eletrodo modificado com misturas de PLL(50,0%):GA(50,0% m/m) após imersão em célula eletroquímica contendo $1,00 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em valor de pH 5,6.

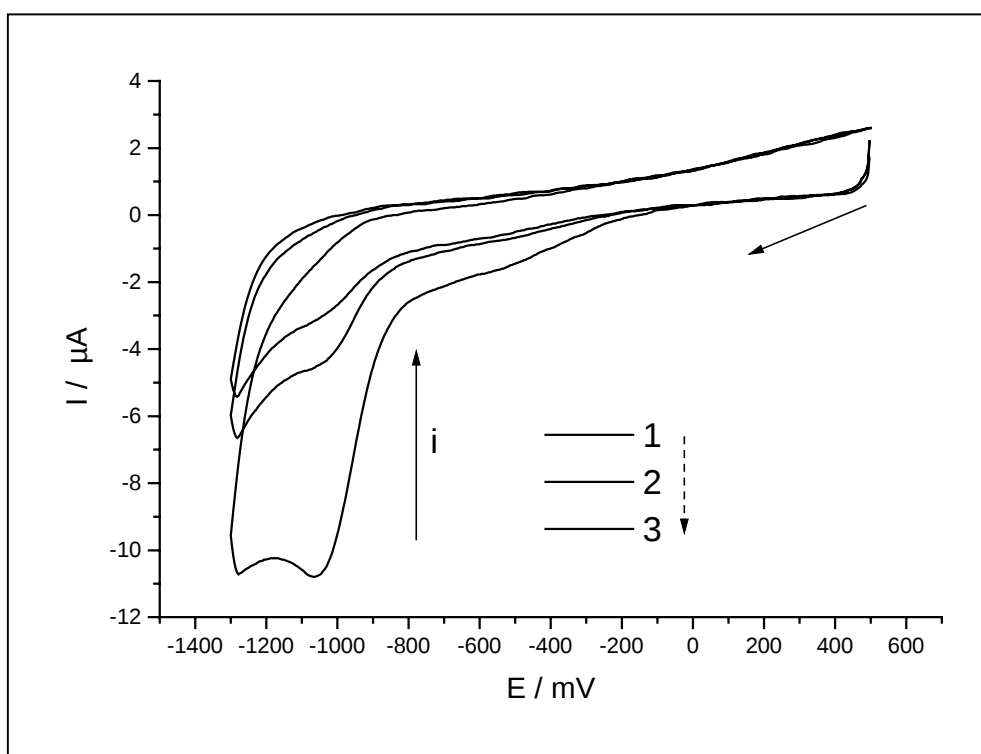


Figura 29: Voltamogramas cíclicos repetitivos para redução do filme de PLL (50,0%):GA (50,0% m/m) imobilizado sobre eletrodo de carbono vítreo em solução acetato pH 5,6. Curvas:1 primeira varredura; 2 segunda varredura e 3 terceira varredura.

$$\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}.$$

As correntes de pico aumentam em função das varreduras sucessivas de potencial indicando o aumento da corrente devido à incorporação dos ânions $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ no filme sobre a superfície. Os voltamogramas alcançam estado de saturação após 60 ciclos e as correntes de pico são significativamente maiores quando comparadas com o perfil voltamétrico observado em solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ com o mesmo eletrodo sem modificação.

Os voltamogramas obtidos nestas condições experimentais contrastam com o comportamento do eletrodo modificado utilizando somente PLL onde, após o primeiro ciclo observa-se uma diminuição na corrente de pico em função das varreduras subsequentes.

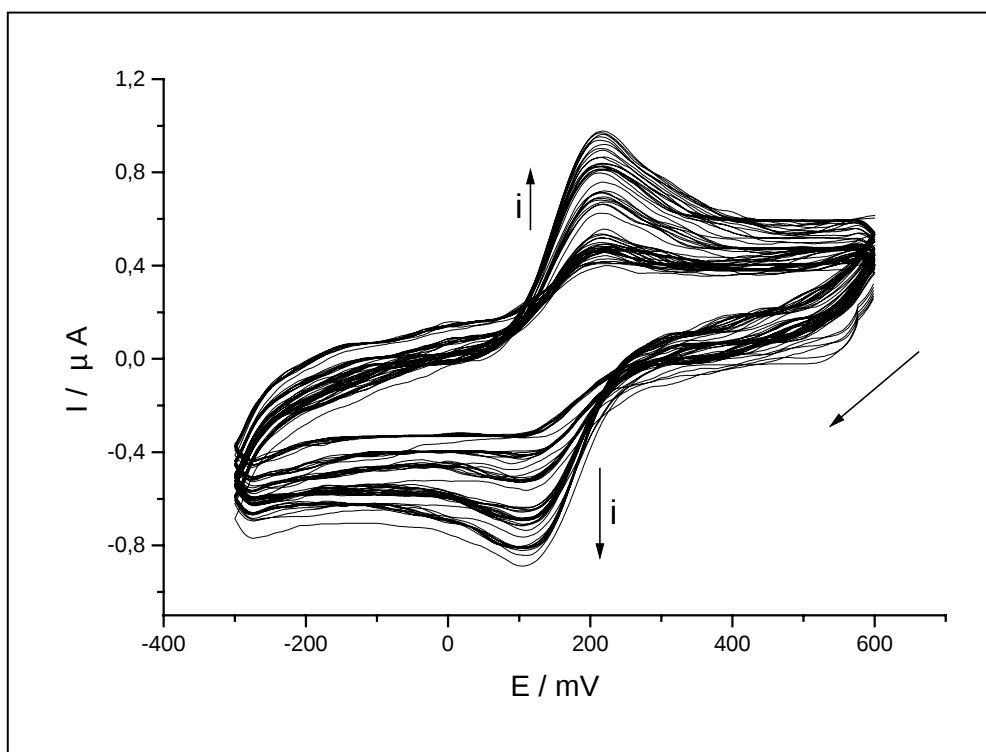


Figura 30: Voltamogramas cíclicos obtidos para eletrodo de carbono vítreo recoberto por filmes de PLL(50,0%):GA(50,0% m/m) em solução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em tampão acetato pH 5,6; (60 ciclos). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A capacidade de retenção do modificador PLL:GA foi estimada registrando-se voltamogramas cíclicos sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL (50,0%):GA(50,0%) m/m carregado com $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ e transferido para nova solução de eletrólito suporte. O eletrodo após incorporação de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ foi lavado com água bidestilada e transferido para a célula eletroquímica contendo somente solução tampão acetato pH 5,6. Uma típica resposta voltamétrica do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ pode ser observado, como mostra a Figura 31.

Voltamogramas cíclicos obtidos após 12 repetições mostraram valores médios de corrente igual a $0,880 \pm 0,040 (\mu\text{A})$, apresentando coeficiente de variação de 4,77% entre as medidas. Os voltamogramas cíclicos registrados após períodos de lavagens com água bidestilada não mostraram nenhuma perda do sinal voltamétrico o que é indicativo de que a utilização de GA melhora a performance do eletrodo de PLL por aumentar a aderência do poliaminoácido na superfície do eletrodo e ainda mantém as propriedades catiônicas do filme que permite a incorporação do ânion $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$.

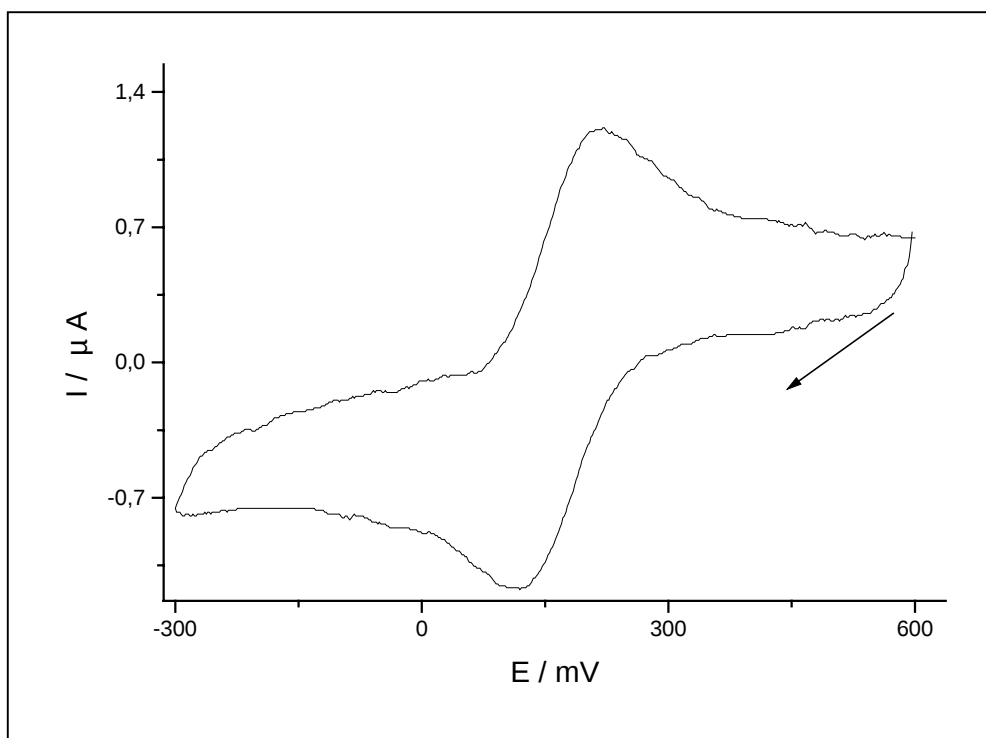


Figura 31: Voltamograma cíclico obtido para o eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA (50,0%:50,0% m/m) em solução acetato pH 5,6 após ciclagem de potencial na presença de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A influência da variação da velocidade de varredura sobre as correntes de pico foi avaliada após ciclagem de potencial na presença de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ durante 60 ciclos sobre o eletrodo modificado por PLL:GA e então transferido para a célula eletroquímica contendo somente solução acetato pH 5,6. A corrente de pico catódica aumenta em função da raiz quadrada da velocidade de varredura ($\nu^{1/2}$) no intervalo entre 0,01 a 0,10 V s^{-1} e fornece uma relação linear de i_p vs $\nu^{1/2}$, segundo a equação: $i_p(\mu\text{A}) = -0,023 + 0,085\nu^{1/2}$, onde $\nu^{1/2}$ raiz quadrada da velocidade de varredura em mV s^{-1} , $R = 0,999$ ($n=10$). Este comportamento indica que o processo de redução do ânion no filme ocorre por difusão [261,262]. Valores obtidos para a razão entre corrente de pico anódica e catódica, (i_{pa}/i_{pc}), apresentaram-se sempre próximos à unidade, indicando a ausência de reação química acoplada no processo eletródico.

Considerando que a reação química entre a PLL e o GA ocorre através do grupo amino do poliaminoácido e esta reação pode interferir na quantidade de sítios disponíveis da PLL para interação com ânions em solução, investigou-se a seguir a influência da razão entre as quantidades de PLL e GA nas propriedades de formação dos filmes. Para uma

concentração fixa de PLL e concentrações variáveis de GA, utilizando-se iguais volumes de cada solução que, quando transferidas para a superfície do eletrodo, geraram filmes poliméricos com diferentes composições de PLL:GA (50,0:50,0% m/m); (75,0:25,0% m/m); (95,0:5,00% m/m); (97,5:2,50% m/m), respectivamente. Os resultados foram interpretados pela comparação entre os valores de corrente catódica obtida de voltamogramas cíclicos em solução $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em solução tampão acetato pH 5,6, como mostra a Figura 32.

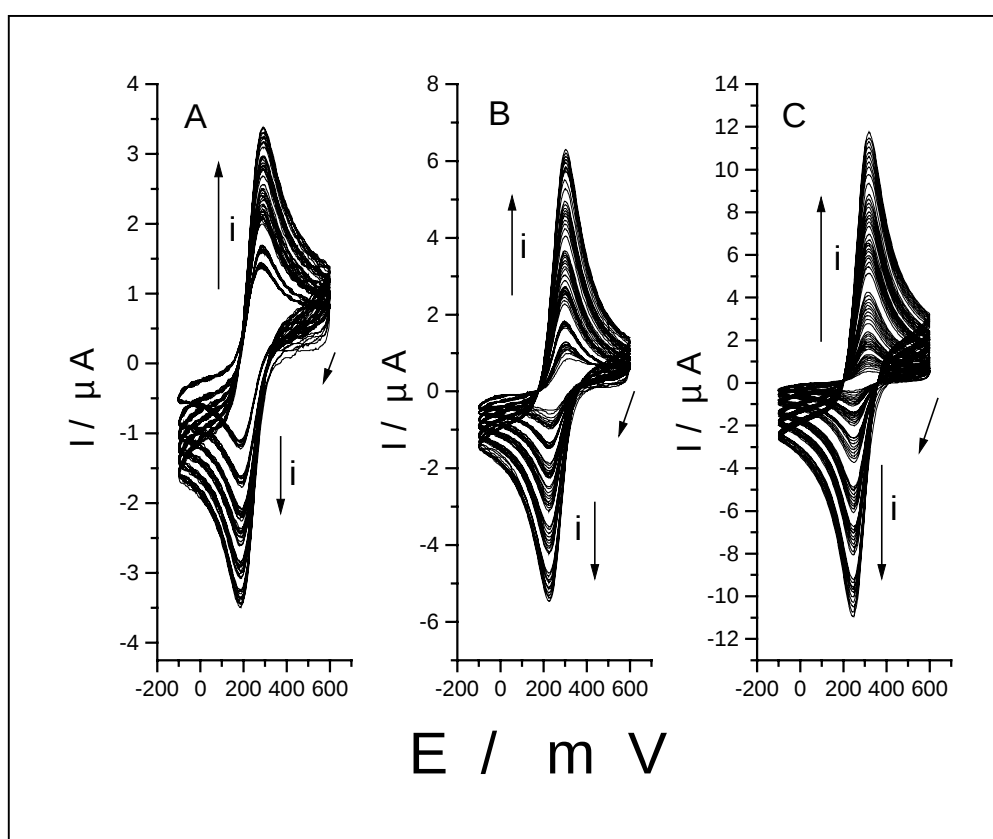


Figura 32: Voltamogramas cíclicos obtidos para eletrodo modificado com filmes de PLL:GA nas seguintes composições: (A) PLL(75,0%):GA(25,0%); (B) PLL(95,0%):GA(5,00%) e (C) PLL(97,5%):GA(2,50%) m/m em solução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em tampão acetato pH 5,6 (60 ciclos). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A análise desta figura mostra que as correntes de pico aumentam em função dos repetitivos ciclos em qualquer composição dos filmes investigados. Todavia, os melhores valores de corrente são obtidos quando a concentração de GA é minimizada na mistura. As comparações dos valores de correntes obtidas em cada caso, registrados após alcance do

estado de saturação, (60 ciclos), e posterior lavagem do eletrodo com água bidestilada e transferência para solução tampão acetato pH 5,6 pode ser visto na Figura 33.

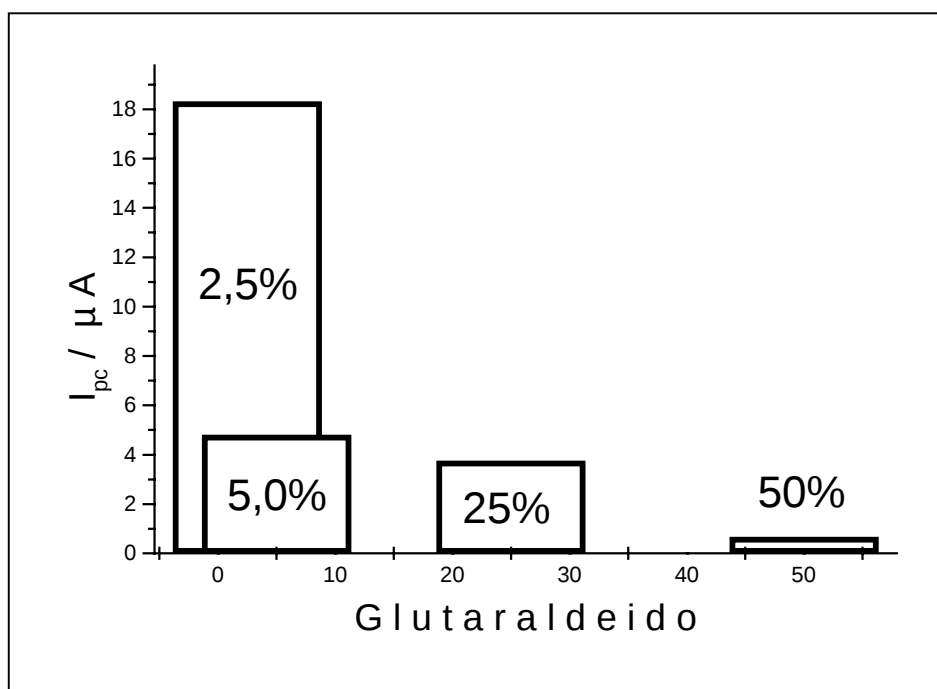


Figura 33: Efeito da composição do filme de PLL e GA na corrente de pico resultante (60 ciclos) da redução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6 após ciclagem de potencial na presença do analito. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados mostram que a diminuição na concentração de GA na composição dos filmes promove um aumento na quantidade de grupos aminos livres no poliaminoácido retido nos referidos filmes sem comprometer as suas estabilidades. Isto é, a diminuição no teor de GA na composição dos filmes de PLL:GA mostra que mais sítios ($-\text{NH}_2$) do poliaminoácido são disponibilizados para interação com a espécie aniônica. O mesmo procedimento foi repetido apenas pela adição de GA à superfície do eletrodo e o filme assim formado após evaporação do solvente contido na solução de GA não apresenta sinal voltamétrico para redução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$, indicando que os grupos aminos do poliaminoácido no filme de PLL:GA são relevantes para a incorporação do ânion. Em adição, estes resultados indicam que a composição de PLL 97,5%:GA 2,50% m/m é a melhor condição experimental para melhorar a aderência do filme e para preservar suas propriedades catiônicas na superfície do eletrodo.

Informações adicionais sobre o processo foram obtidas utilizando-se velocidades de varreduras entre 0,01 a $0,10 \text{ V s}^{-1}$ comparando-se as intensidades de correntes de pico dos

voltamogramas cíclicos para eletrodos de carbono vítreo modificados com diferentes composições de filmes de PLL:GA imersos em $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, e submetidos à 60 ciclos, com posterior lavagem com água bidestilada e transferência para a célula eletroquímica contendo apenas solução tampão acetato pH 5,6. As razões de i_{pa}/i_{pc} obtidas das correntes de pico anódicas e catódicas apresentaram valores constantes e próximos à unidade. Os gráficos de corrente de pico vs $v^{1/2}$ são lineares para ambos processos, catódico e anódico e não são dependentes da composição do filme, sugerindo processo controlado por difusão [262]. Todavia, a diferença entre os potenciais de pico catódico e anódico, (ΔE_p), tem mostrado um comportamento característico, como pode ser visto na Figura 34.

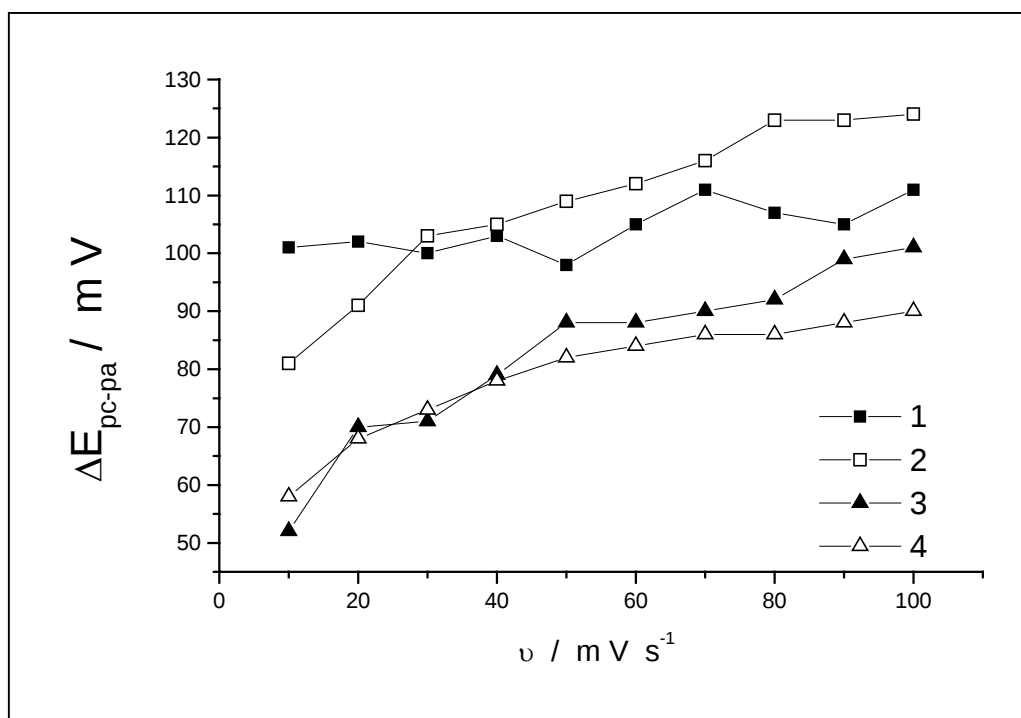


Figura 34: Efeito da velocidade de varredura de potencial e composição dos filmes de PLL:GA sobre o sinal de redução e re-oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ em acetato pH 5,6 após incorporação eletroquímica, (60 ciclos) e leituras somente em solução tampão acetato pH 5,6. Curvas: (1) PLL(50,0%):GA (50,0%); (2) PLL(75,0%):GA (25,0%); (3) PLL(95,0%):GA (5,00%) e (4) PLL(97,5%):GA(2,50%) m/m.

A diferença entre potencial de pico catódico e anódico ($E_{pc}-E_{pa}$) mostra valores ao redor de 100 mV, como pode ser observado na referida figura, para filmes formados em altas concentrações de GA ou utilizando altas velocidades de varreduras, mostrando desvios do

comportamento previsto para um processo reversível com transferência de um elétron de 59 mV, [261,262]. Todavia, valores de $E_{pc}-E_{pa}$ próximos a 56 mV são observados em baixos valores de velocidade de varredura ou quando a concentração de GA é minoritária no filme, indicando uma mudança na reversibilidade do processo com rápida transferência de carga.

A regeneração das propriedades do eletrodo modificado foi testada com diferentes composições de PLL:GA e incorporação de $[Fe(CN)_6]^{-3}$. Para tal, o eletrodo contendo PLL:GA carregado com $[Fe(CN)_6]^{-3}$ foi submetido à lavagem em água desmineralizada e imerso em célula eletroquímica contendo solução tampão acetato pH 5,6. Os voltamogramas registrados não mostram perda do sinal voltamétrico para 20 medidas consecutivas. Os resultados de corrente obtida para uma série de 10 voltamogramas foram registrados e os parâmetros estatísticos obtidos são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros estatísticos obtidos da redução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[Fe(CN)_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6 sob eletrodo modificado com filmes de PLL:GA sob incorporação via ciclagem eletroquímica. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Composição do filme de PLL:GA(%) m/m	Valores de corrente (μA)	Coefficiente de variação entre as medidas (%)	Repetições
50,0:50,0	$0,880 \pm 0,040$	4,77	10
75,0:25,0	$4,51 \pm 0,320$	7,03	10
95,0:5,00	$6,77 \pm 0,420$	6,13	10
97,5:2,50	$22,7 \pm 0,560$	2,46	10

Os resultados obtidos, após a obtenção do estado de saturação dos filmes de PLL:GA com $[Fe(CN)_6]^{-3}$ mostram que a capacidade de incorporação do ânion no eletrodo modificado com a mistura PLL:GA é menor quando a composição do filme apresenta alto teor de GA. Todavia, em qualquer situação, ótimos resultados de repetibilidade foram obtidos com coeficiente de variação em torno de 2,46 a 7,03 %, indicando que filmes de PLL:GA podem ser utilizados para pré-concentração de ferricianeto com maior estabilidade que os resultados demonstrados na literatura [77-79].

3.3.2 – INCORPORAÇÃO DE ÂNIONS $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ NO ELETRODO MODIFICADO COM POLI-L-LISINA:GLUTARALDEÍDO VIA IMERSÃO (“DIPPING”).

Considerando que o objetivo do presente trabalho seria a determinação de fármacos em amostras complexas, a incorporação do analito no filme de PLL pela simples imersão na matriz e transferência para nova solução contendo apenas o eletrólito suporte poderia ser vantajosa em relação à incorporação por ciclagem eletroquímica, pois permitiria a exclusão de componentes indesejáveis na matriz que poderiam tomar parte no filme durante o processo de redução/oxidação eletroquímica.

Desta forma, investigou-se a possibilidade de incorporação da espécie padrão utilizando-se a imersão do eletrodo modificado previamente em solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$. Este procedimento é designado aqui como pré-concentração via imersão ou “dipping”. Os voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 35 mostram o efeito do tempo de exposição do eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL(50,0%):GA(50,0%) m/m imerso em um becker contendo solução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em solução tampão acetato pH 5,6. Cada etapa de incorporação foi realizada através de agitação magnética da solução por 10 min. Completados os períodos de incorporação de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$, o eletrodo modificado foi submetido à lavagem com água bidestilada e recolocado na célula eletroquímica contendo uma nova solução tampão acetato pH 5,6 com pausa de 30 s antes da obtenção da curva voltamétrica.

Como pode ser observado, as correntes dos respectivos picos catódicos e anódicos aumentam significativamente em função do tempo de acumulação de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ indicando a pré-concentração da espécie na superfície do eletrodo de modo semelhante ao observado na ciclagem eletroquímica. Os resultados desta incorporação podem ser atribuídos à interação eletrostática do modificador na superfície do eletrodo com a espécie aniônica.

O efeito da variação da composição do filme sobre a capacidade de pré-concentrar o ânion foi investigado como nos estudos prévios, utilizando-se PLL:GA nas seguintes razões: (50,0%:50,0% m/m); (75,0%:25,0% m/m); (95,0%:5,00% m/m); (97,5%:2,50% m/m), respectivamente. Os voltamogramas cíclicos obtidos destes eletrodos modificados imersos em um becker contendo $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ após transferência para nova solução contendo apenas acetato pH 5,6, são mostrados na Figura 36. A Figura mostra que em todas as composições, os filmes retêm o ânion em sua superfície e a corrente aumenta em função do tempo. No entanto, é possível notar que os filmes de PLL gerados com baixas concentrações

de GA promovem maiores valores de correntes, Figura 36C, sugerindo que mais sítios da PLL estão disponibilizados na superfície do eletrodo.

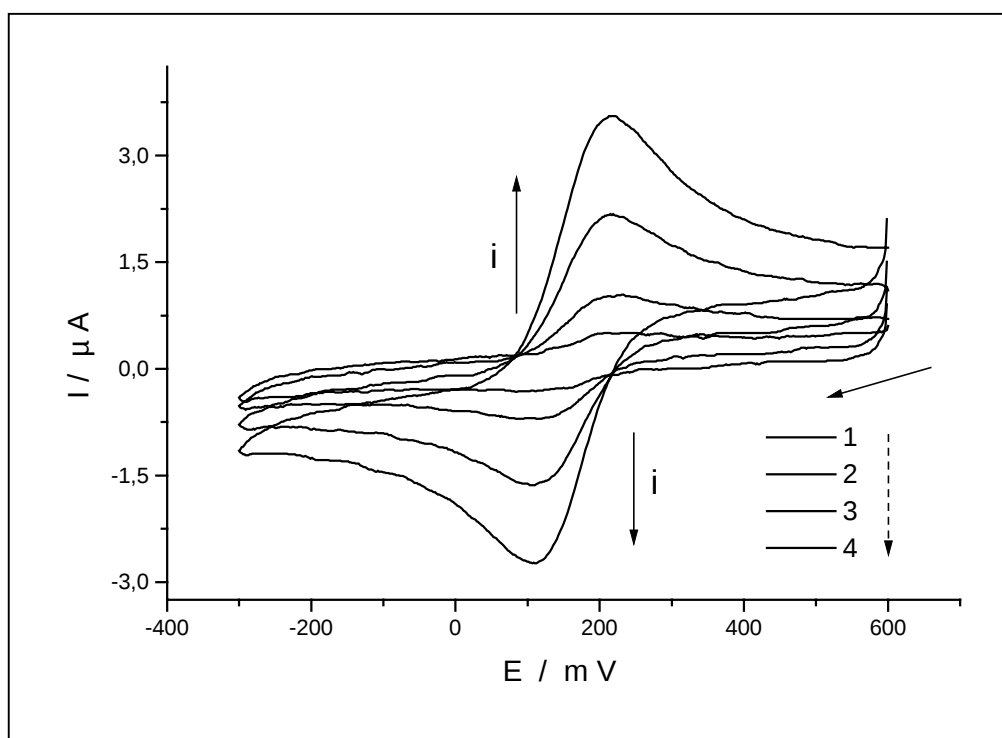


Figura 35: Voltamogramas cíclicos obtidos para eletrodo de carbono vítreo recoberto por filmes de PLL(50,0%):GA(50,0% m/m) em tampão acetato pH 5,6 após incorporação durante: Curvas: (1) 10; (2) 20; (3) 30 e (4) 40 (min) de imersão em $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A influência da velocidade de varredura sobre os parâmetros eletroquímicos obtidos de cada filme na mistura com diferentes proporções de PLL:GA (50,0%:50,0%; 75,0%:25,0%; 95,0%:5,00%; 97,5%:2,50%) m/m também foi investigada em valores de velocidades de varreduras entre 10 a 100 mV s^{-1} . Valores de $E_{pa} - E_{pc}$ próximos de 60 mV são obtidos apenas em baixos valores de v , ($< 20 \text{ mV s}^{-1}$), e baixos valores de concentração de GA na mistura, o qual indica comportamento de um processo reversível envolvendo um elétron [261,262]. Os valores de correntes dos picos catódico e anódico aumentam em função do aumento na velocidade de varredura fornecendo uma relação linear de i_p vs $v^{1/2}$, sugerindo que o ânion é reduzido através de um processo difusional [262].

Os parâmetros correspondentes a 10 voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de carbono vítreo modificado com as misturas de PLL:GA imersos em solução de $1,00 \times 10^{-4}$

$\text{mol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ durante 40min em concentrações variáveis de 50,0%:50,0%; 75,0%:25,0%; 95,0%:5,00%; 97,5%:2,50% (m/m) são mostrados na Tabela 3. Também é mostrado na Figura 37 a comparação entre as intensidades de corrente obtidas após 40 min de imersão de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ sobre os filmes com diferentes composição do filme PLL:GA e transferência para solução de eletrólito suporte.

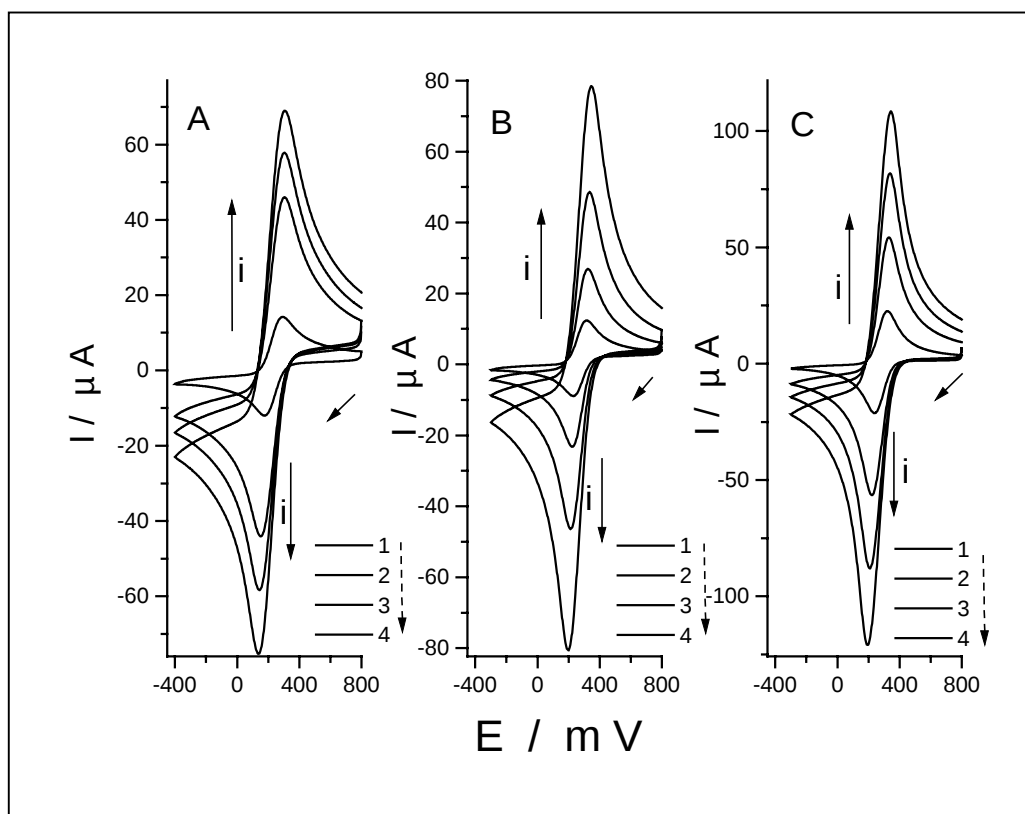


Figura 36A: Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de carbono vítreo recoberto com filmes de PLL:GA (75,0%:25,0% m/m); obtido após imersão em um becker contendo $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6 (B): PLL:GA (95,0%:5,00% m/m); e (C): PLL:GA (97,5%:2,50% m/m). Curvas: (1) 10min; (2) 20 min; (3) 30 min e (4) 40 min. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Como mostrado nesta tabela, os valores de corrente são reproduzíveis, embora os melhores valores de corrente possam ser obtidos para a composição de PLL:GA 97,5%:2,50% m/m (Figura 37). Assim, a modificação do eletrodo de carbono vítreo com PLL:GA mostrou alta estabilidade na obtenção do filme do poliaminoácido. Em adição, a incorporação da espécie sob agitação em tempo controlado apresenta maior rapidez de análise quando comparado à incorporação eletroquímica.

A comparação entre os dois métodos de incorporação da espécie padrão nos filmes de PLL:GA permite concluir que os melhores valores de corrente e repetibilidade das medidas podem ser obtidas quando esta incorporação é efetuada pela via “dipping” (imersão do eletrodo na solução submetida à agitação contendo o analito).

Tabela 3: Parâmetros estatísticos obtidos da redução após incorporação por imersão de 40 min em um becker contendo $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Composição do filme de PLL:GA(%)m/m	Valores de corrente (μA)	Coefficiente de variação entre as medidas (%)	Repetições
50,0:50,0	$3,25 \pm 0,020$	0,640	10
75,0:25,0	$70,4 \pm 1,70$	2,47	10
95,0:5,00	$83,6 \pm 0,400$	0,520	10
97,5:2,50	$111 \pm 2,80$	2,56	10

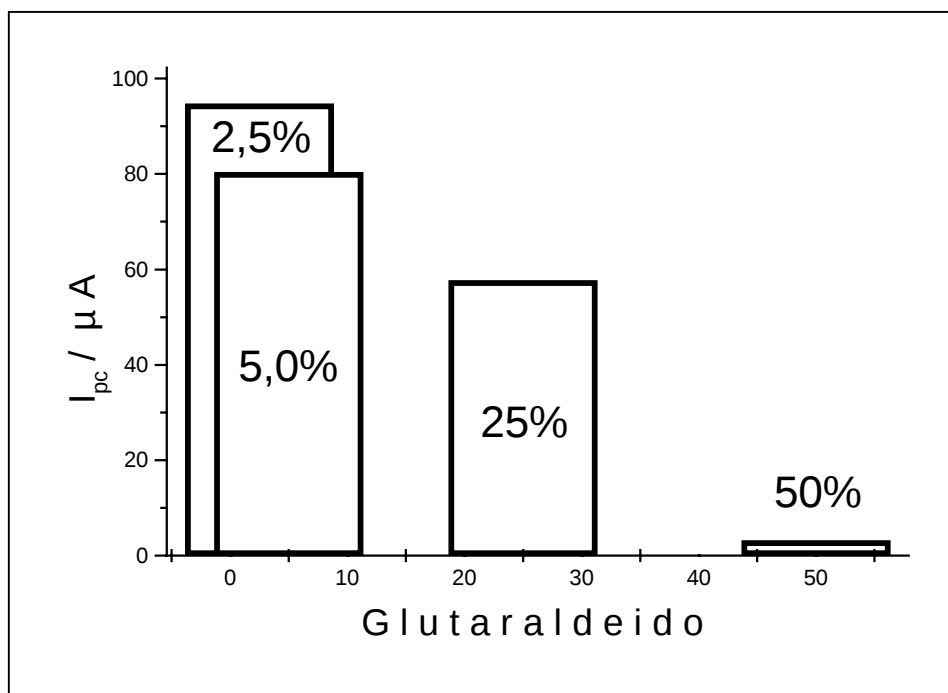


Figura 37: Efeito da composição do filme de PLL:GA submetido à incorporação em solução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ durante 40 min em um becker em tampão acetato pH 5,6. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados obtidos do estudo da composição dos filmes de PLL:GA em relação ao pico de redução da base de Schiff observado em potencial ao redor de -1,0 V, conforme Figura 29, mostras características semelhantes ao mostrado nas curvas da referida figura: a minimização do teor de GA na composição dos filmes promove uma diminuição no pico referente à função imina, uma vez que um menor teor de GA, formaria uma menor quantidade da referida função passível de redução no potencial monitorado.

O efeito da concentração de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ sobre as correntes de pico dos voltamogramas cíclicos foi investigado adotando-se o seguinte procedimento: o eletrodo de carbono vítreo modificado com uma mistura de 97,5% de PLL + 2,50% de GA (m/m) foi imerso na solução contida em um becker onde as adições de ferricianeto foram efetuadas e submetido à agitação prévia por um período de 5 min; lavado posteriormente com água bidestilada e recolocado na célula eletroquímica com nova solução tampão acetato pH 5,6, cujos resultados são mostrados na Figura 38.

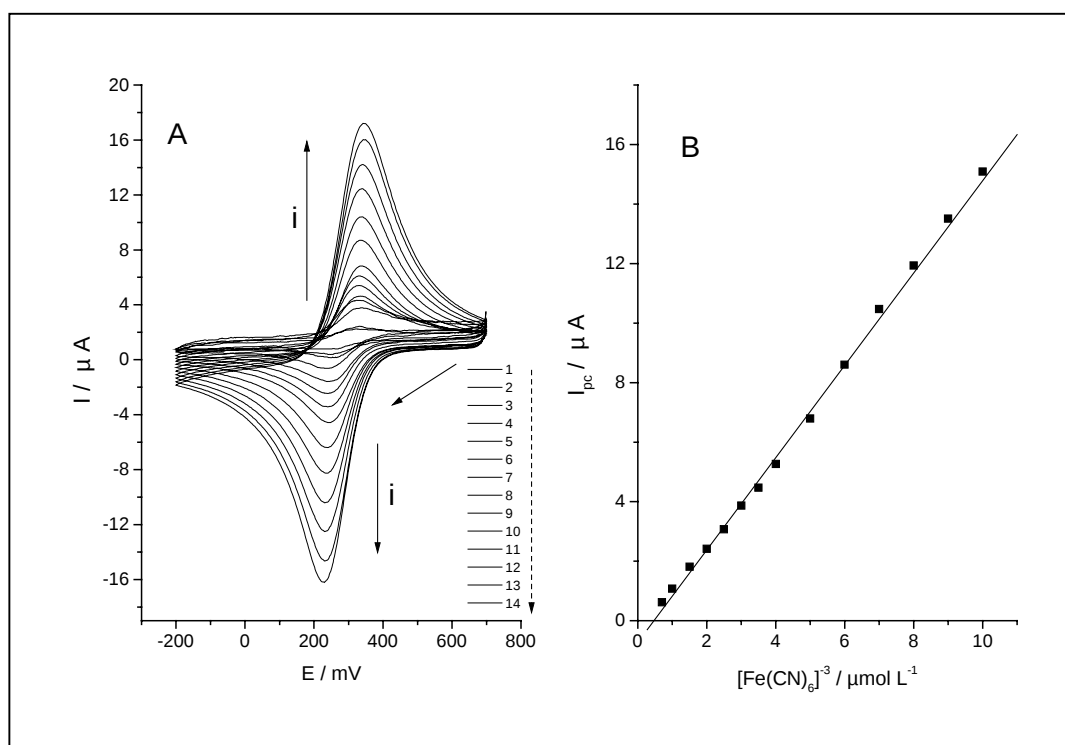


Figura 38A: Voltamogramas cíclicos obtidos sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA (97,5%:2,50% m/m) imerso por 5 min sob agitação em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ em acetato pH 5,6 em concentrações de: Curvas: (1) 0,700; (2) 1,00; (3) 1,50; (4) 2,00; (5) 2,50; (6) 3,00; (7) 3,50; (8) 4,00; (9) 5,00; (10) 6,00; (11) 7,00; (12) 8,00; (13) 9,00; (14) 10,0 ($\mu\text{mol L}^{-1}$). (B): Respectiva curva analítica obtida da corrente catódica correspondente aos voltamogramas de redução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A curva analítica apresenta linearidade no intervalo de concentração entre 0,700 a 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O gráfico apresenta desvio da linearidade apenas em valores de concentração superiores a 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sugerindo saturação dos sítios disponíveis. O limite de determinação alcançado através de medidas experimentais foi de 0,100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, estimado segundo a relação sinal-ruído [230-232].

Os resultados obtidos mostram que, independentemente da composição do filme e da forma de incorporação da espécie aniônica, tanto pela via de imersão ou ciclagem eletroquímica, o processo é governado por um fenômeno difusional. O filme obtido via reação PLL:GA exibe efeito de pré-concentração via interação eletrostática para espécies aniônicas e permite seu monitoramento em outro ambiente contendo somente o eletrólito suporte. Esta qualidade pode fazer grande diferença na análise de princípios ativos contidos em matrizes complexas como fluidos biológicos, formulações farmacêuticas e amostras ambientais onde, quase sempre, os componentes endógenos, excipientes e contaminantes contidos nestas matrizes, constituem potenciais interferentes nos ensaios quantitativos. Desta forma, filmes obtidos através do procedimento formulado poderiam remover a espécie de interesse contido nestas matrizes para ser analisada em um ambiente menos agressivo.

Deste modo, investigou-se a seguir, aplicações de eletrodos de carbono vítreo modificados por filmes de PLL:GA na avaliação de possíveis interações e determinações de compostos aniônicos de interesse farmacêutico.

3.4 – APLICAÇÃO DE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO POR FILMES DE PLL:GA NA DETERMINAÇÃO DE NITROPRUSSATO DE SÓDIO.

3.4.1 – CARACTERIZAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE NP SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO.

Para fins de comparação, iniciou-se a investigação da redução voltamétrica de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de nitroprussiato de sódio (NP) sobre eletrodo de carbono vítreo em tampão B-R pH 2,0-12. Voltamogramas cíclicos representativos de pH 2,0 são mostrados na Figura 39. Neste trabalho, todas as leituras de corrente foram executadas tomando a linha base, obtida com o eletrólito suporte (branco), como referência.

Embora vasto estudo sobre o comportamento eletroquímico do NP sobre eletrodo de mercúrio [123,125-140], reporte que o composto exibe três processos de redução, no qual seus potenciais são dependentes da composição do eletrólito utilizado; em eletrodo de carbono vítreo, observaram-se somente dois processos em potenciais ao redor de $-0,4$ e $-0,57 \text{ V}$, conforme mostra a Figura 39.

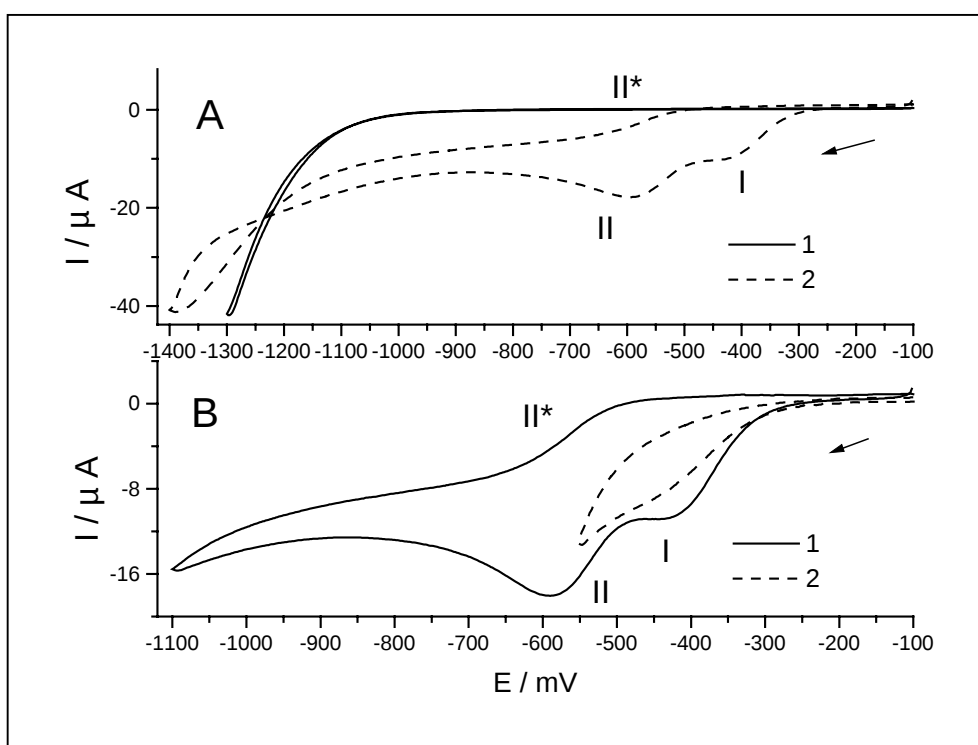


Figura 39A: Voltamogramas cíclicos para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo: Curvas: (1) eletrólito de suporte e (2) NP.

(B): Inversão de potencial relativo a curva (2A). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

O efeito da mudança na velocidade de varredura sobre os voltamogramas cíclicos registrados para redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 2,0 no intervalo de 10 a 200 mV s^{-1} , são mostrados na Figura 40. Os respectivos valores de corrente versus $v^{1/2}$ foram graficados e observou-se que ambos os processos de redução do NP são governados por difusão [262] em baixos valores de velocidade de varredura ($v \leq 100 \text{ mV s}^{-1}$). As relações lineares são representadas segundo as equações: $i_{pc} (\mu\text{A}) = 1,44 + 1,14 v^{1/2}$, onde $v^{1/2}$ raiz quadrada da velocidade de varredura em mV s^{-1} , $R=0,976$, ($n=9$), para a primeira etapa de redução e $i_{pc} (\mu\text{A}) = 2,67 + 1,68 v^{1/2}$, onde $v^{1/2}$ raiz quadrada da velocidade de varredura em mV s^{-1} , $R=0,988$, $n=9$, para a segunda etapa de redução, respectivamente.

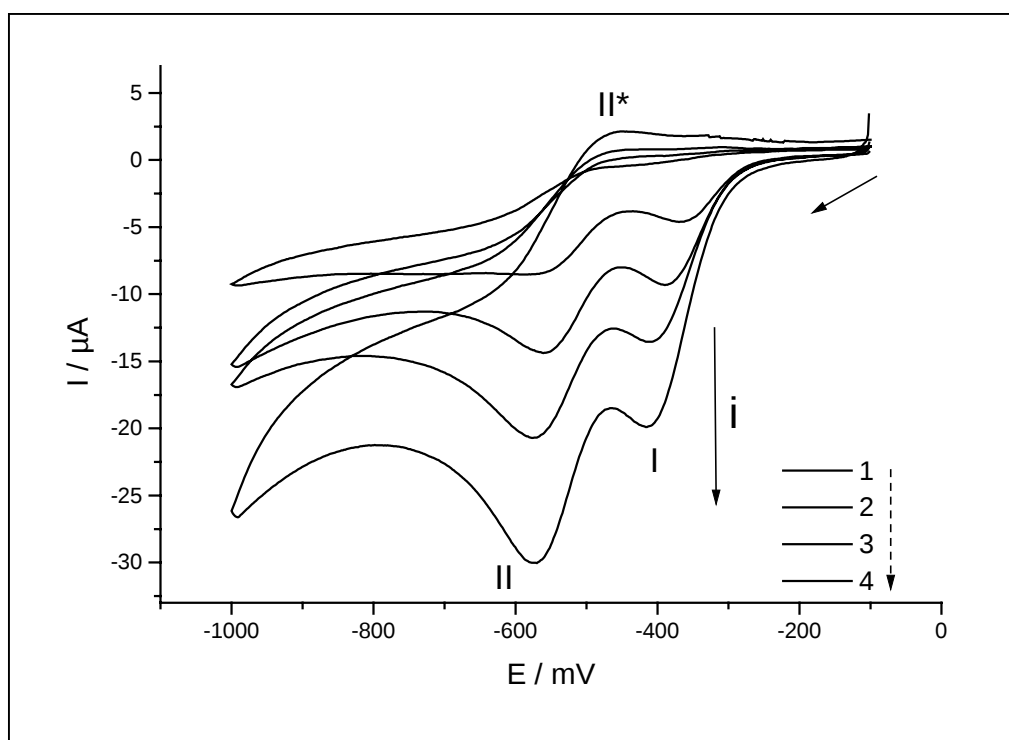


Figura 40: Voltamogramas cíclicos para redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 2,0 sob eletrodo de carbono vítreo. Curvas: (1) 10; (2) 40; (3) 60 e (4) 200 (mV s^{-1}).

A ausência de pico anódico, correspondente ao primeiro pico, na varredura reversa de potencial em qualquer velocidade de varredura, sugere que o processo apresenta características de um processo irreversível, devido à transferência de carga

lenta ou reações químicas subsequentes rápidas que consomem o produto gerado. A influência de v sobre os parâmetros voltamétricos são mostrados na Tabela 4.

A análise da Tabela 4 mostra que, independente da velocidade de varredura de potencial, o segundo processo de redução de NP apresenta valores médios de corrente em torno de 1,5 vezes maior que o primeiro pico. Esta tendência se mantém constante em relação à variação na velocidade de varredura, o que mostra que o segundo processo de redução do NP pode envolver um número de elétrons diferente daquele envolvido no primeiro pico.

Voltamogramas cíclicos correspondentes à redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em valor de pH 5,0 em B-R são mostrados na Figura 41. A análise desta figura mostra que em pH 5,0 (B-R), NP também apresenta dois picos de redução e difere daquele observado em meio fortemente ácido apenas pela ocorrência de um pico anódico (II*) com maior intensidade na varredura reversa de potencial. Esta observação é atribuída à oxidação da espécie gerada no segundo processo de transferência eletrônica. Este comportamento sugere que reações de protonação envolvendo o segundo pico de redução devem ser desfavorecido em meio com menor disponibilidade protônica. No entanto, o primeiro pico ainda apresenta características de processo irreversível (curva 2 da Figura 41).

Tabela 4: Parâmetros voltamétricos obtidos de voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura de potencial na redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo.

$v \text{ (mV s}^{-1}\text{)}$	$i \text{ (}\mu\text{A)}$ (pico I)	$i \text{ (}\mu\text{A)}$ (pico II)
10	4,40	7,80
20	5,75	9,20
40	8,62	13,1
60	12,4	18,8
80	12,6	18,6
100	14,0	20,4
150	14,3	22,0
170	15,1	23,5
200	17,8	27,1

Voltamogramas cíclicos correspondentes à redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 8,0 são mostrados na Figura 42. A análise da referida figura mostra que o composto apresenta a intensidade de corrente para ambos os picos de redução do NP muito menor em meio alcalino que aquela observada em meio ácido. Por outro lado, observa-se um novo pico anódico (I^*) na varredura reversa de potencial, após a primeira etapa de redução, mostrando que a reação química que consome os produtos é minimizada neste valor de pH. Em todos os valores de ν investigados as intensidades de corrente do segundo pico em relação ao primeiro, ($i_p \text{ II}/i_p \text{ I}$), apresentaram valores médios iguais a 1,6.

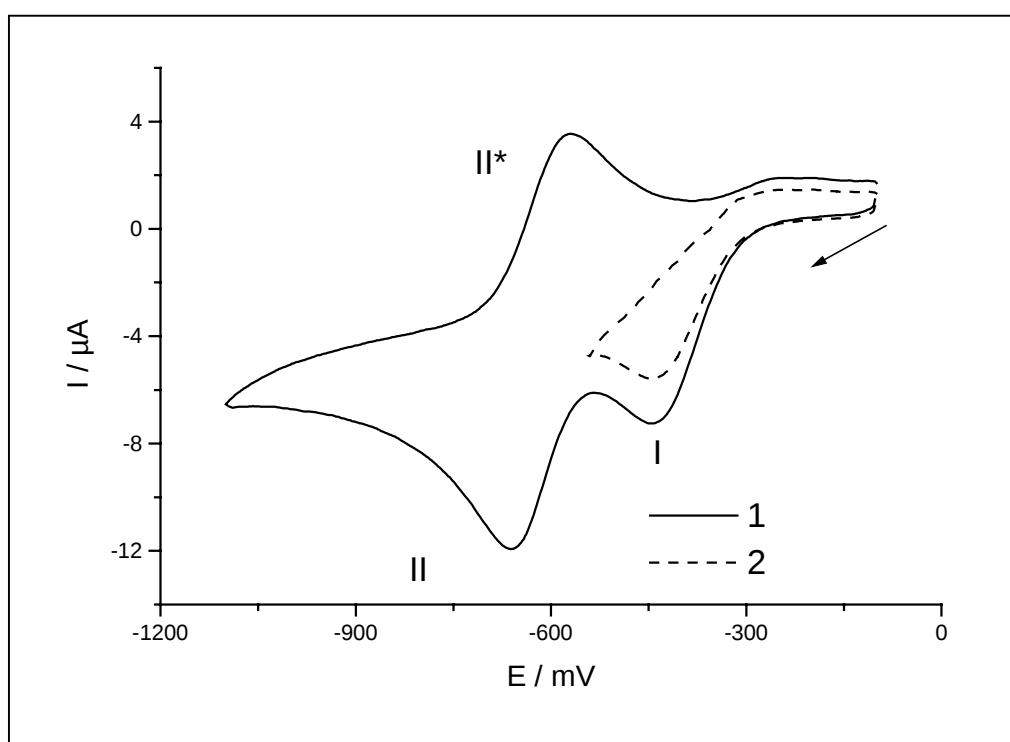


Figura 41: Voltamogramas cíclicos para redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 5,0 sobre eletrodo de carbono vítreo. Curva (2) inversão de potencial de (1).
 $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

O efeito da variação na velocidade de varredura sobre as intensidades de corrente correspondentes à redução do composto em B-R pH 8,0 é mostrado na Figura 43.

Relações lineares entre i_{pc} vs $\nu^{1/2}$ foram obtidas para ambos os picos mostrando que na região alcalina de pH, ambos processos de redução apresentam comportamento de processo controlado por difusão [262].

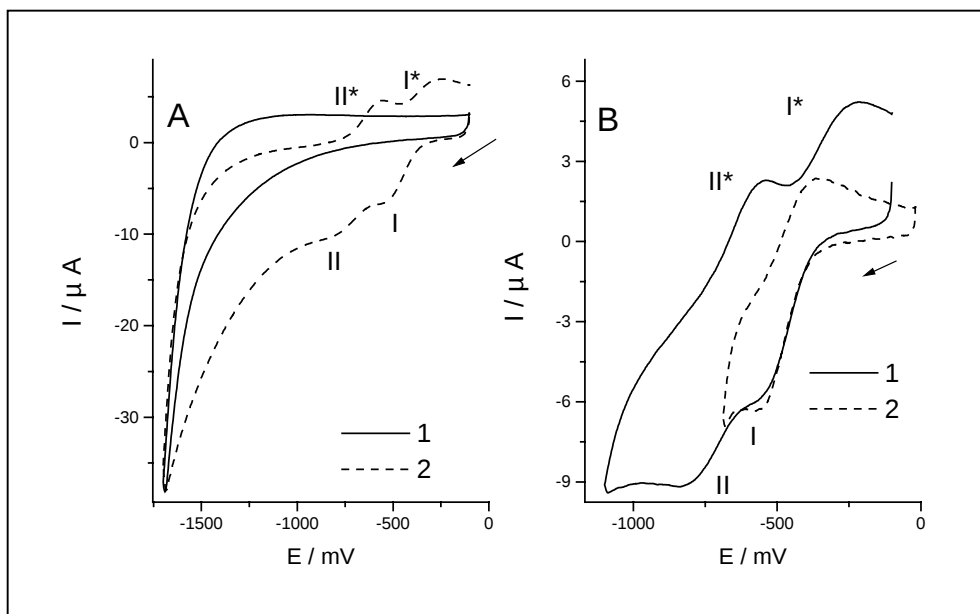


Figura 42A: Voltamogramas cíclicos para redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 8,0 sobre eletrodo de carbono vítreo. Curvas: 1 eletrólito de suporte e 2 NP. (B): Curva (1) inversão de potencial de (2A) e curva (2) inversão de potencial referente ao pico (I). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

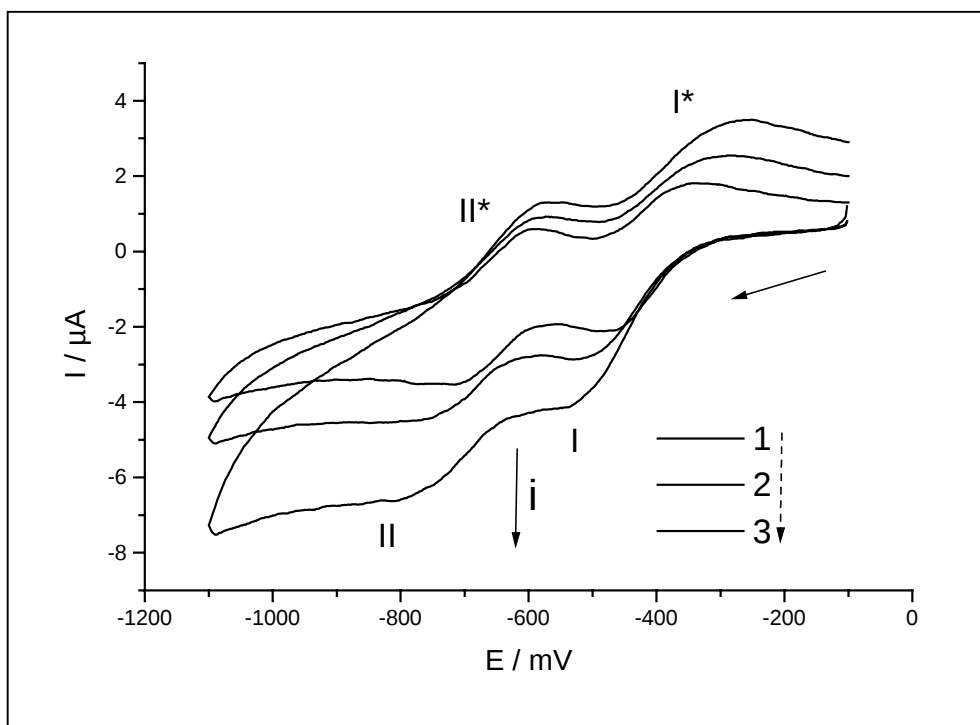


Figura 43: Voltamogramas cíclicos para velocidade de varredura de potencial sobre a redução voltamétrica de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 8,0 sob eletrodo de carbono vítreo. Curvas: (1) 10; (2) 40 e (3) 60 mV s^{-1} .

A relação $i_p(\text{II})/i_p(\text{I})$, tomada em relação ao branco, mostra valor médio igual a 1,46. Em todos os valores de ν investigados as intensidades de correntes para ambos os processos de redução de NP são inferiores em relação às observadas em baixos valores de pH.

O comportamento voltamétrico de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 12,0 é apresentado na Figura 44. Nesta região de pH, NP apresenta apenas o primeiro pico de redução bem definido, como mostra a Figura 44B. A ausência da segunda etapa de redução é observada em qualquer velocidade de varredura de potencial, entretanto dois picos são observados na varredura reversa.

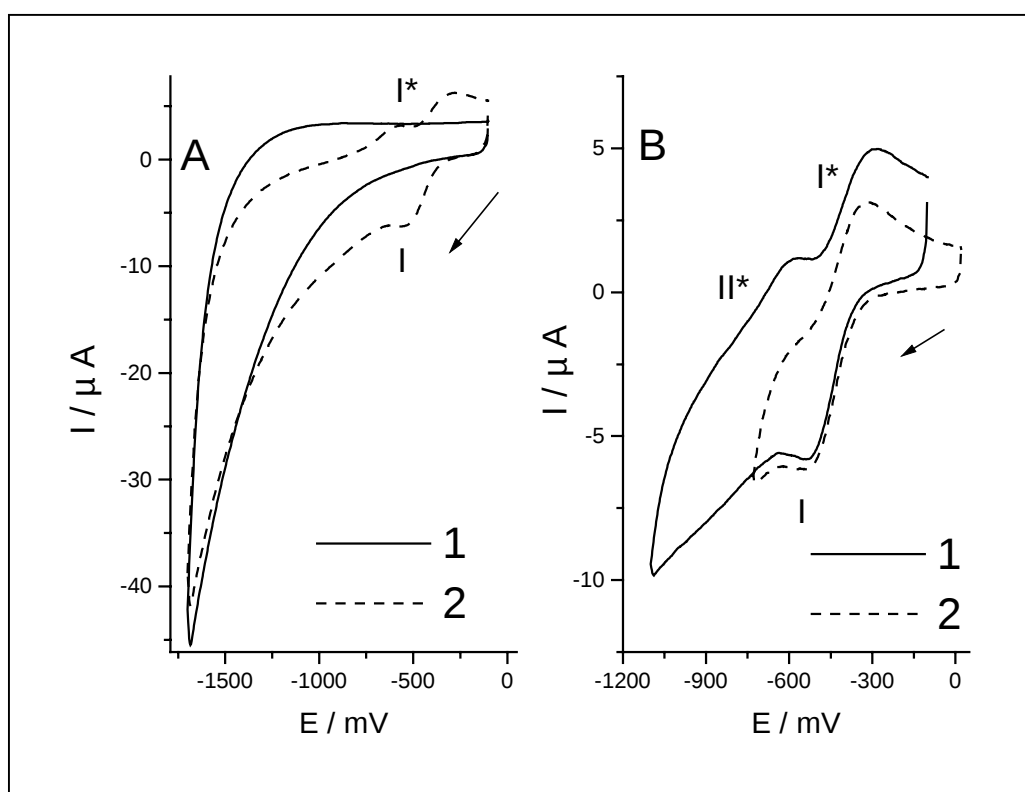


Figura 44: Voltamogramas cíclicos para redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 12,0 sobre eletrodo de carbono vítreo. (A): curvas: 1 eletrólito de suporte e 2 NP.

(1B): inversão de potencial de (A) e (2B): inversão de potencial para o pico (I).

$$\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}.$$

O efeito da variação na velocidade de varredura sobre as intensidades de corrente para $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 12,0 é mostrado na Figura 45. O primeiro pico de redução apresenta relação linear entre i_p vs $\nu^{1/2}$ no intervalo de

velocidade de varredura entre 10 a 100 mV s^{-1} e o pico anódico na varredura reversa de potencial aumenta em altas velocidades de varredura, mostrando valores de i_{pc}/i_{pa} próximos à unidade.

Este comportamento mostra que, neste valor de pH, a espécie $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{-3}$, gerada após a primeira transferência eletrônica, apresenta maior estabilidade em solução e não seria reduzida em potencial mais negativo pois, tanto a formação da espécie $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NOH}]^{-2}$, proposta por MASEK e MASLOVA [125], quanto a perda de $-\text{CN}$ axial, na formação de HCN , e geração da espécie $[\text{Fe}(\text{CN})_4\text{NO}]^{-2}$, proposta por CARAPUÇA e colaboradores [138,139] estariam desfavorecidas, uma vez que, reações de protonação seriam menos prováveis neste valor de pH.

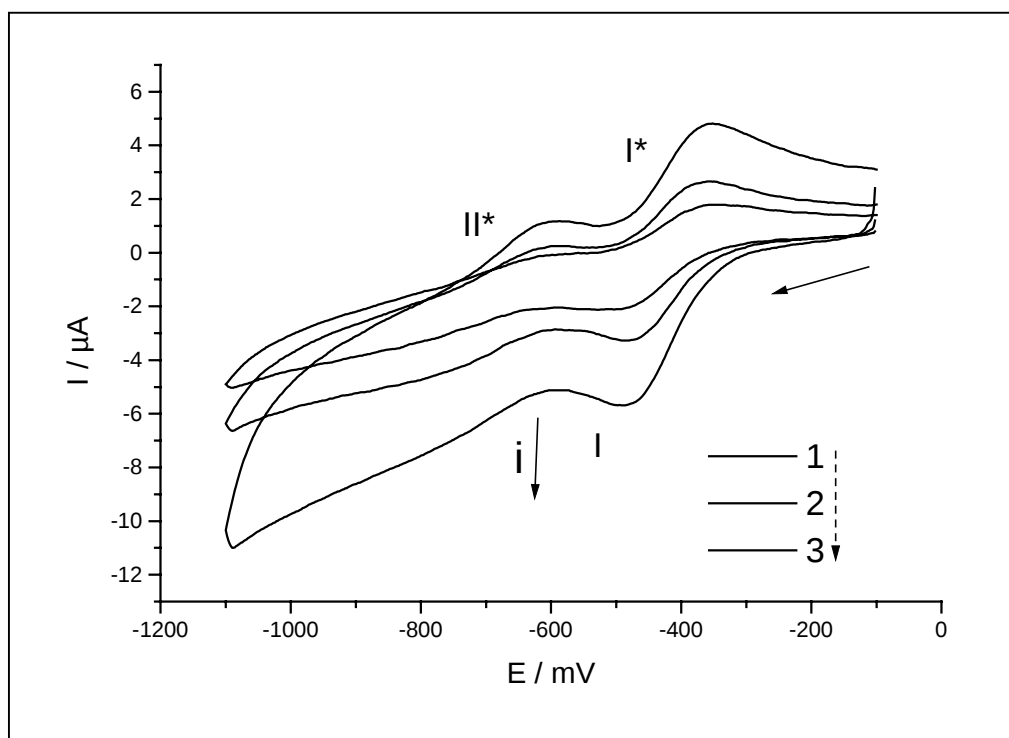


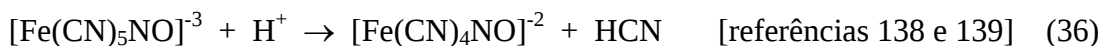
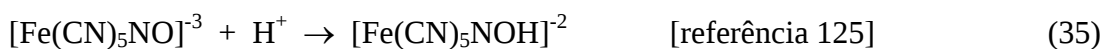
Figura 45: Voltamogramas cíclicos da variação da velocidade de varredura de potencial sobre a redução voltamétrica de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 12,0 sob eletrodo de carbono vítreo. Curvas: (1) 10; (2) 20 e (3) 60 mV s^{-1} .

Considerando os resultados prévios do presente trabalho e o comportamento eletroquímico de NP descrito na literatura sobre eletrodo de mercúrio [123,125-140], as duas etapas de redução observadas para NP sobre eletrodo de carbono vítreo, poderiam ser explicadas pelo seguinte esquema:

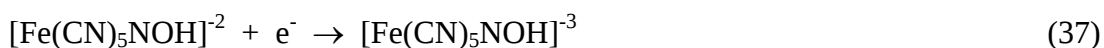
Processo I:



Processo II:



Processo III:



Na primeira etapa de redução ocorre a redução do ligante NO^{+} no complexo (eq. 34), seguido de rápida protonação do produto (eq. 35), levando à formação da espécie $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NOH}]^{-2}$ ou perda do ligante CN^{-} axial gerando a espécie $[\text{Fe}(\text{CN})_4\text{NO}]^{-2}$ (eq. 36), responsável pela irreversibilidade do processo.

A segunda etapa de redução pode envolver a ocorrência de reações de desproporcionamento, segundo proposta de CARAPUÇA e colaboradores [136,138-139], onde o processo pode envolver a reação de transferência de carga para ambas as espécies formadas na primeira etapa, (eq. 37 e 38), uma vez que as intensidades de corrente observadas em meio ácido para o segundo processo de redução do composto apresentaram valores superiores, quando comparado com os valores de corrente obtidos para o primeiro processo de transferência de carga.

A ausência de protonação em meio alcalino suprime as etapas correspondentes as equações de 35 a 38, e o voltamograma apresenta um único pico com características de processo reversível.

O efeito da concentração sobre as correntes dos picos de redução do NP foi investigado no intervalo de concentração entre $2,00 \times 10^{-5}$ a $6,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em B-R pH 4,0. Nestas condições experimentais, ambos picos de redução são bem definidos e apresentam grandes intensidades, como mostra a Figura 46. A análise da referida figura mostra que as correntes de ambos picos aumentam linearmente em função do aumento da concentração de NP, segundo as equações: $i_{pc} (\mu\text{A}) = -0,069 + 7,27 \times 10^3 C$, onde C concentração em mol L^{-1} ; $R=0,983$ ($n=13$) e $0,067 + 1,22 \times 10^4 C$, onde C concentração em mol L^{-1} , $R=0,996$, ($n=13$), correspondente ao primeiro e segundo processo de redução do composto, respectivamente. No entanto, a técnica apresenta limite de detecção em valor de $7,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Deste modo, investigou-se a seguir, a aplicação

do eletrodo recoberto com filmes de PLL:GA para ampliar a sensibilidade e seletividade do método.

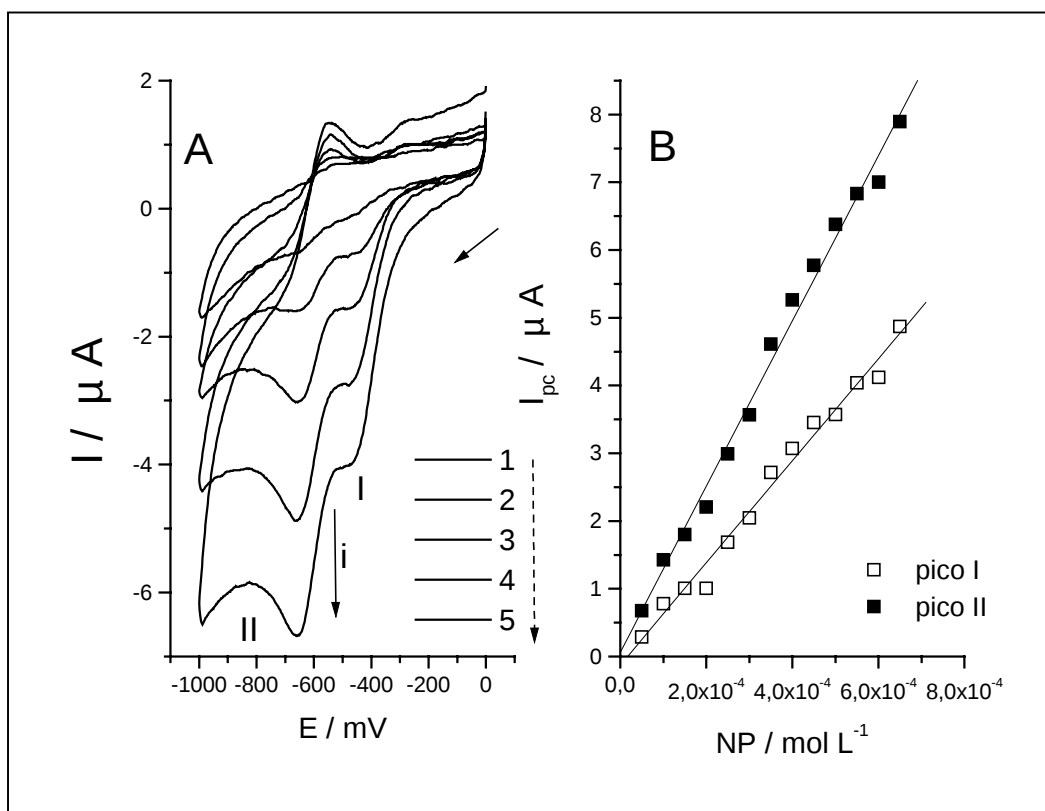


Figura 46A: Voltamogramas cíclicos para redução de NP em B-R pH 4,0 em concentrações de: (1) 0,50; (2) 1,00; (3) 2,50; (4) 3,50 e (5) 4,00($\times 10^{-4}$ mol L $^{-1}$).

(B): curvas analíticas. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

3.4.2 – REDUÇÃO VOLTAMÉTRICA DE NP SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM FILMES DE PLL:GA.

De forma semelhante, a redução de NP sobre eletrodo de carbono vítreo, o comportamento voltamétrico do hipotensor foi também investigado em amplo intervalo de pH de 2,0 a 12,0 em B-R com eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA. Os experimentos foram realizados através da imersão do eletrodo revestido em um becker contendo $1,00 \times 10^{-3}$ mol L $^{-1}$ de NP em B-R em valor de pH esperado e submetido à agitação por um período de 60 s. O eletrodo foi então removido, lavado com água bidestilada e transferido à célula contendo somente B-R no mesmo valor de

pH da solução contida no becker onde se processou a incorporação do fármaco. Os experimentos realizados para incorporação da espécie via ciclagem de potencial foram conduzidos diretamente na célula eletroquímica contendo NP. Os resultados obtidos para valor de pH 2,0 são mostrados na Figura 47.

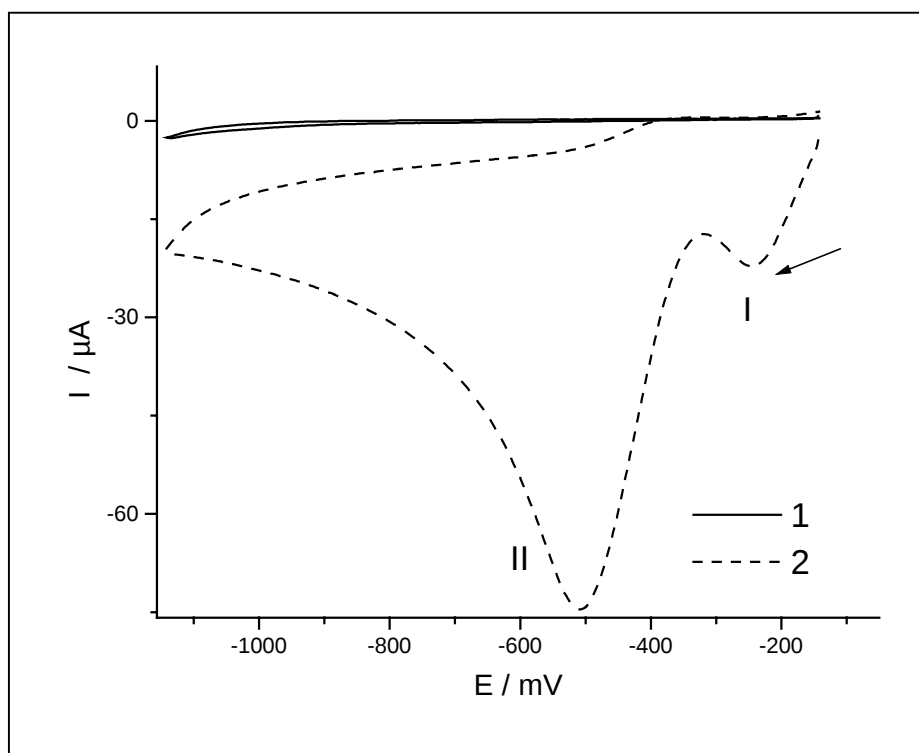


Figura 47: Voltamogramas cíclicos para eletrodo modificado por filmes de PLL:GA para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e NP em B-R pH 2,0. Curvas (1) eletrólito de suporte e (2) NP. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A análise da Figura 47 mostra o perfil voltamétrico de NP retido no eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL. Os resultados mostram que os filmes do poliaminoácido possibilitam a retenção da espécie em sua superfície para análise em um novo ambiente. Os valores de corrente são muito mais acentuados em relação àqueles obtidos para eletrodo sem filmes demonstrando a interação entre o fármaco aniônico e o filme catiônico. Entretanto, voltamogramas com varredura sucessiva de potencial obtidos diretamente na célula eletroquímica contendo $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP, apresentam uma acentuada queda nas intensidades de corrente observadas entre cada ciclo mostrando que NP não permeia a membrana polimérica. Uma diminuição na corrente de pico entre cada medida também foi observada nas varreduras

correspondentes ao pico I, mostrando que a espécie gerada na primeira etapa de transferência eletrônica de NP não é regenerada na superfície, como mostra a Figura 48.

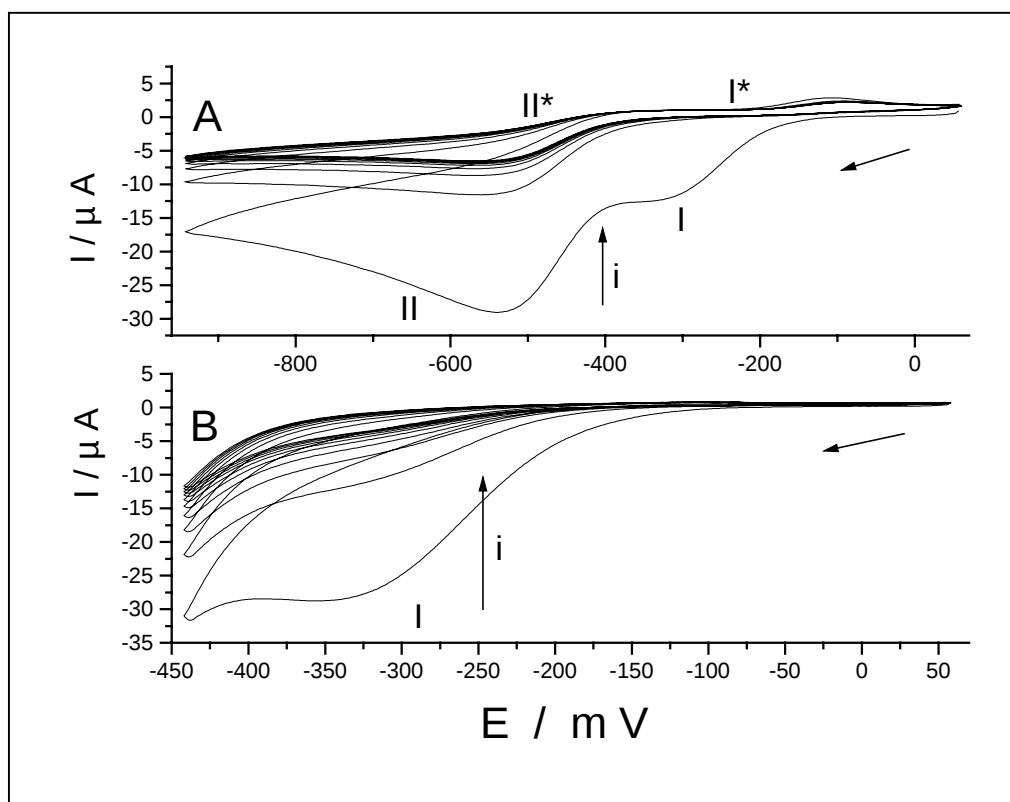


Figura 48A: Voltamogramas cíclicos com varredura sucessiva de potencial (10 ciclos) para eletrodo modificado por filmes de PLL:GA para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 2,0. (B): Inversão de potencial relativo a pico I: $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados, obtidos para as mesmas condições experimentais anteriormente descritas, porém obtidos em pH 5,0 são mostrados nas Figuras 49 e 50.

A análise destes resultados mostra que NP também é retido sobre o eletrodo modificado por filmes de PLL:GA. Os voltamogramas mostram a ocorrência de um novo pico em $E_{pa} = -0,10 \text{ V}$ (Pico I*) na varredura reversa de potencial mostrando que sua geração depende da variação de pH. Ambos picos (I e II) de redução do composto apresentam queda de corrente após o primeiro ciclo e mantêm-se constantes nos demais registros voltamétricos. Por outro lado, o pico (I*), mostrado nas Figuras 50A e B, aumenta em função da repetição de potencial indicando que uma maior concentração da espécie eletroativa (I*) é gerada durante as varreduras. Os voltamogramas apresentados na Figura 50B mostram que a realização para inversão de potencial para o primeiro pico

apresenta incremento de corrente em ambos picos catódico e anódico em função da ciclagem contínua de potencial, sugerindo que, nestas condições, NP é continuamente incorporado no filme durante ciclagem de potencial.

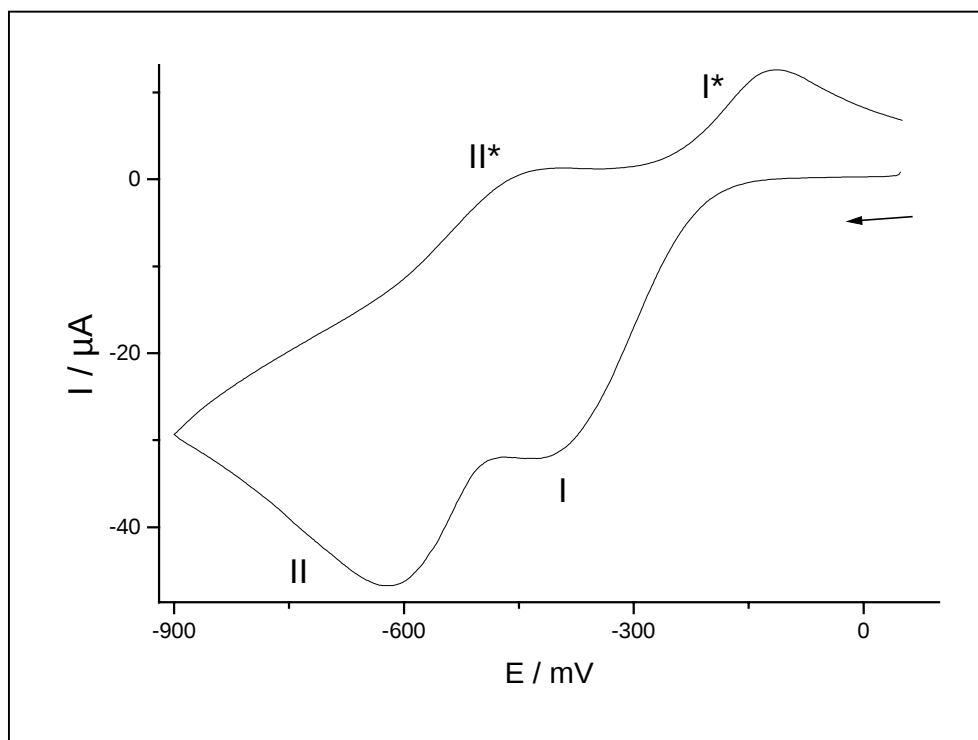


Figura 49: Voltamograma cíclico para o eletrodo de carbono vítreo modificado por PLL:GA para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 5,0. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados obtidos em valor de pH alcalino (8,0 e 12,0) são mostrados nas Figuras 51 a 54.

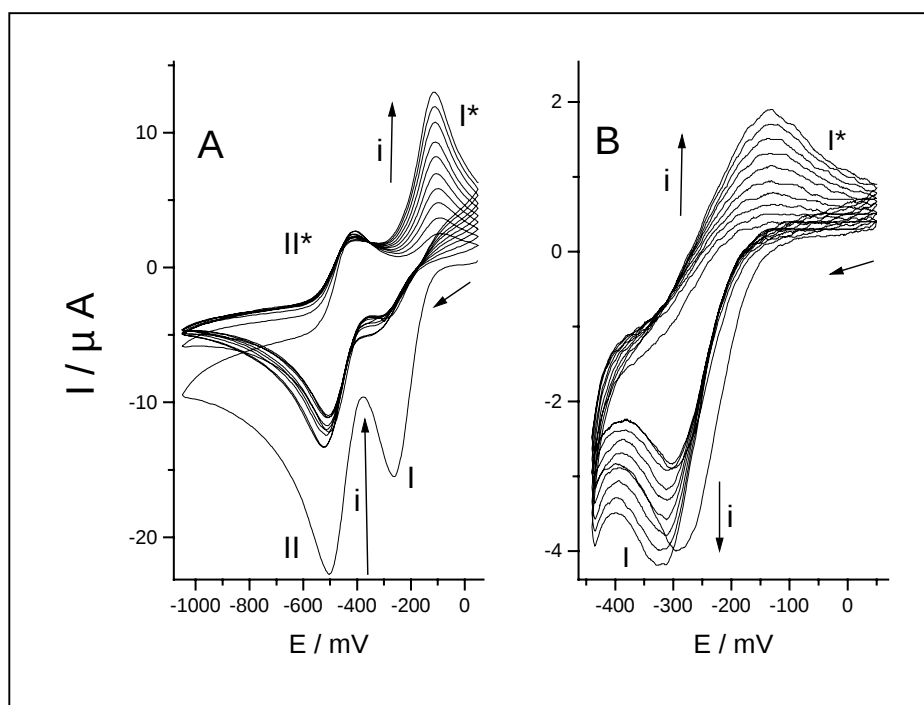


Figura 50: Voltamogramas cíclicos de varredura sucessiva de potencial (10 ciclos) obtidos para o eletrodo de carbono vítreo modificado por PLL:GA para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 5,0. (A): redução dos picos I e II. (B): redução para o pico (I). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

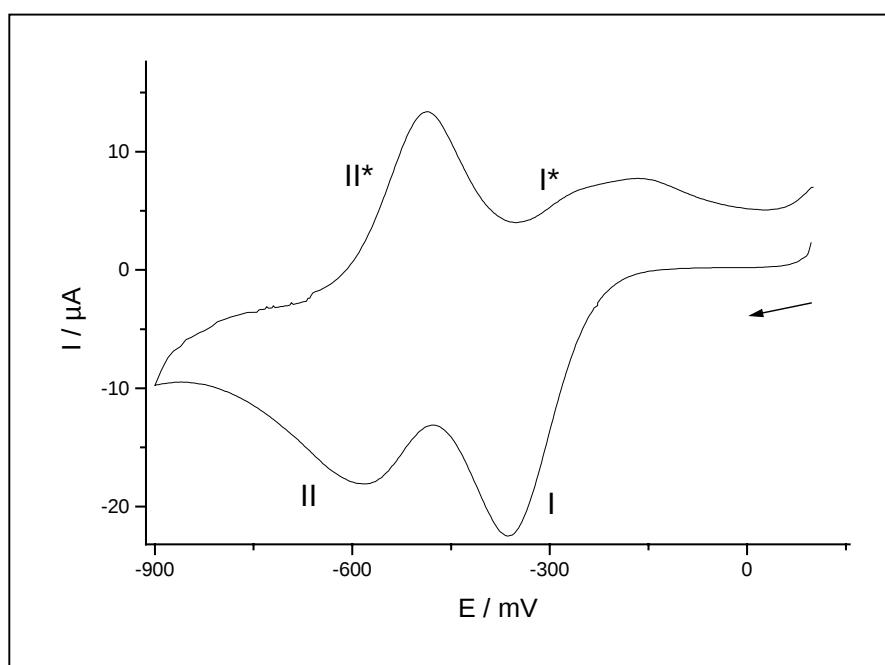


Figura 51: Voltamograma cíclico para eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 8,0. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

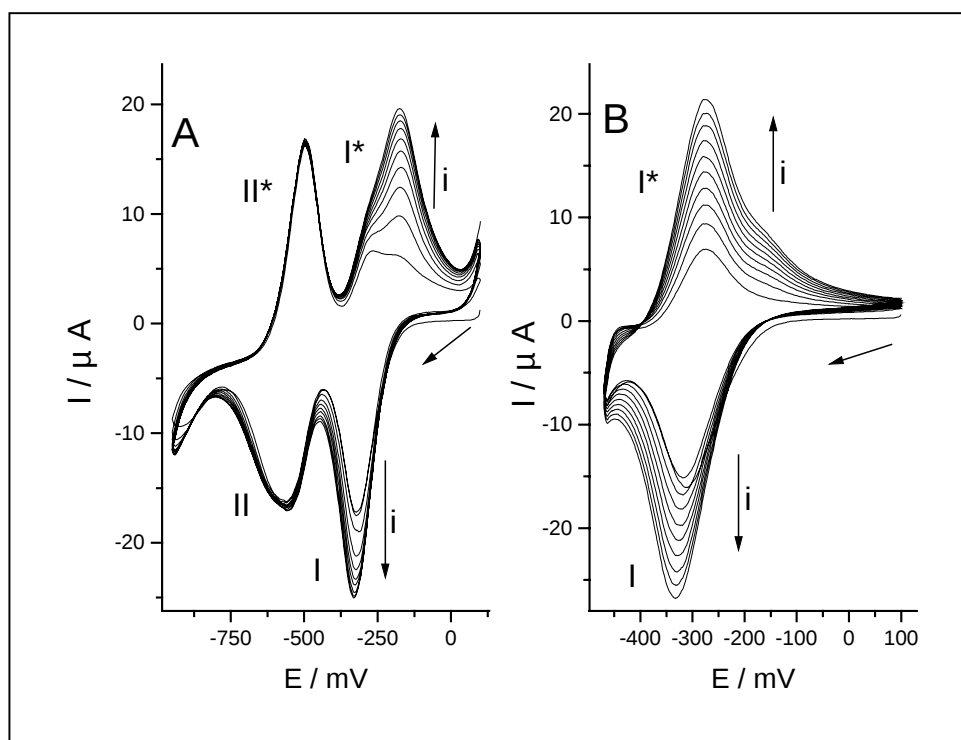


Figura 52A: Voltamogramas cíclicos repetitivos, (10 ciclos) para eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 8,0. Redução para os picos I e II. (B): inversão de potencial para o pico (I).

$$\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}.$$

Os resultados obtidos mostram que o pico referente ao segundo processo de transferência eletrônica (pico II) diminui de intensidade na região alcalina de pH. Isto é indicativo de que esta espécie poderia ser aquela reportada por MASEK e MASLOVA [125] obtida após protonação do produto gerado após a primeira etapa eletrônica. A razão entre $i_{pII}/i_{pI} = 0,7$ neste meio enquanto, a mesma razão é igual a 2,0 na região ácida de pH. Valores de $(E_{pc} - E_{pa}) = 50 \text{ mV}$ para a diferença de potencial entre os picos I e I* são observados mostrando que o processo eletródico envolve a participação de um elétron para esta espécie [262].

Os resultados obtidos em valor de pH 12,0 corroboram com aqueles obtidos em valor de pH 8,0. O pico (II) mostrado na Figura 53 mostra uma acentuada queda de corrente confirmando o diagnóstico já efetuado. A razão i_{pII}/i_{pI} cai para 0,66. A Figura 54A mostra as mesmas características observadas anteriormente durante ciclagem eletroquímica, indicando que também em meio alcalino NP é incorporado no filme de PLL:GA. Os valores de ΔE obtidos no experimento, para os picos I e I*, mostrado na Figura 54B, são de 60 mV confirmando uma transferência de um elétron.

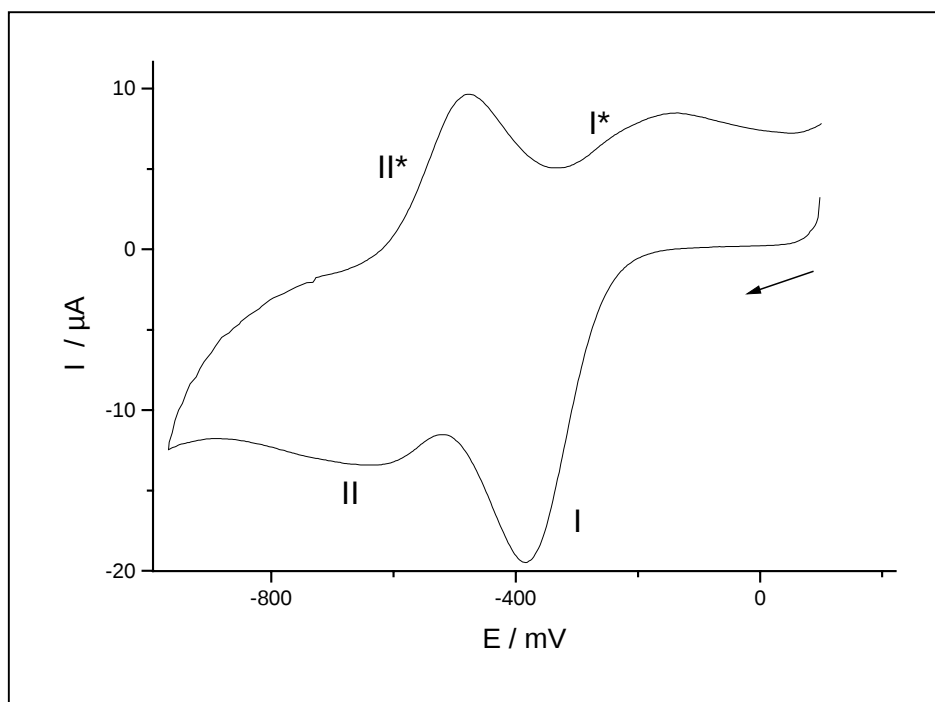


Figura 53: Voltamograma cíclico para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP com eletrodo com PLL:GA em B-R pH 12,0. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

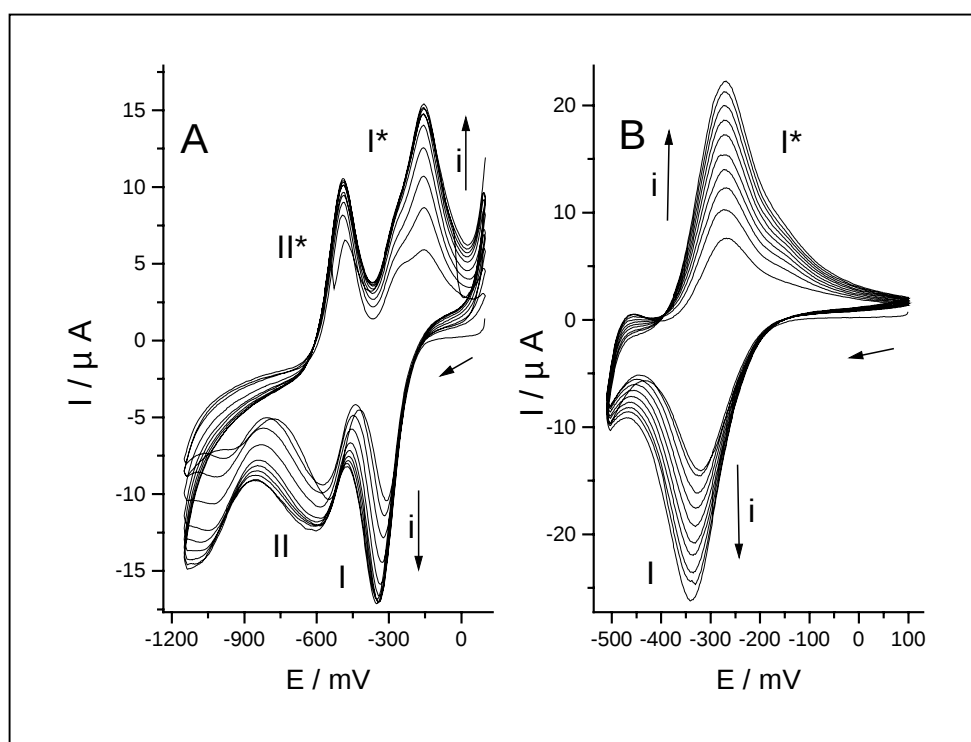


Figura 54: Voltamogramas cíclicos repetitivos (10 ciclos) para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP com eletrodo com PLL:GA em B-R pH 12,0. (A): redução para os picos I e II. (B): Inversão de potencial para o pico I. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados obtidos do estudo de pH em valores entre $2,0 \leq \text{pH} \leq 12,0$ são mostrados na Tabela 5.

A análise dos resultados obtidos para o comportamento dos potenciais de pico frente às mudanças nos valores de pH mostrados nas colunas 2 a 5 apresenta valores aproximadamente constantes com o incremento no pH. As leituras de corrente obtidas em meio ácido, para ambos picos de redução, mostram uma acentuada queda com o aumento nos valores de pH a partir de pH 7,0.

Tabela 5: Efeito da variação de pH em tampão B-R para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NP com eletrodo de carbono vítreo com PLL:GA.

pH	Pico I -E (mV)	Pico II -E (mV)	Pico II* -E (mV)	Pico I* -E (mV)	Pico I i(μA)	Pico II i(μA)	Pico II* i(μA)	Pico I* i(μA)
2,0	250	514	390	--	26,2	65,7	4,42	--
3,0	333	608	401	194	59,4	116	3,40	6,12
4,0	312	578	428	181	58,6	97,0	4,72	4,72
5,0	350	581	428	184	20,0	32,2	2,68	5,10
6,0	358	589	437	173	57,1	67,5	16,6	15,6
7,0	342	579	457	151	48,5	44,0	28,3	11,6
8,0	337	575	482	156	23,3	17,4	12,7	7,94
9,0	337	592	472	163	22,0	16,9	10,5	9,46
10,0	351	631	465	169	26,7	15,7	9,44	10,2
11,0	398	649	423	209	12,8	9,84	5,82	7,16
12,0	349	601	464	176	20,4	13,5	9,28	8,37

Considerando que filmes de PLL:GA poderiam ser utilizados para a pré-concentração do fármaco, investigou-se a seguir, a possibilidade de se usar eletrodos de carbono vítreo modificado pelo poliaminoácido para investigar NP em concentração mais baixa de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, cujos resultados são mostrados na Figura 55. Neste

estudo é mostrado o efeito do tempo de pré-concentração, sobre as intensidades de corrente obtidas para eletrodo recoberto por filmes de PLL:GA submetido à imersão em um becker contendo solução de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de NP. Completado os períodos de incorporação, o eletrodo foi lavado com água bidestilada e re-colocado na célula eletroquímica contendo nova solução acetato pH 5,6.

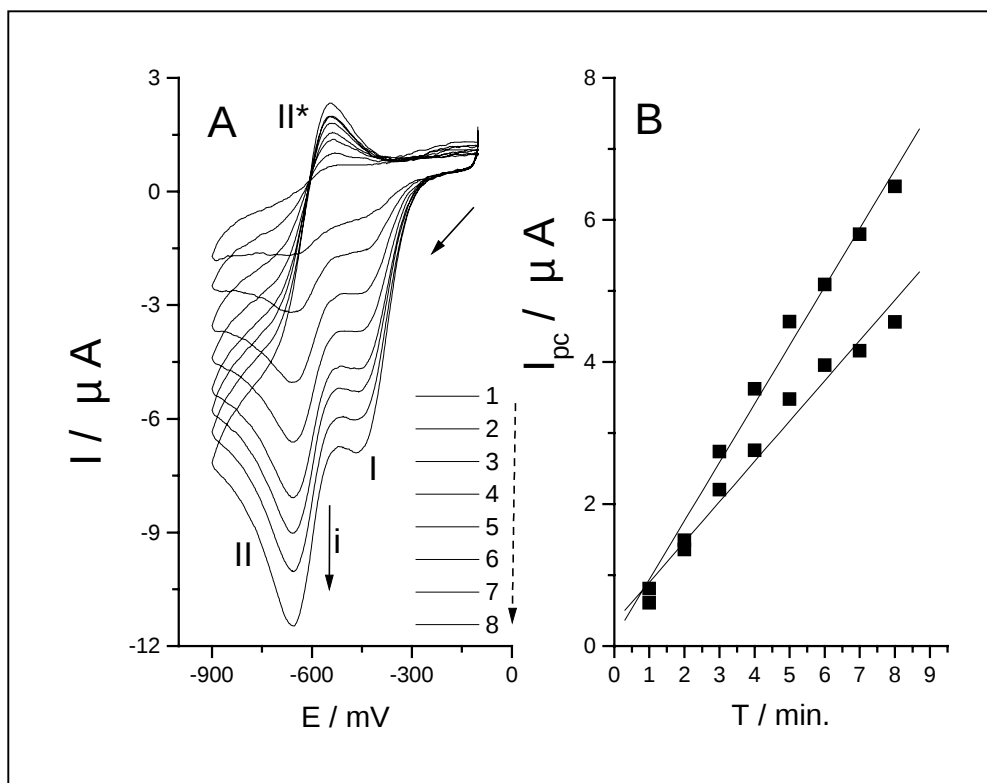


Figura 55A: Voltamogramas cíclicos para eletrodo modificado por filmes de PLL:GA obtidos para redução de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em acetato pH 5,6 e transferido para solução de eletrólito suporte em tempo de: Curvas: (1) 1,0; (2) 2,0; (3) 3,0; (4) 4,0; (5) 5,0; (6) 6,0; (7) 7,0 e (8) 8,0 (min) de imersão do eletrodo modificado em um becker contendo NP. (B): Efeito do tempo de imersão sobre a corrente. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A análise desta figura mostra que NP é incorporado no filme polimérico e quando transferido para nova solução de eletrólito suporte é reduzido de forma semelhante àquela em solução. O filme carregado com NP é reduzido em duas etapas consecutivas em potenciais de $-0,45$ e $-0,65 \text{ V}$. Na varredura reversa observa-se um pico em potencial de $-0,54 \text{ V}$ de forma semelhante ao verificado previamente.

A comparação entre corrente de pico medida em voltamogramas de eletrodo de carbono vítreo modificado com aquela obtida para eletrodo de carbono vítreo após os

processos descritos mostrou um aumento de 10 vezes no eletrodo modificado para solução de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em tampão acetato pH 5,6 mostrando que o filme age pré-concentrando o analito na superfície e seria um vantajoso instrumento para aumentar a sensibilidade na análise de NP.

O estudo sobre o efeito na mudança na velocidade de varredura nos parâmetros de potencial e corrente de pico para os dois processos de redução do NP, com eletrodo modificado com PLL:GA foi realizado pela imersão do eletrodo em um becker contendo $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 4,0. Após um processo de incorporação de 15 s, o eletrodo foi lavagem com água bidestilada, e conectado à célula eletroquímica contendo somente B-R pH 4,0. Os resultados deste estudo são mostrados na Figura 56.

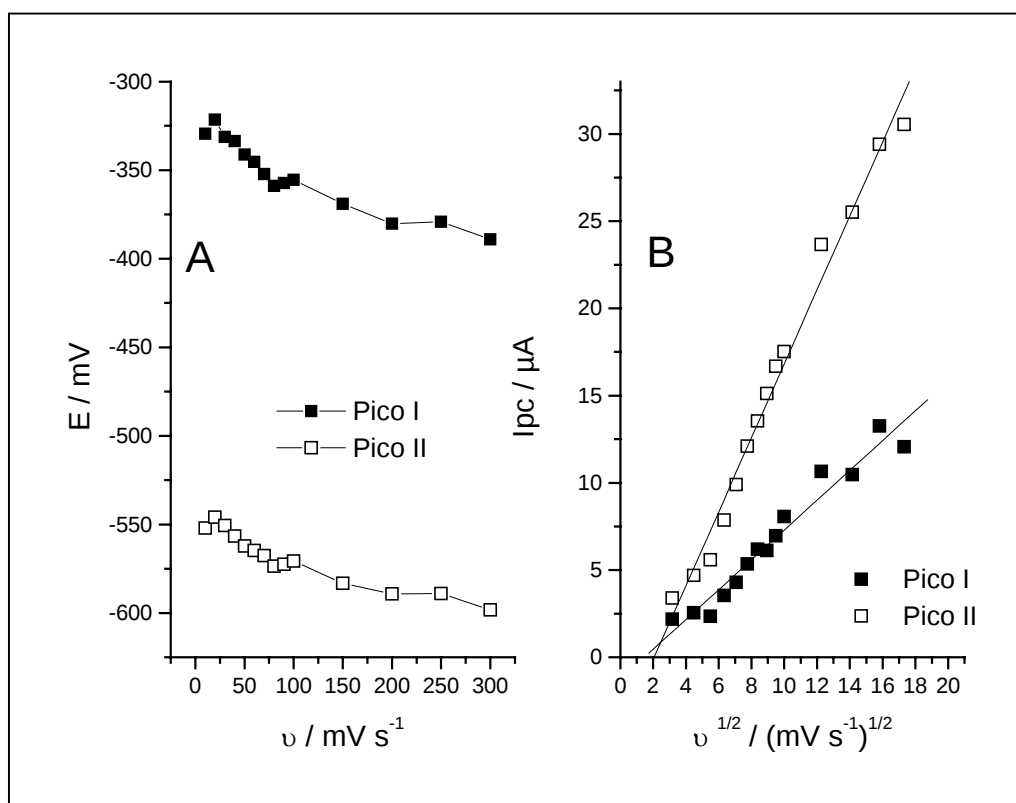


Figura 56A: Efeito da velocidade de varredura de potencial sobre os potenciais e (B): correntes de pico obtidos para eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA carregado por 15 s em solução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de NP em B-R pH 4,0.

A análise da Figura 56A mostra que os potenciais de ambos os picos apresentam leve deslocamento para valores mais negativos de potencial em todo o intervalo de v investigados entre 10 a 300 mV s^{-1} . A Figura 56B mostra que as correntes de pico

relativas a ambos processos de redução do NP são governados por difusão, [262], com relações lineares entre i_p vs $v^{1/2}$, segundo as equações: (pico I): $i_{pc} (\mu A) = -1,29 + 0,775 v^{1/2}$ (onde $v^{1/2}$ = raiz quadrada da velocidade de varredura em $mV s^{-1}$), $R = 0,992$ ($n=13$) e (pico II): $i_{pc} (\mu A) = -3,53 + 1,85 v^{1/2}$, (onde $v^{1/2}$ = raiz quadrada da velocidade de varredura em $mV s^{-1}$) $R = 0,994$, ($n=13$), respectivamente.

3.4.3 – DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DE NP.

Utilizando as melhores condições experimentais anteriormente definidas, construiu-se curva de calibração para o NP em B-R pH 4,0 com eletrodo modificado com PLL:GA. As adições do composto foram efetuadas em um becker contendo B-R pH 4,0 onde, após adições de alíquotas previamente calculadas de uma solução de trabalho do NP, o eletrodo foi submetido a imersão e agitação por um período de cinco minutos. Completado este período, o eletrodo após lavagem com água bidestilada, foi conectado à célula eletroquímica contendo somente B-R pH 4,0. Os respectivos voltamogramas obtidos são mostrados na Figura 57A. Os resultados mostram que o primeiro pico aumenta em função do aumento da concentração de NP. A correspondente curva analítica é mostrada na Figura 57B.

A Figura 57B mostra que o primeiro processo de redução do NP aumenta linearmente com a concentração no intervalo de $1,21 \times 10^{-6}$ a $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, segundo a equação: $i (\mu A) = -0,120 + 2,251 \times 10^5 C$ (onde C concentração em mol L^{-1}). Em concentrações mais elevadas observa-se um patamar indicativo de saturação dos sítios disponíveis no polímero. A curva relativa ao segundo processo de redução do NP apresenta duas relações lineares. Deste modo, o segundo pico torna-se inviável para determinação analítica. Esta curvatura também foi observada por LEEUWENKAMP e colaboradores [129]. O limite de determinação foi obtido em $4,62 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ através da relação sinal ruído [231].

A repetibilidade do sinal voltamétrico foi realizado através da imersão do eletrodo modificado em um becker contendo $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de NP e submetido a agitação por 15 s e leituras de corrente, (μA), na cela contendo somente B-R pH 4,0. Os resultados, expressos em valores estatísticos, [230,231], são: $i_{pc} (\mu A) = 11,2 \pm 0,458$ e coeficiente de variação de 4,08% ($n= 10$). Entre cada medida, o eletrodo modificado foi submetido à amostragem por 15 s na solução contendo NP.

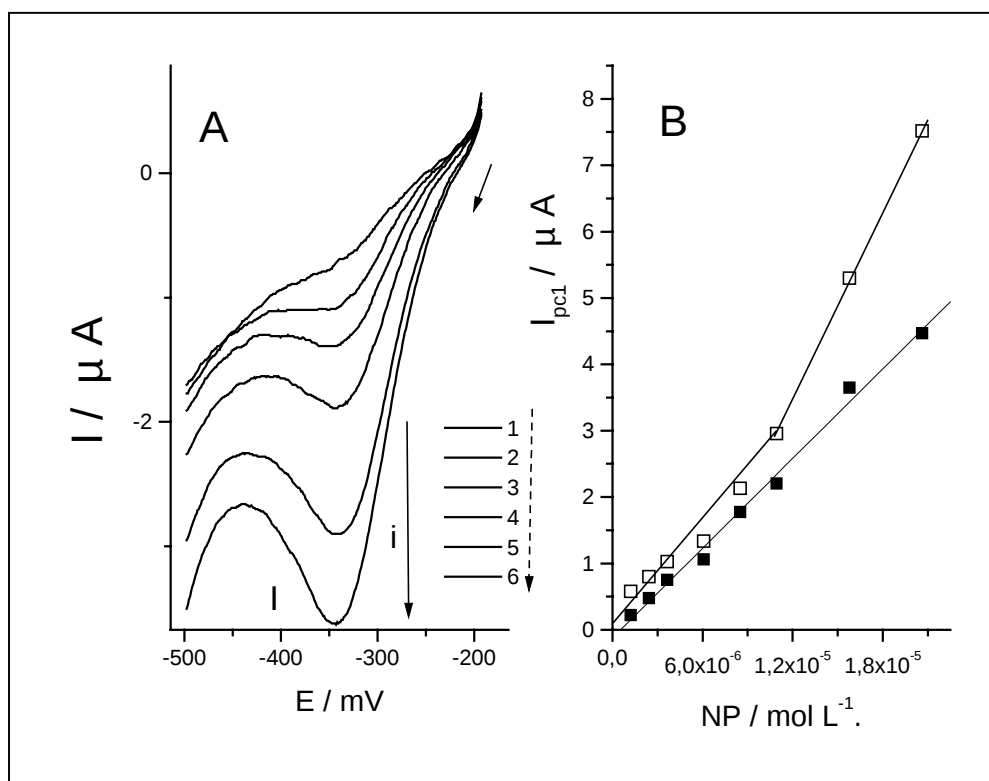


Figura 57A: Efeito da concentração sobre os voltamogramas correspondentes à redução do NP em B-R pH 4,0 sobre eletrodo modificado por filmes de PLL:GA. Curvas: (1) $1,21 \times 10^{-6}$; (2) $2,43 \times 10^{-6}$; (3) $3,64 \times 10^{-6}$; (4); $6,07 \times 10^{-6}$; (5) $8,50 \times 10^{-6}$ e (6) $1,09 \times 10^{-5}$ (mol L^{-1} de NP). (B): Curvas (1) curva analítica para o pico I e (2) (picoII). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

3.4.4 – APLICAÇÃO DO MÉTODO EM FLUIDOS BIOLÓGICOS.

3.4.4.1 – PLASMA SANGUÍNEO.

A aplicação da presente metodologia em plasma sanguíneo foi realizada através da coleta de sangue de voluntários extremamente saudáveis e tratado de acordo com os procedimentos descritos na seção experimental. Alíquotas desta amostra contendo $3,66 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de NIPRIDE® (BIOLAB), calculada após diluição da amostra, foram adicionadas em um becker contendo B-R pH 4,0. O eletrodo de trabalho, após modificação, foi imerso no becker e submetido a agitação por cinco min. Completado este período, foi removido, lavado e conectado à célula eletroquímica contendo somente B-R pH 4,0 seguido de obtenção de registro das curvas voltamétricas. Posteriormente, adições de alíquotas previamente calculadas de uma solução de trabalho de NP foram

adicionadas ao becker seguido da repetição do procedimento segundo o método das adições do padrão [231]. Entre a obtenção de cada curva, o filme de PLL:GA foi removido e substituído por um novo com as mesmas características, para evitar que os componentes endógenos desta matriz interferissem no ensaio. Os resultados deste ensaio são mostrados na Figura 58.

A referida figura mostra que a adição das alíquotas da solução de trabalho de NP sobre o plasma sanguíneo, fortificado com a formulação hospitalar, aumenta o sinal do composto proporcionalmente sugerindo que o filme de PLL:GA apresenta seletividade compatível com aquela esperada para análise em fluido biológico sem necessidade de extração previa. Recuperação de 95,0% foi observada pelo método das adições do padrão, [231]. Estes resultados mostram que o composto pode ser analisado pelo procedimento proposto para monitoramento dentro dos níveis plasmáticos, uma vez que, após administração do hipotensor, 90% se encontra exclusivamente no plasma em níveis de concentração entre $4,63 \times 10^{-7}$ a $4,63 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ [129]. Desta forma, o presente ensaio voltamétrico contempla esta exigência e se mostra adequado para fins analíticos.

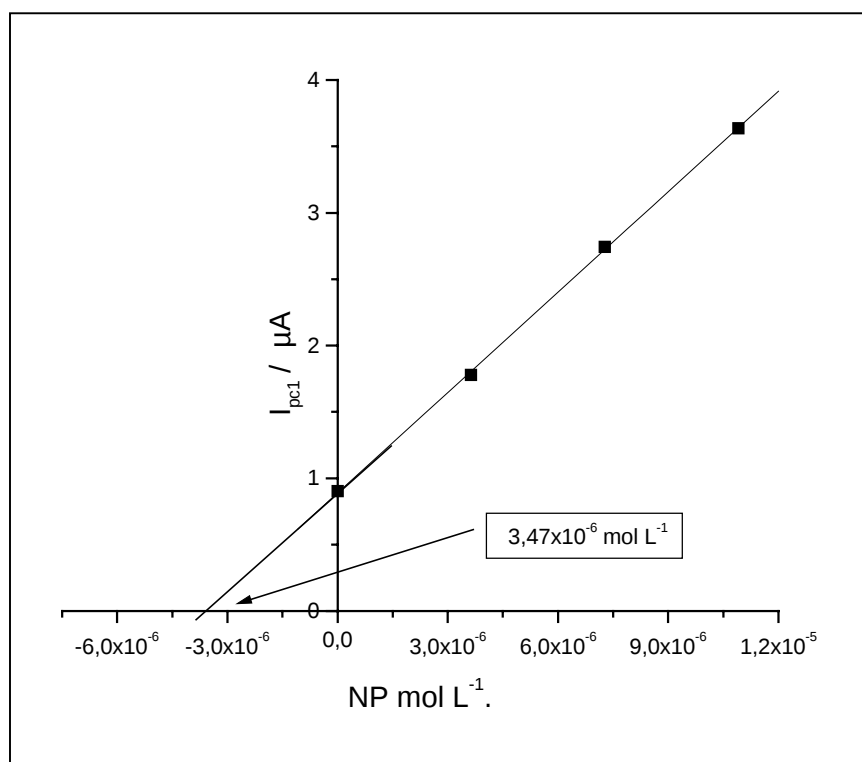


Figura 58: Método das adições do padrão para a determinação de NP em plasma sanguíneo contaminado por $3,66 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de NIPRIDE[®] transferido para B-R pH 4,0 e medido com eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA.

3.4.4.2 – URINA HUMANA.

A aplicação da metodologia proposta em urina humana foi realizado após a coleta recente do material biológico e preparado pela tomada de uma alíquota de 1,00 mL da amostra biológica adicionada em um balão volumétrico de 10 mL. Posteriormente, esta amostra foi fortificada com $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ NIPRIDE® (BIOLAB), seguido à marca com água bidestilada. O procedimento para o ensaio segue o modelo descrito para o plasma. Os resultados são mostrados na Figura 59.

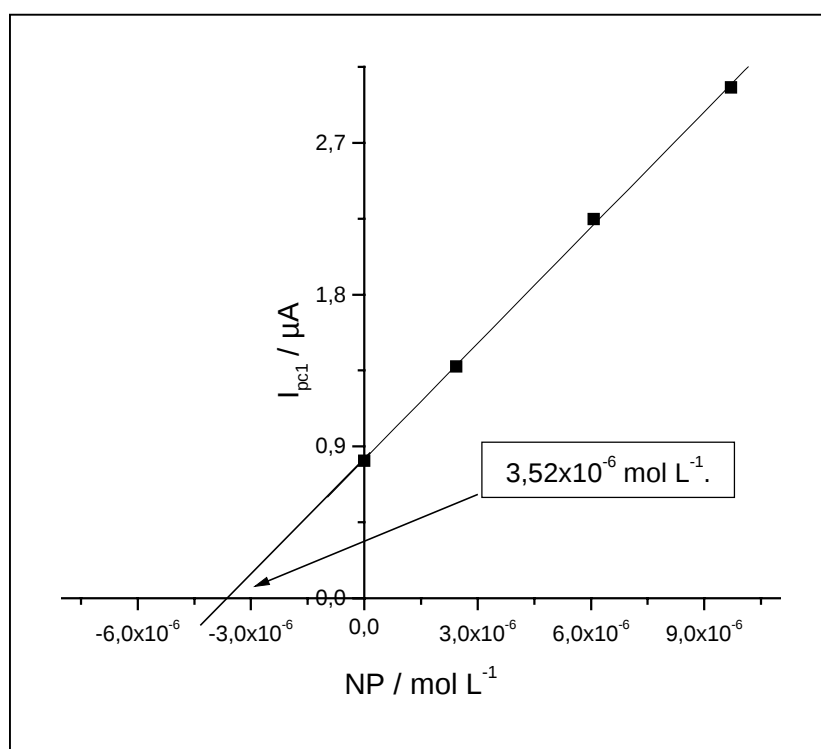


Figura 59: Método das adições do padrão para a determinação de NP em urina humana contaminado por $3,66 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de NIPRIDE® transferido para B-R pH 4,0 e medido com eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA.

Os resultados obtidos pela aplicação do presente ensaio em urina humana através dos procedimentos anteriormente descritos também mostraram a viabilidade de sua aplicação uma vez que índices de 96,2% de recuperação para o composto analisado foram obtidos nesta matriz biológica.

A metodologia espectrofotométrica para análise de NP em fluidos biológicos adotada foi baseada em procedimento descrito [114] e [231]. Segundo a referida

metodologia [114], NP pode ser determinado na região do visível após reação de derivatização com N-(1-naftil)etilenodiamino e sulfadiazina em meio ácido. O produto da reação é um composto azo que apresenta pico bem definido em $\lambda = 544\text{nm}$. Os resultados deste estudo são mostrados na Figura 60.

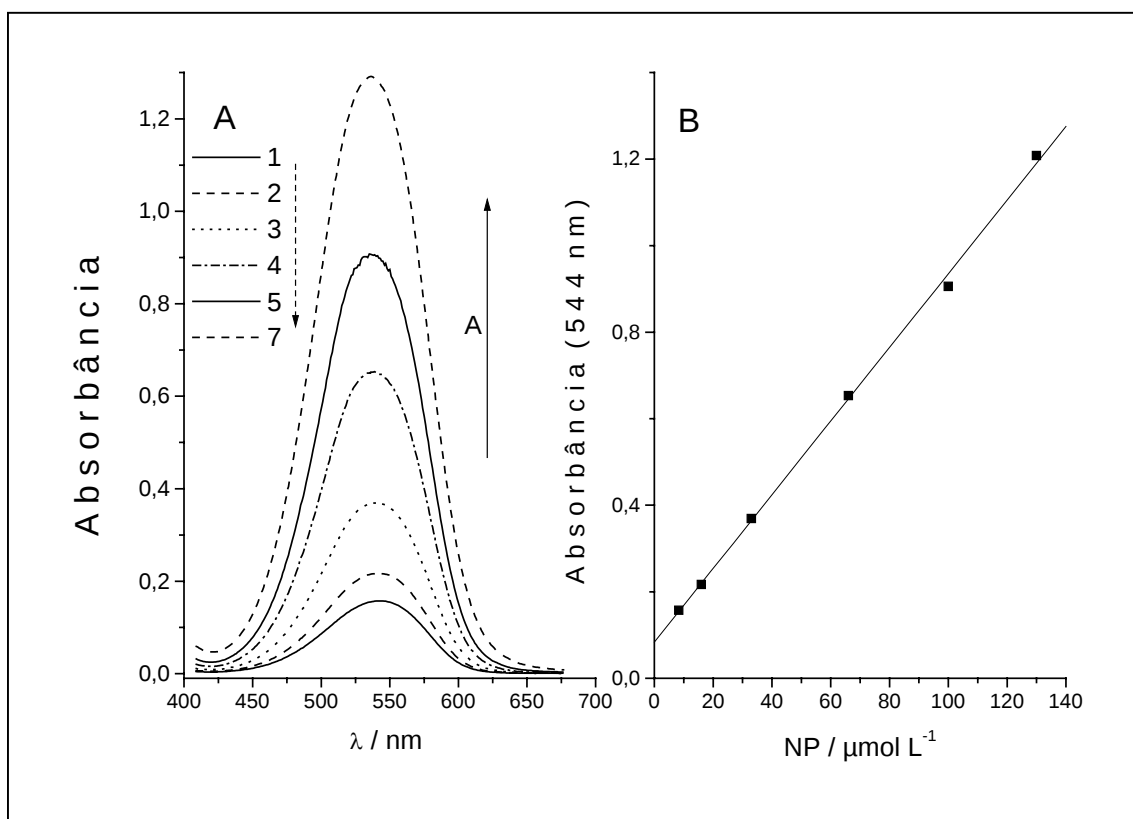


Figura 60A: Espectros de absorção do produto derivatizado do NP. Curvas (1) 8,30; (2) 16,0; (3) 33,0; (4) 66,0; (5) 100 e (6) 130 ($\mu\text{mol L}^{-1}$) NP, respectivamente. (B): curva analítica obtida dos espectros em (A).

Pelo procedimento acima descrito é possível construir curva analítica para a determinação de NP, com linearidade na faixa de concentração entre 8,30 a 130 $\mu\text{mol L}^{-1}$, segundo a equação $A = \epsilon bC = 0,084 + 0,008 C$, onde: A absorbância (544nm), ϵ absorvidade molar, b caminho óptico e C concentração $\mu\text{mol L}^{-1}$, $R = 0,999$ ($n=6$).

3.4.5 – APLICAÇÃO DO MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DE NITROPRUSSATO DE SÓDIO EM PLASMA E URINA HUMANA.

3.4.5.1 - PLASMA.

A aplicação da presente metodologia em plasma sanguíneo foi realizada através da coleta do material biológico como descrito previamente. Alíquotas desta amostra contendo NIPRIDE® (BIOLAB), foram calculadas e adicionadas a balões volumétricos cujas concentrações finais, obtidas após todos os processos de diluições, seriam de $8,30 \mu\text{mol L}^{-1}$. Posteriormente, alíquotas do padrão NP foram adicionadas nos respectivos balões para fornecer soluções cujas concentrações variassem entre $8,30$ a $66,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NP. Após derivatização, as curvas espectrofotométricas foram registradas, como mostra a Figura 61.

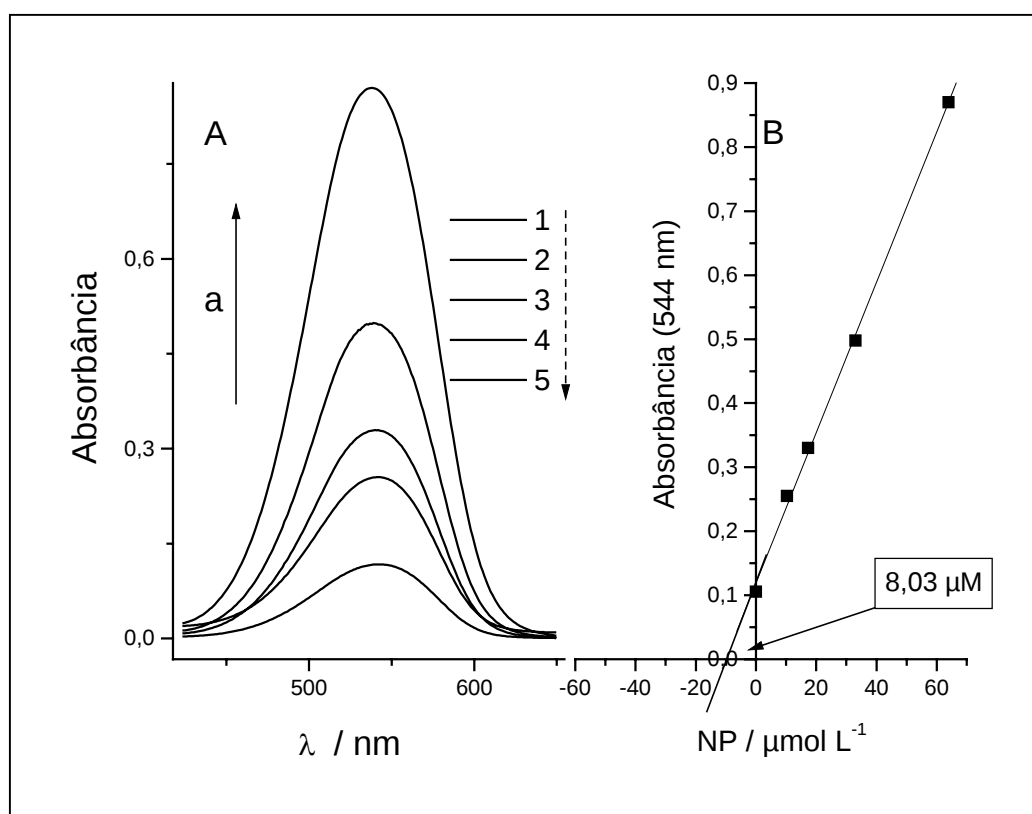


Figura 61A: Espectros de absorção de NP em plasma sanguíneo. Curva (1) $8,30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIPRIDE®. Curvas (2)-(5) adições de NP. (B): Dados obtidos dos espectros de (A).

A análise dos resultados apresentados mostra um valor de recuperação de $96,7\% \pm 0,35$, com coeficiente de variação de $0,36\%$ de NIPRIDE® obtidos pelo método das adições de NP, [231], em plasma. A regressão linear dos valores apresentados no quadro (B) da respectiva figura mostra um fator de correlação de $0,999$ ($n=6$). Desta forma, este índice apresenta valores concordantes com aqueles obtidos para recuperação

de NIPRIDE[®] segundo metodologia proposta com a utilização de eletrodo modificado com PLL:GA.

3.4.5.2 – URINA.

A aplicação da metodologia proposta em urina humana foi realizada segundo procedimentos experimentais já abordados. Posteriormente, esta amostra foi fortificada com NIPRIDE[®] (BIOLAB), pela adição de uma alíquota de solução de NIPRIDE[®] com concentração ($8,30 \mu\text{mol L}^{-1}$) após processos de diluição, seguido dos procedimentos descritos para obtenção das soluções da adição dos padrões, [231] segundo o modelo apresentado para o plasma. Os resultados são apresentados na Figura 62.

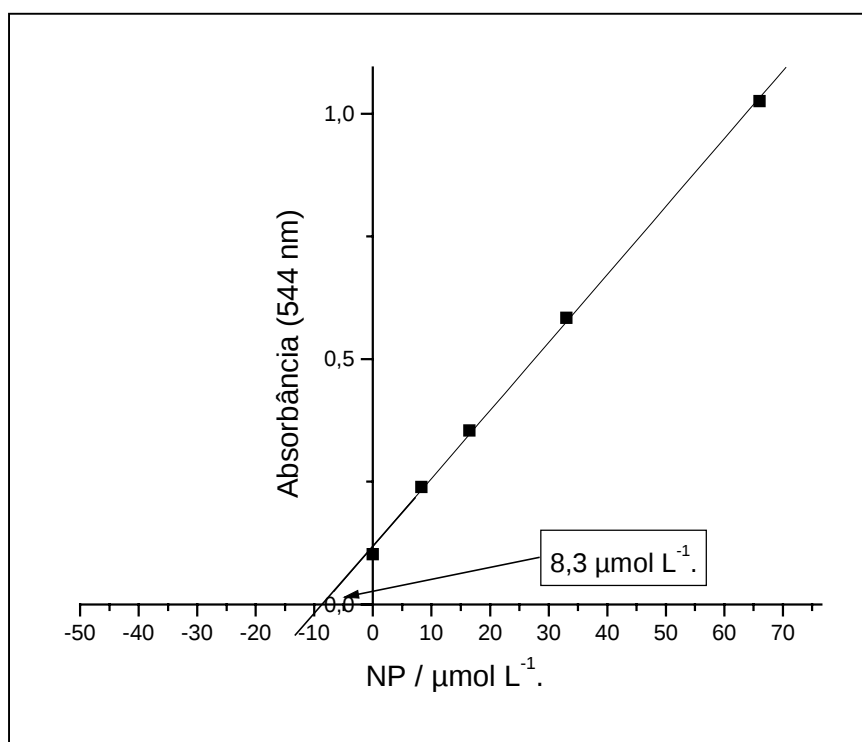


Figura 62: Método das adições do padrão de NP sobre o sinal espectrofotométrico obtido de $8,30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIPRIDE[®] em urina humana.

Os resultados obtidos pela aplicação do presente ensaio em urina humana, através dos procedimentos anteriormente descritos, apresentaram índices de recuperação de 100%. A regressão linear dos valores mostrados no quadro (B) da referida figura é: $0,118 + 0,014 C$, onde C concentração em $\mu\text{mol L}^{-1}$, $R = 0,999$ ($n=6$).

Os resultados obtidos pela utilização do método proposto e espectrofotométrico [114] para a determinação de NP foram comparados e mostrados na Tabela 6.

Tabela 6: Resultados obtidos para determinação de NIPRIDE[®] em plasma e urina humana.

Metodologia proposta	Valor nominal ($\mu\text{mol L}^{-1}$)*	Valor encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)**	Correlação (%)
NIPRIDE [®] em Plasma	3,66.	$3,47 \pm 0,160$	95,0
NIPRIDE [®] em Urina	3,66.	$3,52 \pm 0,180$	96,2
Metodologia espectrofotométrica [114].	Valor nominal ($\mu\text{mol L}^{-1}$)*	Valor encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)**	Correlação (%)
NIPRIDE [®] em Plasma	8,30	$8,03 \pm 0,150$	96,7
NIPRIDE [®] em Urina	8,30	$8,30 \pm 0,110$	100

* = NIPRIDE[®] adicionado à solução contendo os referidos fluidos biológicos.

**= Valor encontrado utilizando o método proposto e espectrofotométrico [114].

Estes resultados comprovam que o método voltamétrico proposto para a determinação de NP através da utilização de eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA é viável e satisfatório para aplicação em matrizes complexas. Em adição, constata-se que o procedimento eletroquímico é mais sensível que a metodologia espectrofotométrica utilizada como metodologia comparativa.

Os resultados obtidos no presente trabalho mostram que eletrodos modificados com filmes de PLL:GA podem ser utilizados para monitoramento e quantificação de NP de sódio em fluidos biológicos e apresenta bons níveis de recuperação mostrando que o filme, assim obtido, possibilita a remoção do princípio ativo contido em matrizes complexas para ser analisado somente no eletrólito suporte.

3.5 – OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DE ÍON IODETO EM MEIO AQUOSO SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO.

O comportamento eletroquímico de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ iodeto de potássio foi inicialmente investigado em solução tampão B-R no intervalo de $2,0 \leq \text{pH} \leq 12,0$ sobre eletrodo de carbono vítreo com e sem modificação da superfície por filmes de PLL:GA conforme descrito previamente. Entretanto, para efeito de comparação será mostrado inicialmente apenas a oxidação de iodeto sobre eletrodo de carbono vítreo. A Figura 63 mostra voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de iodeto em pH 2,0 (curva 2) e pH 12,0 (curva 3), respectivamente.

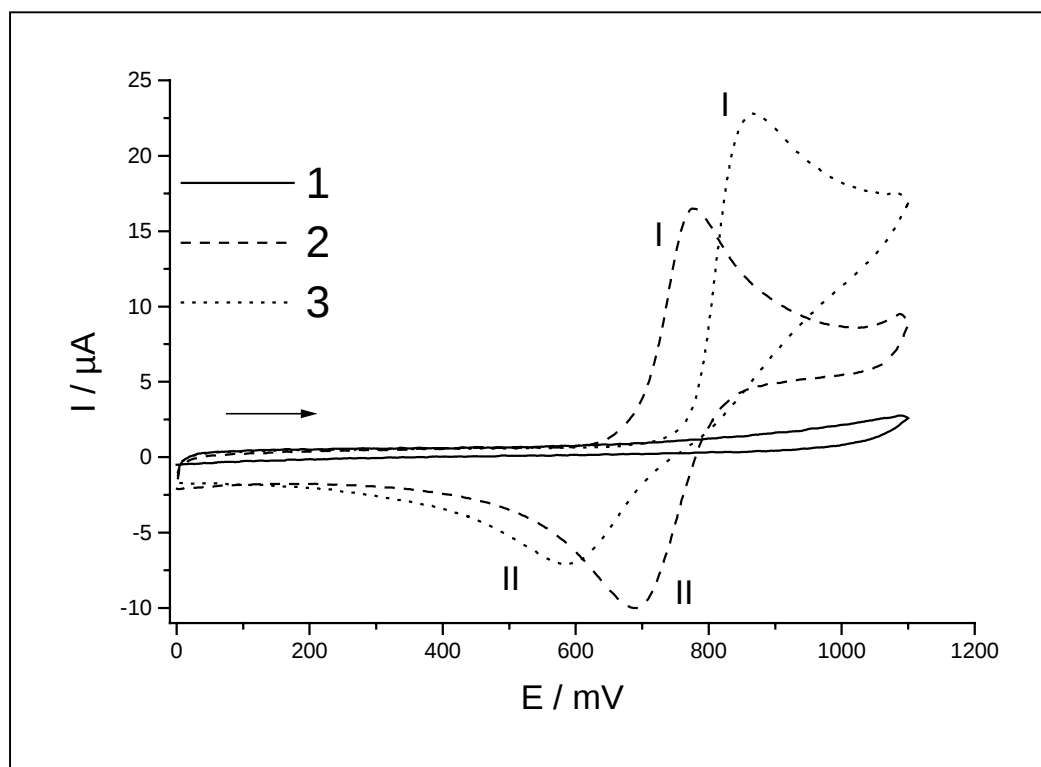


Figura 63: Voltamogramas cíclicos para a oxidação de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em B-R sobre eletrodo de carbono vítreo. Curvas: (1) eletrólito de suporte (pH 2,0); (2) pH 2,0 e (3) pH 12,0. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A curva 2 da Figura 63 mostra que a oxidação de iodeto em pH 2,0 é caracterizada por um par de picos bem definidos em valores de potencial de $E_{pa} = 0,778$ pico (I) e $E_{pc} = 0,70 \text{ V}$ pico (II) separado por $\Delta E = 70 \text{ mV}$. Valores de $i_{pa}/i_{pc} \cong 0,86$ foram obtidos a 100 mV s^{-1} sugerindo características de processo reversível. Em valor

de pH 12,0 (voltamograma cíclico mostrado na curva 3) é observado um deslocamento da onda para valores mais positivos de potencial (I) e na varredura reversa observa-se um pico de menor intensidade separado por 280 mV do pico (I). O efeito da variação de pH sobre os potenciais e intensidades das correntes obtidos na oxidação de iodeto é mostrado na Tabela 7. Os resultados de i_{pc}/i_{pa} diminuem em função do aumento de pH concordando com a literatura que relata que a reversibilidade do processo redox do iodeto é limitada a baixos valores de pH e concentração da espécie, uma vez que iodeto pode ser oxidado a iodato em meio alcalino [191,192,263].

Tabela 7: Parâmetros extraídos dos voltamogramas cíclicos de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio com eletrodo de carbono vítreo. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

pH	E_{pa} (mV)	E_{pc} (mV)	i_{pa} (μA)	i_{pc} (μA)	i_{pc}/i_{pa}
2,0	778	700	15,8	13,6	0,860
4,0	806	684	15,6	12,5	0,800
6,0	815	676	16,7	8,90	0,530
8,0	836	652	17,9	11,6	0,650
10,0	868	547	21,9	6,30	0,290
12,0	868	588	22,0	7,40	0,340

Em seguida investigou-se a influencia da variação na velocidade de varredura de potencial, (v), para o processo redox de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio, (KI) em tampão B-R pH 2,0. Os resultados são mostrados na Figura 64.

A análise da figura mostra que a oxidação de iodeto é governada por difusão [262]. O efeito da velocidade de varredura sobre os parâmetros voltamétricos é mostrado na Tabela 8. A análise dos dados mostra que o potencial de pico anódico apresenta valores praticamente constantes em baixas velocidades de varredura. A razão entre i_{pc}/i_{pa} apresenta diminuição de 1,0 para 0,8 em altas velocidades. O valor da função corrente ($i_{pa}/v^{1/2}$) apresenta-se aproximadamente constante. Este comportamento é típico de processo eletródico envolvendo a transferência de carga reversível [262].

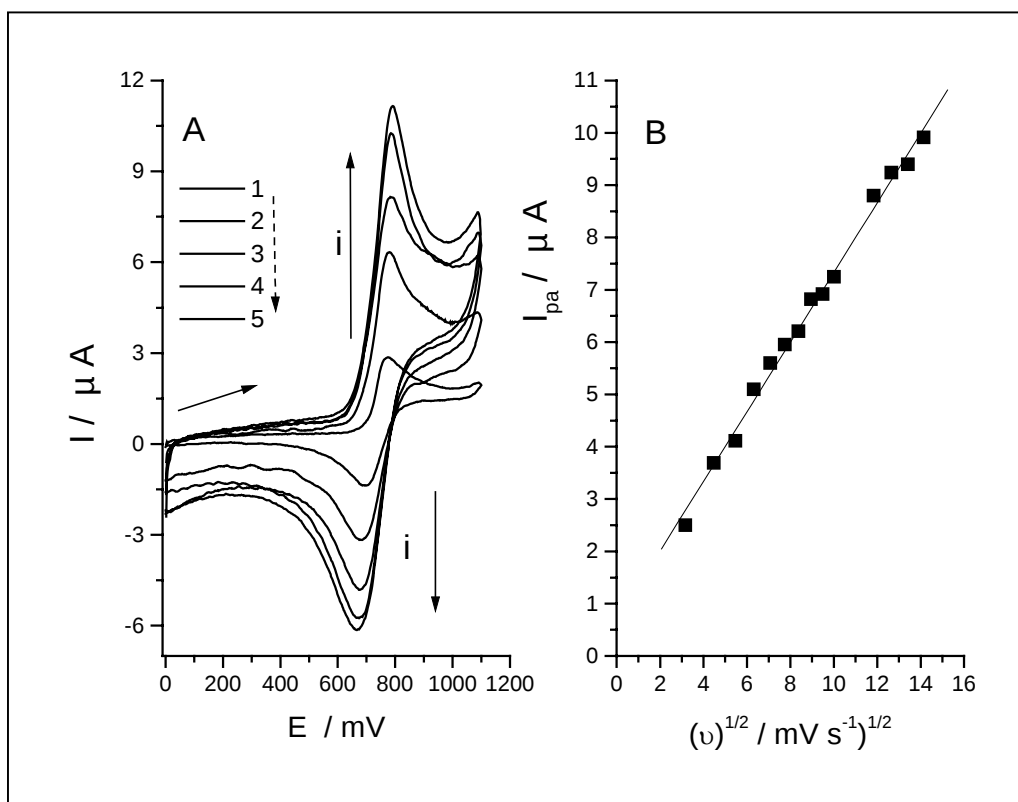


Figura 64A: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio (KI) em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo. Curvas: (1) 10; (2) 50; (3) 100; (4) 160 e (5) 200 mV s^{-1} . (B): Relação de i_{pa} vs $v^{1/2}$.

Em seguida investigou-se a influência da concentração de iodeto sobre a corrente de pico anódico para monitoramento do haleto em solução B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo, cujos voltamogramas e respectiva curva analítica são mostrados na Figura 65.

Os resultados indicam um aumento de corrente durante o aumento da concentração de iodeto de potássio em B-R pH 2,0 e os resultados obtidos mostram excelente linearidade no intervalo entre $3,00 \times 10^{-5}$ a $6,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto, segundo a equação: $i_{pa} (\mu\text{A}) = -0,064 + 2,13 \times 10^4 C$, $R = 0,995$ ($n = 9$), onde C concentração em mol L^{-1} . O limite de detecção foi calculado em $6,04 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, através da tomada de três medidas do ensaio em branco dividido pela tangente da curva, mostrada na equação anterior, [232].

Tabela 8: Dados obtidos para oxidação de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de iodeto de potássio em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo sem filme.

v (mV s ⁻¹).	E_{pa} (mV)	E_{pc} (mV)	i_{pa} (μ A)	i_{pc} (μ A)	i_{pc}/i_{pa} .	$i_{pa}/v^{1/2}$ (μ A.mV ^{-1/2} . s ^{-1/2}).
10	774	695	2,50	2,60	1,04	0,790
20	772	699	3,70	3,60	0,970	0,830
30	776	693	4,10	4,30	1,05	0,750
40	783	688	5,10	4,20	0,820	0,810
50	781	686	5,90	4,70	0,800	0,830
60	785	688	5,90	4,90	0,830	0,770
70	783	680	6,20	5,30	0,850	0,740
80	781	684	6,80	6,00	0,880	0,760
90	778	676	6,40	6,10	0,950	0,680
100	778	700	7,20	6,50	0,900	0,720
120	791	674	6,30	6,50	1,03	0,580
140	798	678	8,90	7,10	0,800	0,750
160	787	680	9,20	7,50	0,810	0,730
180	793	660	9,40	7,90	0,840	0,700
200	791	669	9,90	7,90	0,800	0,700

Os processos para oxidação do iodeto em eletrodos sólidos são bem descritos na literatura. Dependendo da janela de potencial utilizada é possível observar a conversão do iodeto a iodato com formação intermediária de hipoiodito em potenciais bastante negativos, [195,197,264]. Por outro lado, vários trabalhos descrevem somente a conversão do iodeto a iodo e, em alguns casos com geração do complexo triiodeto $[I_3]^-$ (excesso de iodeto em solução), em valores de potenciais abaixo de 1,0 V, [187,263-268]. Segundos estes relatos, a conversão de iodeto a iodo, pode ser representado pela seguinte expressão:



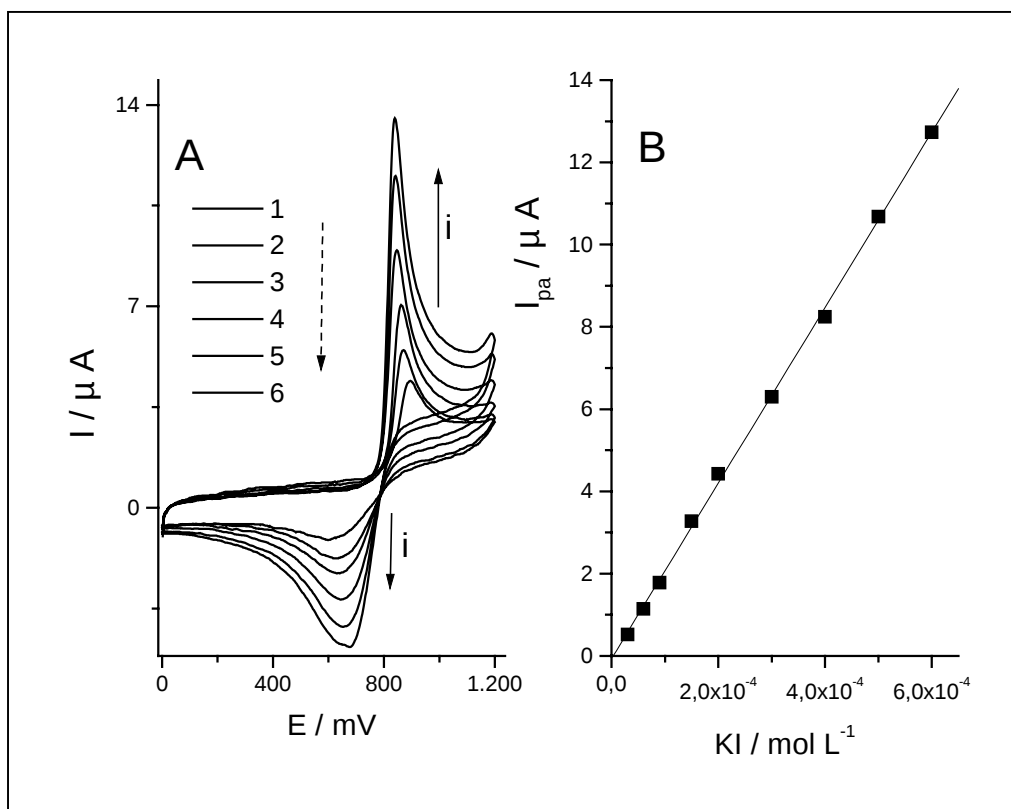


Figura 65A: Voltamogramas cíclicos para oxidação de iodeto de potássio em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo em concentração de: (1) $1,50 \times 10^{-4}$; (2) $2,00 \times 10^{-4}$; (3) $3,00 \times 10^{-4}$; (4) $4,00 \times 10^{-4}$; (5) $5,00 \times 10^{-4}$; e (6) $6,00 \times 10^{-4}$ (mol L^{-1}). (B): Respectiva curva analítica. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

3.5.1 – OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DE IODETO SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO POR FILMES DE PLL:GA.

A oxidação eletroquímica de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio foi investigada através do registro de voltamogramas cíclicos sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes superficiais de PLL:GA em tampão B-R pH 2,0-12,0. Curvas representativas para o comportamento observado em pH 2,0 e 12,0 são mostradas na Figura 66.

Para fins ilustrativos, a comparação entre voltamograma cíclico para oxidação de iodeto em pH 2,0 com eletrodo modificado por PLL:GA e o eletrodo de carbono vítreo é mostrado na Figura 67.

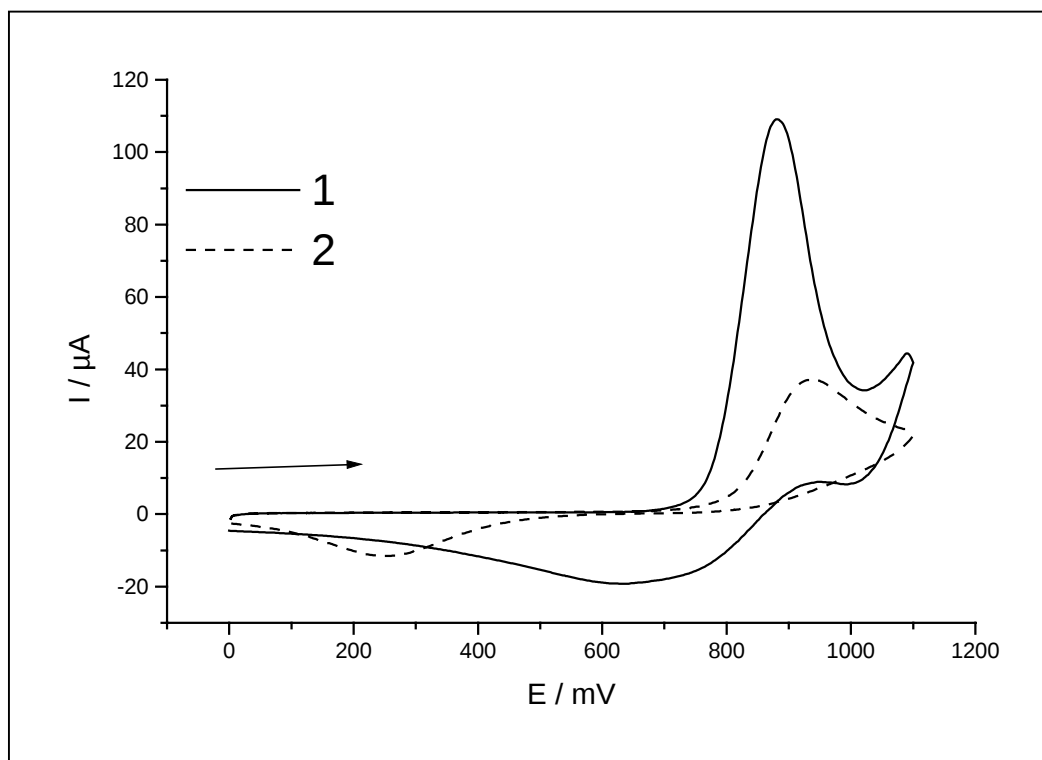


Figura 66: Voltamogramas cíclicos da oxidação de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em tampão B-R sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PL:GA em pH: (1) iodeto em pH 2,0 e (2) iodeto em pH 12,0. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A análise destes resultados mostra uma profunda diferença em relação àqueles obtidos para eletrodo sem filme. Voltamogramas cíclicos obtidos em pH 2,0 sobre eletrodo modificado (curva 1 da Figura 67), mostram a diminuição da onda catódica na varredura reversa indicando que a reversibilidade do processo é sensivelmente alterada em relação ao eletrodo de carbono vítreo (curva 2 da Figura 67). Em adição, o pico anódico apresenta um deslocamento de 110 mV mais positivos. Valores de E_{pa} - E_{pc} igual 210 mV são observados para a oxidação sobre o filme enquanto um valor de 78 mV foi obtido para eletrodo sem filmes. Em adição, é possível constatar um acentuado incremento de corrente para o pico anódico ($i_{pa} = 105 \text{ } \mu\text{A}$) quando se comparam os resultados obtidos em valor de pH 2,0 sobre eletrodo polido (16 μA) indicando que o processo eletródico para oxidação de iodeto apresenta mudanças relevantes sobre o eletrodo modificado por filmes de PLL:GA. Os resultados obtidos mostrando o efeito da variação da concentração hidrogeniônica obtida em valor de pH 12,0 (curva 2 da Figura 66) mostra uma sensível diminuição de corrente para o pico anódico e um leve

deslocamento de potencial para valores mais positivos. Os parâmetros voltamétricos obtidos no intervalo de pH 2,0-12,0 são mostrados na Tabela 9.

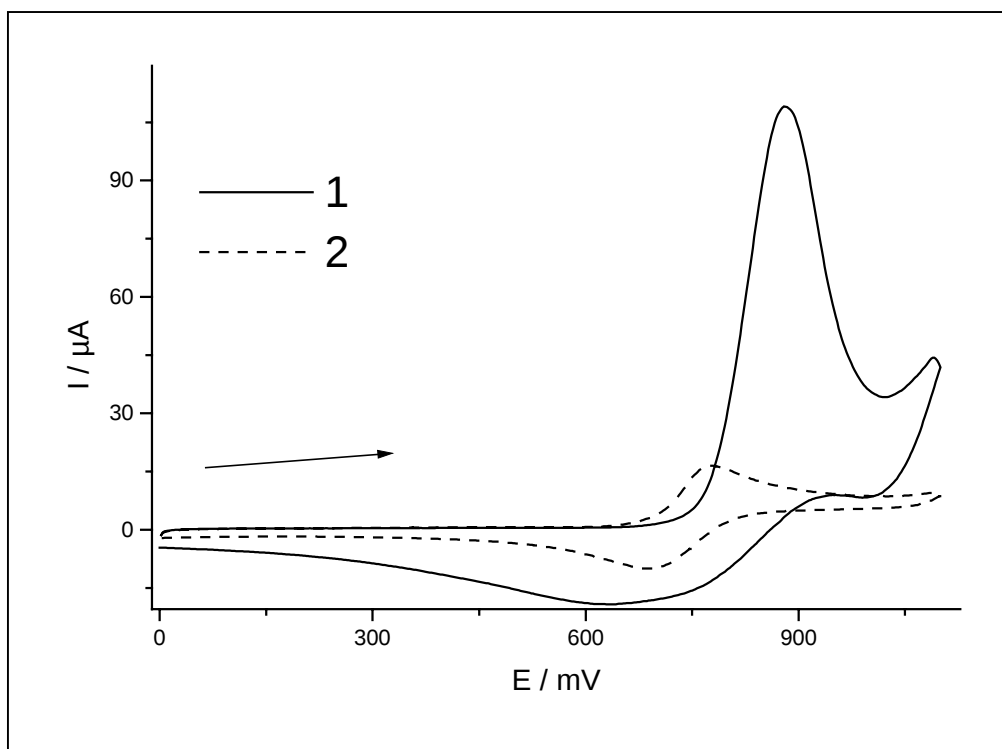


Figura 67: Voltamogramas cíclicos obtidos para a oxidação de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em B-R pH 2,0; curvas: (2) eletrodo de carbono vítreo e (1) eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Tabela 9: Influência da variação de pH sobre os parâmetros voltamétricos obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PLL:GA. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

pH	E _{pa} (mV)	E _{pc} (mV)	i _{pa} (μA)	i _{pc} (μA)
2,0	881	650	105	23,6
4,0	861	622	70,3	15,7
6,0	849	594	46,8	10,7
8,0	870	530	40,0	8,60
10,0	966	500	36,4	5,40
12,0	937	252	25,6	2,20

O efeito da variação de pH sobre eletrodos com e sem filmes de PLL pode ser visualizado nas Figuras 63 e 66. Os resultados deste estudo foram graficados e mostrados na Figura 68. Valores de corrente de pico máxima foram obtidas em valor de pH 2,0 e, desta forma, este valor de pH foi escolhido como pH ótimo para análise de iodeto. Observa-se, ainda, que em valor de pH $\geq 10,0$ a oxidação de iodeto não apresenta substancial aumento de corrente, indicando que a interação entre PLL protonada $pK_{a_{PLL}} = 10,7$ [70] e as espécies aniônicas [195], é negligenciável em meio alcalino porque o próprio filme perde as suas propriedades catiônicas.

O efeito da variação na velocidade de varredura sobre o processo redox de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA pode ser verificado na Figura 69 e os respectivos parâmetros mostrados na Tabela 10.

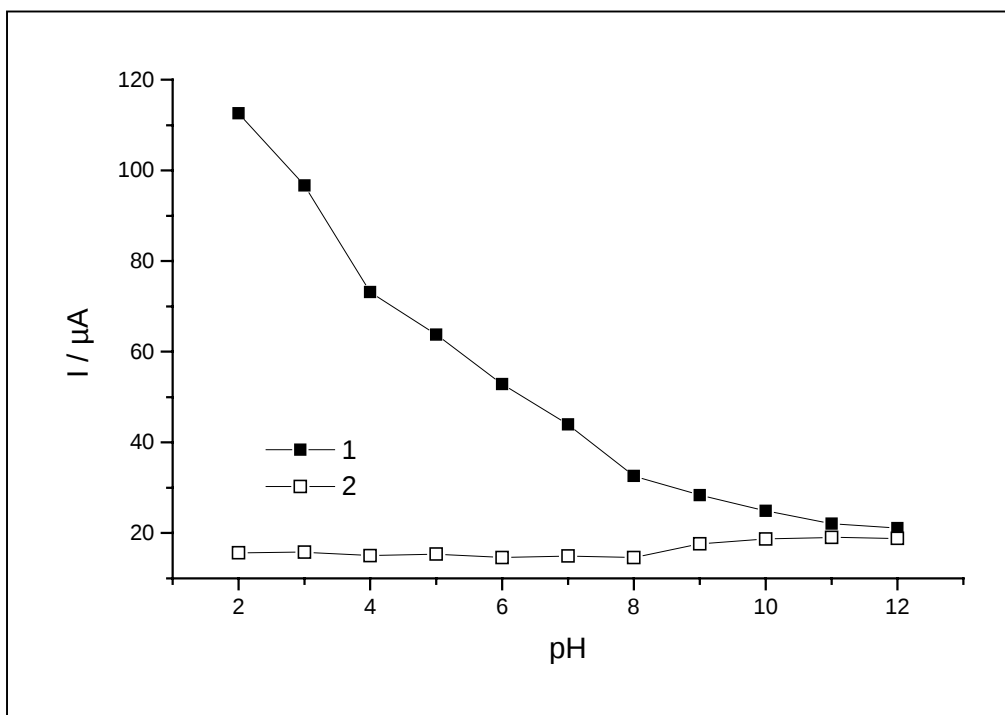


Figura 68: Efeito da variação de pH sobre as correntes de pico anódicas observadas para a oxidação de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em B-R. Curva (1) eletrodo com filmes de PLL:GA e (2) eletrodo de carbono vítreo. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados mostram que os potenciais de pico anódico deslocam-se para valores mais positivos de potencial, sugerindo que reações químicas podem estar acopladas ao processo de transferência de carga.

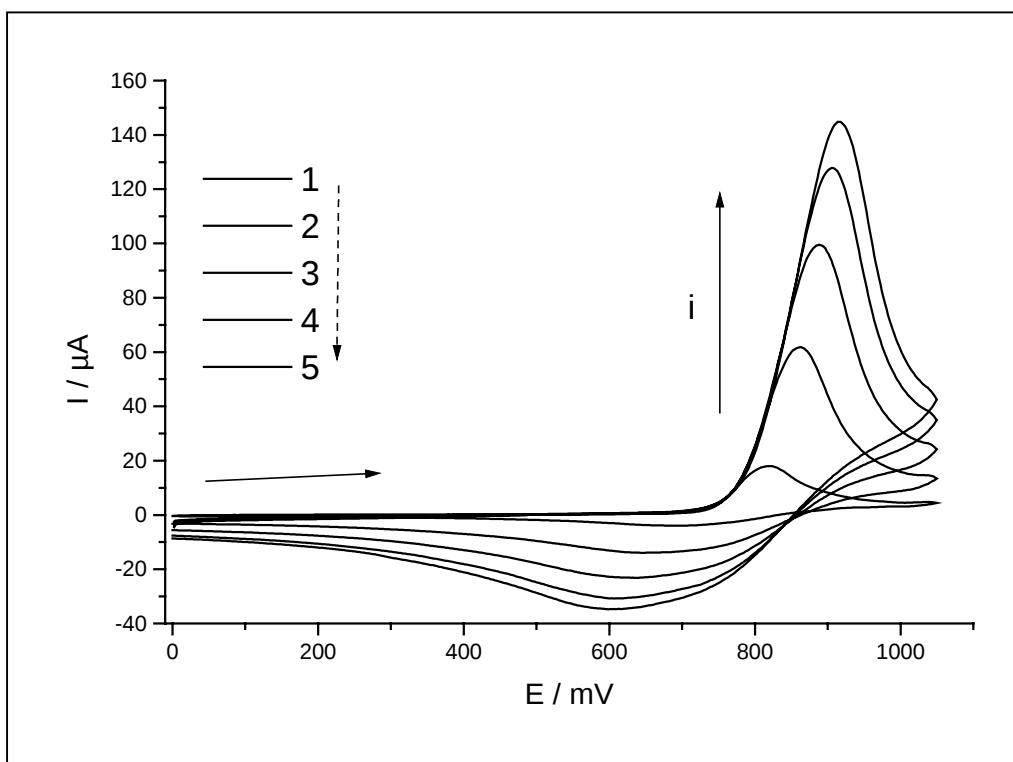


Figura 69: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio (KI) em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA. Curvas: (1) 10; (2) 50; (3) 100; (4) 160 e (5) 200 mV s^{-1} .

A influência da mudança de v sobre a corrente observada nas mesmas condições experimentais, foi graficada e mostrada na Figura 70 e os dados apresentados na Tabela 10.

A análise dos resultados da Figura 70A mostra uma excelente linearidade entre corrente *versus* raiz quadrada da velocidade de varredura, ($v^{1/2}$), em todo o intervalo de v investigado, porém a reta não passa pela origem. A equação correspondente a corrente de pico de oxidação é: $i_{pa} (\mu\text{A}) = -19,5 + 11,5 v^{1/2}$, $R = 0,999$, ($n=15$) (onde $v^{1/2}$ = raiz quadrada da velocidade de varredura em mV s^{-1}), $R=0,998$, ($n= 15$). A curva de i_{pa} *versus* v mostra curva bem definida comprovando que o processo não é governado por adsorção, Figura 70B.

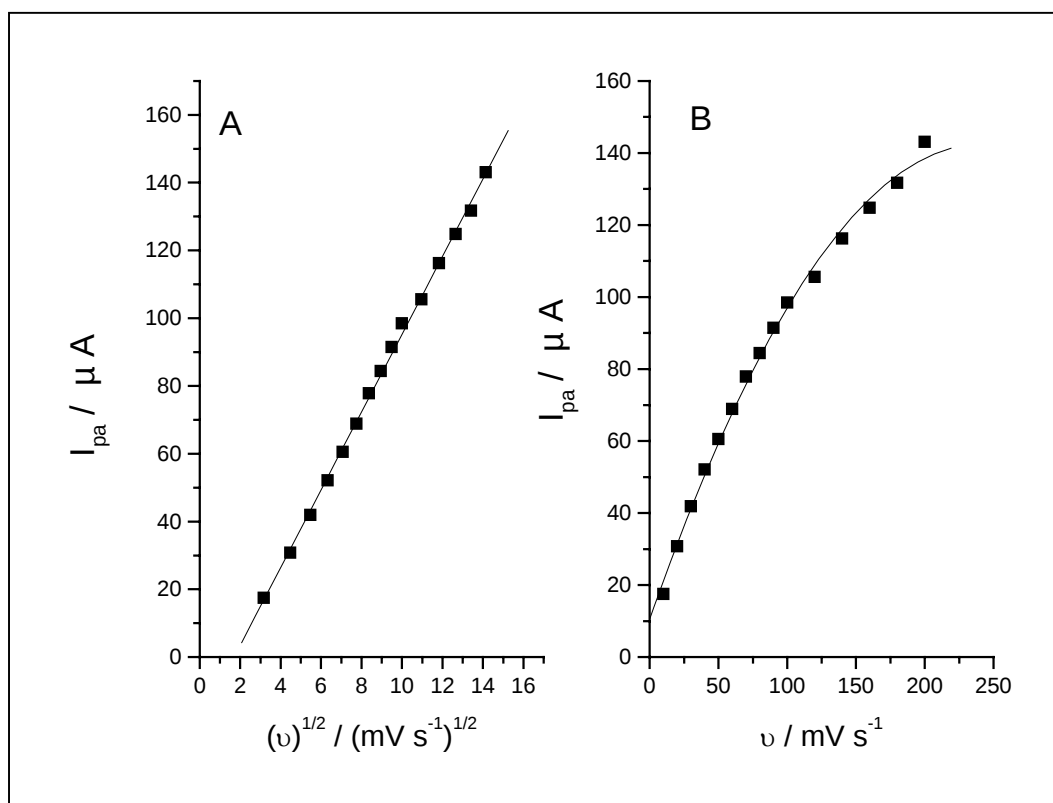


Figura 70A e B: Efeito da velocidade de varredura de potencial sobre as correntes de pico anódica observado para oxidação de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio, (KI), em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por PLL:GA.

Os valores apresentados na Tabela 10 mostram valores (i_{pc}/i_{pa}), ao redor de 0,330 ($n=15$). A análise das curvas mostra que o processo redox de iodeto sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PLL:GA apresenta comportamento típico de processo catalítico, onde o produto gerado após transferência eletrônica, é convertido em outras espécies [195,262]. Os dados referentes à função corrente, ($i_{pa}/v^{1/2}$), mostrados Tabela 10 mostram uma curva polinomial de ordem 3 para o gráfico dos valores de ($i_{pa}/v^{1/2} \times v$), segundo a equação: $i_{pa}/v^{1/2} (\mu A \text{ mV}^{-1/2} \text{ s}^{-1}) = 4,70 + 0,117 v - (8,78 \times 10^{-4}) v^2 + (2,15 \times 10^{-6}) v^3$, (onde v velocidade de varredura), $R^2 = 0,990$, ($n=15$). De acordo com a literatura [269,270], a função corrente é independente da velocidade de varredura tanto para processos reversíveis como irreversíveis. Caso a irreversibilidade seja provocada por reações químicas acopladas à transferência eletrônica, pode-se observar uma diminuição ou mesmo uma independência de $i_{pa}/v^{1/2}$ com a velocidade de varredura dependendo da natureza da reação química. Entretanto, um aumento de $i_{pa}/v^{1/2}$ com o aumento da

velocidade de varredura pode ser indicativo de processos catalíticos [262] ou processo envolvendo fenômeno de adsorção do reagente, se consideramos que o mesmo encontra-se oxidado na forma adsorvida. Deste modo, os resultados obtidos do presente estudo sugerem que reações químicas ou geração de intermediários oxidáveis poderiam estar acoplados ao processo de oxidação de iodeto sobre eletrodos modificados por filmes de PLL:GA.

Tabela 10: Dados obtidos para oxidação de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de iodeto de potássio em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo com PLL:GA.

v (mV s ⁻¹).	E_{pa} (mV)	E_{pc} (mV)	I_{pa} (μ A)	i_{pc} (μ A)	$i_{pa}/v^{1/2}$ (μ A.mV ^{-1/2} . s ⁻¹).	i_{pc}/i_{pa}
10	821	697	17,5	6,00	5,53	0,340
20	836	691	30,8	9,60	6,88	0,310
30	849	686	41,9	13,3	7,65	0,320
40	853	685	52,2	15,6	8,25	0,300
50	861	669	60,6	19,4	8,57	0,320
60	868	682	68,9	21,9	8,90	0,320
70	874	676	77,9	24,5	9,31	0,310
80	879	665	84,4	26,7	9,43	0,320
90	883	669	91,5	29,7	9,64	0,320
100	890	652	98,4	32,0	9,84	0,320
120	892	643	105	34,9	9,64	0,330
140	900	635	116	39,7	9,82	0,340
160	907	630	125	43,2	9,87	0,350
180	911	616	132	45,1	9,82	0,340
200	917	609	143	49,6	10,1	0,350

Com o objetivo de obter mais informações sobre o comportamento voltamétrico do iodeto sobre eletrodo modificado por filme de PLL:GA, investigou-se sua oxidação utilizando-se incorporação e transferência do eletrodo para célula eletroquímica contendo somente o eletrólito de suporte, (B-R pH 2,0). O ensaio foi conduzido em duas

diferentes concentrações, ($1,00 \times 10^{-4}$ e $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) de iodeto de potássio, (KI). Os procedimentos para incorporação da espécie foram realizados de duas formas: (I): através da adição dos teores descritos de iodeto (KI), em um becker contendo solução tampão B-R pH 2,0 submetida a agitação por um período de 120 s, remoção do eletrodo, lavagem com água bidestilada e transferência do mesmo para a célula eletroquímica contendo somente B-R pH 2,0, onde registraram-se os voltamogramas. (II): Incorporação de iodeto sobre o filme através de ciclagem eletroquímica. Os resultados obtidos para concentração de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de iodeto de potássio, (KI) através do procedimento (I), são apresentados na Figura 71. A análise dos resultados apresentados, segundo procedimento (I), mostra uma acentuada queda de corrente entre cada registro voltamétrico, Figura 71B. Os resultados obtidos para o mesmo procedimento, desta vez realizado para concentração de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, são semelhantes ao apresentado, diferindo somente nas intensidades de corrente.

Estes resultados sugerem que a interação do iodeto com os filmes de PLL:GA pode estar ocorrendo somente na superfície da membrana polimérica, pois não há nenhuma evidência de permeação da espécie na rede do poliaminoácido.

A comparação dos resultados obtidos para o comportamento voltamétrico do iodeto analisado com o polímero PLL:GA, em relação aos mesmos resultados obtidos na análise do padrão ferricianeto de potássio, possibilita concluir que, embora o raio iônico do iodeto [2,16 Å] [271], apresente valor muito próximo ao raio iônico do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/-4}$ [3,06 Å] [124,272], o mesmo limita-se a uma interação superficial com o filme de PLL:GA no eletrodo modificado sem alcançar o interior da membrana polimérica. Estas conclusões estão de acordo com os resultados apresentado para o diagnóstico do processo eletroquímico do iodeto amplamente discutido na parte relativo aos efeitos da variação na velocidade de varredura, que prevê reações químicas acopladas ao processo de transferência eletrônica.

A incorporação de iodeto diretamente na célula eletroquímica, contendo as mesmas concentrações citadas anteriormente, em B-R pH 2,0 foi realizada a seguir e descrita como procedimento (II). Os experimentos foram realizados por incorporação da espécie utilizando ciclagem contínua de potencial. Após esta etapa, o eletrodo foi removido, lavado com água bidestilada e recolocado em outra célula eletroquímica contendo somente B-R pH 2,0. Os resultados obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de iodeto são mostrados na Figura 72.

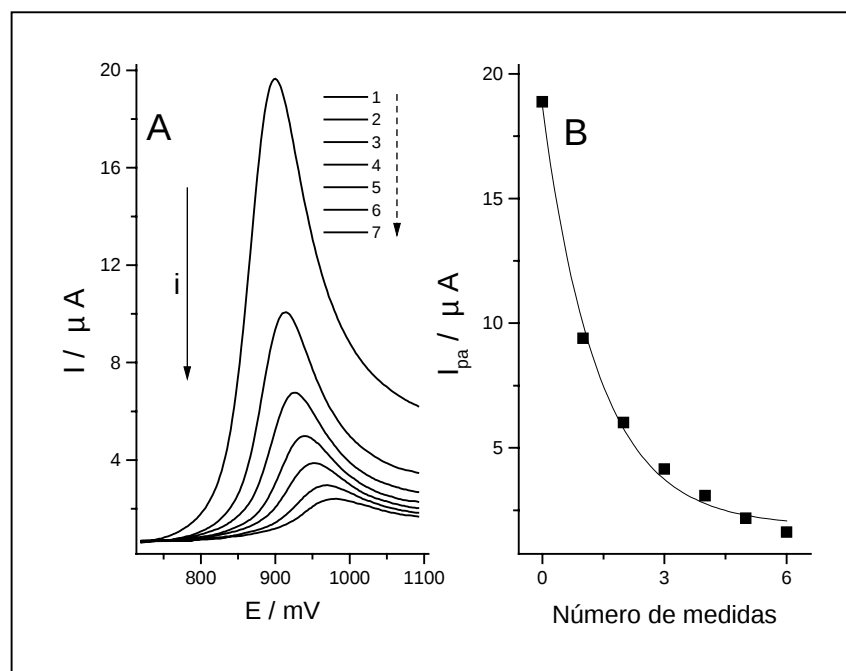


Figura 71A: Voltamogramas de varredura linear obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de iodeto de potássio, (KI), sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PLL:GA. Tempo prévio de incorporação de 120s. Curvas (1) primeira varredura; (2)-(7) varreduras sucessiva sobre o mesmo filme de PLL:GA carregado com iodeto. (B): Efeito do número de varreduras sucessivas sobre a corrente de pico anódica.

$$\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$$

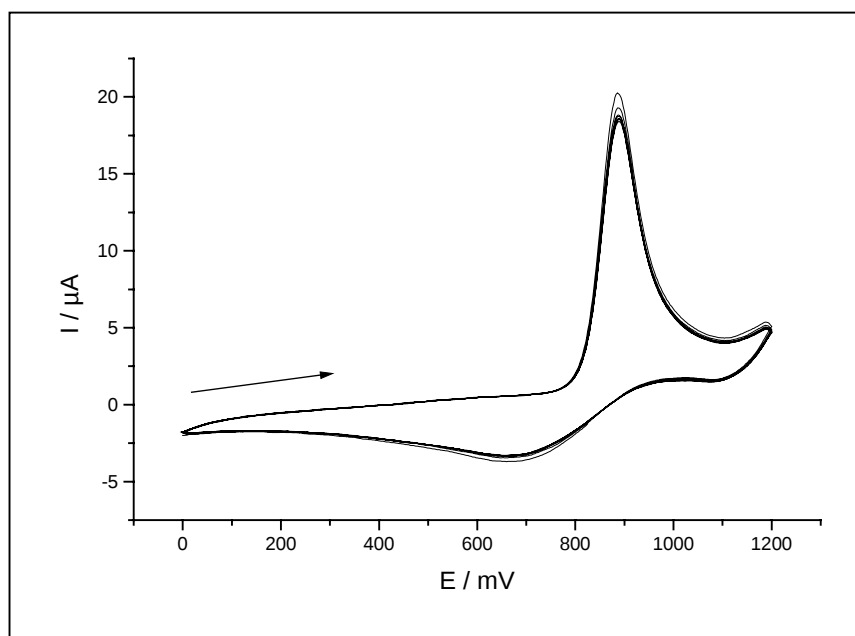


Figura 72: Voltamogramas de varredura sucessiva de potencial, (10 ciclos), obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de iodeto de potássio em B-R pH 2,0 sobre eletrodo modificado com PLL:GA. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Após realização desta etapa, o eletrodo foi removido, lavado e recolocado em outra célula na presença somente de B-R pH 2,0. Os resultados são mostrados na Figura 73.

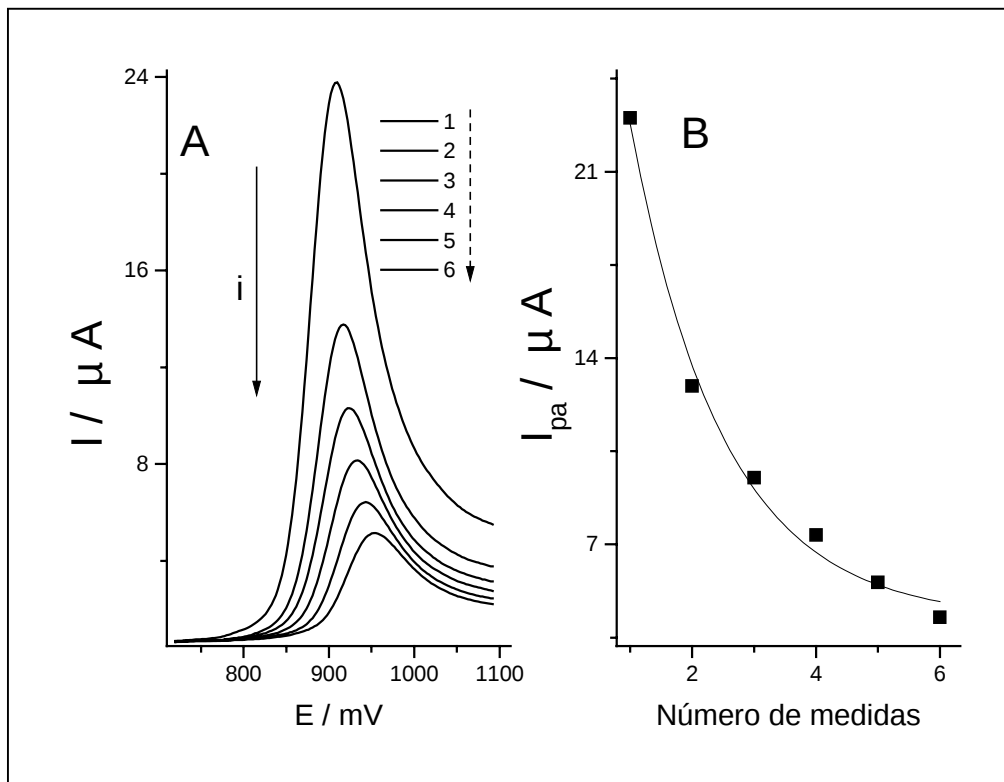


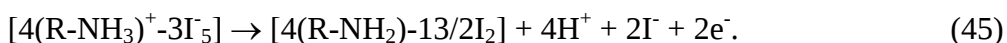
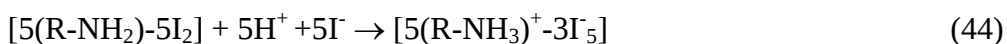
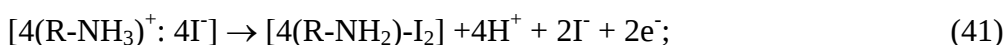
Figura 73A: Voltamogramas de varredura linear obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} de iodeto de potássio, (KI), sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA, obtidas após incorporação eletroquímica, (10 ciclos). (B): Efeito da varredura sucessiva sobre a corrente. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados mostram que iodeto é retido na superfície do filme de PLL:GA e apresenta corrente de grande intensidade, como observado previamente. Entretanto, observa-se uma forte queda de corrente nas varreduras subsequentes (Figuras 73B). Os mesmos experimentos foram realizados na presença de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} e $5,00 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} de iodeto e os resultados são coincidentes com os demais já apresentados, diferindo somente nas intensidades de correntes.

Desta forma, e analisando os dados obtidos pode-se concluir que o ânion iodeto interage com os filmes de PLL:GA, possivelmente através da formação de par iônico entre o iodeto carregado negativamente e os grupos amino da PLL que se comporta

como um polímero catiônico em valores baixos de pH, $pK_{a_{PLL}} = 10,7$ [70]. Esta interação pode ser responsável pela amplificação do sinal de oxidação do iodeto ou poderia estar estabilizando outras espécies intermediárias subseqüentes, conforme verificado em outros filmes poliméricos [191-196,198], uma vez que não se constatou aumento ou estabilidade de corrente durante a varredura de potencial.

De acordo com a literatura [191-196,198], a oxidação de iodeto a iodo, em excesso de iodeto, pode gerar outras espécies complexas, tais como triiodeto e pentaiodeto os quais podem ser pré-concentrados por formação de par-iônico na superfície do eletrodo modificado. Considerando os dados obtidos do presente estudo e os estudos mostrados na literatura [191-196,198] é possível sugerir que a amplificação da corrente de oxidação do iodeto quando analisado com o eletrodo modificado por PLL:GA observado na ordem de 10 vezes poderia estar ocorrendo de forma semelhante àquela observada para eletrodo modificado por fosfato de tricresila [195], onde as espécies intermediárias também imobilizadas na superfície são oxidadas sucessivamente, segundo as equações 40 a 45:



Isto é, o eletrodo modificado, com os filmes de PLL:GA quando imerso na solução contendo iodeto pode formar o par iônico correspondente (equação 40), segundo transferência eletrônica usual formando um complexo molecular PLL-I₂, (equação 41). O iodo formado reage com excesso de iodeto em solução, convertendo iodo em triiodeto e formando o complexo PLL-I₃⁻, (equação 42). No mesmo potencial, o novo par iônico poderia sofrer novas etapas de transferência de carga formando o complexo pentaiodeto, segundo reações consecutivas, conforme mostram as equações 43 a 45.

Deste modo e considerando que a literatura [188-192,195,198] reporta a formação do complexo molecular entre o produto da oxidação de iodeto e filmes poliméricos, os dados acima indicam que provavelmente a retenção e subseqüente oxidação dos produtos intermediários formados é responsável pela intensa resposta de

corrente em relação ao eletrodo de carbono vítreo e pela perda da reversibilidade observado numa simples oxidação eletroquímica do par I^-/I_2 , verificada em eletrodo sem o poliaminoácido.

3.5.2 – CURVA ANALÍTICA E DETERMINAÇÃO DE IODETO DE POTÁSSIO.

Os resultados prévios mostram que o eletrodo modificado por filmes de PLL:GA não apresenta estabilidade do sinal suficiente para o desenvolvimento de um sensor eletroquímico que permita a pré-concentração do ânion iodeto sobre o filme e análise do mesmo após transferência do eletrodo para nova solução de eletrólito. No entanto, ele apresenta grande capacidade para pré-concentrar iodeto devido ao aumento do sinal. Deste modo, em seguida investigou-se a influência da concentração de iodeto sobre a corrente de pico anódico para monitoramento do haleto em solução B-R pH 2,0 utilizando pré-concentração sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PLL:GA. Os experimentos foram realizados através da adição de iodeto de potássio diretamente na célula eletroquímica com subsequente registro voltamétrico após 10 s de pré-concentração. Os respectivos voltamogramas são mostrados na Figura 74A.

A análise da Figura 74A mostra que os voltamogramas para a oxidação da espécie apresentam incremento de corrente à medida que aumenta a concentração de iodeto de potássio na célula eletroquímica. A respectiva curva analítica para o monitoramento da espécie apresenta linearidade na faixa de concentração entre $1,29 \times 10^{-5}$ a $6,93 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, Figura 74B, segundo a equação: $i_{pa} (\mu A) = 1,54 + 1,69 \times 10^5 C$, $R = 0,998$, ($n=17$) onde C concentração em mol L^{-1} . O limite de detecção foi calculado através do cálculo do desvio padrão de três medidas divididas pela inclinação da curva mostrada na Figura 74B e o valor de $6,02 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ foi obtido [232].

A estabilidade ou número de medidas possíveis de serem realizadas sobre o mesmo filme de PLL:GA para o monitoramento do iodeto foi avaliada(o), através do registro de voltamogramas para concentração de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto em B-R pH 2,0. Os resultados, expressos em termos estatísticos, [231], mostraram valores de corrente (μA) de $117 \pm 3,2$ com coeficiente de variação de 2,7% para $n = 30$. Estes valores mostram que o método proposto apresenta condições vantajosas para análise de iodeto.

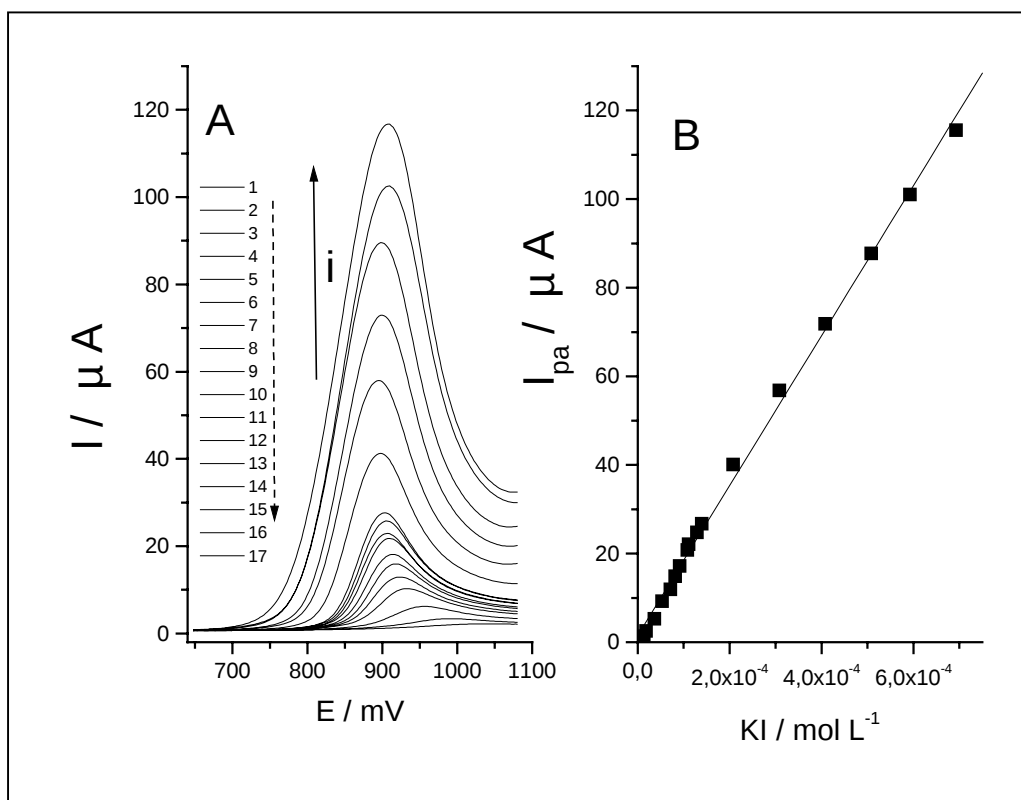


Figura 74A: Voltamogramas de varredura linear obtidos para oxidação de iodeto em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA. Curvas: (1) $1,29 \times 10^{-5}$; (2) $1,81 \times 10^{-5}$; (3) $3,61 \times 10^{-5}$; (4) $5,29 \times 10^{-5}$; (5) $7,10 \times 10^{-5}$; (6) $8,13 \times 10^{-5}$; (7) $9,16 \times 10^{-5}$; (8) $1,08 \times 10^{-4}$; (9) $1,11 \times 10^{-4}$; (10) $1,29 \times 10^{-4}$; (11) $1,39 \times 10^{-4}$; (12) $2,08 \times 10^{-4}$; (13) $3,08 \times 10^{-4}$; (14) $4,08 \times 10^{-4}$; (15) $5,08 \times 10^{-4}$; (16) $5,92 \times 10^{-4}$ e (17) $6,93 \times 10^{-4}$ (mol L^{-1}) de iodeto de potássio. (B): Curva analítica correspondente. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

3.5.3 – EFEITOS DOS INTERFERENTES.

Com o objetivo de avaliar os possíveis interferentes na metodologia proposta para a determinação de iodeto de potássio ou a seletividade do filme de PLL:GA, investigou-se a, seguir, as oxidações de fluoreto, cloreto, brometo, perclorato, iodato, periodato, nitrato de potássio, cobre(II), zinco, chumbo(II), cádmio, sulfato de potássio e acetato de sódio.

A influência de fluoreto, cloreto, brometo e perclorato (sais de potássio) foram analisadas acompanhando-se a oxidação em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono

vítreo com filmes de PLL:GA diretamente na célula eletroquímica na presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em célula contendo os íons na faixa de concentração entre $1,00 \times 10^{-4}$ a $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos não mostraram nenhuma interferência destes compostos. Estes resultados estão de acordo com a literatura, [187-190,196,265,268] que também reportam a possibilidade de determinação de iodeto na presença das citadas espécies sem interferir no método.

No entanto, os experimentos desenvolvidos com o mesmo procedimento para oxidação de iodeto na presença dos oxihalatos iodato e periodato sobre eletrodo de carbono vítreo recobertos por filmes de PLL:GA em B-R pH 2,0 mostraram mudanças, como mostram as Figuras 75 e 76, respectivamente.

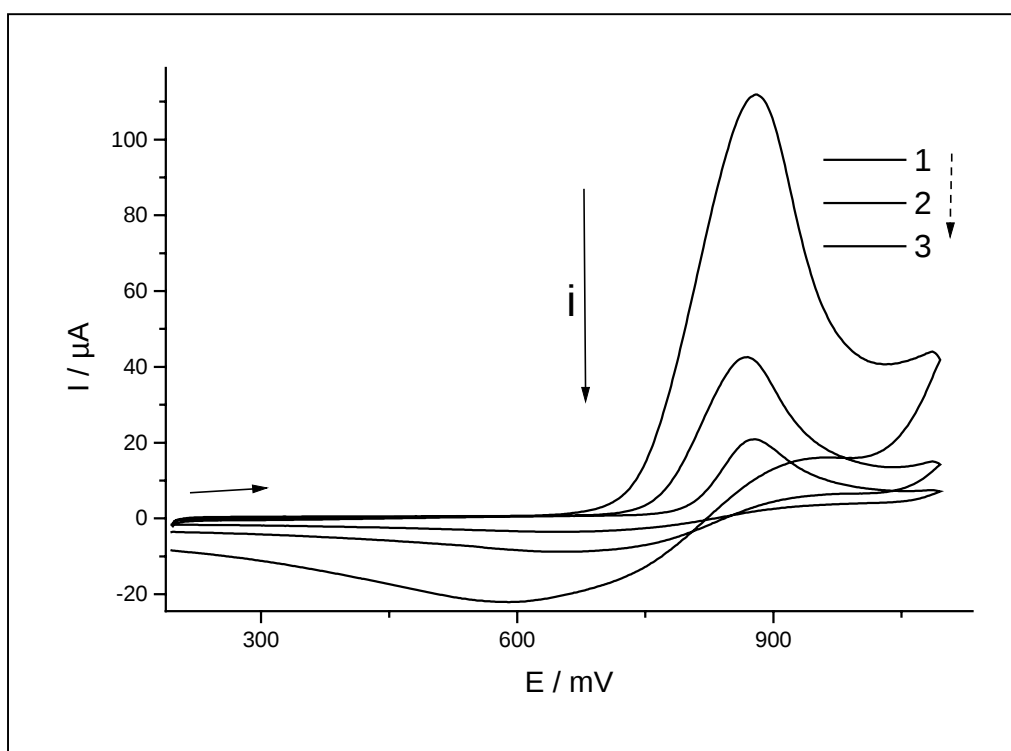
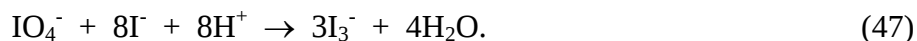
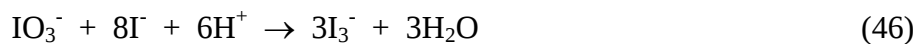


Figura 75: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ iodeto em B-R pH 2,0 sobre eletrodo recoberto com filmes de PLL:GA. Curvas: (1) $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto; (2) presença de $5,00 \times 10^{-4}$ e (3) $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodato, respectivamente. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A análise dos resultados mostra que iodato e periodato não são oxidados nestas condições experimentais. No entanto, a adição de iodato (Figura 75) ou periodato (Figura 76) na célula eletroquímica contendo iodeto promove sucessiva supressão de corrente do pico monitorado para a oxidação de iodeto de potássio. Isto pode ser

explicado se considerarmos que reações de iodato ou periodato com iodeto em solução pode gerar o complexo triiodeto, através das equações 46 e 47, consumindo os íons iodeto em solução, [230,231,273].



Investigações complementares foram realizadas com os metais: potássio, Cu(II), zinco, Pb(II) e cádmio, na forma de nitratos. Além destes metais, também foram avaliados os ânions acetato de sódio e sulfato de potássio. Os experimentos foram conduzidos de forma similar aos descritos anteriormente para eletrodo de carbono vítreo com filmes de PLL:GA. Os resultados obtidos para estas espécies não mostraram nenhuma interferência para concentrações entre $1,00 \times 10^{-4}$ a $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

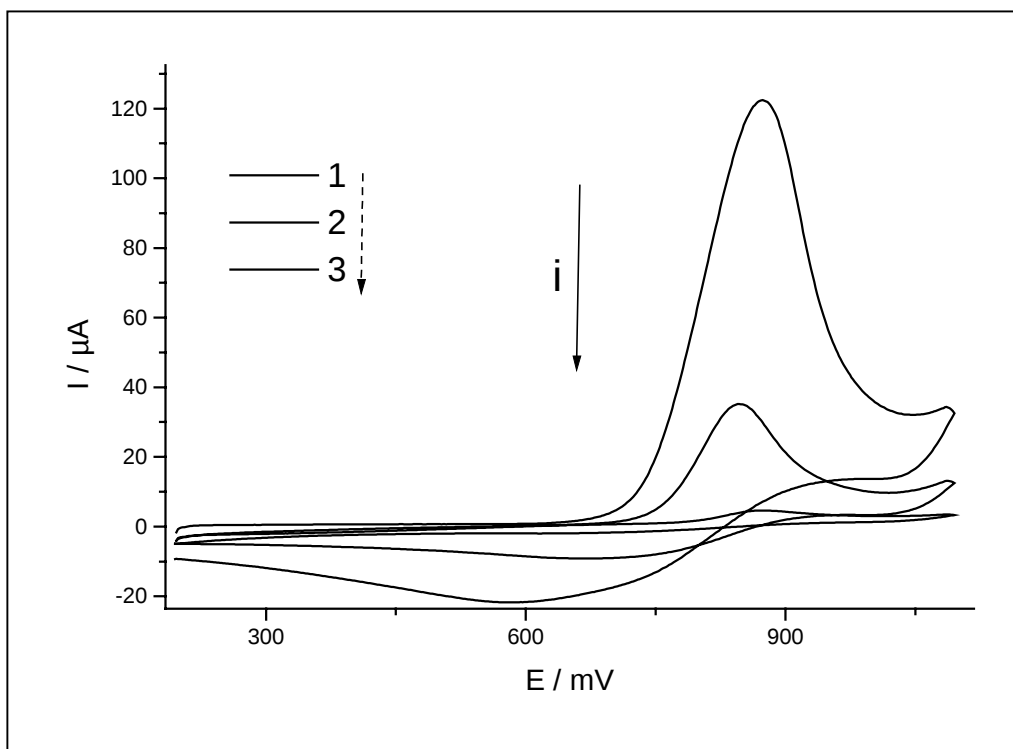


Figura 76: Voltamogramas cíclicos para oxidação de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ iodeto em B-R pH 2,0 sobre eletrodo com filmes de PLL:GA. Curvas: (1) $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto; (2) presença de $5,00 \times 10^{-4}$ e (3) $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de periodato, respectivamente.

$\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados obtidos do presente estudo possibilitam concluir que o iodeto pode se monitorado na presença de fluoreto, cloreto, brometo, perclorato, potássio, Cu(II),

zinco, Pb(II), Cd(II), acetato e sulfato sem nenhuma interferência. De forma contrária, na presença de iodato ou periodato, a espécie de interesse é convertida à forma complexada triiodeto que não apresenta atividade eletroquímica na janela de potencial monitorada e, desta forma, a análise de iodeto na presença destes oxihalatos não é viável. Resultado similar também é obtido para o metal prata que origina uma forma menos solúvel do haleto.

3.5.4 – APLICAÇÃO DO MÉTODO.

A aplicação da presente metodologia foi realizada em formulações farmacêuticas de xaropes de iodeto denominadas IODETO DE POTÁSSIO[®] (Laboratório TEUTO) e EXPEC[®] (Laboratório LEGRAND). Alíquotas destas formulações farmacêuticas foram tomadas e diluídas em um balão volumétrico e analisadas segundo o método proposto utilizando-se adições do padrão iodeto de potássio [231]. Os resultados obtidos para a formulação denominada de KI[®] (Laboratório TEUTO) são mostrados na Figura 77. A análise dos dados fornece valor de correlação de $100,6 \pm 0,24\%$ ($n=6$), em relação às informações prestadas pelo fabricante da referida formulação farmacêutica e os valores obtidos com a aplicação da metodologia proposta.

O mesmo procedimento apresentado foi repetido para a formulação farmacêutica denominada EXPEC[®] (Laboratório LEGRAND), cujos resultados são mostrados na Figura 78. Os resultados obtidos da presente formulação farmacêutica mostram índices de correlação de $98,0 \pm 0,3\%$ em referências às informações fornecidas pelo fabricante. A curva obtida do presente ensaio, através da aplicação do método das adições de solução do padrão iodeto, mostra uma equação de: $i_{pa} (\mu A) = 9,98 + 7,34 \times 10^4 C$, (onde C concentração em mol L^{-1}), $R = 0,997$ e desvio padrão igual a 0,32 ($n=6$).

O método proposto foi então a seguir, comparado com metodologia espectrofotométrica como descrito por IWASAKI; UTSUMI, e OZAWA [274]. Neste método acompanha-se a reação de iodeto com o complexo formado através da reação do tiocianato de potássio com íons Fe (III). O cromóforo ($[\text{Fe}(\text{SCN})]^{+2}$) resultante, apresenta uma intensa banda de absorção em comprimento de onda ao redor de 470 nm. As adições de iodeto promovem uma queda de absorbância relativa à formação do cromóforo apresentando uma relação inversa com a concentração de iodeto adicionado

utilizando um tempo reacional fixado em 10 min. Os resultados desta aplicação para a construção de uma curva analítica para iodeto são mostrados na Figura 79.

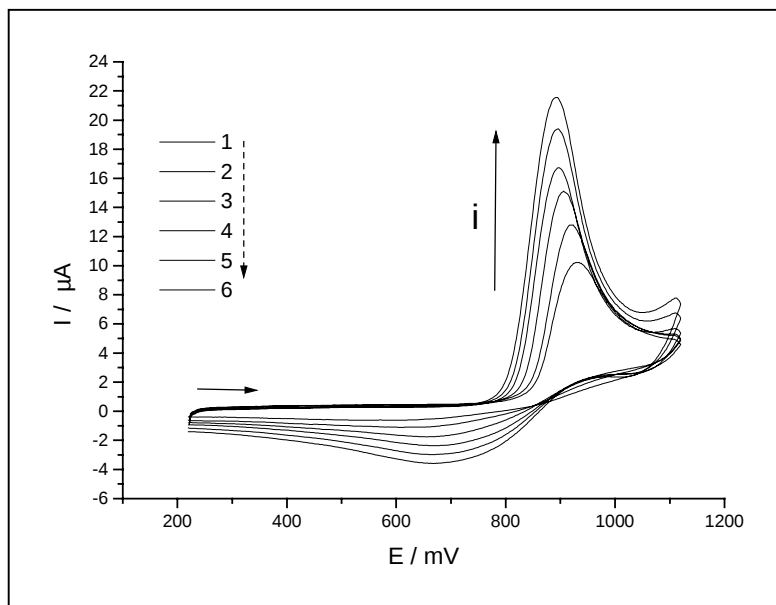


Figura 77: Voltamogramas cíclicos obtidos para alíquotas do fármaco KI[®] (laboratório TEUTO) antes (1) e após adições de solução padrão de iodeto de potássio em concentrações de: curvas: (2) $7,00 \times 10^{-5}$; (3) $8,00 \times 10^{-5}$; (4) $9,00 \times 10^{-5}$; (5) $1,00 \times 10^{-4}$ e (6) $1,10 \times 10^{-4}$ (mol L⁻¹). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

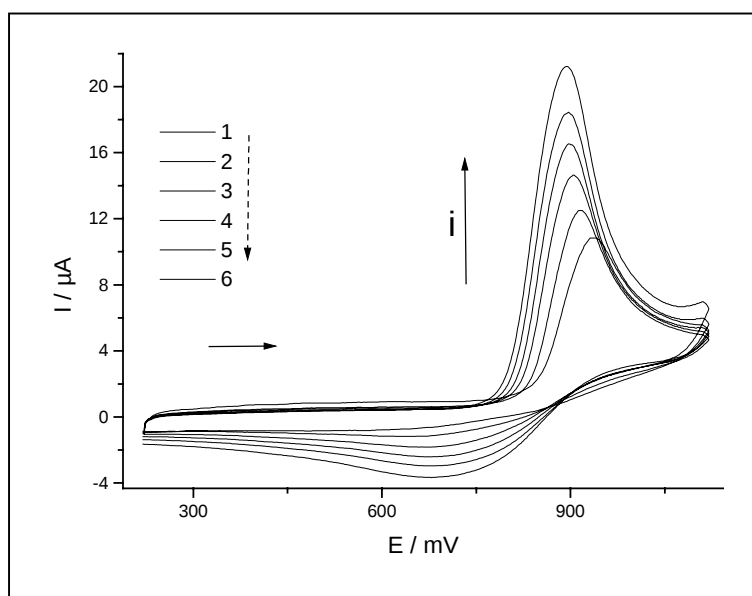


Figura 78: Voltamogramas cíclicos obtidos para alíquotas do fármaco EXPEC[®] (laboratório LEGRAND) antes (1) e após adições de solução padrão de iodeto de potássio em concentrações de: curvas: (2) $7,00 \times 10^{-5}$; (3) $8,00 \times 10^{-5}$; (4) $9,00 \times 10^{-5}$; (5) $1,00 \times 10^{-4}$ e (6) $1,10 \times 10^{-4}$ (mol L⁻¹). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

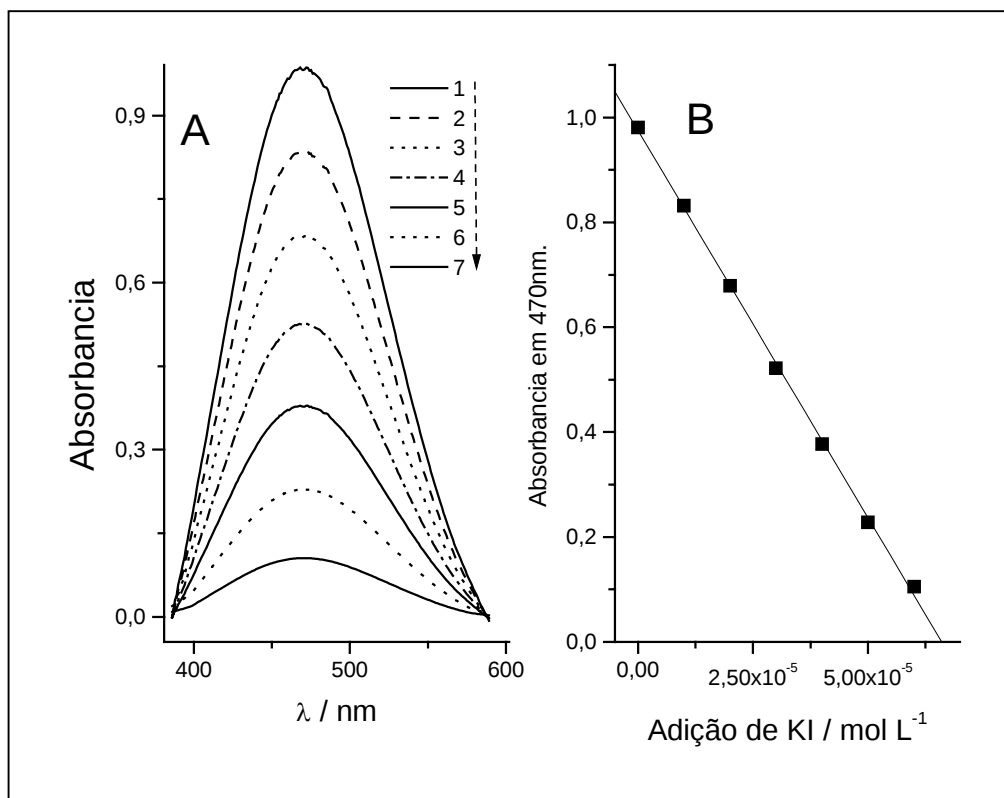


Figura 79A: Espectros de absorção visível. Curvas: (1) tiocianato/Fe(III). Curvas: (2) $1,00 \times 10^{-5}$; (3) $2,00 \times 10^{-5}$; (4) $3,00 \times 10^{-5}$; (5) $4,00 \times 10^{-5}$; (6) $5,00 \times 10^{-5}$; e (7) $6,00 \times 10^{-5}$ (mol L^{-1}) adições de iodeto de potássio, respectivamente.

(B): curva analítica para iodeto.

A análise dos resultados mostra que o complexo $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{+2}$ apresenta uma banda bem definida de absorção em $\lambda = 470$ nm, Figura 79A. Após adições sucessivas de iodeto de potássio este sinal tende a diminuir proporcionalmente ao teor do haleto adicionado. A curva analítica mostrada na Figura 79B segue a relação: $A(470 \text{ nm}) = 0,975 - 1,48 \times 10^4 C$, onde C concentração em mol L^{-1} , $R = 0,999$ ($n = 7$).

A aplicação da metodologia espectrofotométrica para a determinação do teor de iodeto contido nas formulações farmacêuticas de xaropes de iodeto denominadas IODETO DE POTÁSSIO® (Laboratório TEUTO) e EXPEC® (Laboratório LEGRAND), foram realizadas segundo os procedimentos espectrofotométricos já apresentados, [274], cujos resultados são mostrados na Tabela 11.

Tabela 11: Análise de iodeto de potássio em amostras farmacêuticas pelo método espectrofotométrico [274] e método proposto.

Metodologia espectrofotométrica [274].	Valor nominal* (mol L ⁻¹)	Valor encontrado (mol L ⁻¹)	Correlação (%)
KI [®]	5,00x10 ⁻⁵	5,00x10 ⁻⁵	100 ± 1,4
EXPEC [®]	5,00x10 ⁻⁵	4,95x10 ⁻⁵	99,1 ± 0,5
Metodologia proposta.	Valor nominal* (mol L ⁻¹)	Valor encontrado (mol L ⁻¹)	Correlação (%)
KI [®]	3,00x10 ⁻⁵	3,00x10 ⁻⁵	100 ± 0,2
EXPEC [®]	3,00x10 ⁻⁵	2,94x10 ⁻⁵	98,0 ± 0,3

*= Valor informado pelos fabricantes (TEUTO e LEGRAND), respectivamente.

Uma boa concordância entre os resultados obtidos, considerando valores nominais e índices de correlação de iodeto de potássio segundo ambos métodos analíticos atestam que eletrodos modificados por filmes do poliaminoácido PLL:GA apresentam-se adequados para análise de iodeto nas formulações farmacêuticas.

É possível concluir que a imobilização do polímero PLL:GA na superfície do eletrodo de carbono vítreo permite um aumento do sinal voltamétrico para oxidação de iodeto de pelo menos 10 vezes. O eletrodo modificado possibilitou a construção de uma curva analítica para iodeto em ampla faixa de concentração entre 1,29x10⁻⁵ a 6,93x10⁻⁴ mol L⁻¹. O presente procedimento apresenta bons valores de repetibilidade e a aplicação do sensor, para a direta quantificação do teor de iodeto em formulações farmacêuticas, mostrou-se viável analiticamente.

3.6 – COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO DE IDOXURIDINE SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO POR FILMES DE PLL:GA.

O comportamento voltamétrico do fármaco idoxuridine (IDU), foi investigado em solução tampão B-R em amplo intervalo de pH entre 2,0 a 12,0 sobre eletrodo de carbono vítreo com e sem filmes de PLL:GA, usando as melhores condições experimentais para obtenção dos filmes.

IDU é reduzido sobre eletrodo de carbono vítreo em valores de potencial bastante negativo apenas em $\text{pH} \leq 7,0$. No entanto, IDU não exibe nenhum sinal de redução sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA em valor de pH entre 2,0 a 12,0. Um típico voltamograma cíclico obtido para IDU com eletrodo de carbono vítreo é mostrado na Figura 80.

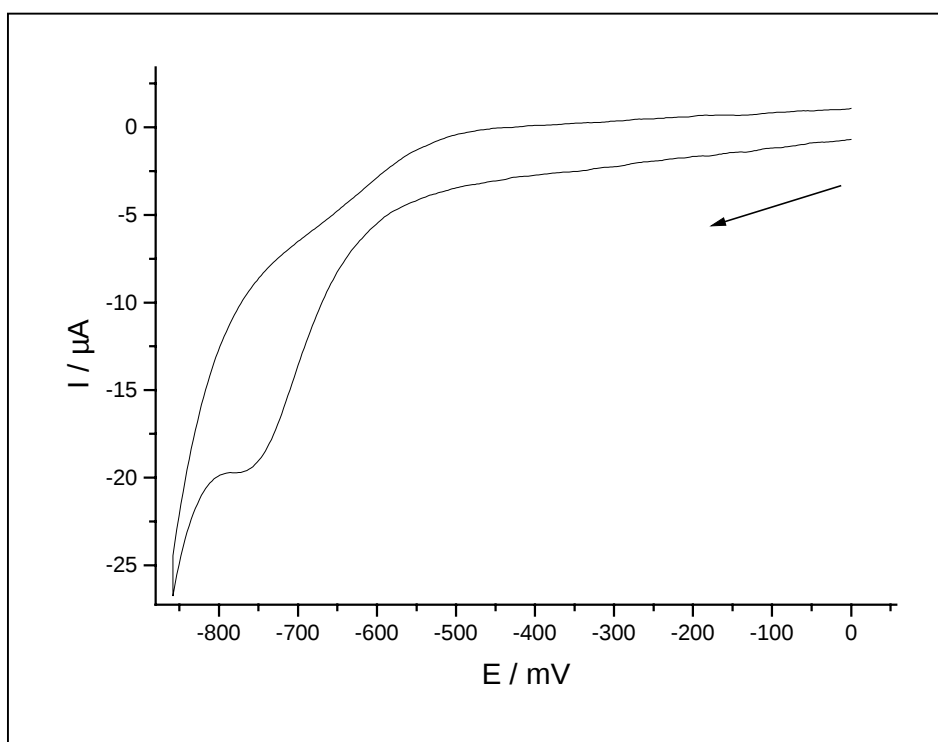


Figura 80: Voltamograma cíclico obtido para a redução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A Figura 80 mostra que o pico de redução de IDU sobre eletrodo de carbono vítreo não apresenta nenhum pico de oxidação na varredura reversa de potencial. Este comportamento foi observado em todos os valores de pH e velocidades de varredura

investigados. Em adição observou-se que o potencial é deslocado para valores mais negativos de potencial com o aumento nos valores de pH. Este comportamento pode ser atribuído a processos de protonação da espécie antes da etapa de transferência de carga [229].

De acordo com a literatura, [223], este comportamento é semelhante àquele observado para redução de IDU sobre eletrodo de mercúrio e envolve a ruptura da ligação iodo-uracil após a transferência de dois elétrons e posterior liberação de iodeto.

Em adição, a oxidação eletroquímica de IDU sobre eletrodo de carbono vítreo com e sem filmes de PLL:GA, foi também investigada em amplos valores de pH (B-R de 2,0 a 12,0) e não mostrou qualquer sinal voltamétrico, como pode ser visto na Figura 81A, curva 1. Por outro lado, quando se efetua a varredura em ampla janela de potencial iniciando-se a varredura em potencial inicial de $-1,0$ até $+1,5$ V observa-se a ocorrência de um pico de oxidação ao redor de $+0,83$ V, conforme mostra a Figura 81B. Deste modo, este comportamento indica que o pico observado na varredura reversa pode ser atribuído à oxidação do produto gerado na redução prévia do fármaco. A Figura 81B confirma o comportamento observado mostrando que a espécie é oxidável em Epa ao redor de $+0,80$ V com redução prévia do fármaco sob potencial de $-1,0$ V. A curva (3) Figura 81A mostra que este sinal aumenta em função do aumento da concentração do fármaco na célula eletroquímica.

De acordo com a literatura, compostos orgânicos halogenados podem sofrer processo de desalogenação por processos eletroquímicos. ADCOCK e colaboradores [275] reportam a redução dos compostos dihaloadamantanes, 1,4-dihalobiciclo[2,2,2]octano e 1,3-dihalobiciclo[1,1,1]pentano, sobre eletrodo de carbono vítreo. De acordo com seus resultados, toda a série dos derivados halogenados estudada é passível de redução irreversível por um processo envolvendo a transferência de dois elétrons com posterior liberação do halogênio e formação de um carbânio. Vários parâmetros sobre o comportamento voltamétrico desta série de compostos foram avaliados, além da análise de produtos obtidos por eletrólise. Em outro trabalho, ADCOCK e colaboradores [276], mostram outros resultados envolvendo o estudo da redução eletroquímica, em eletrodo de carbono vítreo, dos compostos 3-(trimetilistanil)adamantil e 4-(trimetilistanil)biciclo[2,2,2]octil da série dos brometos e iodetos. De forma semelhante aos compostos anteriormente estudados, os autores mostram que o processo redox destes compostos também é irreversível e ocorre em uma

única etapa envolvendo a participação de dois elétrons por mol de molécula com a clivagem da ligação carbono-halogênio.

Outros relatos na literatura, conforme descritos na parte introdutória, mostram que IDU e demais pirimidinas halogenadas podem sofrer liberação de seu halogênio através do emprego de vários processos químicos, [212-221].

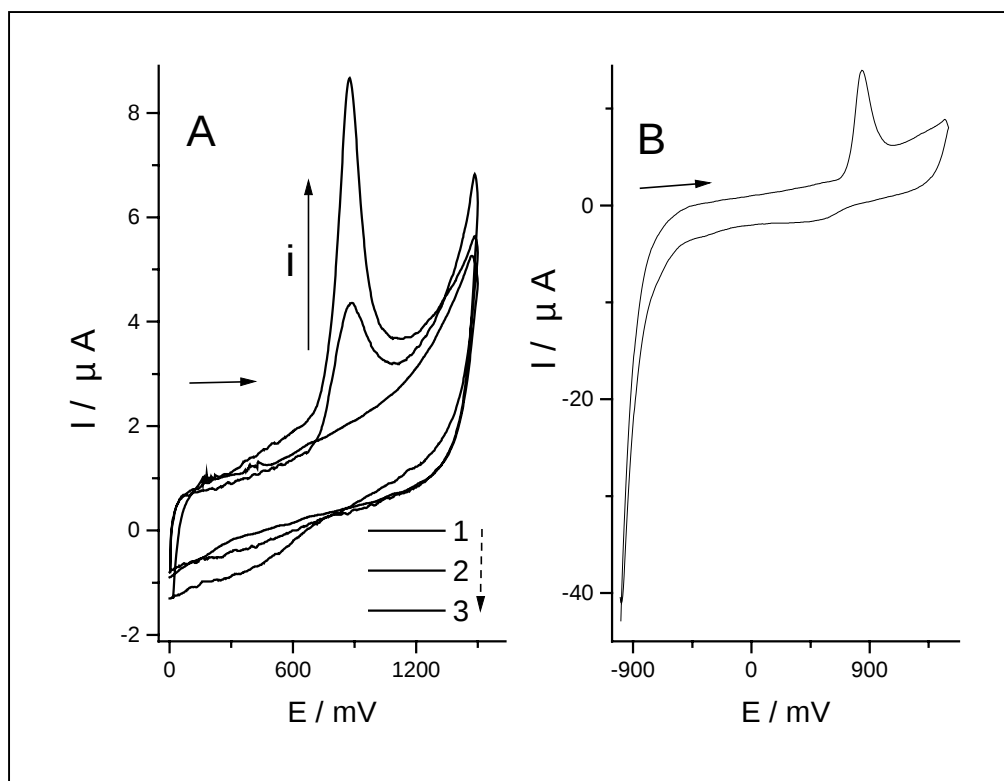


Figura 81A: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de IDU em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PLL:GA. Curvas: (1) $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de IDU; (2) $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ previamente reduzido por 60 s em E_{pc} -1,0 V e (3) IDU $2,00 \times 10^{-3}$ após prévia etapa de redução do composto. (B): Voltamograma cíclico obtido para oxidação de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de IDU em B-R pH 2,0 sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PLL:GA cuja varredura de potencial inicia-se em potencial de -1,0 V. $v=100$ mV s⁻¹.

Diante do exposto, é possível atribuir a onda observada em potencial ao redor de +0,80 V à oxidação de iodeto liberado na redução prévia de IDU em potencial igual a -1,0 V retido na superfície do filme de PLL:GA de modo semelhante ao observado na descrição para oxidação de iodeto. Esta conjectura foi confirmada submetendo-se o eletrodo modificado; para tal, utilizou-se o eletrodo de carbono vítreo com e sem

modificação por filmes de PLL:GA em solução de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU e obtenção de curvas após período prévio de geração de iodeto utilizando-se aplicação de potencial igual a $-0,80 \text{ V}$ durante 120 s . Após esta etapa de redução prévia do fármaco, o potencial de varredura foi varrido no intervalo entre zero a $+1,20 \text{ V}$. Após o registro da curva voltamétrica referente à oxidação de iodeto liberado do IDU, promoveu-se a adição de iodeto de potássio, (KI), diretamente na célula eletroquímica e os respectivos voltamogramas obtidos sobre eletrodo de carbono vítreo com e sem filmes de PLL:GA são mostrados na Figura 82.

A análise dos resultados apresentados na respectiva figura mostra que o produto gerado na redução de IDU e detectado em potencial ao redor de $+0,80 \text{ V}$ na varredura de oxidação é o iodeto proveniente da cisão heterolítica da ligação carbono-haleto na estrutura do fármaco e investigado previamente. A adição de iodeto de potássio na célula eletroquímica promove um aumento da corrente de oxidação da espécie no mesmo potencial anteriormente monitorado. Esta observação pode ser constatada com o eletrodo de carbono vítreo, tanto na ausência, Figura 82A, como na presença do polímero modificador PLL:GA, Figura 82B.

O comportamento eletroquímico observado nos voltamogramas cíclicos para oxidação de iodeto gerado do fármaco IDU em meio ácido com eletrodo de carbono vítreo sem filmes em relação às respostas obtidas com os filmes de PLL:GA mostra um acentuado incremento de corrente quando da sua análise com o eletrodo modificado. Um deslocamento de 84 mV pode ser observado entre os valores de potencial de pico anódico para a oxidação de iodeto gerado de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU com eletrodo de carbono vítreo sem e com a superfície modificada por PLL:GA. Uma amplificação do sinal na ordem de 2,7 vezes pode ser observada quando a análise é realizada com o eletrodo de trabalho modificado o qual poderia ser vantajoso no estudo do fármaco.

Uma vez que IDU apresenta indícios de que pode ser analisado indiretamente através de técnicas voltamétricas com eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA através do monitoramento de um dos seus produtos gerados a partir da aplicação de um potencial prévio de redução, investigou-se a seguir, a possibilidade de se obter as melhores condições analíticas para seu estudo.

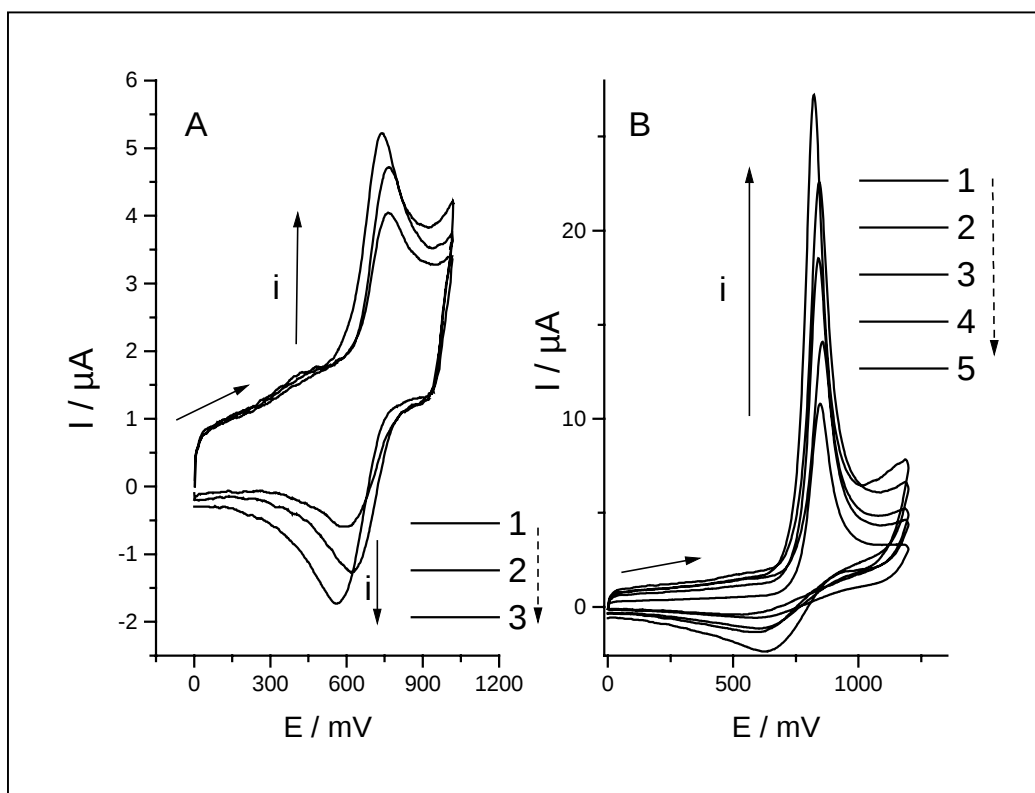


Figura 82A: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação indireta de IDU em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo. Curvas: (1) $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU; (2) adição de $1,00 \times 10^{-5}$ de KI e (3) adição $9,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de KI, respectivamente. (B): oxidação sobre eletrodo modificado por filmes de PLL:GA. Curva: (1) $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU; adição de (2) $1,00 \times 10^{-5}$; (3) $3,00 \times 10^{-5}$; (4) $6,00 \times 10^{-5}$ e (5) $9,00 \times 10^{-5}$ (mol L^{-1} de KI), respectivamente. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

3.6.1 – EFEITO DA APLICAÇÃO DE POTENCIAL DE ACÚMULO.

Considerando que a redução prévia do fármaco promove a clivagem da ligação halogênio-uracil, com posterior liberação de iodeto que pode ser eletroquimicamente detectado na varredura positiva de potencial através da utilização do eletrodo modificado com PLL:GA, investigou-se a seguir, o efeito do tempo de acúmulo de iodeto gerado na redução de IDU sobre a intensidade do pico monitorado em Epa de +0,80 V. O ensaio foi conduzido na célula eletroquímica contendo $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU em solução B-R pH 2,0 reduzida sob potencial de -0,80 V durante o intervalo de

tempo entre 30 a 240 s sob agitação, pausa de 10 s e registros dos voltamogramas entre zero a +1,2 V. Os resultados deste ensaio são mostrados na Figura 83.

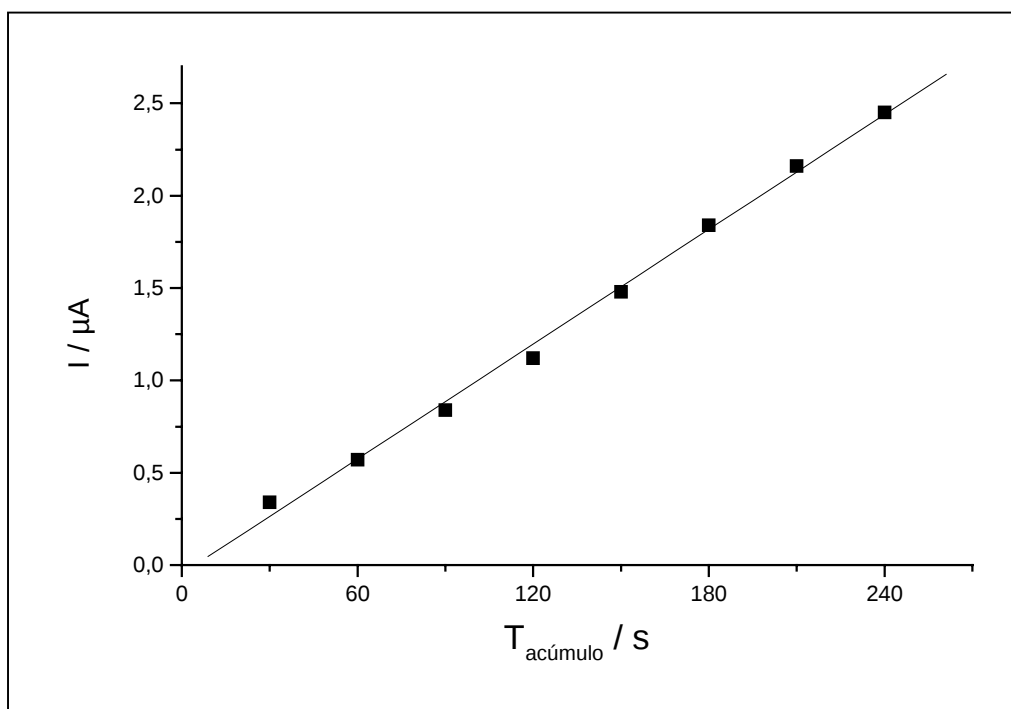


Figura 83: Efeito do tempo de acúmulo obtido para oxidação de iodeto gerado de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU em B-R pH 2,0 após aplicação de potencial de acúmulo de $-0,80 \text{ V}$ com eletrodo modificado com filmes de PLL:GA.

A análise da figura acima mostra que a intensidade de corrente aumenta com o tempo de acúmulo, em potencial de $-0,80 \text{ V}$. Isto é indicativo de que o tempo de redução do fármaco tem influência direta sobre a quantidade de iodeto liberado. Neste aspecto, escolheu-se o tempo de acúmulo de 120 s como tempo de acúmulo do fármaco sem saturação dos sítios dos filmes de PLL:GA.

O efeito do potencial de redução do fármaco sobre a intensidade do pico correspondente à oxidação de iodeto da redução de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU foi também investigado no intervalo de $-0,40$ a $-1,2 \text{ V}$ sob tempo de acúmulo entre 30 a 240 s. As respectivas curvas obtidas em potenciais de $-0,60$, $-0,70$ e $-1,2 \text{ V}$ são mostradas na Figura 84.

Os resultados mostram que em valores de potencial correspondentes a $-0,40 \text{ V}$, o fármaco não é reduzido e nenhum sinal voltamétrico para oxidação de iodeto é observado. No entanto, a partir de $-0,60 \text{ V}$ observa-se a liberação gradativa de iodeto em

função do tempo de pré-eletrólise. O valor de potencial de $-0,80$ V foi escolhido como potencial ótimo para redução do fármaco por apresentar melhores resultados em relação à obtenção de voltamogramas cíclicos com melhor resolução e o sistema não apresenta rápida saturação do filme, como verificado em valores maiores de potencial. Entretanto, em baixas concentrações do fármaco poder-se-ia ampliar o limite de detecção utilizando-se tempos de redução mais longos.

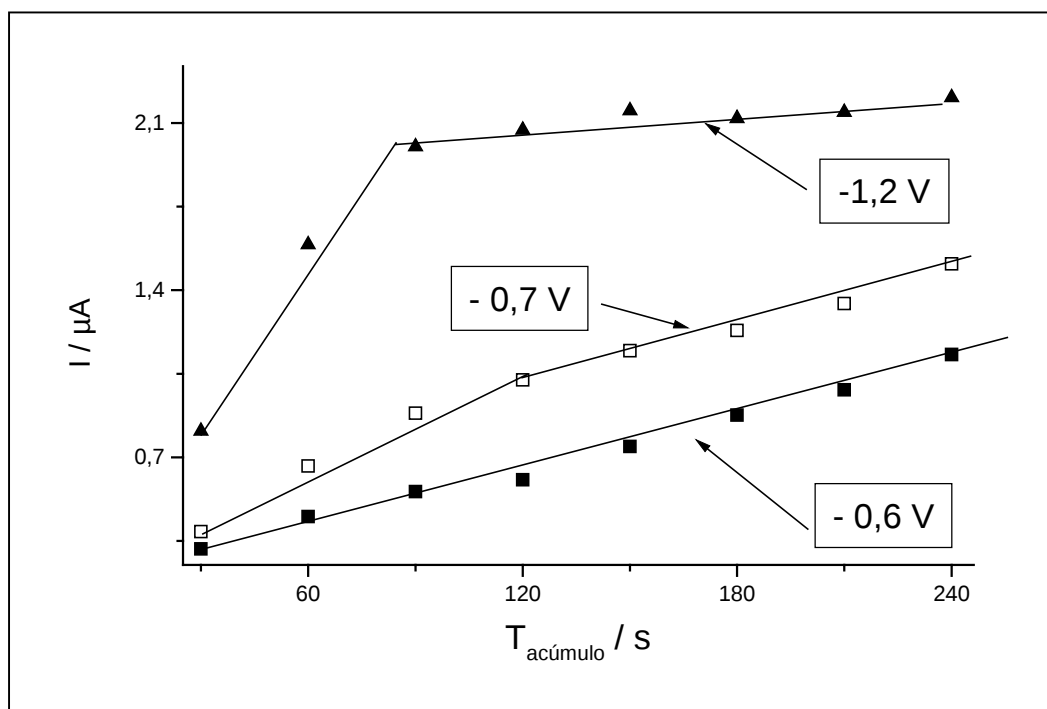


Figura 84: Efeito da aplicação de potencial de acúmulo para a geração de iodeto na amostra de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} de IDU em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA.

3.6.2 – EFEITO DA VARIAÇÃO DE pH.

A seguir, investigou-se o efeito da variação de pH no processo de oxidação do iodeto gerado a partir da redução do fármaco IDU. Os experimentos foram conduzidos através da aplicação de potencial de redução de $-0,80$ V diretamente na célula eletroquímica contendo $1,00 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} de IDU durante 120 s em solução B-R com eletrodo de carbono vítreo com e sem filmes de PLL:GA. Os resultados são mostrados

na Figura 85. Os respectivos dados obtidos em ambos eletrodos são comparados na Tabela 12.

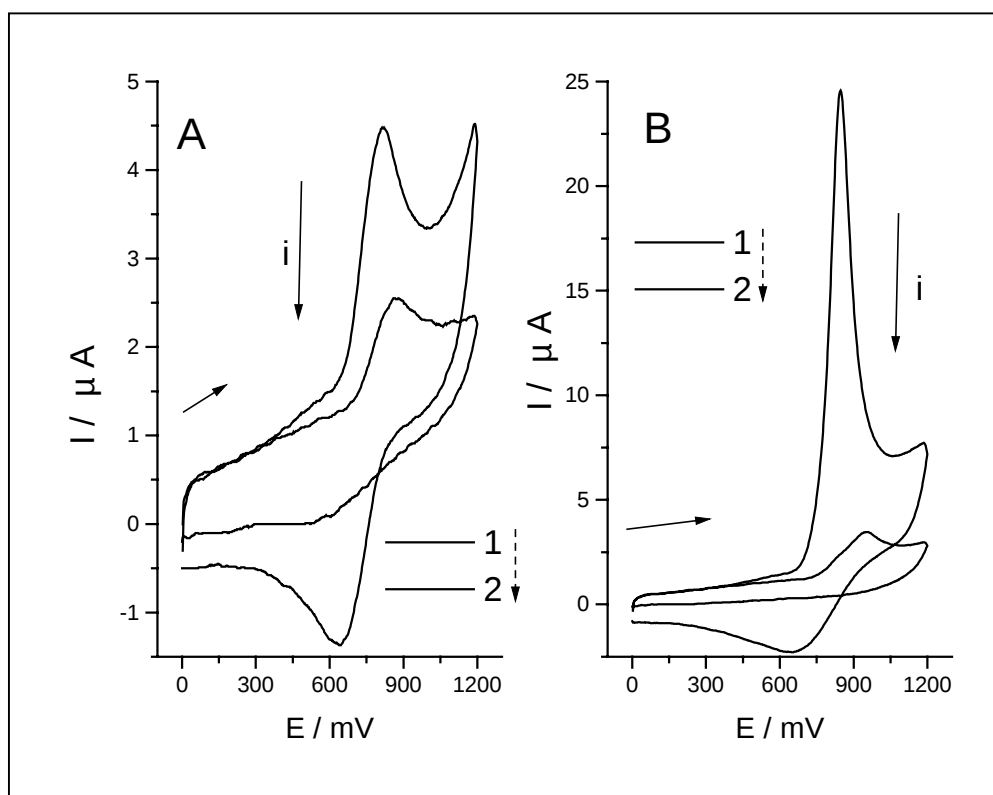


Figura 85: Voltamogramas cíclicos para oxidação de iodeto obtidos após redução prévia sob $E_{pc} -0,80V$ durante 120 s sobre eletrodo de carbono vítreo sem filme (A). Curvas: (1): oxidação de IDU em pH 2,0 sob eletrodo de carbono vítreo e (2): oxidação de IDU em pH 3,0 sob eletrodo de carbono vítreo. (B): eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PLL:GA. Curvas: (1) oxidação de IDU em pH 2,0 e (2) oxidação de IDU em pH 5,0. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A análise dos resultados apresentados na Figura 85 mostra curvas bem definidas para a detecção de iodeto gerado eletroquimicamente após redução do fármaco IDU em valor de pH 2,0. A reversibilidade do sinal detectado para oxidação de iodeto é maior em eletrodos sem filmes e baixos valores de pH, como verificado previamente para oxidação de iodeto. A corrente indica maior intensidade em valor de pH 2,0 seguido de diminuição em valores de pH superiores. O Potencial de pico para ambos os picos é nitidamente dependente da variação de pH com deslocamento para valores mais positivos de potencial com a diminuição na concentração hidrogeniônica, (como mostra

a Tabela 12), mostrando que o processo redox do iodeto liberado do fármaco é idêntico àquele investigado previamente para amostras de solução padrão de iodeto.

Assim, em ambos, eletrodo modificado ou sem modificação, o melhor valor de pH para análise do fármaco via oxidação de iodeto liberado foi pH 2,0.

Tabela 12: Efeito do pH sobre a oxidação de iodeto liberado na redução prévia de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU sobre eletrodo de carbono vítreo com e sem filme.

$E_r = -0,80 \text{ V}$ e $t = 120 \text{ s}$.

	Eletrodo sem filme		Eletrodo com filme de PLL:GA.	
pH	Pico anódico. E (mV).	Pico anódico. i (μA).	Pico anódico. E (mV).	Pico anódico. i (μA).
2,0	818	2,61	848	20,6
3,0	866	0,810	894	6,33
4,0	872	1,14	920	3,25
5,	883	0,680	950	1,38
6,0	950	0,350	980	0,310

A investigação sobre a influência na mudança na velocidade de varredura, (v), sobre o processo redox do iodeto gerado a partir do fármaco IDU, através dos procedimentos já descritos, foi avaliada com eletrodo de carbono vítreo sem os filmes de PLL:GA no intervalo de v entre 10 a 200 mV s^{-1} . Os resultados obtidos para os experimentos mostraram similaridades em relação àqueles obtidos para a oxidação de iodeto mostrado e discutido previamente em capítulo precedente. De qualquer forma, estes resultados são apresentados na Tabela A1, no apêndice.

Contudo, os resultados obtidos do mesmo estudo, referente ao efeito da influência da mudança na velocidade de varredura de potencial para a oxidação de iodeto sobre eletrodo recobertos por filmes de PLL:GA mostrou peculiaridades, como mostra a Figura 86.

Os resultados obtidos deste estudo são mostrados na Tabela 13.

Observa-se que a corrente de pico obtida para a leitura do sinal de oxidação de iodeto gerado de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU nas condições acima descritas é governado por adsorção, [262], pois a relação é linear, como mostra a Figura 86B apenas no

intervalo de v entre 10 a 140 mV s^{-1} seguido de uma nova inclinação da curva em valores superiores de v . A equação correspondente à curva descrita pode ser representada por: $i_{pa} (\mu\text{A}) = 0,152 + 0,103 v$, $R = 0,997$, ($n=12$), onde v = velocidade de varredura em mV s^{-1} .

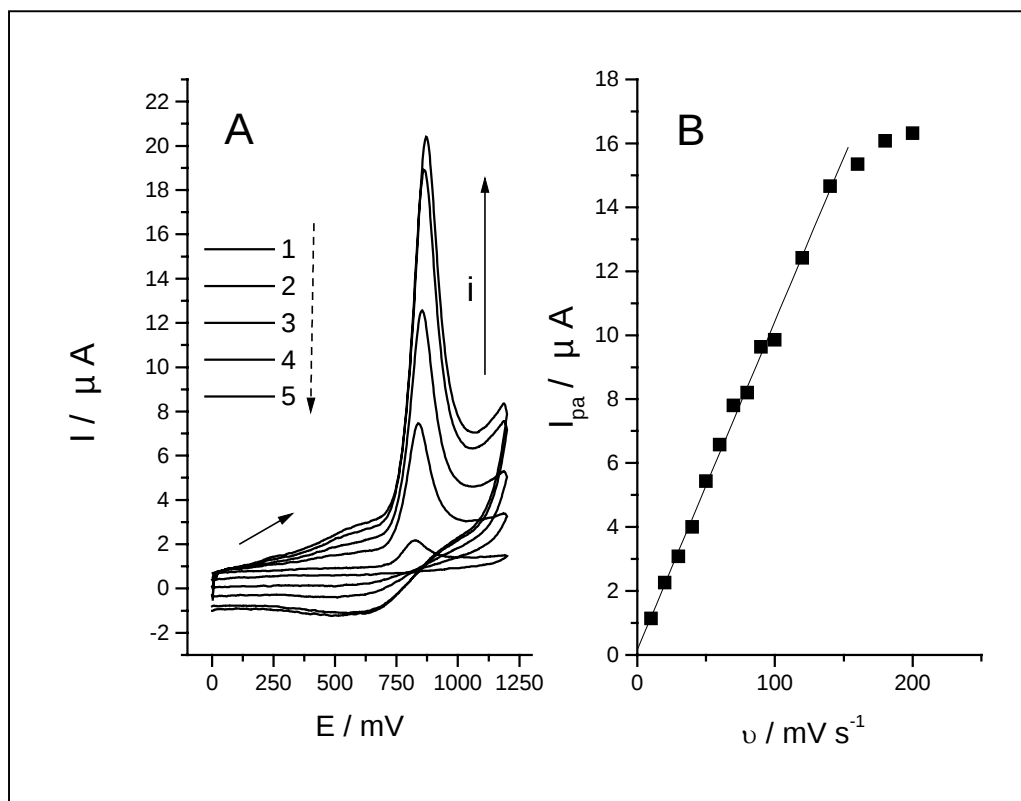


Figura 86A: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de iodeto gerado após redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU em B-R pH 2,0 sob $E = -0,80 \text{ V}$ e $T = 120 \text{ s}$ sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA. Curvas: (1) 10; (2) 50; (3) 100; (4) 160 e (5) 200 mV s^{-1} . (B): Efeito da v sobre a intensidade de corrente de pico anódica.

Considerando que os resultados acima exibidos demonstram que o eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA pode ser utilizado para pré-concentração de iodeto liberado durante a redução da droga, investigou-se a seguir, o efeito na mudança da composição dos filmes de PLL:GA com o objetivo de definir se o teor de grupos amino existentes na cadeia polimérica estariam contribuindo para promover a retenção de iodeto liberado no processo. O estudo foi realizado através da transferência de misturas de iguais volumes de PLL e GA que possibilitaria a obtenção de filmes com as

seguintes composições: PLL(50,0%):GA(50,0%) m/m; PLL(75,0%):GA(25,0%) m/m; PLL(95,0%):GA(5,00%) m/m e PLL(97,5%):GA(2,50%) m/m, conforme descrito em capítulo precedente.

Tabela 13: Parâmetros extraídos dos voltamogramas cíclicos obtidos da oxidação de iodeto gerado de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de IDU em B-R pH 2,0 em E= -0,80 V e t=120s sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA.

ν (mV s ⁻¹).	Pico anódico. E (mV)	Pico anódico. i (μA)	$i_{pa}/\nu^{1/2}$ (μA.mV ^{-1/2} s ^{-1/2}).
10	825	1,14	0,360
20	825	2,26	0,505
30	832	3,08	0,562
40	836	4,00	0,632
50	841	5,43	0,768
60	844	6,57	0,848
70	846	7,80	0,932
80	848	8,20	0,917
90	851	9,64	1,02
100	855	9,86	0,986
120	857	12,4	1,13
140	860	14,7	1,24
160	864	15,3	1,21
180	869	16,1	1,20
200	871	16,3	1,15

Voltamogramas obtidos para cada eletrodo contendo composições de PLL:GA com diferentes proporções forma imersos diretamente em célula voltamétrica contendo $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de IDU, sujeitos a pré-concentração durante 120s a -0,80 V são mostrados na Figura 87.

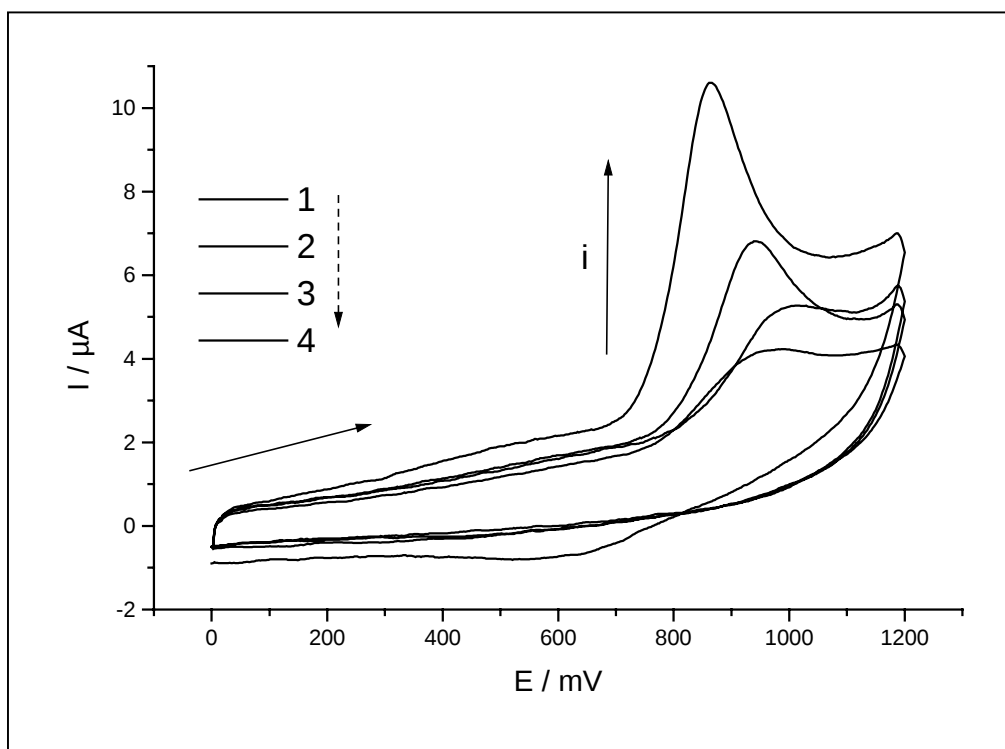


Figura 87: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de iodeto gerado após redução de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU sob $E = -0,80 \text{ V}$ e T de 120 em B-R pH 2,0. Curvas: (1) PLL (50,0%):GA(50,0%) m/m; (2) PLL(75,0%):GA (25,0%) m/m; (3) PLL(95,0%):GA(5,00%) m/m e (4) PLL(97,5%):GA(2,50%) m/m. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A análise dos resultados obtidos mostra uma sensível melhora nas leituras de corrente à medida que se disponibiliza mais sítios amino nos filmes de PLL:GA, ou seja, menor proporção de PLL:GA 97,5:2,50% m/m é usada. Assim, pode-se concluir que a oxidação de iodeto sobre eletrodos modificados com filmes de PLL:GA pode ser atribuído à interação entre grupos amino existentes na cadeia do poliaminoácido e o ânion iodeto de forma semelhante a observada para iodeto padrão.

3.6.3 – CURVA ANALÍTICA E DETERMINAÇÃO DE IDU EM URINA HUMANA.

A seguir investigou-se a influência da concentração de IDU sobre as correntes de pico anódico para monitoramento de iodeto liberado em solução tampão B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo com e sem os filmes de PLL:GA. Os experimentos foram conduzidos através do mesmo modelo anteriormente descrito para geração de

iodeto, usando as melhores condições experimentais definidas para liberação e oxidação de iodeto. Os resultados obtidos deste estudo são mostrados na Figura 88 para eletrodo com filme do poliaminoácido.

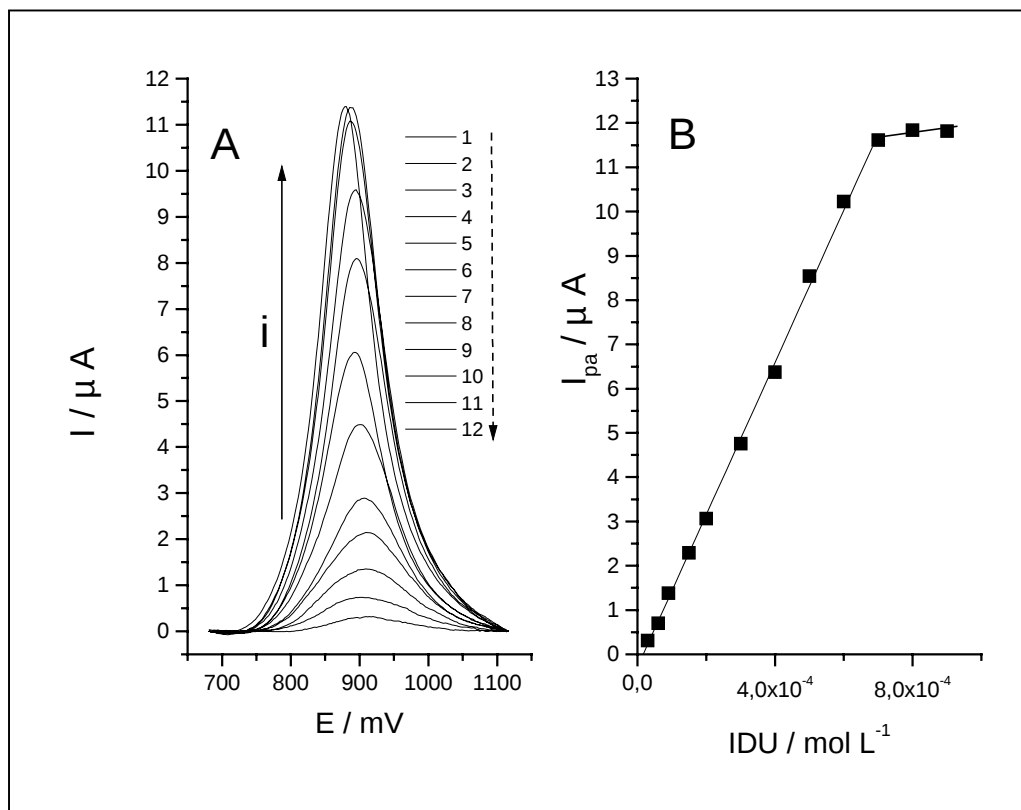


Figura 88A: Voltamogramas cíclicos para oxidação de iodeto gerado do IDU em B-R pH 2,0 sob E_p $-0,80 V$ e T de 120s sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PLL:GA. Curvas: (1) 0,300; (2) 0,600; (3) 0,900; (4) 1,50; (5) 2,00; (6) 3,00; (7) 4,00; (8) 5,00; (9) 6,00; (10) 7,00; (11) 8,00 e (12) 9,00($\times 10^{-4}$) $mol L^{-1}$ de IDU. (B): correspondente curva analítica. $v = 100 mV^{-1}$.

Uma curva analítica no intervalo de concentração entre $3,00 \times 10^{-5}$ a $7,00 \times 10^{-4} mol L^{-1}$ foi obtida segundo a equação: $i_{pa} (\mu A) = -0,290 + 1,72 \times 10^3 C$, $R = 0,999$, ($n=10$), onde C concentração ($mol L^{-1}$). Em concentrações superiores o sinal apresenta indícios de saturação dos filmes. O limite de determinação foi obtido em $9,00 \times 10^{-6} mol L^{-1}$ segundo a relação sinal ruído.

Outros experimentos foram realizados a fim de baixar os limites de determinação de IDU, tais como, a aplicação de tempos maiores de condicionamento, utilização de onda quadrada e pulso diferencial e a realização de hidrólise ácida do

composto, porém os resultados não foram satisfatórios. De qualquer forma, a comparação dos resultados para a determinação de IDU através da utilização de eletrodos modificados com PLL:GA para a detecção do iodeto gerado a partir do IDU mostrou que o método é mais sensível do que o único trabalho eletroquímico disponível na literatura envolvendo a aplicação de polarografia de pulso diferencial com eletrodo de mercúrio para a quantificação do fármaco que reporta uma curva analítica linear no intervalo de $1,00$ a $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ na presença de gelatina para minimizar os efeitos indesejáveis de adsorção que a droga apresenta sobre o eletrodo de mercúrio, [223]. Desta forma, o presente ensaio mostrou maior sensibilidade e versatilidade em relação ao método polarográfico.

A aplicação do mesmo procedimento para a construção de curva analítica para o monitoramento de IDU com eletrodo de carbono vítreo, desta vez sem os filmes de PLL:GA mostrou linearidade somente na faixa de concentração no intervalo de $3,00$ a $9,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, segundo a equação: $i_{pa}(\mu\text{A}) = -0,280 + 3,86 \times 10^3 C$, $R = 0,997$, ($n=7$), onde C concentração (mol L^{-1}).

A estabilidade ou número de medidas possíveis de ser(em) realizada(os) sobre o mesmo filme de PLL:GA para o monitoramento do iodeto gerado do composto IDU, foi aferido(a), através de registros voltamétricos em $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de IDU em B-R pH 2,0 através da aplicação de potencial e tempo de condicionamento de $-0,80 \text{ V}$ por 120s. Os resultados, expressos em termos estatísticos, [231], mostraram valores de corrente (μA) de $6,08 \pm 0,25$ com coeficiente de variação de 4,2% para $n=20$. Estes valores mostram que o dispositivo proposto apresenta condições vantajosas para análise do composto IDU.

A aplicação da metodologia proposta para a determinação de IDU em urina humana foi realizada segundo o método das adições do padrão, [231]. O procedimento foi conduzido através da tomada de uma alíquota de um mL de urina recém coleta e adicionada a um balão volumétrico de 10 mL. Posteriormente, a massa de 35,4 mg, precisamente pesada, de IDU foi adicionada ao balão fornecendo uma solução de IDU igual a $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, tomou-se uma alíquota de 60 μL desta solução que foi diretamente adicionada à célula eletroquímica seguido da obtenção da curva voltamétrica. Posteriormente, alíquotas de solução do padrão de IDU foram adicionadas sobre a solução já existente na célula com posterior registro das curvas voltamétricas. Os resultados obtidos deste estudo são mostrados na Figura 89. A corrente de pico

aumenta com a adição do padrão de IDU, como mostra os voltamogramas na respectiva Figura.

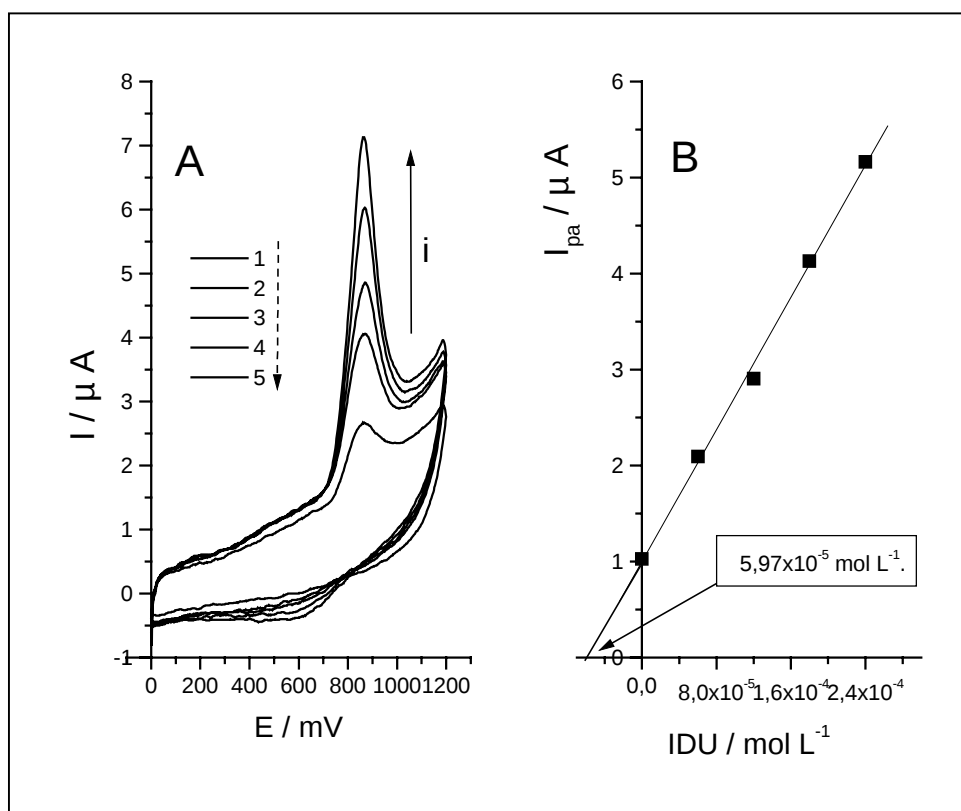


Figura 89A: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de iodeto gerado para urina humana fortificada com $6,00 \times 10^{-5}$ de IDU (curva 1) sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA sob $E = -0,80 V$ e T de 120s após adições do padrão de (2) 0,600; (3) 1,20; (4) 1,80 e (5) $2,40 (\times 10^{-4} mol L^{-1})$, respectivamente. (B)= método de adição padrão correspondente. $v = 100 mV s^{-1}$.

A análise dos resultados mostrados na Figura 89A mostra que os componentes endógenos contidos na urina humana não interferem no presente ensaio. Os valores obtidos no ensaio com as amostras simuladas do composto apresentaram índices de correlação de $99,5 \pm 0,4$ e coeficiente de variação de 0,4% para ($n=5$). Estes resultados confirmam que o método proposto é viável para determinação de IDU em urina humana através da oxidação do iodeto liberado eletroquimicamente pelo fármaco.

Em seguida, aplicou-se método espectrofotométrico para a determinação de IDU e validação do procedimento descrito para análise do fármaco segundo metodologia

descrita com a utilização de eletrodo modificado com PLL:GA. O ensaio foi conduzido utilizando-se a propriedade de absorção espectral na região do ultravioleta que o composto apresenta, [206,210,212,215], em solução tampão B-R pH 2,0. Os resultados deste estudo são mostrados na Figura 90.

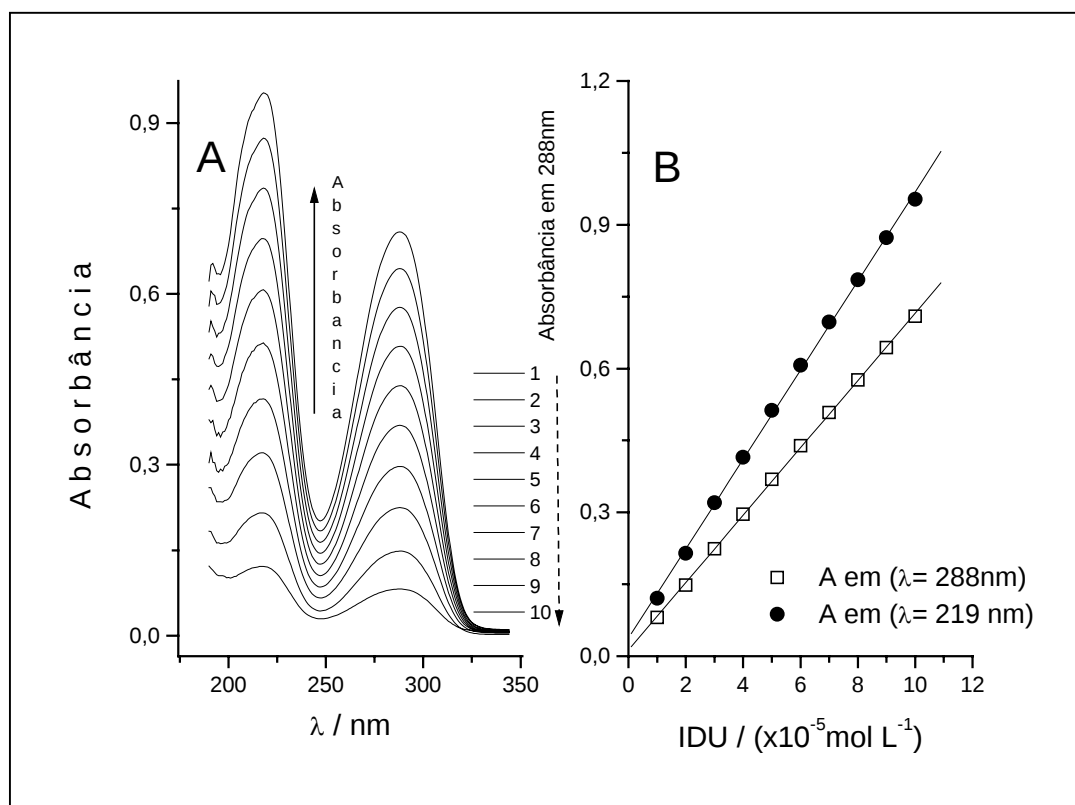


Figura 90A: Espectros de absorção UV de IDU em B-R pH 2,0. Curvas: (1) 1,00; (2) 2,00; (3) 3,00; (4) 4,00; (5) 5,00; (6) 6,00; (7) 7,00; (8) 8,00; (9) 9,00; (10) 10,0 ($\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). (B)= respectivas curvas analíticas para IDU.

A análise dos resultados obtidos no presente estudo mostra que o composto apresenta duas bandas de absorção em λ_{max} de 288 e 219 nm, Figura 90A. Ambos sinais aumentam em função do aumento na concentração de IDU. Os valores de absorção obtidos em função da concentração da droga foram graficados e são mostrados na Figura 90B. Excelente linearidade pode ser observada na faixa de concentração entre $1,00$ a $10,0 (\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1})$ para ambos picos que podem ser representado pelas seguintes equações: $(A_{288\text{nm}}) = 0,013 + 0,070 C$, $R = 0,999$, $(n=10)$, e $(A_{219\text{nm}}) = 0,038 + 0,093 C$, $R = 0,999$, $(n=10)$ onde C concentração (mol L^{-1}).

A aplicação do presente ensaio para a quantificação de IDU em urina humana foi realizada através da utilização do mesmo modelo descrito para a construção de uma curva analítica para o composto utilizando o método espectrofotométrico. Os resultados obtidos da aplicação do método das adições do padrão, [231], são mostrados na Figura 91.

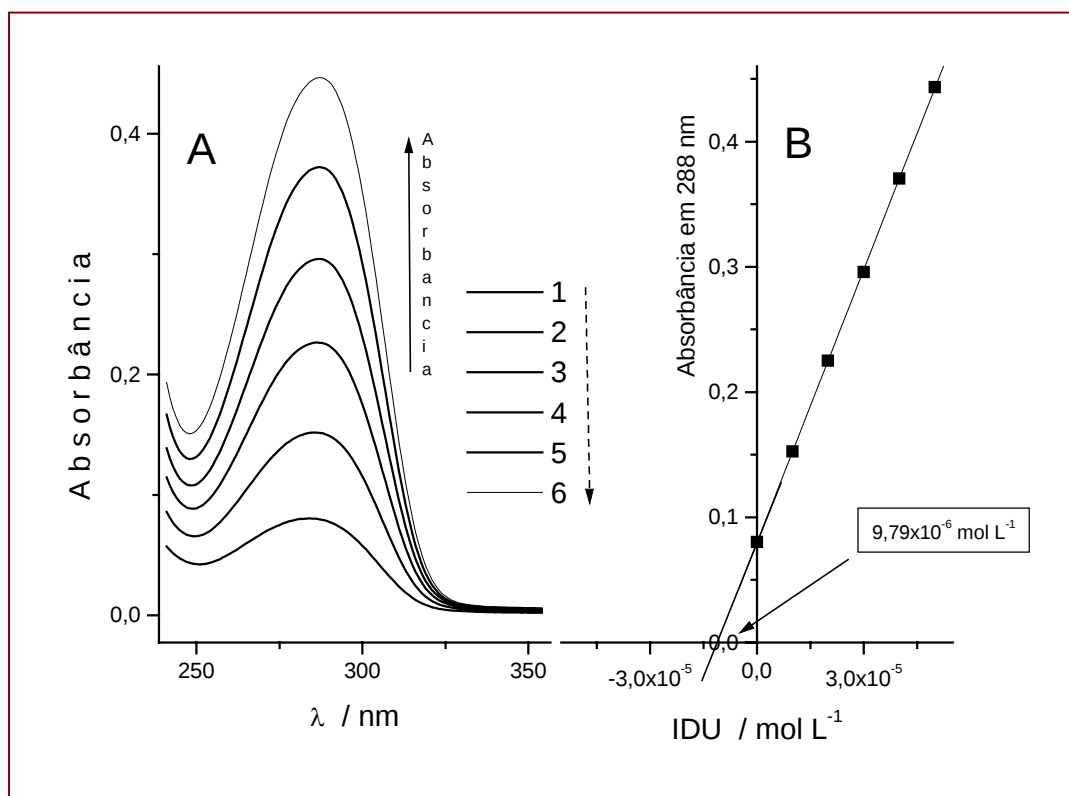


Figura 91A: Espectros de absorção do IDU. Curvas: (1) $1,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de IDU em urina. Adições de IDU: (2) 1,00; (3) 2,00; (4) 3,00; (5) 4,00 e (6) 5,00 ($\times 10^{-5}$ mol L⁻¹). (B): Método de adição padrão correspondente.

Os resultados obtidos reportam valores de recuperação de $97,9\% \pm 1,25$ com coeficiente de variação igual a 1,3% entre as medidas. A equação correspondente à curva mostrada na Figura 91B pode ser expressa pela equação: $A_{288\text{nm}} = 0,079 + 7,25 \times 10^3 C$, $R = 0,999$, ($n=6$), onde C concentração em mol L⁻¹.

O presente trabalho descreve um método sensível, seletivo, rápido e confiável para o monitoramento do antiviral idoxuridine em solução aquosa e urina humana através da oxidação de iodeto liberado após aplicação de potencial e tempo de condicionamento da amostra. A curva de calibração obtida no referido ensaio apresenta

maior sensibilidade que a metodologia polarográfica de pulso diferencial utilizando eletrodo de mercúrio descrita na literatura. A aplicação do método proposto em urina humana apresentou bons valores de recuperação mostrando a potencialidade do ensaio. A metodologia pode ser aplicada na presença de alguns haletos, tais como, fluoreto, cloreto e brometo, sem qualquer interferência. Em adição, os resultados obtidos segundo ensaio espectrofotométrico mostraram bons níveis de concordância em relação àqueles obtidos segundo a metodologia proposta para determinação de IDU em urina humana com eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA.

Os resultados obtidos do presente trabalho mostraram que a redução prévia do antiviral IDU sobre eletrodo modificado com PLL:GA é capaz de promover a desalogenação do fármaco e conseqüentemente a liberação intacta da base nitrogenada uracil e do terminal deoxiribose na estrutura matriz do composto.

Estudos prévios [277], mostram que o polímero poliácido láctico, (PAL), é capaz de formar um conjugado com o antiviral IDU via reação de acilação de um dos grupos hidroxil presentes na estrutura glicosídica e acoplamento do polímero através de um terminal carboxilato. Assim, a formação deste conjugado permite a liberação gradativa de IDU, possibilitando um maior controle nas etapas de dosagem e subsequente redução de efeitos colaterais alterando a sua distribuição no sangue e melhorando a sua eficiência. A liberação gradativa de IDU no conjugado foi monitorada utilizando-se técnicas cromatográficas de alta resolução (HPLC) e espectrofotométricas na região do ultravioleta [277].

No entanto, os resultados do presente trabalho, indicam que, embora o poliaminoácido possa ser utilizado com sucesso na pré-concentração do fármaco, sua aplicação na construção de sistemas de liberação gradativa de drogas é limitada. Reações usando eletrodos modificados por filmes de PLL:GA com o composto IDU e subsequente imobilização na superfície do eletrodo de carbono vítreo mostrou perda do íon haleto durante os ensaios eletroquímicos. Deste modo, considerando-se que sistemas ideais para liberação gradativa de drogas exigiriam sistemas que liberem integralmente o fármaco e não apenas partes de sua estrutura, o sistema não se mostra adequado para esta proposta.

PARTE

“B”

ARRANJOS DE

NANO

ELETRODOS.

CAPÍTULO 3: RESULTADOS E DISCUSSÃO.

3.1 – CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DAS MEMBRANAS DE POLICARBONADO COBERTAS POR OURO.

A Figura 6 mostra a comparação de superfície entre o aspecto das membranas de polycarbonato virgem de 30 nm e aquela obtida após realização de processo de deposição de ouro via método “eletroless” em seus nanoporos, como descrito na parte experimental.



Figura 6: Foto de membranas de polycarbonato OSMONICS de 30 nm. Imagem da esquerda: membrana virgem e da direita: idêntica membrana obtida após deposição de ouro via método “electroless”.

Como observado, a realização do processo de deposição de ouro nos poros e na superfície da membrana matriz mantém inalteradas suas características originais, diferindo entre si, somente no ganho de peso devido ao depósito de ouro. Os estudos a seguir foram conduzidos através do corte de pequenos pedaços da membrana dourada e com a utilização de processos de extração de ouro das camadas superficiais.

3.1.1 – CARACTERIZAÇÃO MICROSCÓPICA VIA ANÁLISE MEV.

Os estudos morfológicos característicos destas membranas de policarbonato após depósito de ouro via método “electroless” nos poros da matriz hospedeira foram realizados pelo grupo de pesquisa de MARTIN e colaboradores [1,18,19].

A aplicação da técnica de varredura eletrônica de superfície (MEV), é comumente utilizada para avaliar superfícies de amostras sólidas com a finalidade de obter informações morfológicas e topográficas dos nanomateriais depositados após procedimento de redução de ouro no interior dos nanocanais das membranas. Para a realização desta análise, as amostras foram submetidas à prévia extração do ouro superficial de ambas as faces da membrana polimérica.

Este estudo foi conduzido em membranas de policarbonato de 30 nm obtidas de dois diferentes fornecedores: OSMONICS e SPI PORE. Investigação complementar foi conduzida para comparar o perfil das imagens MEV utilizando membranas de policarbonato de diferente porosidade de 30 e 220 nm. Os resultados obtidos para a membrana OSMONICS de 30 nm são mostrados na Figura 7.

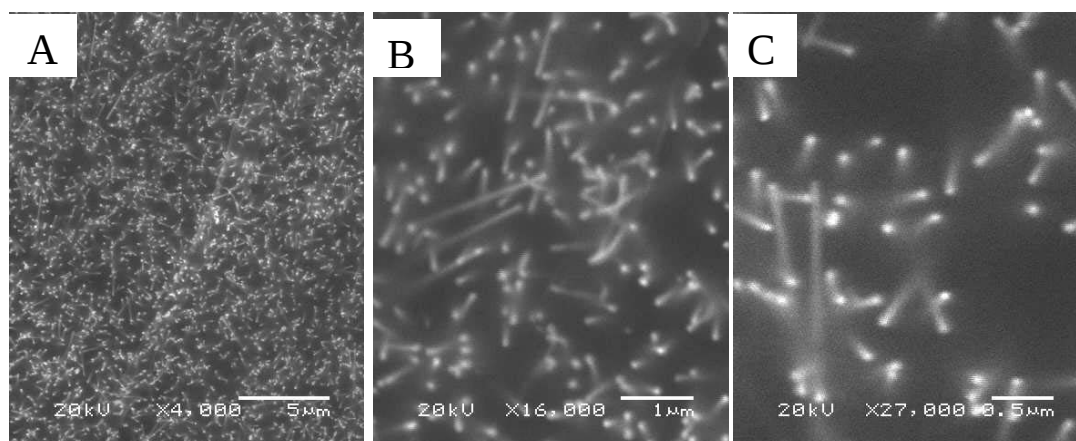


Figura 7: Imagens MEV de uma membrana OSMONICS 30 nm dourada pelo processo de deposição “electroless”. As micrografias apresentam magnitudes de $4,00 \times 10^3$ em (A); $1,60 \times 10^4$ em (B) e $2,70 \times 10^4$ em (C) vezes com uma energia de 20 keV.

A análise da Figura 7A mostra diversos pontos destacados na imagem. Estes pontos representam o preenchimento dos nanocanais da matriz polimérica com ouro elementar. Através da imagem é possível observar que a membrana apresenta uma alta porosidade aleatoriamente distribuída devido ao próprio processo “track-etch” de obtenção dos nanoporos. Uma melhor aproximação desta imagem é mostrada na Figura

7B cuja imagem confirma o diagnóstico anteriormente realizado sobre a distribuição das nanofibras no interior da matriz. Uma análise mais criteriosa permite observar que, com o preenchimento dos nanocanais, fica mais evidente que a obtenção dos poros ocorre, majoritariamente, quase perpendicularmente (trajetória oblíqua) ao plano da membrana polimérica. Todavia, a observação de alguns “cometas” na matriz possibilita deduzir que alguns canais apresentam-se de forma transversal, com um ângulo de aproximadamente 30° , conforme discutido previamente. Através deste estudo foi possível calcular a porosidade da referida membrana. Um valor médio de $6,20 \pm 0,200 \times 10^8$ ($n=3$) poros por centímetro quadrado foi calculado contando os nanodiscos sobre uma superfície de $145 \mu\text{m}^2$. Este valor está muito próximo daquele encontrado na literatura que reporta um valor de $6,0 \times 10^8$ poros por centímetro quadrado para as membranas de 30 nm [1]. Para efeito de uma melhor visualização das nanofibras existentes no interior da membrana hospedeira, obteve-se imagem MEV com amplificação no valor de $2,70 \times 10^4$, Figura 7C.

Os resultados encontrados das análises MEV para a membrana SPI PORE obtidos através do mesmo processo de deposição de ouro nos canais de 30 nm são mostrados na Figura 8.

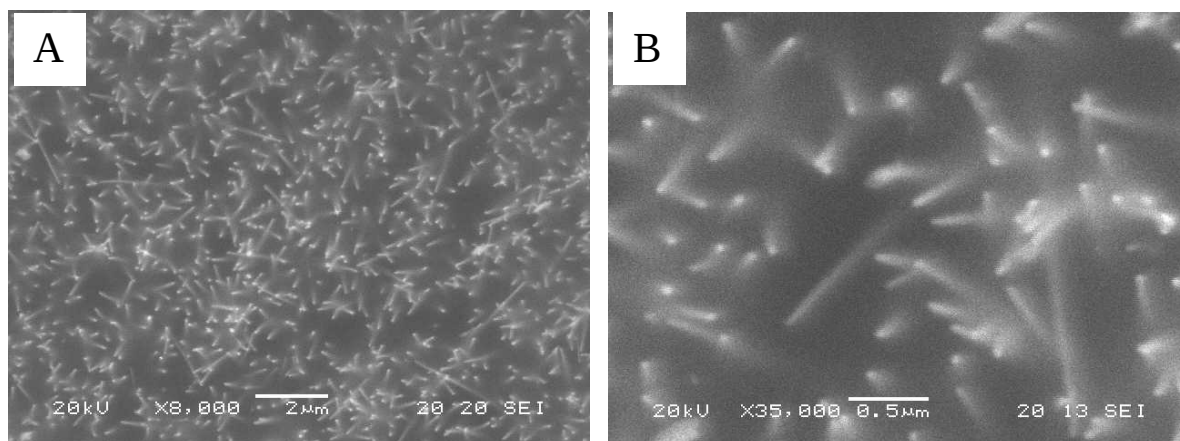


Figura 8: Imagens MEV de uma membrana SPI PORE 30 nm dourada através de processo de deposição “electroless”. As micrografias apresentam uma magnitude de $8,00 \times 10^3$ em (A) e $3,50 \times 10^4$ em (B) vezes com uma energia de 20 keV.

A comparação dos resultados obtidos com a membrana SPI PORE 30 nm se assemelha àqueles encontrados para a membrana OSMONICS 30 nm. O perfil das imagens MEV apresenta igual dispersão dos nanofios de ouro no interior da membrana

e a ocorrência de “cometas” em toda a sua extensão. A comparação de iguais resultados permite concluir que, independentemente da origem da matriz hospedeira, o próprio processo de obtenção dos nanocanais (processo “track-etch”) é o responsável pela obtenção de poros não perpendiculares ao plano da membrana polimérica. Em adição, pode-se constatar que a distribuição dos nanoelementos obedece à própria forma de obtenção dos nanocanais e apresenta uma distribuição de forma aleatória. O procedimento para a obtenção do valor de porosidade desta membrana foi realizado conforme descrição anterior e forneceu valor médio de $6,30 \pm 0,200 \times 10^8$ ($n=4$) poros por centímetro quadrado. Uma melhor aproximação destes elementos pode ser observada na Figura 8B.

Os resultados microscópicos de superfícies obtidos utilizando a técnica MEV com as membranas OSMONICS de 220 nm submetidas ao mesmo procedimento de douração são mostrados na Figura 9.

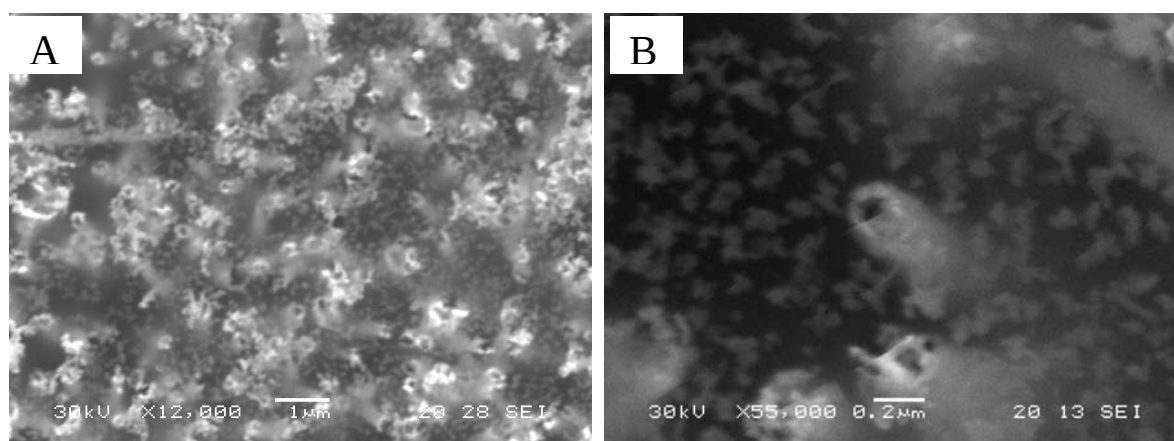


Figura 9: Imagens MEV de uma membrana OSMONICS 220nm dourada através de processo de deposição “electroless”. As micrografias apresentam uma magnitude de $1,20 \times 10^4$ em (A) e $5,50 \times 10^4$ em (B) vezes com uma energia de 30 keV.

Ao contrário dos resultados obtidos em membranas com poros de 30 nm, pode-se constatar que a superfície não mostra os nanoelementos de forma bem definidos, conforme anteriormente observado. Esta constatação pode ser atribuída ao fato de que esta membrana não permite o processo de extração das camadas de ouro superficiais sem que haja a sua danificação. Isto, possivelmente é devido ao fato de que os poros da membrana polimérica apresentam um diâmetro muito maior e, conseqüentemente, também apresenta uma maior fragilidade contribuindo, desta forma, para que a mesma

se rasgue e dificulte a remoção das camadas superficiais do metal. Uma aproximação desta imagem é mostrada na Figura 9B.

As características MEV das membranas de policarbonato virgens podem facilmente ser encontradas na literatura [18,20].

Segundo a literatura, [1,3,18], membranas de policarbonato apresentam pronta solubilidade em diclorometano e, considerando que é possível dissolver a matriz original sem prejuízo dos nanoelementos contidos em seus poros e, considerando ainda, a possibilidade de investigação do perfil das nanofibras de ouro contido nestes nanocanais, procedeu-se à dissolução das amostras, anteriormente mencionadas no referido solvente orgânico. As amostras foram fixadas em um pequeno suporte de alumínio e submetidas à extração de uma das camadas de ouro superficial e banhadas com diclorometano seguido da evaporação do solvente em condições ambientais. Os resultados obtidos para a membrana OSMONICS 30 nm previamente dourada, segundo metodologia anteriormente descrita são mostrados na Figura 10

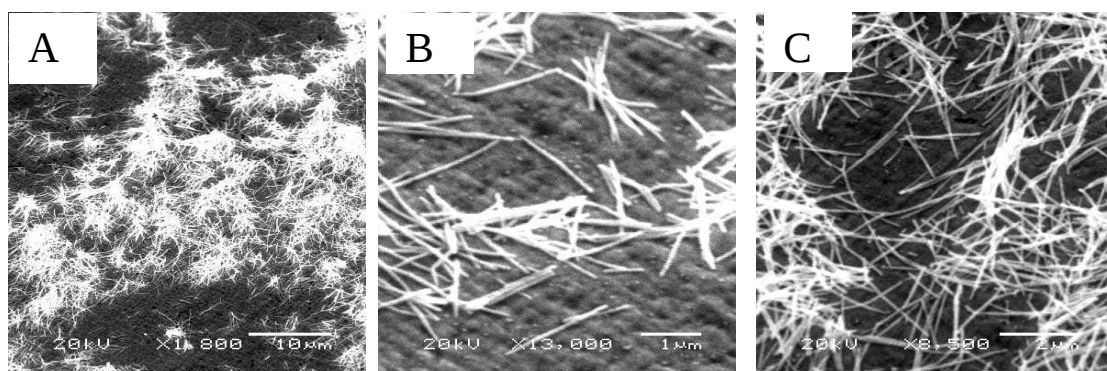


Figura 10: Imagens MEV de uma membrana OSMONICS 30 nm dourada através de processo de deposição “electroless” seguido de sua dissolução em diclorometano. As micrografias apresentam uma magnitude de $1,18 \times 10^4$ em (A); $1,30 \times 10^4$ em (B) e $8,50 \times 10^3$ em (C) vezes com uma energia de 20 keV.

A análise da Figura 10A mostra um aglomerado de fios livres dispersos na superfície de apoio após dissolução da matriz original. As ampliações destas imagens são mostradas nas Figura 10B e C. As figuras mostram uma melhor resolução, permitindo visualização dos nanofios de ouro obtidos pelo total preenchimento dos nanocanais das membranas poliméricas. As características espaciais destes nanoelementos representam uma rede de nanofilamentos que crescem íntegros em toda

a espessura da matriz. Estes nanoarames são os responsáveis pelo contacto e condução eletrônica entre uma dada espécie em solução e o potenciostato, uma vez que as referidas membranas se comportam como isolante.

A Figura 11 mostra as possíveis dimensões destes nanobastões obtidos após dissolução das membranas de policarbonato.

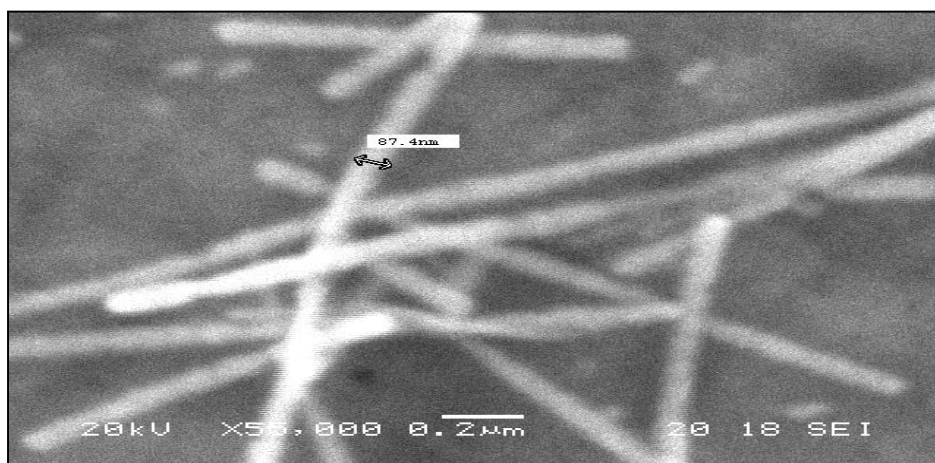


Figura 11: Imagem MEV de uma membrana OSMONICS 30 nm dourada através de processo de deposição “electroless” seguido de sua dissolução em diclorometano. A micrografia apresenta uma magnitude de $5,50 \times 10^3$ vezes com uma energia de 20 keV.

A análise destes resultados possibilita verificar as dimensões internas destes nonofilamentos que apresentam valor médio de $(87,4 \pm 5,0)$ nm, o qual excede o valor de 30 nm dos poros das membranas, conforme especificado pelo fabricante e por outros pesquisadores que também fizeram uso desta matriz [1]. As possíveis razões que justificariam este fenômeno são explicadas por SCHONENBERGER e colaboradores [21] que observaram um crescimento na ordem de aproximadamente 2,5 vezes entre o centro e as extremidades de seus nanofilamentos e um aumento de cerca de seis vezes na área dos poros de suas membranas preenchidas, o que atribuíram ao fato de que as mesmas não se apresentam de forma completamente cilíndricas em toda a sua extensão e a pressão interna exercida pelos filamentos, durante o processo de seu crescimento tende a distender o diâmetro original da matriz.

Os resultados obtidos do mesmo estudo envolvendo uma membrana de 30 nm (SPI PORE) são semelhantes aos acima apresentados.

Considerado que a construção de nanofios em uma matriz que apresente maior diâmetro poderia possibilitar a formação de estruturas mais rígidas, investigou-se a seguir, o perfil MEV dos nanoelementos obtidos em membranas OSMONICS de 220 nm de diâmetro utilizando procedimento de douração normal, porém com interrupção após seis horas de deposição de ouro. Este tempo de deposição foi previamente escolhido para facilitar a posterior extração de uma das camadas superficiais de ouro elementar que se deposita nas partes externas da membrana. Os resultados deste estudo são mostrados na Figura 12.

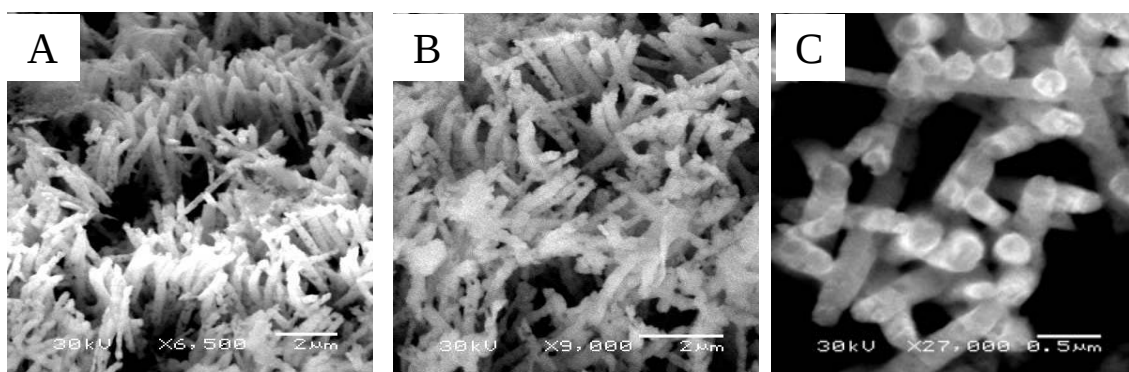


Figura 12: Imagens MEV de uma membrana OSMONICS 220 nm dourada através de processo de deposição “electroless” (6 horas) seguido de sua dissolução em diclorometano. As micrografias apresentam uma magnitude de $6,50 \times 10^3$ em (A); $9,00 \times 10^3$ em (B) e $2,70 \times 10^4$ em (C) vezes com uma energia de 30 keV.

A análise da figura comprova que é possível obter estruturas mais sólidas e rígidas quando se utiliza membrana com maior diâmetro de poro. As Figuras 12B e C mostram as ampliações e é possível concluir que estas estruturas são nanocilindros (compactos e sólidos) o qual se descarta a possibilidade de obtenção de nanotubos através do referido processo de deposição de ouro nos nanocanais.

Alguns trabalhos citados na literatura [22,23], descrevem empregos para estas nanofibras.

A seguir investigou-se o comportamento óptico destes materiais.

3.1.2 – CARACTERIZAÇÃO ÓPTICA.

Nanomateriais apresentam interessantes propriedades ópticas. Um exemplo clássico deste comportamento são as partículas de suspensão coloidal de ouro que

podem apresentar diversas tonalidades na região do visível que são dependentes do diâmetro e do comprimento das suas partículas. Esta diversidade de cores é provocada pelo fenômeno de absorção da ressonância plasmática das partículas do metal e tem sido devidamente explicada pela teoria de MAXWELL-GARNETT [24-26].

Esta característica proporciona uma interessante possibilidade de investigação do diâmetro e comprimento das partículas na região visível do espectro eletromagnético, uma vez que as próprias membranas, utilizadas como matriz são opticamente transparentes e inativas nesta mesma região. O grupo de trabalho do prof. MARTIN e colaboradores [1,18-20] tem explorado com muito critério este fenômeno e outros grupos de pesquisas [26] têm encontrado aplicação para esta propriedade.

De acordo com MARTIN [20], as diversas tonalidades fornecidas pelas partículas de ouro depositadas em uma matriz são, fundamentalmente, dependente de suas respectivas geometrias. Desta forma, mudando o diâmetro das matrizes utilizadas é possível obter partículas com magnitudes correspondentes aos respectivos diâmetros dos poros das membranas hospedeiras. Uma ilustração deste procedimento é mostrada na Figura 13.

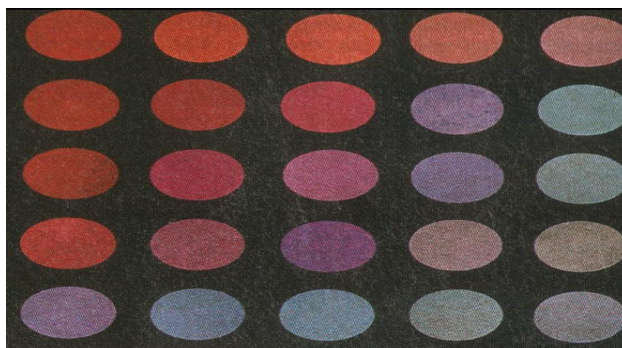


Figura 13: Fotomicrografia de membranas com poros recobertos por depósitos de ouro com diâmetros crescente de baixo (20 nm) para cima (150 nm) [20].

As respectivas cores resultantes e mostradas na Figura 13 são produzidas pela ressonância do plasma do metal que corresponde ao comprimento da luz que induz um campo elétrico mais largo nas nanopartículas do ouro [20].

Diante do exposto, e também considerando que a geometria das partículas não depende somente do diâmetro dos poros da matriz hospedeira, mas também do seu crescimento controlado pelo tempo de deposição das nanopartículas no interior dos poros, realizou-se um criterioso processo de deposição de ouro sob tempo

rigorosamente controlado utilizando-se uma única membrana OSMONICS de 30 nm. O processo foi conduzido através do corte de pedaços da mesma membrana em função do tempo de sua exposição à solução com posterior seqüência das etapas seguintes. Os resultados obtidos com o auxílio de um microscópio óptico, são mostrados na Figura 14.

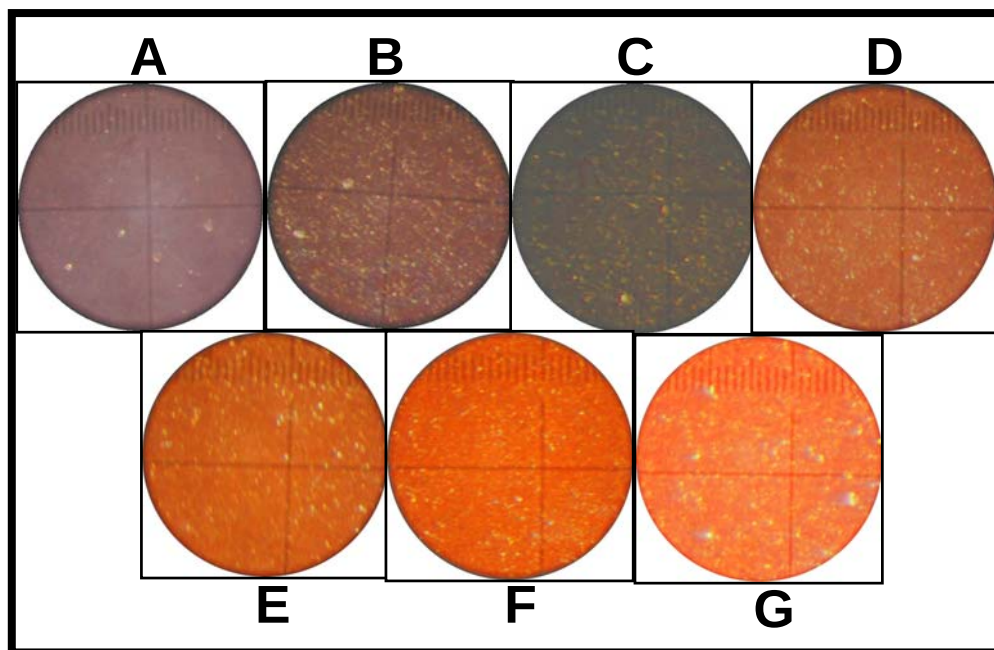


Figura 14: Fotomicrografias de uma membrana de policarbonato OSMONICS 30 nm submetida à deposição de ouro via processo “electroless” em função do tempo. A 30; B 50; C 60; D 80; E 100; F 120 e G 1.440 (minutos) de deposição, respectivamente.

A análise da Figura 14 mostra características similares àquelas divulgadas na literatura [20]. Todavia, estes resultados foram obtidos sobre uma única membrana, diferindo, desta forma, do trabalho descrito na literatura que reporta que o crescimento das partículas depende somente do diâmetro da matriz utilizada. Estes resultados são importantes, uma vez que mostram que é possível monitorar e interromper o crescimento destes nanoelementos, controlando desta forma, o tamanho das partículas desejadas utilizando-se apenas rigoroso controle do tempo de deposição do metal em uma única membrana polimérica.

Uma vez que estas membranas são prontamente solúveis em diclorometano e, considerando que a sua dissolução promove a liberação dos nanocilindros depositados no interior da matriz sem prejuízo de suas características originais, promoveu-se desta

forma, a dissolução destes pequenos pedaços da membrana e as diferentes colorações obtidas, são mostradas na Figura 15.



Figura 15: Foto dos pedaços da membrana descrito na legenda da Figura 14 após dissoluções em diclorometano. As identificações das suspensões obedecem a mesma ordem descrita na figura anterior.

A análise destes resultados mostra que, após a dissolução dos pedaços da membrana em solvente apropriado, as características ópticas dos nanoelementos contidos em sua estrutura preservam sua identidade única e as suspensões adquirem coloração diferenciada mostrando que é possível obter partículas com magnitudes diferentes em uma mesma matriz em função do tempo de crescimento destas nanofibras, sugerindo que o produto resultante pode, tanto ser monitorado no estado sólido quanto no estado líquido.

Embora o comportamento espectrofotométrico destas nanoestruturas seja bem descrito na literatura, através de sua investigação no estado sólido, utilizando a incidência do espectro eletromagnético em pedaços destas membranas [1,18,24-26], estas mesmas peças de uma mesma membrana dissolvida em diclorometano foram utilizadas para realização de um estudo espectrofotométrico das nanofibras livres de sua matriz original e em suspensão. Este procedimento poderia facilitar uma melhor compreensão sobre o comportamento óptico destes materiais, uma vez que o depósito

de ouro em uma matriz sólida não ocorre de forma homogênea, enquanto a dissolução e conseqüente liberação dos nanocilindros promoveria a obtenção de uma suspensão mais homogênea. Os resultados deste estudo são mostrados na Figura 16.

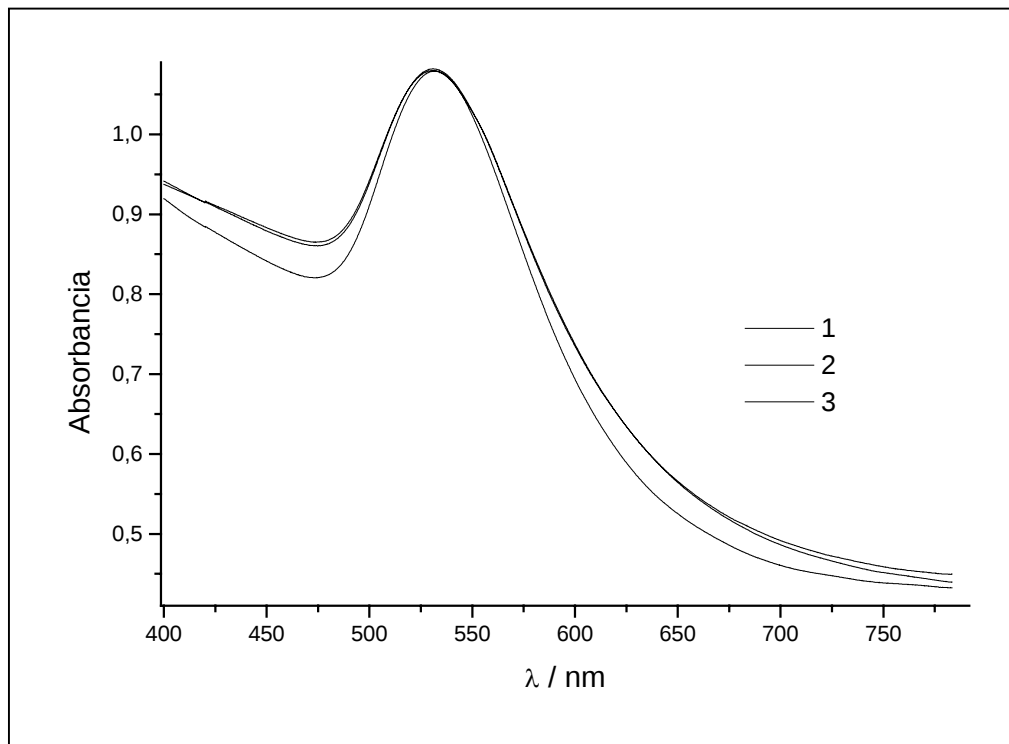


Figura 16: Efeito do tempo de depósito de ouro sobre os espectros de absorção visível das suspensões obtidas após dissolução dos pedaços de membranas em diclorometano conforme legenda da Figura 15. Curvas: (1) 30; (2) 100 e (3) 120 (minutos).

Os espectros de absorção são caracterizados por uma única e bem definida banda de absorção em $\lambda_{\text{max}}=532$ nm. Estes resultados são coincidentes com o mesmo comportamento observado dos nanoelementos retidos na membrana hospedeira [1,18,24-26]. Embora, as suspensões apresentem colorações diferenciadas em função do tempo de exposição à solução de douração, nenhum deslocamento batocrômico pode ser observado. Estes experimentos foram repetidos e os resultados apresentaram coincidência com os apresentados.

Em seguida aferiu-se o efeito da concentração de uma suspensão sobre o sinal espectrofotométrico. As medidas foram realizadas através da diluição de uma amostra de suspensão obtida pela dissolução da matriz, conforme anteriormente discutido.

Alíquotas desta suspensão foram adicionadas diretamente à cubeta com subsequente registro dos espectros. Os resultados mostraram um negligenciável aumento de absorbância em função da concentração dos nanofios.

De acordo com o grupo de pesquisa do prof. MARTIN e colaboradores [1,18,24,25] partículas obtidas em matrizes com diâmetros diferenciados, além de apresentar características diversas também apresentariam comportamento óptico diferenciado, conforme anteriormente discutido. Dentro desta ótica, foram realizados estudos espectrofotométricos com membranas com diâmetros de 10, 30 e 220 nm submetidas a iguais processos de douração com posterior dissolução em diclorometano. Os resultados desta investigação são mostrados na Figura 17.

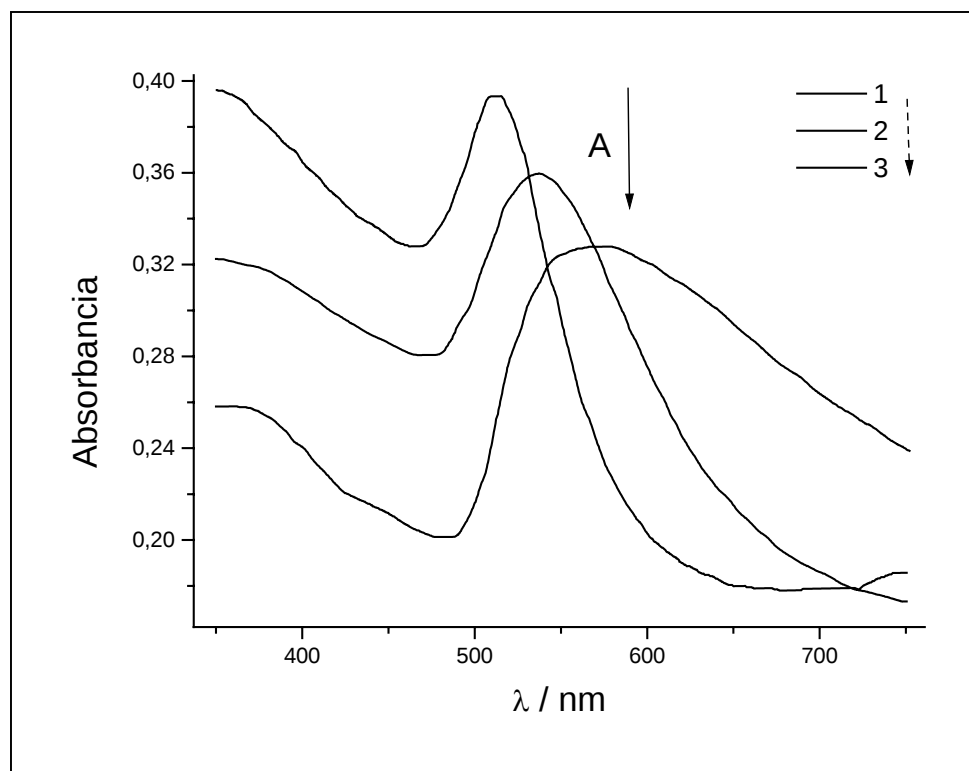


Figura 17: Espectros de absorção visível para suspensões obtidos de membranas dissolvidas em diclorometano. Curvas: (1) 10 nm; (2) 30 nm e (3) 220 nm.

Em conformidade com os dados da literatura [1,18,24-26], o comportamento espectrofotométrico dos nanoelementos em suspensão obtidos em matrizes de diferentes porosidades é o mesmo quando de sua análise confinados na matriz polimérica. A observação de deslocamento em λ máxima e diminuição na intensidade em função da

dimensão dos poros da membrana é devido ao aumento no raio das nanoesferas, segundo a teoria de MAXWELL-GARNETT [24,25].

3.1.3 – ANÁLISE MET.

A utilização de varredura de superfície de uma amostra, com a utilização da técnica de microscopia eletrônica de transmissão (MET) é capaz de fornecer informações morfológicas importantes, devido a altíssima resolução espacial fornecida pela referida técnica.

Considerando que é possível monitorar e controlar o crescimento das nanoestruturas no interior de uma membrana de policarbonato, conforme resultados já apresentados e discutidos e, considerando também que é possível dissolver a matriz original para análise de seus constituintes utilizando-se uma técnica que forneça imagens de alta resolução que possibilite o estudo morfológico das etapas de seu crescimento, promoveu-se desta forma, um novo processo de douração de uma membrana utilizando o processo padrão, conforme detalhamento na parte experimental. O procedimento de deposição de ouro nos nanocanais da matriz foi realizado com corte de pedaços da membrana em tempos rigorosamente controlados. Os resultados deste estudo podem ser visualizados nas Figuras 18 e 19.

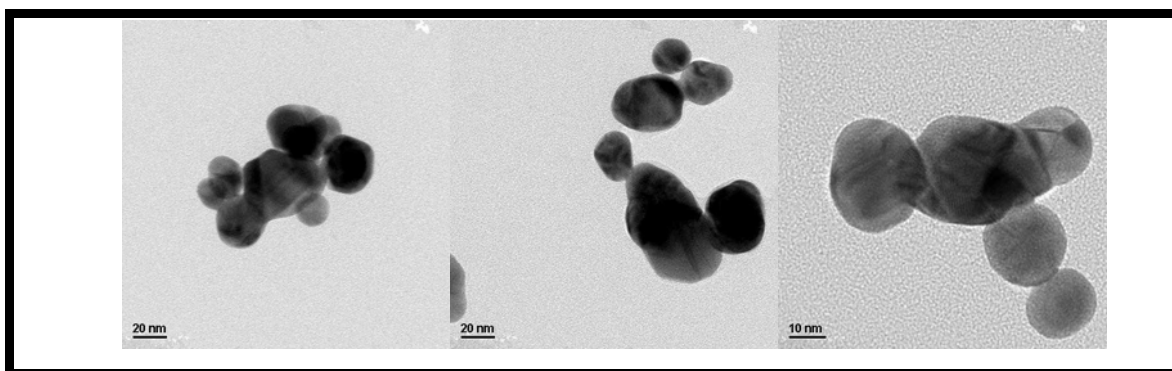


Figura 18: Imagens MET de um pedaço de membrana dourada por um período de 12 min com posterior dissolução em diclorometano.

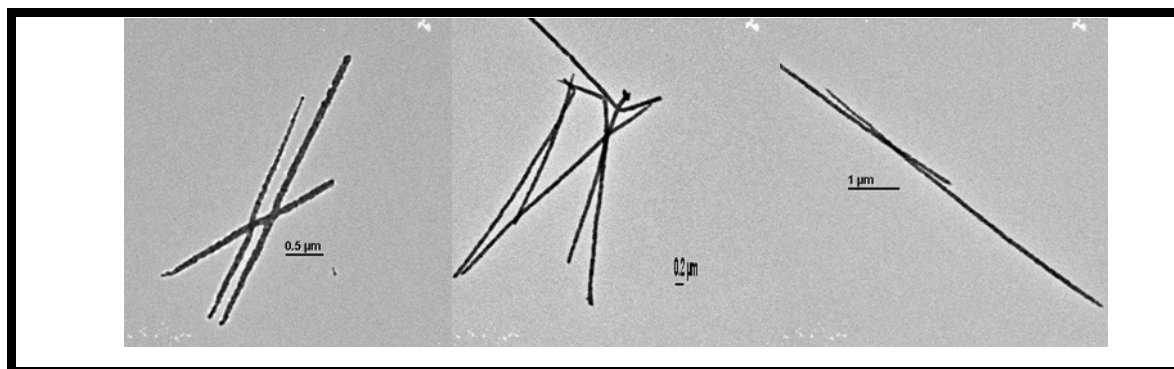


Figura 19: Imagens MET de um pedaço de membrana dourada por um período de 300 min com posterior dissolução em diclorometano.

As análises das referidas imagens mostram as fases iniciais da formação das nanopartículas, Figura 18, (com 12 min de deposição) e as fases finais, Figura 19, (com 300 min de deposição). A comparação destes resultados comprova que é possível monitorar e controlar o crescimento das partículas controlando rigorosamente o tempo de deposição. Desta forma, dependendo do trabalho que se deseje realizar com estes nanomateriais o controle do tempo de crescimento das partículas permite a obtenção de geometrias e magnitudes diferenciadas entre si.

Uma possível aplicação eletroquímica destas partículas seria na construção de filmes de Langmuir-Blodgett, as quais poderiam possibilitar a construção de sensores eletroquímicos muito menores que aqueles descritos na literatura [1,3,18-20,22-25]. Diversas condições poderiam ser controladas, tais, como, concentração, dispersão, geometria, tamanho, dentre outros. Além destas possibilidades, solventes tiólicos como os tioalcanos poderiam ser utilizados para a pré-concentração destes nanoelementos, uma vez que existe uma forte interação entre o ouro e o grupo tiol contido nestes solventes.

3.1.4 – CARATERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS NEEs.

Na etapa de caracterização eletroquímica dos NEE foi utilizado o cátion trimetilamino ferroceno (Fc), como espécie padrão cujo comportamento é bem descrito na literatura [1-3,18,19]. Em sistemas eletródicos convencionais esta espécie apresenta um comportamento voltamétrico quase reversível envolvendo a participação de um elétron, cujo sitio ativo da molécula é o íon ferro. Comportamento similar também é observado em eletrodos de escala nanométrica o qual é descrito pelos pesquisadores

acima mencionados que utilizaram este padrão para a caracterização de suas nanoestruturas.

Na parte inicial de caracterização dos NEEs foram realizados testes em solução $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de nitrato de sódio como eletrólito de suporte na ausência da espécie padrão. Curvas representativas comparando o perfil dos voltamogramas cíclicos obtidos em solução de NaNO_3 para um NEE de área geométrica igual a $0,070 \text{ cm}^2$ e um eletrodo convencional de ouro (área geométrica igual a $0,126 \text{ cm}^2$) são mostradas na Figura 20. Em todos os experimentos, os valores de densidades de corrente foram efetuadas pela divisão da intensidade de corrente pela área geométrica de cada eletrodo.

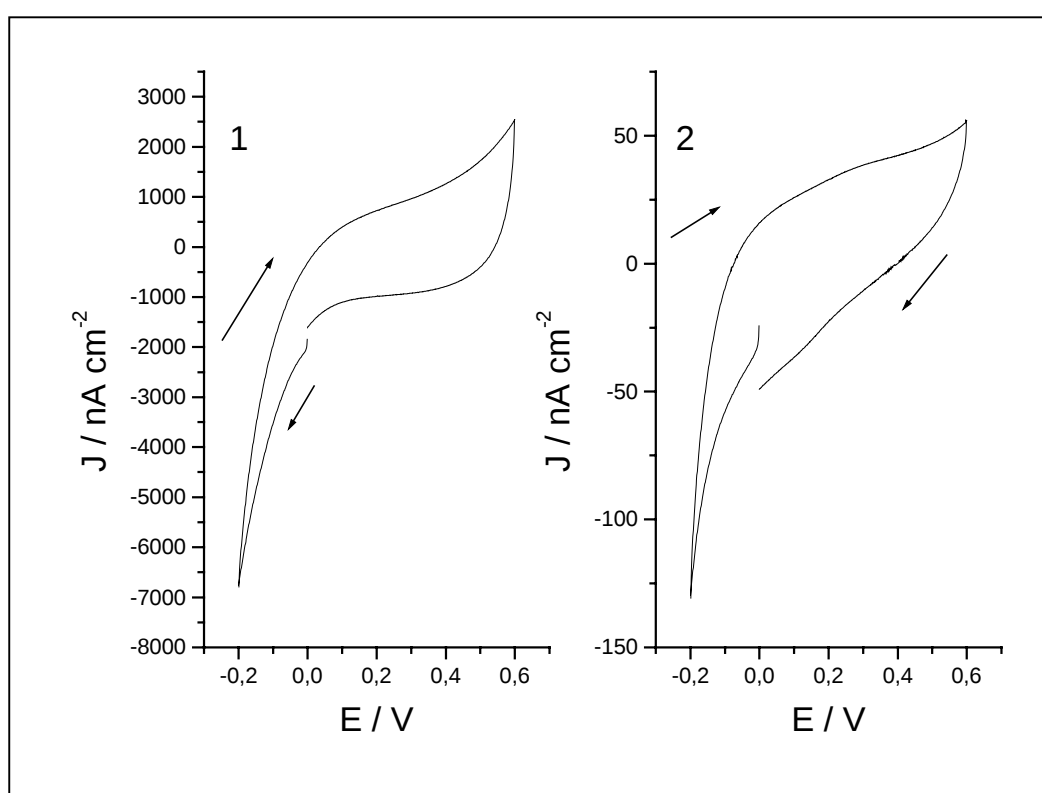


Figura 20: Voltamogramas cíclicos obtidos para um eletrodo de ouro (A) e um NEE (B) em solução $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 . $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

As medidas de densidades de corrente efetuadas em potenciais de $+0,30 \text{ V}$ para o macroeletrodo mostram valores de 1.800 nA cm^{-2} enquanto esta mesma relação observada no NEE aponta valores de 49 nA cm^{-2} . A razão observada entre estas correntes é de 38,5 vezes menor no NEE, indicando o efeito de minimização nos valores de corrente da dupla camada elétrica observada em sistemas eletródicos convencionais.

Estes resultados poderiam ser importantes na análise eletroquímica de sistemas redox, favorecendo a obtenção de discretos limites de detecção anteriormente não alcançados em sistemas tradicionais. A real corrente capacitiva observada em um NEE em perfeitas condições de uso, não deve exceder 20 nA, como mostra a Figura 21.

Como observado nos voltamogramas cíclicos, as correntes da dupla camada elétrica são extremamente baixas. Esta característica é atribuída à pequena área ativa, (A_{at}), destes dispositivos que é a soma das áreas dos nanodiscos. Uma vez que a área ativa dos NEE é sempre menor que a área geométrica dos macro-eletrodos, a corrente capacitiva observada nos NEE será sempre menor que a sua correspondente, observada nos eletrodos convencionais [1].

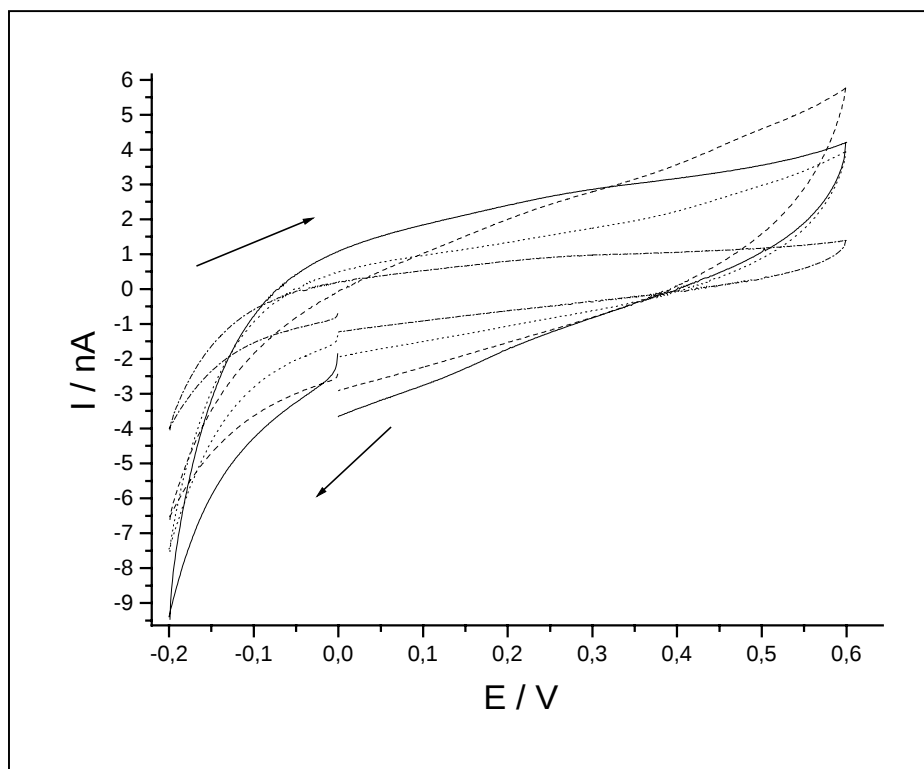


Figura 21: Voltamogramas cíclicos obtidos para quatro diferentes NEEs em solução $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 , $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Em seguida, preparou-se um conjunto de dezoito NEEs, avaliados voltametricamente imediatamente após sua construção com o objetivo de estabelecer o grau de precisão obtido nas etapas de sua construção. Os resultados deste estudo são mostrados na Tabela 1.

A análise dos respectivos valores de corrente capacitiva e capacitância dos dezoitos NEEs mostram que somente quatro eletrodos (C, D, I, Q) não satisfazem os requisitos primários para serem utilizados e, por conseguinte foram eliminados. Altos valores de corrente residual em conjunto com altos valores de capacitância são indicativos de problemas de sigilo dos nanodiscos no interior da membrana. Desta forma, problemas de infiltração poderiam comprometer as medidas futuras. Todavia, um percentual de 77,8% de aproveitamento de uma única safra destes dispositivos comprova que o procedimento de obtenção das membranas douradas foi realizado com critério. Os demais dados extraídos do presente trabalho e apresentados nas colunas 4, 5 e 6 na referida Tabela foram calculados com auxílio de fórmulas da literatura [3,6]. Os valores encontrados para as respectivas áreas fracionárias e a distância entre os poros obtidos destes dispositivos estão em perfeita concordância com os descritos na literatura [1,19].

Voltamogramas obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do padrão Fc sobre eletrodo de ouro convencional e NEE são mostrados na Figura 22.

A Figura 22A mostra que oxidação de Fc nos voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo convencional caracteriza-se por um par de picos mal definidos em potenciais ao redor de $E_{pa} = +0,44$ e $E_{pc} = +0,38$ V. No entanto, a mesma resposta em idênticas condições experimentais sobre o NEE, Figura 22B, mostra picos melhores definidos em $E_{pa} = +0,47$ e $E_{pc} = +0,41$ V, respectivamente. Embora seja possível constatar um leve deslocamento dos potenciais de ambos picos com o NEE é nítido um melhoramento do sinal fornecido pelo padrão. Os valores expressos em termos de densidades de correntes, para o pico anódico, mostram valores de 618 nA cm^{-2} para o NEE, enquanto esta mesma relação foi de 1.080 nA cm^{-2} para o macroeletrodo. Uma amplificação de corrente na ordem de 1,74 pode ser calculada dividindo os valores entre si. Em adição, pode-se constatar uma visível minimização da corrente capacitiva com o NEE em relação ao mesmo ensaio com o macroeletrodo.

Tabela 1: Avaliação da performance de 18 NEEs em solução de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} $NaNO_3$. $v = 20$ mV s^{-1} .

Identificação do NEE	Corrente capacitiva (nA) medida a <u>-0,10 V.</u>	Capacitância ($\mu F/cm^2$)	Área Fracionária (cm^2)=	Distância entre os poros. (μm)	Área ativa do eletrodo (%)
A	5,04	2,72	$2,00 \times 10^{-4}$	1,44	0,017
B	5,49	2,22	$2,10 \times 10^{-3}$	1,08	0,170
*C	48,6	21,7	$1,60 \times 10^{-3}$	0,460	0,166
*D	43,7	17,8	$1,50 \times 10^{-3}$	0,490	0,148
E	5,30	4,38	$1,80 \times 10^{-4}$	1,41	0,018
F	3,86	1,67	$1,30 \times 10^{-4}$	1,65	0,013
G	2,15	0,88	$7,30 \times 10^{-3}$	2,21	0,007
H	15,3	6,92	$5,20 \times 10^{-4}$	0,830	0,052
*I	32,3	16,2	$1,10 \times 10^{-3}$	0,570	0,100
J	9,74	2,64	$3,30 \times 10^{-3}$	0,090	0,331
K	2,93	1,28	$9,90 \times 10^{-4}$	0,160	0,100
L	6,81	3,88	$2,30 \times 10^{-3}$	0,100	0,232
M	5,71	2,92	$1,90 \times 10^{-3}$	0,110	0,194
N	3,90	2,17	$1,30 \times 10^{-3}$	0,140	0,133
O	6,89	3,32	$2,30 \times 10^{-3}$	0,100	0,234
P	8,58	3,36	$2,90 \times 10^{-3}$	0,090	0,292
*Q	18,2	4,84	$6,20 \times 10^{-3}$	0,060	0,619
R	4,91	2,05	$1,70 \times 10^{-3}$	0,120	0,167

*= NEEs não apresentam condições de uso.

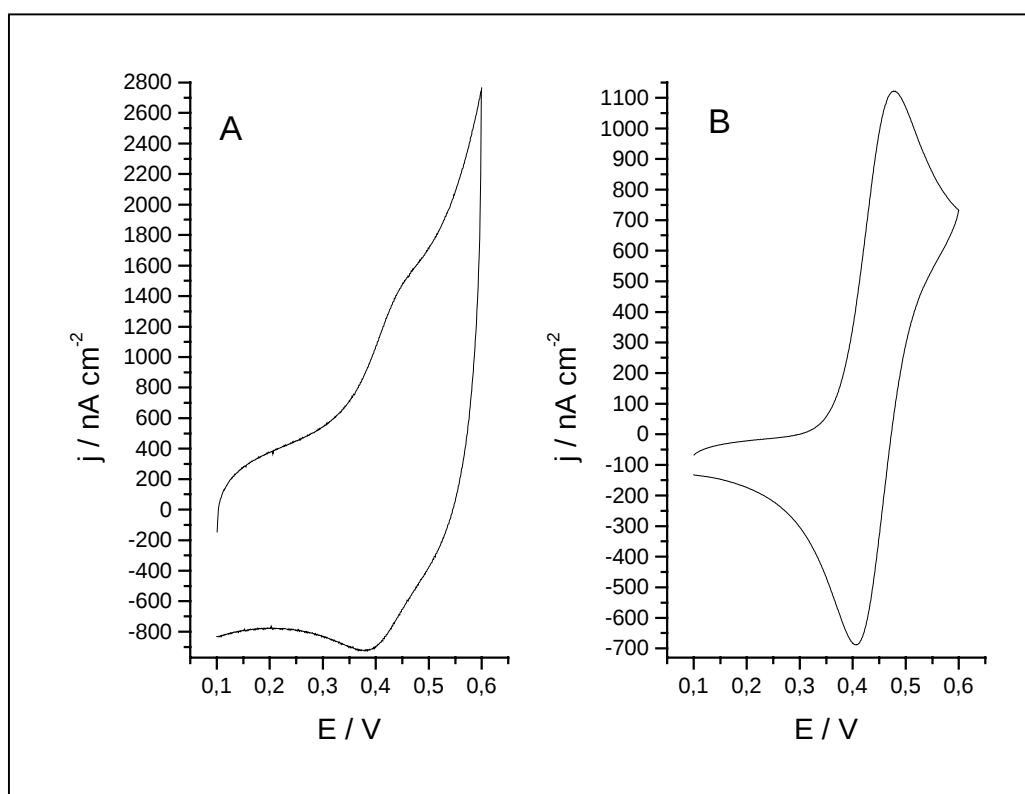


Figura 22: Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc em nitrato de sódio sobre eletrodo de ouro convencional (A) e NEE (B).

$$\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}.$$

A avaliação da performance do conjunto de 14 nanoelectrodos previamente escolhidos, usando a oxidação do padrão Fc é mostrada na Tabela 2.

A análise da referida tabela mostra características importantes. A análise da coluna 4 (ΔE) mostra os valores obtidos para o cálculo da diferença de potencial. Valores superiores a 100 mV encontrados com os NEEs (A, E, F, e K) são indicativos de problemas de junção dos nanodiscos na matriz na fase de selagem, uma vez que o comportamento do padrão Fc é bem descrito na literatura [1-3,18,19] e, conseqüentemente, deve ser evitado o uso destes dispositivos. Valores de corrente excessivamente baixo (coluna 6 e 7), fornecem indícios de uma pequena área ativa (A e G), contribuindo desta forma, na obtenção de uma baixa resposta de um dado sistema investigado. De forma similar, estes dispositivos devem ser descartados. Em todos os demais dispositivos analisados, o comportamento eletroquímico do padrão Fc apresenta similaridades em relação ao reportado na literatura.

Tabela 2: Parâmetros voltamétricos obtidos da oxidação de $1,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de Fc sobre NEE em NaNO₃. $\nu = 20$ mV s⁻¹.

NEE	E _{pa} (V)	E _{pc} (V)	ΔE (mV)	E _{1/2} (mV) (anódico)	i _{pa} (nA)	i _{pc} (nA)	i _{pc} /i _{pa}
**A	0,510	0,380	132	438	12,7	8,12	0,640
B	0,490	0,400	88,0	414	52,0	37,8	0,730
**E	0,510	0,380	128	436	44,1	22,8	0,520
**F	0,500	0,390	114	427	50,2	32,9	0,650
**G	0,480	0,400	79,0	407	4,92	3,33	0,680
H	0,480	0,400	74,0	406	58,6	42,1	0,720
J	0,480	0,410	70,0	405	75,6	53,0	0,700
**K	0,500	0,390	106	423	49,4	36,6	0,740
L	0,480	0,400	75,0	408	65,1	47,7	0,730
M	0,480	0,410	69,0	405	67,1	47,1	0,700
N	0,480	0,400	79,0	410	61,1	43,3	0,710
O	0,470	0,410	68,0	404	62,3	44,1	0,710
P	0,470	0,410	68,0	404	67,5	47,5	0,700
R	0,490	0,390	97,0	418	57,1	42,2	0,740

**= NEEs não apresentam condições de uso.

Desta forma, dos 18 NEEs inicialmente construídos, 50 % apresentam condições de uso, uma vez que os dados obtidos dos estudos acima apresentados mostram claras condições de uso dos dispositivos escolhidos.

Em seguida realizou-se um estudo sobre o efeito da velocidade de varredura, (ν), sobre os sinais redox fornecidos por $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de Fc sobre macroeletrodo de ouro e o NEE no intervalo de 2,0 a 1.000 mV s⁻¹. Os respectivos resultados deste estudo

para o eletrodo convencional são mostrados na Figura 23 e os dados mostrados na Tabela 3.

A Figura 23B mostra que o sistema apresenta comportamento difusional linear semi-infinito em toda a região de v investigada [27]. A equação da referida reta é: $i_{pa} \text{ (nA)} = 42,7 + 1,38 \times 10^3 v^{1/2}$ (onde $v^{1/2}$ raiz quadrada da velocidade de varredura em $V s^{-1}$), $R = 0,999$ ($n=18$).

Os valores de E_{pa} - E_{pc} se apresentam próximos àquele esperado para um processo eletródico reversível envolvendo a participação de um elétron [27]. A razão entre i_{pc}/i_{pa} (corrente de pico catódica pela corrente de pico anódica) mostra valores praticamente constantes e próximos à unidade com o aumento na velocidade de varredura confirmando a natureza reversível da transferência de carga [28,29].

Os resultados obtidos do mesmo estudo, desta vez utilizando um NEE em $NaNO_3$, são mostrados na Figura 24.

Os gráficos correspondentes ao comportamento da corrente de pico anódica em função na variação nos valores de v , são mostrados na Figura 25.

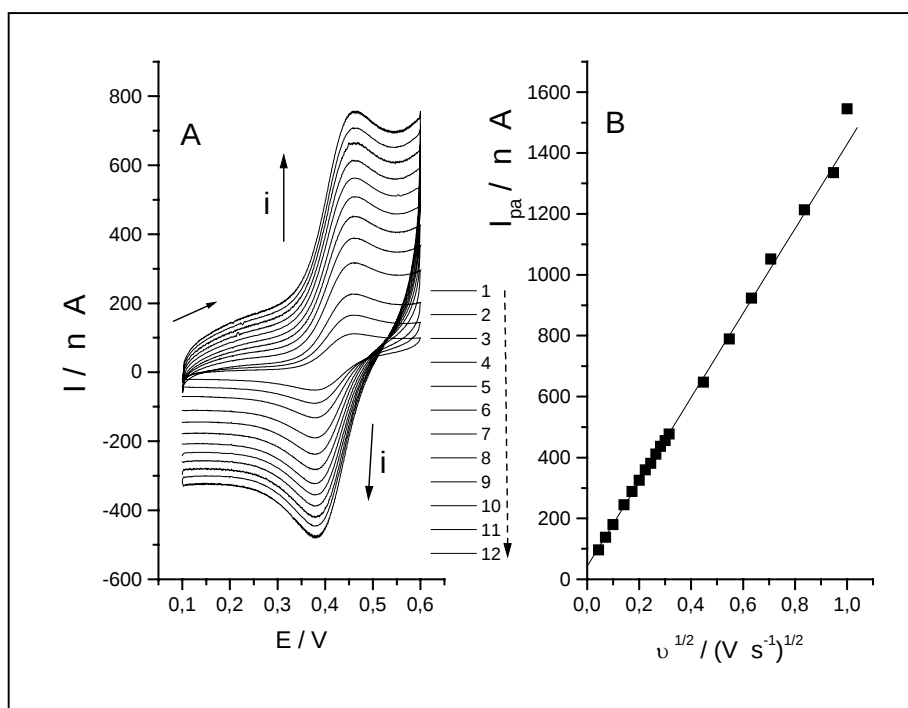


Figura 23A: Voltamogramas cíclicos obtidos da oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc em nitrato de sódio com macroeletrodo de ouro. Curvas: (1) 2; (2) 5; (3) 10; (4) 20; (5) 30; (6) 40; (7) 50; (8) 60; (9) 70; (10) 80; (11) 90; e (12) 100 ($mV s^{-1}$). (B): respectiva curva de corrente versus raiz quadrada da velocidade de varredura.

Tabela 3: Parâmetros extraídos dos voltamogramas cíclicos obtidos de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de Fc analisado com macroeletrodo de ouro em NaNO₃.

ν (mV s ⁻¹)	E _{pa} (mV)	E _{pc} (mV)	ΔE (mV)	i _{pa} (nA)	i _{pc} (nA)	i _{pc} / i _{pa}	i _{pa} /ν ^{1/2} (nA.mV ^{-1/2} .s ⁻¹).
2	461	390	71,0	96,4	80,9	0,840	68,2
5	461	390	71,0	138	121	0,880	61,7
10	461	394	67,0	180	167	0,930	56,7
20	461	394	67,0	245	227	0,930	54,7
30	461	392	69,0	288	269	0,930	52,6
40	458	392	66,0	325	311	0,960	51,4
50	461	393	68,0	359	343	0,950	50,7
60	460	394	66,0	380	376	0,990	49,1
70	460	396	64,0	411	408	0,990	49,1
80	461	396	65,0	437	432	0,990	48,9
90	460	397	63,0	455	458	1,01	48,0
100	458	391	67,0	478	491	1,03	47,8
200	466	391	75,0	647	697	1,08	45,8
300	467	393	74,0	789	811	1,02	45,5
400	466	394	72,0	923	916	0,990	46,2
500	473	391	82,0	1.050	1.060	1,01	47,0
700	476	394	82,0	1.210	1.380	1,31	45,9
900	476	400	76,0	1.330	1.640	1,23	44,5
1.000	465	398	67,0	1.540	1.680	1,09	48,8

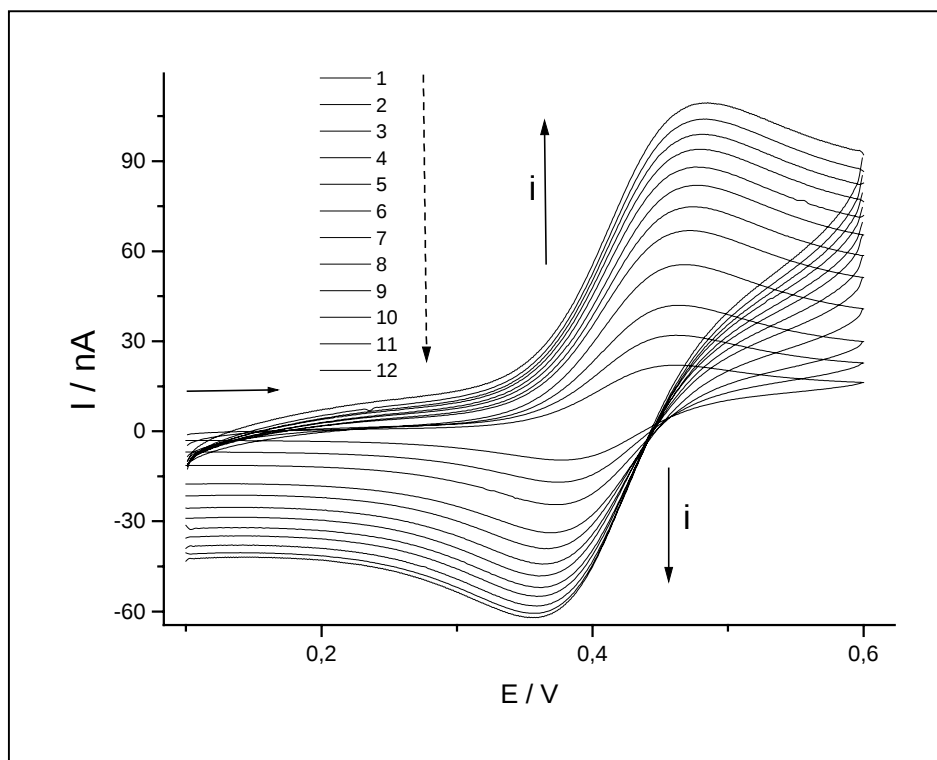


Figura 24: Voltamogramas cíclicos obtidos de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc em nitrato de sódio com NEE. Curvas: (1) 2; (2) 5; (3) 10; (4) 20; (5) 30; (6) 40; (7) 50; (8) 60; (9) 70; (10) 80; (11) 90; e (12) 100 (mV s^{-1}).

A análise dos resultados mostrados na Figura 25B mostra que a corrente de pico anódica apresenta comportamento difusional na região de pequena queda ôhmica no intervalo de ν entre 2,0 a 200 mV s^{-1} [27]. Em valores superiores de ν o sinal apresenta distorções indicando que o processo redox do Fc deve apresentar outras contribuições sobre nanosuperfícies dispersas. A regressão linear para os dados compreendidos neste intervalo de velocidade de varredura apresenta valores de: $i_{pa} (\text{nA}) = 11,1 + 7,54 \nu^{1/2}$ (onde $\nu^{1/2}$ raiz quadrada da velocidade de varredura em mV s^{-1}), $R = 0,997$, ($n=12$). A análise da Figura 25A mostra uma relação parabólica entre corrente e velocidade de varredura em todo o intervalo de ν investigado, mostrando que a oxidação da espécie analisada não apresenta completamente comportamento de adsorção no mesmo intervalo anteriormente mencionado. Os valores extraídos deste estudo são mostrados na Tabela 4.

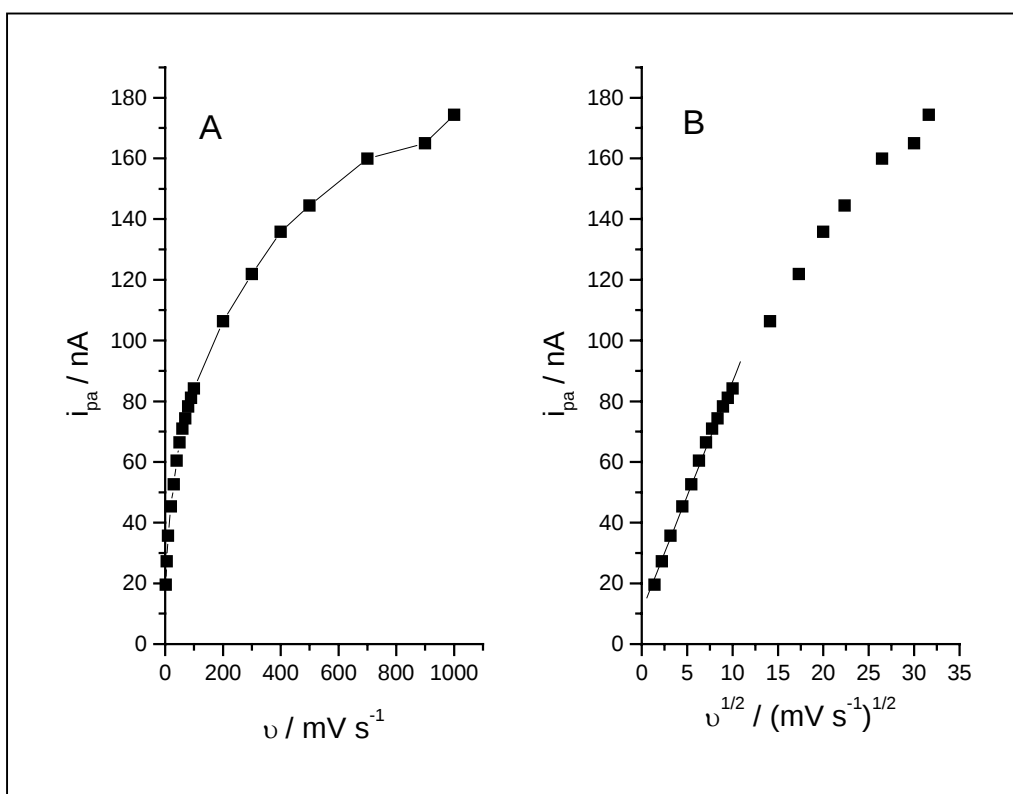


Figura 25: Efeito da velocidade de varredura sobre a corrente de pico anódica obtida da oxidação de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc sobre NEE.

A comparação destes resultados em relação aos mesmos valores extraídos do estudo com o macro eletrodo mostra comportamento muito similar o qual já foi diagnosticado. Todavia, o comportamento dos potenciais de ambos os pico apresentam nítido deslocamento para valores mais elevados (pico anódico) e valores menores (pico catódico) com ampliação nos valores de ΔE em função no aumento de v , mostrando um ligeiro afastamento do comportamento previsto para processo reversível em altos valores de velocidade de varredura. Comportamento similar em relação à ampliação do ΔE em função no aumento de v no estudo de espécies redox observado com o emprego dos NEEs construídos com membranas de diferentes porosidades é descrito na literatura [1,5].

O efeito da concentração de Fc sobre os sinais voltamétricos obtidos para sua oxidação em eletrodo de ouro convencional foi investigado em amplo intervalo de concentração. Os resultados deste estudo são mostrados na Figura 26.

Tabela 4: Efeito da velocidade de varredura sobre os parâmetros voltamétricos obtidos da oxidação de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc em solução de nitrato de sódio sobre NEE.

v (mV s^{-1})	E_{pa} (mV)	E_{pc} (mV)	$E_{pa}-E_{pc}$ (mV)	i_{pa} (nA)	i_{pc} (nA)	i_{pc} / i_{pa}	$i_{pa}/v^{1/2}$ ($\text{nA.mV}^{-1/2} \text{ s}^{-1}$).
2	461	384	77,0	19,6	16,7	0,860	13,8
5	463	383	80,0	27,3	25,1	0,920	12,2
10	465	381	84,0	35,6	33,6	0,940	11,3
20	468	378	90,0	45,3	44,4	0,980	10,1
30	471	376	95,0	52,6	52,1	0,990	9,60
40	474	375	99,0	60,4	58,1	0,960	9,54
50	478	374	104	66,5	63,8	0,960	9,40
60	479	374	105	70,9	69,2	0,980	9,16
70	480	373	107	74,3	71,5	0,960	8,88
80	481	372	109	78,3	74,7	0,950	8,75
90	482	371	111	81,1	78,5	0,970	8,54
100	484	372	112	84,1	80,0	0,950	8,41
200	495	369	126	106	100	0,950	7,52
300	497	367	130	122	114	0,940	7,04
400	506	366	140	136	122	0,900	6,79
500	509	361	148	144	130	0,900	6,46
700	517	369	148	160	140	0,880	6,04
900	519	367	152	165	147	0,890	5,50
1.000	527	363	164	174	156	0,890	5,51

A análise da Figura 26B mostra uma excelente linearidade entre densidade de corrente e concentração apresentando linearidade no intervalo de concentração entre 1,00 a 9,00 ($\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). A correspondente regressão linear para este valores fornece uma equação: $J (\text{nA/cm}^2) = 416 + 2,85 \times 10^7 C$ (onde C concentração mol L^{-1}), $R = 0,998$ ($n=9$). Os respectivos voltamogramas cíclicos obtidos deste estudo são mostrados na

Figura 26A. O limite de detecção para a técnica foi estimado em $2,10 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ usando método estatístico [30].

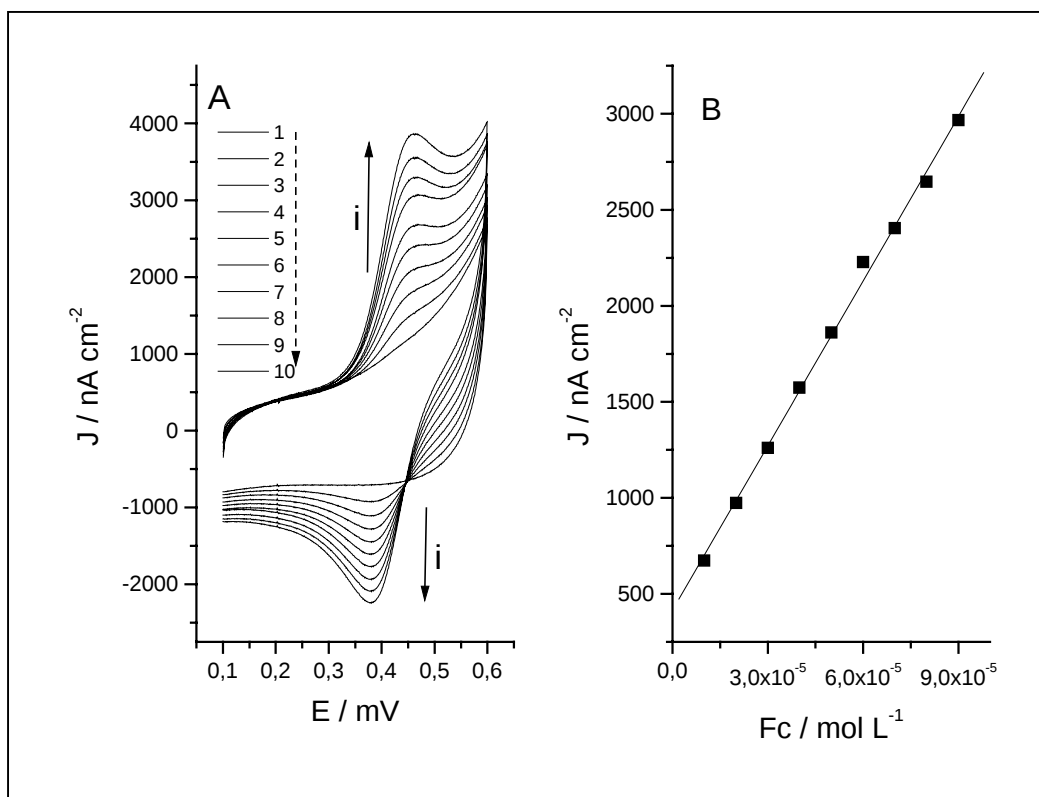


Figura 26: Efeito da concentração sobre a densidade de corrente correspondente à oxidação de Fc em nitrato de sódio com o eletrodo de ouro convencional. (A) voltamogramas cíclicos para oxidação de Fc, curvas: (1) eletrólito de suporte; (2) 1,00; (3) 2,00; (4) 3,00; (5) 4,00; (6) 5,00; (7) 6,00; (8) 7,00; (9) 8,00 e (10) 9,00 ($\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). (B) curva analítica para Fc sobre eletrodo convencional. $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

O mesmo procedimento foi realizado para avaliar o perfil da concentração de Fc com o NEE. Os resultados desta investigação são mostrados na Figura 27.

A Figura 27A mostra que os voltamogramas obtidos para oxidação da espécie padrão Fc sobre NEE são melhores definidos mesmo em menores concentrações. Curva analítica para monitoramento do composto (Figura 27B) com NEE apresenta linearidade no intervalo de concentração entre $7,00 \times 10^{-8}$ a $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, segundo a relação: $J (\text{nA/cm}^2) = 10,6 + 6,49 \times 10^7 C$ (onde C concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$), $R = 0,999$ ($n=14$). Limite de detecção obtido foi de $1,50 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ segundo cálculo estatístico [30].

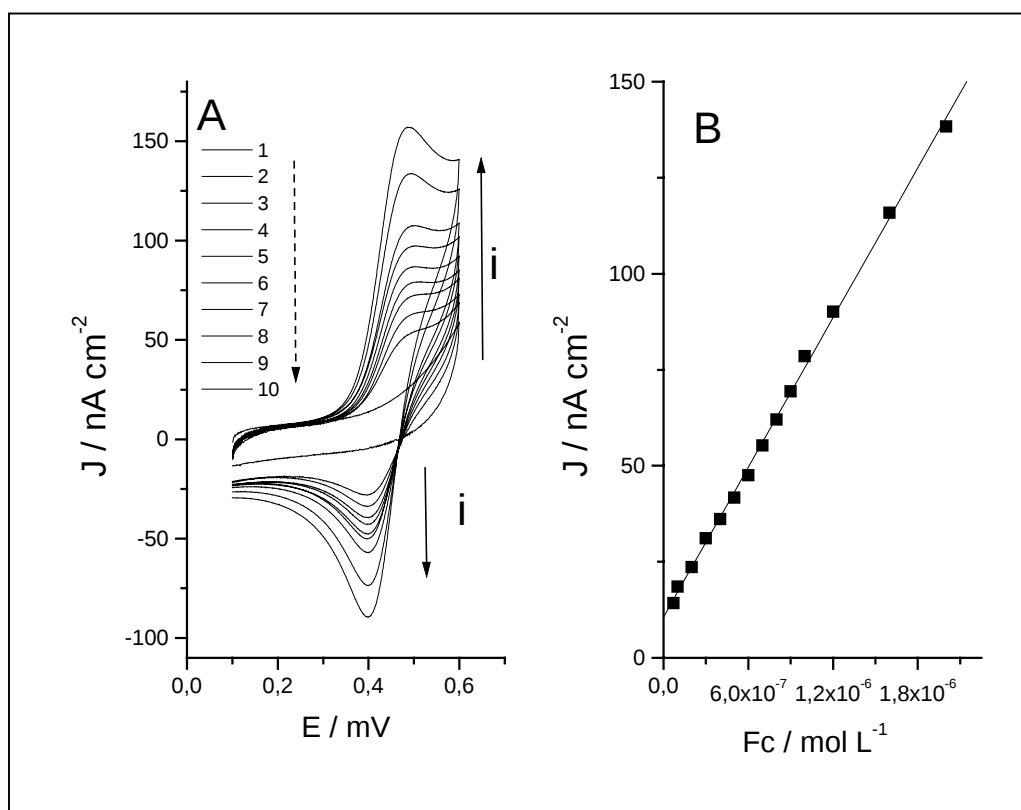


Figura 27: Efeito da concentração sobre os voltamogramas cíclicos corresponde oxidação de Fc em de nitrato de sódio sobre NEE. (A): curvas: (1) eletrólito de suporte; (2) $5,00 \times 10^{-7}$; (3) $6,00 \times 10^{-7}$; (4) $7,00 \times 10^{-7}$; (5) $8,00 \times 10^{-7}$; (6) $9,00 \times 10^{-7}$; (7) $1,00 \times 10^{-6}$; (8) $1,20 \times 10^{-6}$; (9) $1,60 \times 10^{-6}$ e (10) $2,00 \times 10^{-6}$ (mol L^{-1}). (B): curva analítica correspondente. $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Portanto, a comparação dos resultados obtidos com o NEE em relação ao macroeletrodo, mostra que é possível a construção de uma curva de calibração com sensibilidade maior que 140 vezes comparada ao eletrodo convencional.

Deste modo, é possível concluir que o processo de deposição de ouro nos poros de uma membrana de policarbonato é viável do ponto de vista eletroquímico uma vez que estes dispositivos apresentaram baixos valores de corrente capacitiva permitindo obtenção de discretos limites de detecção de espécies. Os estudos de caracterização morfológica dos nanoelementos mostraram estruturas sólidas e compactas das nanofibras que possibilitam a obtenção de NEEs com características ópticas e eletroquímicas bem particulares. A dissolução das membranas em diclorometano permitiu um estudo morfológico e óptico mais detalhado dos nanocilindros além da

obtenção de estáveis suspensões de ouro que poderia possibilitar a fabricação de eletrodos ainda menores aos descritos através de sua utilização para a obtenção de filmes de Langmuir-Blodgett.

Na fase seguinte será descrita uma aplicação destes dispositivos para determinação de iodeto em formulações farmacêuticas.

3.2 – OXIDAÇÃO DE IODETO SOBRE ARRANJOS DE NANOELETRÓDOS (NEE).

O comportamento ciclo voltamétrico do iodeto de potássio foi inicialmente investigado em solução de ácido sulfúrico 0,500 mol L⁻¹ (pH zero). O estudo foi conduzido no intervalo de potencial entre zero a + 0,70 V com o NEE e, para efeito de comparação, o mesmo ensaio foi realizado com o macroeletrodo de ouro convencional com objetivo de comparar suas respostas eletroquímicas. Os resultados deste estudo preliminar, expressos em densidades de corrente (corrente pela área geométrica para ambos eletrodos), tomadas por extrapolação da linha base (para todo o estudo), são mostrados na Figura 28.

Os voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de iodeto em concentração de 7,00x10⁻⁵ mol L⁻¹ são caracterizados por um par de picos bem definidos em potenciais ao redor de E_{pa}=+0,53 V e E_{pc}=+0,46 V, respectivamente e relações de i_{pc}/i_{pa} de 0,92, segundo oxidação de iodeto a iodo após transferência de dois elétrons, conforme especificado, [31-39].



Os resultados obtidos sobre o NEE (Figura 28A), mostram que a oxidação de 7,00x10⁻⁶ mol L⁻¹ de iodeto caracteriza-se por um par de picos em E_{pa}=+0,57 V e E_{pc}=+0,47 V. Os valores de E_{pa}-E_{pc}= 106 mV e i_{pc}/i_{pa} igual a 0,79 foram obtidos sobre NEE indicando uma perda da reversibilidade do sistema. Estes resultados mostram que os processos de transferência de massa para as espécies oxidada e reduzida podem sofrer interferência da própria matriz polimérica utilizada para a obtenção dos nanodiscos, uma vez que o seu comportamento obtido em uma superfície sólida apresenta características diferenciadas.

Considerando que a membrana de policarbonato é revestida com uma camada de polivinilpirolidone (PVP) e, considerando relatos na literatura, [40-44], que descrevem a formação de complexo entre I₂ e o PVP; possivelmente o comportamento observado para oxidação de iodeto com o NEE estaria gerando iodo, que por sua vez, poderia sofrer reações químicas subsequente ao processo de transferência eletrônica gerando o complexo descrito pelos autores.

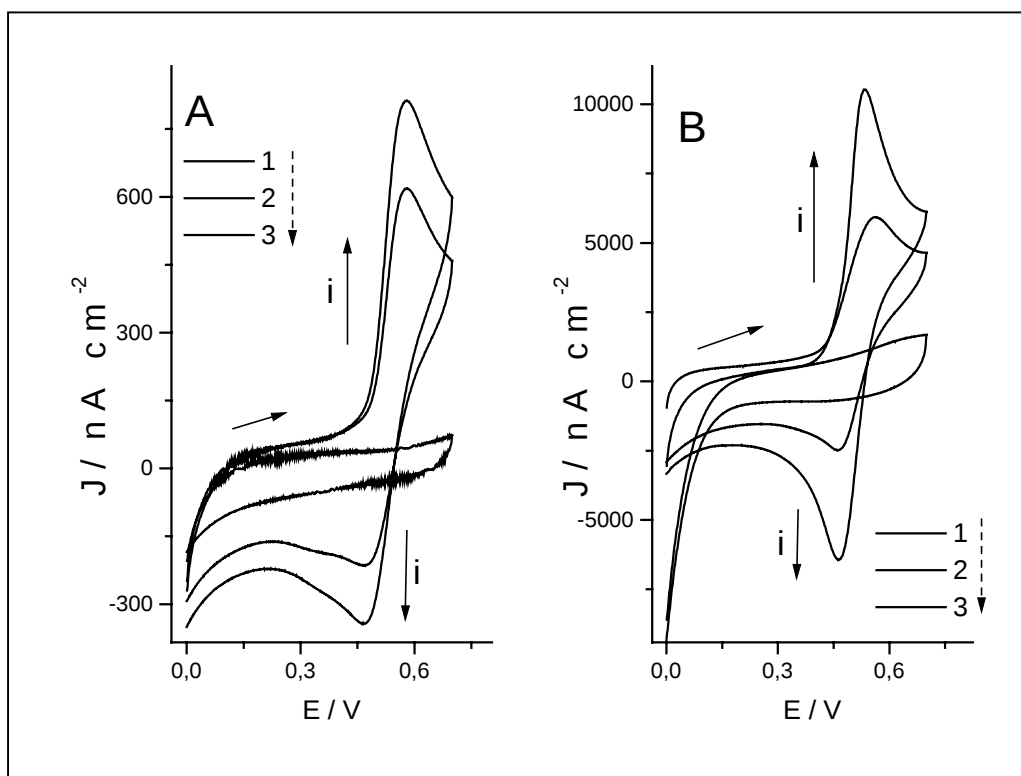


Figura 28: Voltamogramas cíclicos correspondentes à oxidação de iodeto em ácido sulfúrico 0,500 mol L⁻¹ sobre macroeletrodo de ouro (B): curvas: (1) eletrólito de suporte; (2)= 5,00x10⁻⁵ e (3)= 7,00x10⁻⁵ (mol L⁻¹) de iodeto e sobre NEE em (A): Curvas: (1) eletrólito de suporte; (2) 5,00x10⁻⁶ e (3) 7,00x10⁻⁶ (mol L⁻¹) de iodeto, respectivamente. $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

O efeito da mudança nos valores de pH e composição do eletrólito sobre os sinais voltamétricos correspondente à oxidação de iodeto sobre NEE é mostrado na Tabela 5. As soluções ácidas utilizadas foram ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido clorídrico, ácido fosfórico e ácido perclórico.

A comparação entre os valores de E_{pa} - E_{pc} para oxidação de iodeto sobre NEE mostra que a solução de ácido sulfúrico 0,500 mol L⁻¹ fornece as melhores condições para estudo de iodeto de potássio por apresentar maior corrente de pico e menores valores de potencial de pico.

Tabela 5: Influência do eletrólito nos parâmetros voltamétricos correspondentes à oxidação de $7,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio sobre NEE. $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Eletrólitos	H^+ mol L^{-1} .	Epa (mV)	Epc (mV)	Epa-Epc (mV)	ipa (nA)	ipc (nA)
*H ₂ SO ₄	0,500	578	472	106	53,8	21,6
*H ₂ SO ₄	0,150	623	462	161	38,5	13,8
*H ₂ SO ₄	0,050	627	469	158	41,6	12,6
**H ₂ SO ₄	0,150	634	488	146	35,1	5,55
**H ₂ SO ₄	0,050	623	499	124	41,1	19,6
*HNO ₃	1,00	608	468	140	26,8	26,2
*HNO ₃	0,300	621	483	138	42,3	16,9
*HNO ₃	0,100	634	476	158	39,2	12,0
*HCl	1,00	627	Sem leitura	Sem leitura	36,0	Sem leitura
*HCl	0,300	Sem leitura	Sem leitura	Sem leitura -	Sem leitura	Sem leitura
*H ₃ PO ₄	1,00	649	473	176	29,7	7,01
*HClO ₄	1,00	609	Sem leitura	Sem leitura	28,9	Sem leitura
*HClO ₄	0,300	624	Sem leitura	Sem leitura	31,1	Sem leitura

*= Valores obtidos por diluição;

**= Valores obtidos por adição de NaOH.

3.2.1 – EFEITO DA VARIAÇÃO NA VELOCIDADE DE VARREDURA (v).

O efeito da mudança na velocidade de varredura (v), sobre os sinais fornecidos para a oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em solução de ácido sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ sobre eletrodo de ouro convencional foi investigado no intervalo de v entre 2 a 900 mV s^{-1} e os resultados deste estudo são mostrados na Figura 29 e os respectivos dados mostrados na Tabela A2, no apêndice.

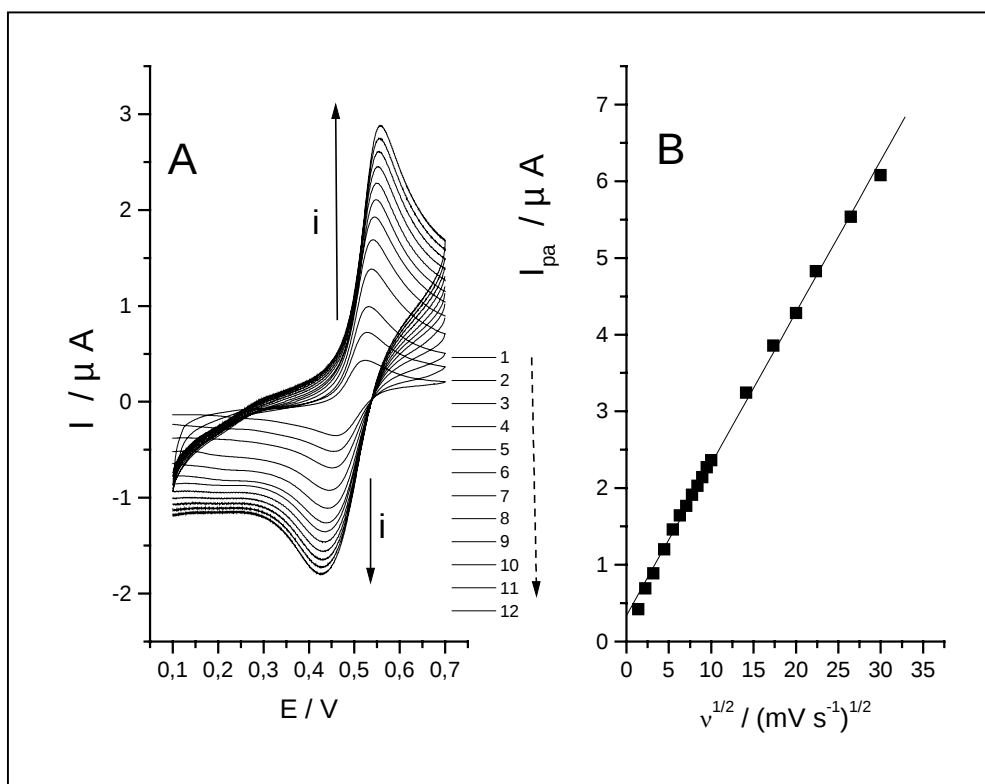


Figura 29A: Voltamogramas cíclicos para oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto em ácido sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ sobre macroeletrodo de ouro: Curvas: (1) 2; (2) 5; (3) 10; (4) 20; (5) 30; (6) 40; (7) 50; (8) 60; (9) 70; (10) 80; (11) 90 e (12) $100 (\text{mV s}^{-1})$. (B): Correspondente gráfico de corrente anódica $\times v^{1/2}$.

A análise da Figura 29A mostra voltamogramas cíclicos para oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto em solução de ácido sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas se caracterizam por apresentar leve deslocamento de potencial de pico anódico para valores mais elevados de potencial com o aumento de v . O pico catódico também apresenta discreto deslocamento para valores mais baixos de potencial com o incremento na velocidade de varredura. A Figura 29B mostra proporcionalidade entre corrente versus $v^{1/2}$ em todo o intervalo de velocidade de varredura investigado, mostrando que o comportamento da corrente de pico anódica apresenta característica de controle difusional [27]. A equação correspondente à curva mostrada na Figura 29B é: $i_{pa} (\mu\text{A}) = 0,340 + 0,198 v^{1/2}$ (onde $v^{1/2}$ raiz quadrada da velocidade de varredura (mV s^{-1}) , $R=0,998$ ($n=18$)). A razão i_{pc}/i_{pa} mostrou valores médios e aproximadamente constantes de 0,87 ($n=18$) mostrando o caráter reversível do processo.

Os resultados obtidos para as condições experimentais semelhantes com NEE, são mostrados na Figura 30.

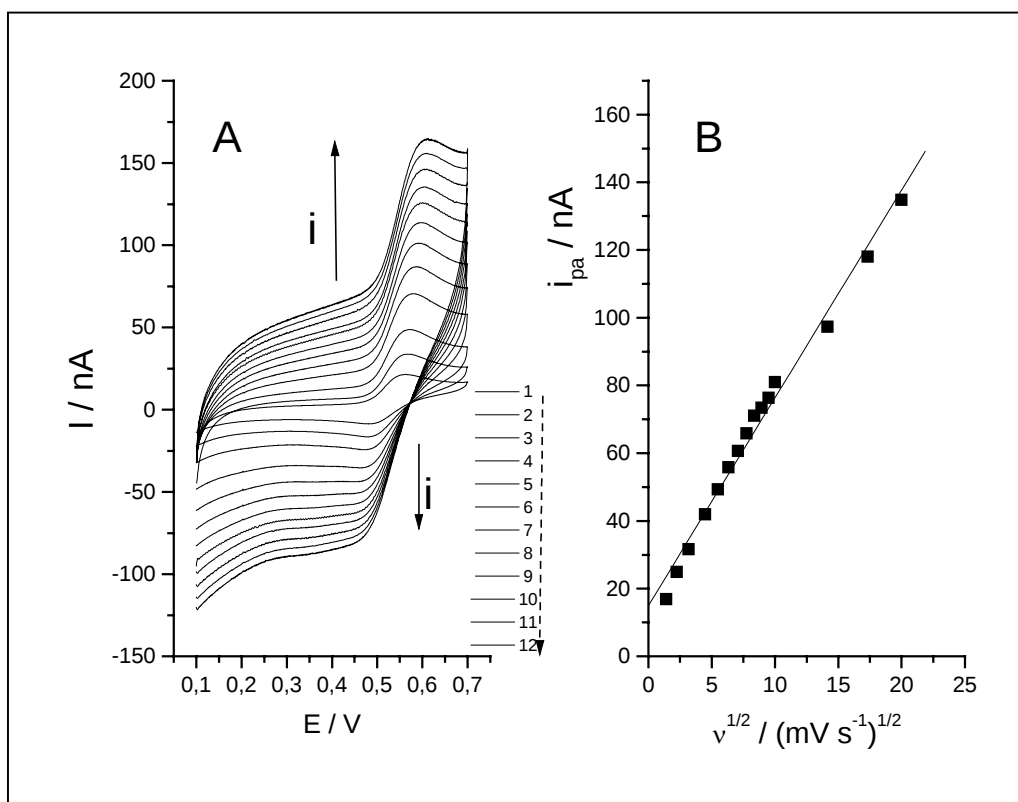


Figura 30A: Voltamogramas cíclicos para oxidação de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto em ácido sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ sobre NEE em velocidade de varredura de: (1) 2; (2) 5; (3) 10; (4) 20; (5) 30; (6) 40; (7) 50; (8) 60; (9) 70; (10) 80; (11) 90 e (12) 100 (mV s^{-1}). (B): Efeito da velocidade de varredura sobre a corrente de pico de oxidação de iodeto sobre NEE.

A referida figura mostra voltamogramas cíclicos bem definidos em todas as velocidades de varredura investigadas. Os potenciais de pico são deslocados para valores mais positivos de potencial com o aumento nos valores de velocidade de varredura. A Figura 30B mostra relações lineares entre i_{pa} vs $v^{1/2}$ indicando características de processo controlado por difusão, [27], no intervalo de v entre 2 a 400 mV s^{-1} . A equação correspondente é: $i_{pa}(\text{nA}) = 15,0 + 6,13 v^{1/2}$ (onde $v^{1/2}$ velocidade de varredura mV s^{-1}), $R = 0,993 (n = 15)$. Os demais dados extraídos deste estudo são mostrados na Tabela A3, no apêndice.

3.2.2 –CURVA DE CALIBRAÇÃO.

Em seguida avaliou-se o efeito da concentração da espécie sobre os sinais voltamétricos obtidos para oxidação de iodeto de potássio sobre macroeletrodo de ouro e NEE. Curvas lineares são obtidas entre ipa vs concentração de iodeto no intervalo de $1,00 \times 10^{-5}$ a $2,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, sobre eletrodo de ouro convencional, como mostra a Figura 31.

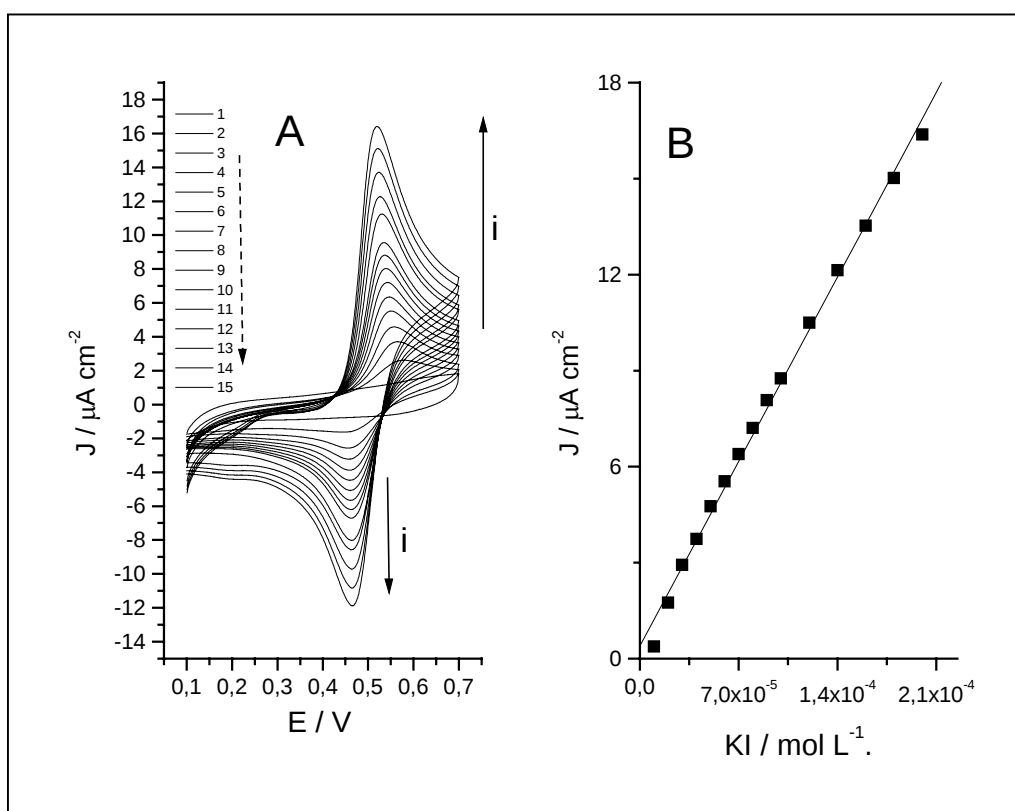


Figura 31A: Voltamogramas cíclicos para oxidação de iodeto de potássio em ácido sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ sobre macroeletrodo de ouro. Curvas: (1) eletrólito de suporte; (2) $2,00 \times 10^{-5}$; (3) $3,00 \times 10^{-5}$; (4) $4,00 \times 10^{-5}$; (5) $5,00 \times 10^{-5}$; (6) $6,00 \times 10^{-5}$; (7) $7,00 \times 10^{-5}$; (8) $8,00 \times 10^{-5}$; (9) $9,00 \times 10^{-5}$; (10) $1,00 \times 10^{-4}$; (11) $1,20 \times 10^{-4}$; (12) $1,40 \times 10^{-4}$; (13) $1,60 \times 10^{-4}$; (14) $1,80 \times 10^{-4}$ e (15) $2,00 \times 10^{-4} \text{ (mol L}^{-1})$ de iodeto de potássio. (B): Curva de calibração correspondente. $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Os valores de densidades de correntes extraídos dos voltamogramas apresentam uma excelente linearidade entre densidade de corrente versus concentração na faixa entre $1,00 \times 10^{-5}$ a $2,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, segundo a relação: $J (\mu\text{A cm}^{-2}) = 0,389 + 8,24 \times 10^4 C$

(onde C concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$), $R=0,997$, ($n=15$). O limite de detecção, [30], foi calculado em $4,80 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, segundo a relação sinal ruído.

Os resultados obtidos para oxidação de iodeto sobre NEE são mostrados na Figura 32.

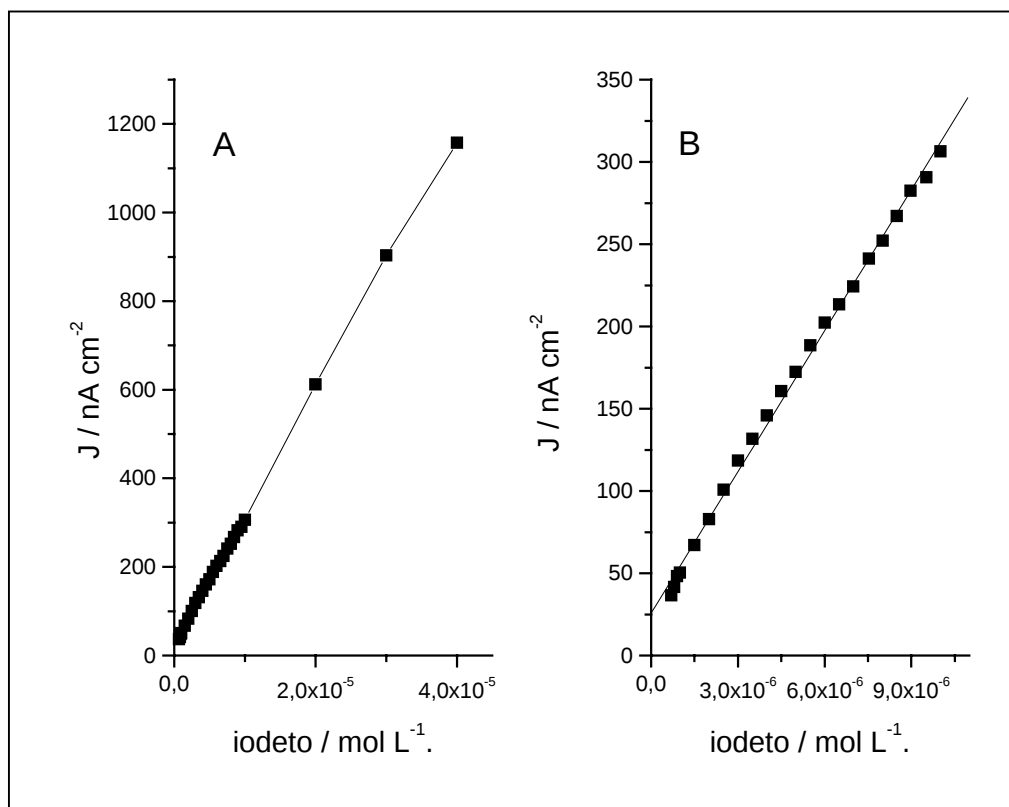


Figura 32: Curvas analíticas correspondentes à oxidação de iodeto de potássio em solução de ácido sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ com o NEE em diferentes intervalos de concentração. $v=20 \text{ mV s}^{-1}$.

A Figura 32A mostra excelente linearidade entre densidades de corrente e concentração de iodeto de potássio na faixa entre $5,00 \times 10^{-7}$ a $4,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de acordo com a equação: $J (\text{nA cm}^{-2}) = 25,9 + 2,86 \times 10^7 C$ (onde C concentração em mol L^{-1}), $R=0,998$, ($n=22$). O limite de detecção observado foi de $2,41 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, [30].

A comparação entre os resultados obtidos entre ambos eletrodos, convencional e NEE, mostra que é possível maior sensibilidade, sobre arranjos de nanoeletrodos. A comparação entre os limites de detecção, utilizando os dois tipos diferentes de eletrodos

fornece um alcance de 20 vezes mais baixo em relação àquele obtido com o eletrodo convencional.

A repetibilidade do sinal voltamétrico foi aferida para concentrações de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de iodeto de potássio. Os valores calculados estatisticamente [30], e expressos em valores de corrente foram: ipa (nA)= $41,0 \pm 0,8$ (n=15). Estes valores mostram satisfatória repetibilidade obtida para o estudo de oxidação de iodeto com o NEE.

A aplicação de técnicas voltamétricas de onda quadrada e pulso diferencial não apresentou resultados satisfatórios.

3.2.3 – DETERMINAÇÃO DE IODETO EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS COMERCIAIS.

A aplicação da presente metodologia foi realizada em formulações farmacêuticas líquidas produzidas na Itália denominadas de FACOVIT e RUBJOVIT, cujo princípio ativo é o iodeto de potássio. As amostras foram analisadas somente com diluição de volumes previamente calculados sem qualquer tratamento especial. Os resultados obtidos, segundo o método das adições do padrão [45], para a amostra FACOVIT são mostrados na Figura 33. O procedimento realizado para a referida amostra foi tomar uma alíquota desta solução, cuja concentração na cela eletroquímica após diluição, corresponderia a $2,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Estes resultados são mostrados na curva (2) da Figura 33A. Posteriormente, adições de solução de trabalho de iodeto de potássio foram adicionadas diretamente à célula eletroquímica seguido da obtenção das curvas voltamétricas, curvas (3 a 6) da referida figura.

A análise dos dados apresentados, obtidos através da utilização da metodologia das adições do padrão [45], mostra um índice de correlação de 98,0 % em relação as informações prestadas pelo fabricante (TEOFARMA srl) em comparação aos valores encontrados segundo a metodologia descrita para determinação de iodeto sobre NEE. A curva apresentada na Figura 33B segue a relação: ipa (nA)= $9,93 + 3,74 \times 10^6 C$ (onde C concentração em mol L⁻¹), R=0,999, (n=5) e um desvio padrão de 0,08.

Os mesmos procedimentos descritos e realizados para a análise da amostra anterior foram aplicados para a formulação farmacêutica RUBJOVIT (S.I.F.I. S.p.a.) cujos resultados são mostrados na Figura 34.

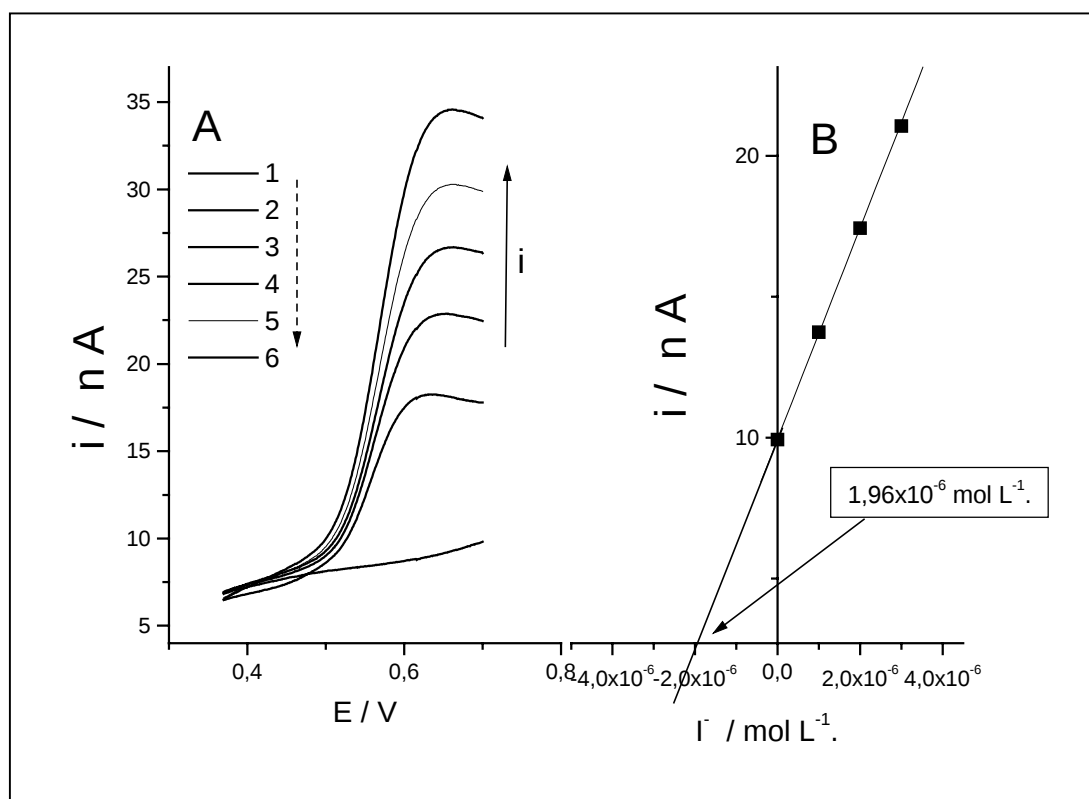


Figura 33A: Voltamogramas de varredura linear obtidos para oxidação de: (1) eletrólito de suporte; (2) $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de FACOVIT. Adições de KI: (3) $1,00 \times 10^{-6}$; (4) $2,00 \times 10^{-6}$; (5) $3,00 \times 10^{-6}$ e (6) $4,00 \times 10^{-6} \text{ (mol L}^{-1})$. (B): Método das adições do padrão de iodeto de potássio. $v=20 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados obtidos da amostra RUBJOVIT, através do mesmo procedimento acima descrito mostra índices de correlação de 99,0% em relação as informações prestadas pelo fabricante e aquelas obtidas através da utilização da metodologia descrita para uso do NEE. A reta apresentada na Figura 34B segue a relação: $i_{pa} \text{ (nA)} = 11,5 + 3,58 \times 10^6 C$ (onde C concentração em mol L^{-1}), $R=0,999$ ($n=5$) e desvio padrão de 0,120.

Os resultados destas aplicações são resumidos na Tabela 6.

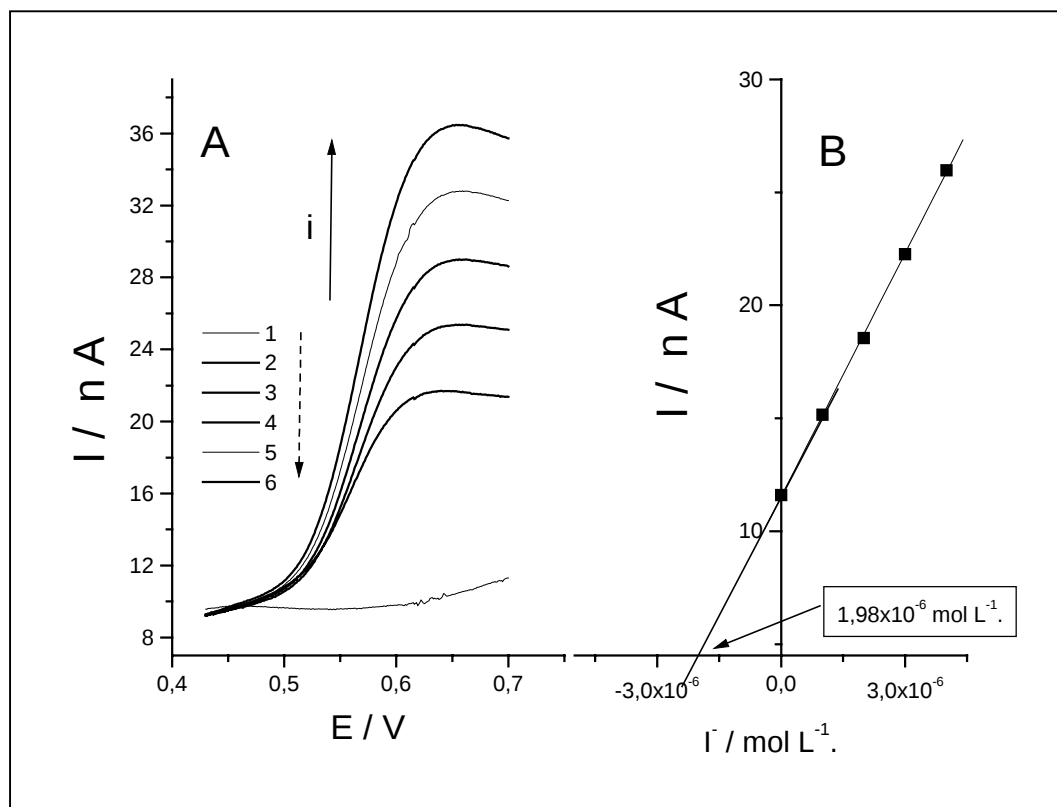


Figura 34A: Voltamogramas de varredura linear obtidos para oxidação de: (1) eletrólito de suporte; (2) $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de RUBJOVIT. Adições de KI: (3) $1,00 \times 10^{-6}$; (4) $2,00 \times 10^{-6}$; (5) $3,00 \times 10^{-6}$ e (6) $4,00 \times 10^{-6} \text{ (mol L}^{-1})$. (B): Método das adições do padrão de iodeto de potássio. $v=20 \text{ mV s}^{-1}$.

Tabela 6: Resultados dos ensaios para a determinação de iodeto em formulações farmacêuticas segundo método proposto e metodologia volumétrica [46,47].

Metodologia.	AMOSTRAS	Valor nominal* (mol L^{-1})	Valor encontrado** (mol L^{-1})	Correlação (%)
Proposta.	Facovit	$2,00 \times 10^{-6}$	$1,96 \times 10^{-6}$	$98,0 \pm 0,200$
	Rubjovit	$2,00 \times 10^{-6}$	$1,98 \times 10^{-6}$	$99,0 \pm 0,150$
Volhard [46,47]	Facovit	$1,00 \times 10^{-3}$	$9,88 \times 10^{-4}$	$98,8 \pm 0,310$
	Rubjovit	$1,00 \times 10^{-3}$	$9,88 \times 10^{-4}$	$98,8 \pm 0,250$

*= Valor informado pelo fabricante (TEOFARMA srl e S.I.F.I. S.p.a.);

**= Valor encontrado segundo metodologias utilizadas.

Os valores encontrados, segundo a metodologia proposta para determinação de iodeto com a utilização do NEE, mostram a potencialidade do dispositivo, uma vez que os valores encontrados apresentam concordância em relação às informações prestadas pelos laboratórios fabricantes das amostras farmacêuticas utilizadas no presente estudo.

O método proposto foi comparado ao método titulométrico para análise de iodeto de acordo com o método de VOLHARD [46,47]. Para tal, utilizou-se a titulação volumétrica de iodeto em solução nítrica com nitrato de prata na presença de solução indicadora de Fe(III), com solução titulante de tiocianato. Os resultados deste ensaio são mostrados na Tabela 6.

As comparações entre os valores mostram boa concordância entre os resultados obtidos com a metodologia eletroquímica baseada no uso do NEE e àquela descrita na literatura para a determinação de iodeto contido em amostras farmacêuticas, segundo testes titulométricos. Em adição é possível observar que o método eletroquímico apresenta notável sensibilidade em relação ao método volumétrico utilizado.

CONCLUSÕES.

O presente trabalho reporta as fases de obtenção de membranas de policarbonato dourada através da aplicação de técnicas de preenchimento e deposição de ouro nos nanocanais e superfícies das matrizes utilizadas via método “eletroless”. A dissolução das membranas em diclorometano possibilitou uma investigação mais criteriosa sobre o perfil do nanoelementos embutidos nos nanocilindros das membranas os quais são caracterizados por nano fios compactos em toda a sua extensão. O processo de crescimentos das nanopartículas no interior das membranas pode ser controlado com um rigoroso controle do tempo de deposição de ouro o que permite a obtenção de partículas com geometrias diferenciadas, possibilitando desta forma, diferentes aplicações destas nanoestruturas. A mesma dissolução possibilitou a obtenção de suspensões coloidais muito estáveis com possibilidades de outras aplicações eletroquímicas.

A fase de aplicação destes novos dispositivos para o monitoramento e determinação de iodeto de potássio sobre nanosuperfícies dispersa mostrou que iodeto pode ser determinado em valores de concentração mais baixo quando comparado com os resultados obtidos utilizando eletrodo de ouro convencional e eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes do poliaminoácido PLL:GA.

ESTUDOS FUTUROS.

- Avaliar a possibilidade de construção de filmes de Langmuir-Blodgett utilizando as suspensões estáveis de ouro obtidas pela dissolução em diclorometano das membranas douradas;
- Investigar a possibilidade de obtenção de eletrodos compósitos com parafina utilizando as referidas suspensões;
- Empregar solventes tiólicos, tais como os alcanotióis com o objetivo de pré-concentrar estes nano elementos em uma dada matriz;
- Aplicação dos NEEs para investigar outras possibilidades de aplicação destes dispositivos para estudo de sistemas eletroquímicos de interesse farmacológico;
- Estudar e caracterizar o perfil voltamétrico destes dispositivos modificados com poli-l-lisina e avaliar sua interação com outras classes de fármacos;
- Retomar os estudos espectrofotométricos das membranas douradas com a finalidade de melhor compreender as formas e geometrias de crescimento das nanopartículas de ouro no interior das matrizes hospedeiras.

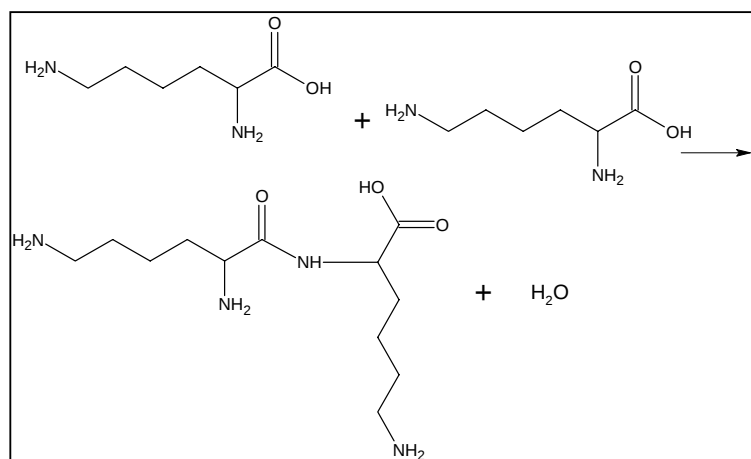


Figura A1: Fórmula do monômero lisina e da reação de formação do polímero.

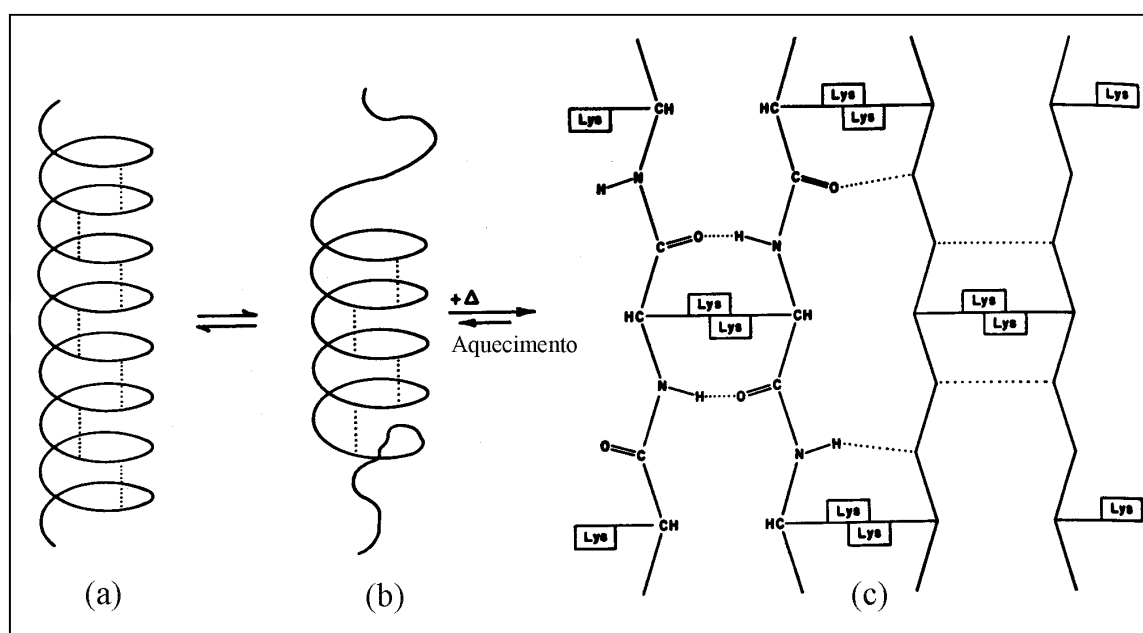
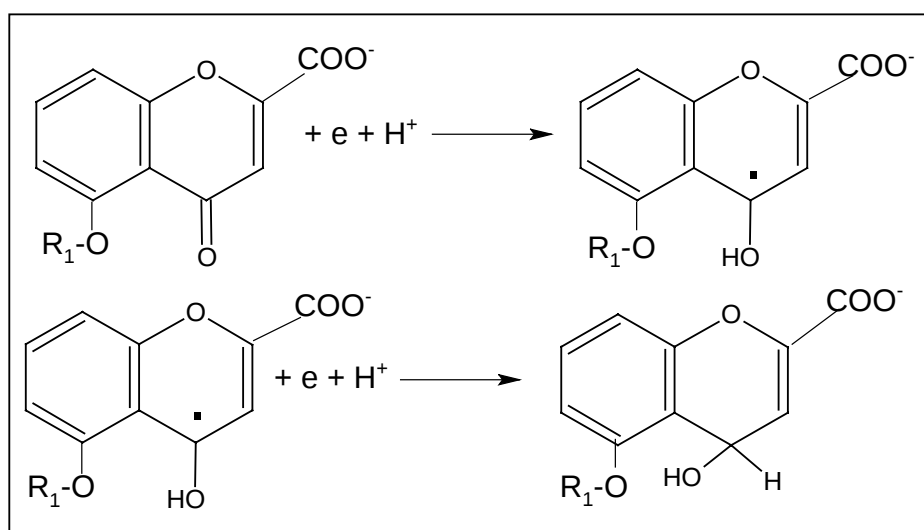


Figura A2: Representação esquemática de um mecanismo proposto para a transição de α -helicoidal para β -laminar observado para soluções de PLL. Conformações: (a) helicoidal, (b) randômica e (c) beta [72].



Esquema A1: Esquema de redução dos cromones, [226].

Tabela A1: Dados obtidos para os processos redox do iodeto gerado em potencial e tempo de condicionamento de $-0,80$ V e 120 s em $1,00 \times 10^{-3}$ mol L $^{-1}$ de IDU em B-R pH 2,0 com eletrodo de carbono vítreo sem filme.

ν (mV s $^{-1}$).	Pico anódico. E (mV).	Pico catódico. E (mV)	Pico anódico. i (μ A)	Pico catódico. i (μ A)	ipc/ipa.	$i_{pa}/\nu^{1/2}$ (μ A.mV $^{-1/2}$. s $^{-1}$).
10	786	689	0,690	0,320	0,460	0,218
20	781	694	1,00	0,610	0,610	0,223
30	779	684	1,17	0,790	0,670	0,214
40	781	677	1,41	1,01	0,720	0,223
50	771	671	1,56	1,04	0,670	0,221
60	774	680	1,68	1,08	0,640	0,217
70	777	666	1,91	1,14	0,600	0,228
80	777	661	2,06	1,30	0,630	0,230
90	777	668	2,17	1,37	0,630	0,229
100	779	659	2,20	1,26	0,570	0,220
120	777	652	2,50	1,28	0,510	0,228
140	784	652	2,70	1,66	0,610	0,228
160	781	652	2,92	1,73	0,590	0,231
180	786	652	3,01	1,77	0,590	0,224
200	786	650	3,28	1,97	0,600	0,232

Tabela A2: Parâmetros obtidos dos voltamogramas cíclicos para oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em solução de ácido sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ sobre macroeletrodo de ouro convencional.

ν mV s^{-1} .	E_{pa} (mV)	E_{pc} (mV)	ΔE (mV)	i_{pa} (μA)	i_{pc} (μA)	$E_{1/2}$ anódico (mV).
2	522	464	58,0	0,420	0,430	444
5	528	460	68,0	0,690	0,600	449
10	531	461	70,0	0,890	0,790	451
20	536	454	82,0	1,20	1,05	456
30	538	452	86,0	1,46	1,26	457
40	543	447	96,0	1,64	1,42	461
50	546	450	96,0	1,77	1,52	464
60	548	448	100	1,91	1,63	466
70	549	443	106	2,03	1,75	467
80	552	443	109	2,14	1,85	470
90	553	443	110	2,27	1,94	470
100	556	443	113	2,36	2,02	473
200	571	431	140	3,24	2,74	485
300	579	422	157	3,86	3,30	492
400	586	418	168	4,28	3,74	498
500	597	418	179	4,83	4,15	507
700	601	413	188	5,53	4,63	511
900	606	414	192	6,08	5,18	515

Tabela A3: Parâmetros voltamétricos para oxidação de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de iodeto de potássio em solução de ácido sulfúrico $0,500 \text{ mol L}^{-1}$ sobre NEE.

ν mV s^{-1}	E_{pa} (mV)	E_{pc} (mV)	ΔE (mV)	i_{pa} (nA)	i_{pc} (nA)	$E_{1/2}$ (anódico) (mV)
2	560	490	70,0	16,9	11,0	476
5	564	489	75,0	24,9	13,6	479
10	569	487	82,0	31,7	16,8	483
20	576	483	93,0	41,9	31,3	489
30	583	479	104	49,3	28,1	495
40	589	477	112	55,9	28,7	500
50	590	480	110	60,7	36,1	501
60	595	477	118	65,9	35,0	505
70	601	472	129	71,0	56,7	510
80	601	477	124	73,4	55,0	510
90	602	473	129	76,4	44,7	511
100	606	473	133	81,0	51,0	515
200	620	470	150	97,3	65,1	527
300	620	463	157	118	97,6	527
400	620	470	150	135	99,1	527
500	616	468	148	133	129	523
700	630	469	161	143	138	535
900	636	462	174	163	138	540

4.0 - CONCLUSÕES.

O poliaminoácido PLL pode ser imobilizado na superfície de eletrodo de carbono através da utilização de dois procedimentos distintos, (I): Utilizando a deposição direta de 10 μ L da solução do polímero em uma superfície previamente tratada seguido da volatilização do solvente em estufa a 80 °C e (II): Utilizando-se reação com o agente de ligação cruzada Glutaraldeído. As melhores condições de formação dos filmes do poliaminoácido foram investigadas utilizando-se o padrão ferricianeto de potássio em meio aquoso.

A aplicação do eletrodo de carbono pirolítico modificado com PLL segundo procedimento (I) foi realizada para investigar o comportamento do anti-asmático cromoglicato disódico, mostrando que o filme policationico possibilita a pré-concentração da droga na superfície modificada através da interação eletrostática entre os grupos amino-protonados da PLL e os grupos carboxilatos do fármaco. Esta interação possibilitou a determinação analítica do fármaco em urina humana em níveis de concentração de 99,8% apresentando valores concordantes com metodologia espectrofotométrica utilizada para validação do método proposto.

Os filmes de PLL obtidos através de reação com glutaraldeído, foram inicialmente aplicados para investigar o comportamento voltamétrico do hipotensor nitroprussiato de sódio. O composto aniônico também exibe forte interação com o poliaminoácido demonstrado pelo incremento de corrente observado pela comparação entre os voltamogramas cíclicos registrado para eletrodo polido e eletrodo modificado. O dispositivo foi aplicado para o monitoramento e determinação da formulação hospitalar NIPRIDE® em fluidos biológicos, tais como plasma e urina humana apresentando satisfatórios valores de recuperação. Metodologia espectrofotométrica comparativa foi aplicada para validação do ensaio eletroquímico.

Iodeto de potássio também pode ser monitorado com eletrodo modificado com PLL:GA e mostrou resultados particulares. As leituras de corrente observadas para a oxidação de iodeto sobre eletrodo modificado apresentam altos valores de corrente destacando a sensibilidade da metodologia proposta em relação ao eletrodo sem filmes. Um incremento de corrente na ordem de 10 vezes pode ser observada o qual foi vantajosamente utilizado para a construção de uma curva analítica para o halogênio e sua determinação em formulações farmacêuticas comerciais.

O antiviral idoxuridine, pode ser monitorado sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com PLL:GA através da aplicação prévia de redução do fármaco. Este

procedimento é capaz de promover a clivagem da ligação iodo-base nitrogenada existente na estrutura do fármaco e subsequente liberação de iodeto o qual pode ser oxidado na inversão da varredura de potencial. A aplicação das melhores condições experimentais previamente, estabelecidas possibilitou alcance do fármaco em valores de concentração de $9,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e sua recuperação em urina humana com valores de 99,5%. Uma metodologia espectrofotométrica foi estabelecida para a validação do procedimento proposto mostrando confiabilidade no ensaio de IDU com eletrodo modificado.

ESTUDOS FUTUROS.

- Investigar novas metodologias de imobilização do poliaminoácido PLL na superfície de eletrodos para comparar suas respostas com a metodologia apresentada e avaliar a possibilidade de melhorar a sua performance;
- Avaliar o emprego de microondas no processo de volatilização do solvente contido nas etapas de fabricação dos filmes com o objetivo de minimizar o tempo de reação entre PLL:GA e, desta forma, ampliar os sítios livres da PLL;
- Aplicação da metodologia utilizando eletrodo modificado com PLL:GA no estudo eletroquímico de outros compostos de interesse clínico;
- Inferir a possibilidade da utilização do polímero como agente complexante de espécies metálicas livres em solução;
- Estudar a viabilidade de utilização do eletrodo modificado com filmes de PLL:GA em acoplamento de sistemas em injeção em fluxo;
- Investigar a formação de espécies conjugadas entre fármacos e a PLL com a finalidade de montar sistemas de liberação gradativa de drogas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

PARTE A.

1. BREZINA, M.; ZUMAN, P. **Polarografic in medicine, biochemistry and pharmacy**, New York, Interscience, 1958.
2. HART, J. P. **Electroanalysis of biologically important compounds**, West Sussen: Ellis Horwood, 1990.
3. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental. 5. ed.** Porto Alegre: Bookman, 2002. cap. 22.
4. SMITH, M. R.; VOS, J. G. **Analytical voltammetry**, New York: Elsevier, 1992, cap. 4.
5. SNELL, K. D.; KEENAN, A. G. Surface Modified Electrodes, **Chem. Soc. Rev.**, v. 8, n. 2, p. 259-282, 1979.
6. MURRAY, R. W. Chemically Modified Electrodes. In: BARD, A. J. (Ed.). **Electroanalytical chemistry of advances**. New York: Marcel Decker, 1984. v. 13, p. 191-351.
7. ABRUNA, H. D. Coordination Chemistry in Two Dimensions: Chemically Modified Electrodes. **Coord. Chem. Rev.**, v. 86, p. 135-189, 1986.
8. HILLMAN, A. R. In: LINFORD, R. G. (Ed.). **Electrochemical science and tecnology of polymers**. London: Elsevier, 1987. v. 1, p. 103-292.
9. LYONS, M. E. G. **Annu. Rep. Prog. Chem.** v. 87, sect. C, p. 119, 1990.
10. MURRAY, R. W.; EWING, A. G.; DURST, A. R. Chemically Modified Electrodes Molecular Design for Electroanalysis, **Anal. Chem.**, v. 59, n 5, p. 379A, 1987.
11. BALDWIN, R. P.; THOMSEN, K. N. Chemically Modified Electrodes in Liquid Chromatography Detection: A Review, **Talanta**, v. 38, n 1, p. 1-16, 1991.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.**PARTE B.**

1. MENON, V. P.; MARTIN, C. R.; Fabrication and Evaluation of Nanoelectrode Ensembles, **Anal. Chem.**, v. 67, p. 1920-1928, 1995.
2. UGO, P.; MORETTO, L. M.; BELLOMI, S.; MENON, V. P.; MARTIN, C. R., Ion-Exchange Voltammetry at Polymer Film-Coated Nanoelectrode Ensembles, **Anal. Chem.**, v. 68, p. 4160-4165, 1996.
3. PENNER, R. M.; MARTIN, C. R. Preparation and Electrochemical Characterization of Ultramicroelectrode Ensembles, **Anal. Chem.**, v. 59, p. 2625-2630, 1987.
4. PENNER, R. M.; HEBEN, M. J. T.; LONGIN, L. N.; LEWIS, S. Fabrication and Use of Nanometer-Sized Electrodes in Electrochemistry, **Science**, v. 250, p. 1118-1121, 1990.
5. BRUNETTI, B.; UGO, P.; MORETTO, L. M.; MARTIN, C. R. Electrochemistry of Phenothiazine and Methyl Biosensor Electro-Transfer Mediators at Nanoelectrode Ensembles, **J. Electroanal. Chem.**, v. 491, p. 166-174, 2000.
6. CHENG, F.; WHITELEY, L. D.; MARTIN, C. R. Ultramicroelectrode Ensemble. Comparison of Experimental and Theoretical Response and Evaluation of Electroanalytical Detection Limits, **Anal. Chem.**, v. 61, p. 762-766, 1989.
7. SABATANI, E.; RUBINSTEIN, I. Organized Self-Assembling Monolayers on Electrodes. 2. Monolayers-Based Ultramicroelectrodes for the Study of Very Rapid Electrode Kinetics, **J. Phys. Chem.**, v. 91, p. 6663-6669, 1987.
8. BAKER, W. S.; CROOKS, R. M. Independent Geometrical and Electrochemical Characterization of Arrays of Nanometer-Scale Electrode, **J. Phys. Chem. B**, v. 102, p. 10041-10046, 1998.

-
9. MEDCALF, E. A.; NEWMAN, D. J.; ORMAN, E.G.; PRICE, C. P.; MARTIN, C. R.; MITCHELL, D. T. **Clin. Chem.**, v. 36, p. 446, 1990. **In:** MARTIN, C. R.; MITCHELL, D. T., ed. Bard, J. A., Template Synthesized Nanomaterials in Electrochemistry, **Electroanalytical chemistry**, New York, Marcel Decker, 1999, v. 21 cap. 1.
 10. SIMO, J. M.; JOVEN, J.; CLIVILLE, X.; SANS, T. **Clin. Chem.**, v. 40, p. 625, 1994. **In:** MARTIN, C. R.; MITCHELL, D. T., ed. Bard, J. A., Template Synthesized Nanomaterials in Electrochemistry, **Electroanalytical chemistry**, New York, Marcel Decker, 1999, v. 21 cap. 1.
 11. BATE, R. T.; **Sci. Am.**, v. 258, p. 96, 1988. **In:** MARTIN, C. R.; MITCHELL, D. T., ed. Bard, J. A., Template Synthesized Nanomaterials in Electrochemistry, **Electroanalytical chemistry**, New York, Marcel Decker, 1999, v. 21 cap. 1.
 12. OZIN, G. A.; **Adv. Mater.**, v. 4, p. 612, 1992. **In:** MARTIN, C. R.; MITCHELL, D. T., ed. Bard, J. A., Template Synthesized Nanomaterials in Electrochemistry, **Electroanalytical chemistry**, New York, Marcel Decker, 1999, v. 21 cap. 1.
 13. GREF, R.; MINAMITAKE, Y.; PERACCHIA, M. T.; TRUBETSKOY, V.; TORCHILIN, V.; LANGER, R.; Biodegradable Long-Circulating Polymeric Nanospheres, **Science**, v. 263, p. 1600-1603, 1994.
 14. PARTHASARATHY, R.; MARTIN, C. R. **J. Appl. Poly. Sci.** v. 62, p. 875, 1996. **In:** MARTIN, C. R.; MITCHELL, D. T., ed. Bard, J. A., Template Synthesized Nanomaterials in Electrochemistry, **Electroanalytical chemistry**, New York, Marcel Decker, 1999, v. 21 cap. 1.
 15. FAN, F. F.; BARD, A. J. Electrochemical Detection of Single Molecules, **Science**, v. 267, p. 871-874, 1995.

-
16. CRUMBLISS, A. L.; PERINE, S. C.; STONEHUERNER, J.; TUBERGEN, K. R.; ZHAO, J.; HENKENS, R. W.; Colloidal Gold, as a Biocompatible Immobilization Matrix Suitable for the Fabrication of Enzyme Electrodes by Electrodeposition, **Biotechnol. Bioeng.**, v. 40, p. 483-490, 1992.
 17. BROWN, K. R.; FOX, A. P.; NATAN, M. J. Morphology-Dependent Electrochemistry of Cytochrome c at Au Colloid-Modified SnO₂ Electrodes, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 118, p. 1154-1157, 1996.
 18. HULTEEN, J. C.; MARTIN, C. R. A Geral Template-Based Method for the Preparation of Nanomaterials, **J. Mater. Chem.**, v. 7, n. 7, p. 1075-1087, 1997.
 19. HULTEEN, J. C.; MENON, V. P.; MARTIN, C. R. Template Preparation of nanoelectrode Ensemble, **J. Chem. Soc. Faraday Trans.**, v. 92, n. 20, p. 4029-4032, 1996.
 20. MARTIN, C. R. Nanomaterials: A Membrane-Based Synthetic Approach, **Science**, v. 266, p. 1961-1965, 1994.
 21. SCHONENBERGER, C.; ZANDE, B. M. I.; FOKKINK, L. G. J.; HENNY, M.; SCHMID, C.; KRUGER, M.; HUBER, R.; BIRK, H.; STAUFER, U. Template Synthesis of Nanowires in Porous Polycarbonate Membrane: Electrochemistry and Morphology, **J. Phys. Chem., B**, v. 101, p. 5497-5405, 1997.
 22. NISHIZAWA, M.; MENON, V. P.; MARTIN, C. R. Metal Nanotubule Membranes with Electrochemically Switchable Ion-Transport Selectivity, **Science**, v. 268, p. 700-702, 1995.
 23. CEPACK, V. M.; MARTIN, C. R. **Chem. Mater.**, v. 11, p. 1363-1367, 1999. **In:** MARTIN, C. R.; MITCHELL, D. T., ed. Bard, J. A., Template Synthesized Nanomaterials in Electrochemistry, **Electroanalytical chemistry**, New York, Marcel Decker, 1999, v. 21 cap. 1.
 24. FOSS, C. A. J.; HORNYAK, G. L.; STOCKERT, J. A.; MARTIN, C. R. Template-Synthesized Nanoscopic Gold Particles: Optical Spectral and the Effects of Particle Size and Shape, **J. Phys. Chem.**, v. 98, p. 2963-2971, 1994.

-
25. FOSS, C. A. J.; HORNYAK, G. L.; STOCKERT, J. A.; MARTIN, C. R. Optical Properties of Composite Membranes Containing Arrays of Nanoscopic Gold Cylinders, **J. Phys. Chem.**, v. 96, p. 7497-7499, 1992.
26. SUN, Y.; XIA, Y. Increased Sensitivity of Surface Plasmon Resonance of Gold Nanoshells Compared to That of Gold Solid Colloids in Response to Environmental Changes, **Anal. Chem.**, v. 74, p. 5297-5205, 2002.
27. FRY, A. J. **Sinthetic organic electrochemistry**, New York, Harper Row, 1972, cap 3.
28. BROWN, E. R.; LARGE, R. F. **Techniques chemistry**, New York, Jonh Wiley & Sons, 1971, v. 1, p. 423.
29. NICHOLSON, R. S.; SHAIN, I. Theory of Stationary Electrode Polarography, **Anal. Chem.**, v. 36, p. 706–723, 1964.
30. BACCAN, N.; ANDRADE, J. C.; GODINHO, O. E. S.; BARONE, J. C. **Química analítica quantitativa elementar**, 2^a ed. Campinas, Edgar Blücher, 1979, cap.1.
31. TOREN, E. C.; DRISCOLL, A. F. Polarographic Study of the Iodine-Iodide Couple at the Rotating Platinum Electrode, **Anal. Chem.**, v. 38, n. 7, p. 872-876, 1966.
32. CHEN, Y.; ZHANG, H.; WU, B. Determination of the Adsorbed Intermediate of Iodide Electro-oxidation on a Platinum Electrode by Rotating Disk Electrode Potential Step Coulometry (RDE-PSC), **J. Electroanal. Chem.**, v. 335, p. 231-236, 1992.
33. VITT, J. E.; JOHNSON, D. C. Oxidation of Iodide to Iodate Concurrently with Evolution of Oxygen at Kelgraf Composite Electrodes, **J. Appl. Electrochem.**, v. 24, p. 107-113, 1994.

-
34. GUANGHAN, L.; MIN, Y.; QIFANG, Z.; AILAN, W.; ZEXIANG, J. Anodic Stripping Voltammetry for the Determination of Trace Iodide, **Electroanalysis**, v. 7, n. 6, p. 591-593, 1995.
35. SVANCARA, I.; KONVALINA, J.; SCHACHL, K.; KALCHER, K.; VYTRAS, K. Stripping Voltammetric Determination Iodide With Synergistic Accumulation at a Carbon Paste Electrode, **Electroanalysis**, v. 10, n. 6, p. 435-441, 1998.
36. ZHANG, W.; ZHA, H.; YAO, B.; ZHANG, C.; ZHOU, X.; ZHONG, S. Electrochemical Quartz Crystal Microbalance Characterization of I⁻ and its Amperometric Detection by Microelectrode, **Talanta**, v. 46, p. 711-716, 1998.
37. CANTREL, L.; FULCONIS, J. M.; DUMAS, J. C. Voltammetric Analysis of Iodide and Diffusion Coefficients Between 25 and 85°C, **J. Solut. Chem.**, v. 27, n. 4, p. 373-393, 1998.
38. ALEKSANDROVA, T. P.; KLETENIK, Y. B. Direct Voltammetry of Halite Ions on Renewal Solid Electrodes, **J. Anal. Chem.**, v. 53, n. 7, p. 654-657, 1998.
39. WALCARIUS, A.; LEFEVRE, G.; RAPIN, J. P.; RENAUDIN, G.; FRANCOIS, M. Voltammetric Detection of Iodide After Accumulation by Friedel's Salt, **Electroanalysis**, v. 13, n. 4, p. 313-320, 2001.
40. HASSAD, S. S. M.; MARZOUK, S. A. M. Sequential Flow-injection Potenciometric Determination of Iodide and Iodine in Povidone Iodine Pharmaceuticals, **Electroanalysis**, v. 5, p. 855-861, 1993.
41. ISENBERG, S. J.; LEONARD, A.; VALENTON, M.; SIGNORE, M.; CUBILLAN, L.; LABRADOR, M. A.; CHAN, P.; BERMAN, N. G. A Controlled Trial of Povidone-Iodine to Treat Infectious Conjunctivitis in Children, **Am. J. Ophthalm.**, p. 681-688, 2002.
42. GUZMAN, M. A.; SAMUEL D.; PRIEN, S. D.; BLANN, D. W. Post-Cesarean Related Infection and Vaginal Preparation with Povidone-Iodine Revisited, **Third Prize Manuscript**, v. 9, n. 6, p. 206- 209, 2002.

43. PALIULIONYTE, V.; ARAUSKAS, A. Single-Run Capillary Electrophoretic Speciation of Iodide and Iodine, **Anal. Chim. Acta**, v. 466, p. 133–139, 2002.
44. SOYER, J.; ROUILY, M.; CASTEL, O. The Effect of 10% Povidone+Iodine Solution on Contaminated Bone Allografts, **J. Hosp. Infec.**, v. 50, p. 183-187, 2002.
45. HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**, Rio de Janeiro, 5ª edição, LTC editora, 2001, cap. 5.
46. VOGEL, A. I. **Análise inorgânica quantitativa**, Rio e Janeiro, 4ª edição, Guanabara Dois, 1981, p. 255-256.
47. VOGEL, A. I. **Análise química quantitativa**, Rio e Janeiro, 5ª edição, Guanabara Koogan, 1992, cap. 10.

12. WANG, J. Modified Electrodes for Electrochemical Sensors, **Electroanalysis**, v. 3, p.255-259, 1991.
13. SCOTT, N. S.; OYAMA, N.; ANSON, F. C. Spectroelectrochemical Observations at Transparent Graphite Electrodes Coated with Poly(4-VinylPyridine), **J. Electroanal. Chem.**, v. 110, p. 303-310, 1980.
14. MERZ, A.; BARD, A. J. A Stable Surface Modified Platinum Electrode Prepared by Coating with Electroactive Polymer, **J. Amer. Chem. Soc.**, v. 100, p. 3222-3223, 1978.
15. WANG, J.; TAHA, Z. Catalytic Oxidation and Flow Detection of Carbohydrates at Ruthnium Dioxide Modified Electrodes, **Anal. Chem.**, v. 62, p. 1413-1416, 1990.
16. UGO, P.; MORETTO, L. M. Ion-Exchange Voltammetry at Polymer-Coated Electrode: Principles and Analytical Prospects, **Electroanalysis**, v. 12, n. 7, p. 1105-1113, 1995.
17. LIU, K. Z.; WU, Q. **Electroanalysis**, vol. 4, p. 569, 1992.
18. OYAMA, N.; ANSON, F.C. Electrostatic Binding of Metal Complexes to Electrode Surfaces Coated with Highly Charged Polymeric Films, **J. Electrochem. Soc.**, v. 127, n. 1-3, p. 247-250, 1980.
19. ANSON, F. C.; SAVEANT, J.; SHIGWHARA, K. New Model for the Interior of Polyelectrolyte Coatings on Electrode Surface. Mechanisms of Charge Transport Through Protonated Poly(L-Lisine) Films Containing $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{edta})$ and $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{edta})$ as Counterions, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 105, n. 4-5, p. 1096-1106, 1983.
20. SHIGEYARA, K.; OYAMA, N.; ANSON, F. C. Evaluation of Rate Constants for Redox Self-Exchange Reactions from Electrochemical Measurements with Rotating-Disk Electrodes Coated with Polyelectrolyte, **Inorg. Chem.**, v. 20, p. 518-522, 1981.
21. RUBSTEIN, I.; BARD, A. J. Polymer Films on Electrodes 4. Nafion-Coated Electrodes and Electrogenerated Chemiluminescence of Surface-Attached $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+2}$, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 102, p. 6641-6642, 1980.

-
22. HENNING, T. P.; WHITE, H. S.; BARD, A. J. Polymer Films on Electrodes 6. Bioconductive Polymers by incorporation of Tetrathiafulvalenium in a Polyelectrolyte (Nafion) Matrix, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 103, p. 3937-3938, 1981.
23. WHITE, H. S.; LEDDY, J.; BARD, A. J. Polymer Films on Electrode. 8 Investigation of Charged-Transport Mechanisms in Nafion Polymer Modified Electrodes, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 104, p. 4811-4817, 1982.
24. MARTIN, C. R.; RUBSTEIN, I.; BARD, A. J. Polymer Films on Electrodes. 9. Electron and Mass Transfer in Nafion Films Containing $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+2}$, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 104, p. 4817-4824, 1982.
25. HENNING, T. P.; WHITE, H. S.; BARD, A. J. Polymer Films on Electrodes. 10. Electrochemical Behavior of Solution Species at Nafion-Tetrathiafulvalenium Bromide Polymers, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 104, p. 5862-5868, 1982.
26. BUTRY, D. A.; ANSON, F. C. Electron Hopping vs Molecular Diffusion as Charge Transfer Mechanisms in Redox Polymer Films, **J. Electroanal. Chem.**, v. 130, p. 333-338, 1981.
27. BUTRY, D. A.; ANSON, F. C. Electrochemical Control of the Luminescent Lifetime of $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+2}$ Incorporated in Nafion Films on Graphite Electrodes, **J. Amer. Chem. Soc.**, v. 104, p. 4824-4829, 1982.
28. BUTRY, D. A.; ANSON, F. C. Effects of Electron Exchange and Single-File Diffusion on Charge Propagation in Nafion Films Containing Redox Couples, **J. Amer. Chem. Soc.**, v. 105, p. 685-689, 1983.
29. OYAMA, N.; OKI, N.; OHNO, H.; OHNUKI, Y.; MATSUDA, H.; TSUCHIDA, E. Electrocatalytic Reduction of Oxygen by poly(sulfonate) Complex Coated on Graphite Electrodes, **J. Phys. Chem.**, v. 87, p. 3642-3647, 1983.
30. ANSON, F. C.; TSOU, Y. Outer-Sphere Oxidation of Ascorbate with $\text{Os}(\text{bpy})_3^{+3}$ Incorporated in Nafion Coatings on Graphite Electrodes, **J. Electroanal. Chem.**, v. 178, p. 113-127, 1984.

-
31. SASSO, S. V.; PIERCE, R.; WALLA, R.; YACYNYCH, A. Electropolymerized 1,2-Diaminobenzene as a Means To Prevent Interferences and Fouling and To Stabilize Immobilized Enzyme in Electrochemical Biosensor, **Anal. Chem.**, v. 62, p. 1111-1117, 1990.
 32. WANG, J.; LU, Z. Highly Stable phospholipids/Cholesterol Electrode Coatings for Amperometric Monitoring of Hydrophobic Substances in Flowing Streams, **Anal. Chem.**, v. 62, p. 826-829, 1990.
 33. NAGY, G.; GEHARDT, G.; OKE, A.; RICE, M.; ADAMS, R. N. Ion Exchange and Transport of Neurotransmitters in Nafion Films on Conventional and Microelectrode Surfaces, **J. Electroanal. Chem.**, v. 188, p. 85-94, 1985.
 34. CHANDLER, G. K.; PLETCHER, D. **Electrochem. Special. Perio. Repot.**, v. 110, p. 117-150, 1986.
 35. SKOTHEIN, T. A. **Handbook of conducting polymers**, New York, Marcel Dekker, 1986, v. 1-2.
 36. FEAST, W. J. **Conductive polymers, Report from rapra review**, New York: Pergamon Press, 1987, vol. 1.
 37. MACDIARMID, A. G.; MAXFIELD, M. In LINFORD, R. G. (Ed), **Electrochemical science and tecnologoly of polymers**, London, Elsevier, 1987, v. 1, p. 22-249.
 38. DERONZIER, A.; MOUTET, J. C. **Conductive polymers and plastics**, New York, Chapman and Hall, 1989.
 39. EVANS, G. P. In GERISHER, H.; TOBIAS, C. W. (Ed). **Advances in electrochemical science and engineering**, Weihim, VCH, 1990, v 1, p. 1-74.
 40. HEIZE, J. **Top. Curr. Chem.**, v. 152, p. 1, 1990.
 41. SINONET, J.; RAULT, B. **Prog. Solidstate Chem.**, v. 1, p. 21, 1991.

-
42. IMISIDES, M. D.; JOHN, R.; RILEY, P. J.; WALLACE, G. G. **Electroanalysis**, v. 3, p. 879, 1991.
43. ITAYA, K.; UCHIDA, I.; NEFF, V. D. Electrochemistry of Polynuclear Transition Metal Cyanides: Prussian Blue and Its Analogues, **Acc. Chem. Res.**, v. 19, p. 162-168, 1986.
44. OLIVEIRA, M. F.; MORTIMER, R. J.; STRADIOTTO, N. R. Voltammetric Determination of Persulfate Anions Using an Electrode Modified with a Prussian Blue Film, **Microchem. J.**, v. 64, n. 2, p. 155-159, 1999.
45. MORTIMER, R. J.; BARBEIRA, P. J. S.; SENE, A. F. B.; STRADIOTTO, N. R. Potentiometric Determination of Potassium cations Using a Nickel(II) Hexacyanoferrate-Modified Electrode, **Talanta**, v. 49, p. 271-275, 1999.
46. HILLMAN, A. R. In: Linford, E. G. (Ed), **Electrochemical science and technology of polymers**, London, Elsevier Applied Science, 1987, v. 1, cap. 5-6.
47. MAJDA, M. In: MURRAY, R. (Ed.). **Molecular design of electrode surfaces**. New York: Jonh Wiley, 1992. p. 159.
48. INZELT, G. In: Bard, A. J. (Ed). **Electroanalytical chemistry**, New York, Marcel Dekker, 1994, v. 18, p. 90.
49. WANG, J. In: Bard, A. J. (Ed). **Electroanalytical chemistry**, New York, Marcel Dekker, 1992, vol. 16.
50. FORSTER, J.; VOS, J. G. In: Smith, M. R; Vos, J. G. (Ed). **Analytical voltammetry**, Amsterdam, Elsevier, 1992, cap.7.
51. ARRIGAN, D. W. M. **Analyst**, v. 119, p. 1953-1966, 1994.
52. FACI, J.; MURRAY, R. W. Kinetics of Charge Transport Through Polycationic Polymer Films on Electrode Containing Various Concentrations of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3}$ and of IrCl_6^{-3} . **J. Electroanal. Chem.**, v. 124, p. 339-343, 1981.

-
53. MOREIRA, J. C.; ZHAO, R.; FOGG, A. G. Modification of Electrode with Adsorbed Polyamino Acids. **Analyst**, v 115, p. 1561-1564, 1990.
54. LONG, Y. T.; CHEN, H. Y. Electrochemical Regeneration of Coenzyme NADH on a Histidine Modified Silver Electrode, **J. Electroanal. Chem.**, v. 440, p. 239-242, 1997.
55. YU, A. M.; SUN, D. M.; GU, H. Y.; CHEN, H. Y. Catalytic Oxidation of Ascorbic Acid at a Polyhistidine Modified Electrode and its Application to the Voltammetric Resolution of Ascorbic Acid and Dopamine, **Anal. Lett.**, v. 29, n. 15, p. 2633-2643, 1996.
56. CHEN, H. Y.; YU, A. I.; XU, D. K. Development of an Amperometric Detector for the Determination of Phenolic Compounds, **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 359, p. 542-545, 1997.
57. LI, G.; CHEN, L.; ZHU, J.; ZHU, D.; UNTEREKER D. F. Histidine Modified Electrode and its Application to the Electrochemical Studies of Hemeproteins, **Electroanalysis**, v. 11, n. 2, p. 139-142, 1999.
58. ZHANG, L.; SUN, Y. M.; LIN, X. Separation of Anodic Peaks of Ascorbic Acid and Dopamine at an Alanine Covalently Modified Glassy Carbon Electrode, **Analyst**, v. 126, p. 1760-1763, 2001.
59. YU, A. M.; ZHANG, H. L.; CHEN, H. Y. Fabrication of a Polyglycine Chemically Modified Electrode and its Electrocatalytic Oxidation to Ascorbic Acid, **Electroanalysis**, v. 9, n. 10, p. 788-790, 1997.
60. ZHANG, L.; LIN, X. Covalent Modification of Glassy Carbon Electrodes with Glycine for Voltammetric Separation of Dopamine and Ascorbic Acid, **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 370, p. 956-962, 2001.
61. YU, A. M.; ZHANG, H. L.; CHEN, H. Y. Catalytic Oxidation of Uric Acid at the Polyglycine Chemically Modified Electrode and its Trace Determination, **Analyst**, v.122, p. 839-841, 1997.

-
62. CHEN, H. Y.; YU, A. I.; ZHANG, H. L. Electrocatalytic Oxidation of Dopamine at the Polyglycine Chemically Modified Carbon Fiber Bundle Electrode and its Voltammetric Resolution with Uric Acid, **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 358, p. 863-864, 1997.
63. YAN, Z.; ZHANG, J. R.; FANG, H. Q. Electrocatalytic Oxidation of Uric Acid at Cysteine Modified Glassy Carbon Electrode, **Anal. Lett.**, v. 32, n. 2, p. 223-234, 1999.
64. LIU, A. C.; CHEN, D. C.; LIN, C. C.; CHOU, H. H.; CHEN, C. H. Applications of Cysteine Monolayers for Electrochemical Determination of Sub-ppb Copper(II), **Anal. Chem.**, v. 71, p. 1549-1552, 1999.
65. YU, A. M.; CHEN, H. Y. Electrocatalytic Oxidation and Determination of Ascorbic Acid at Poly(Glutamic Acid) Chemically Modified Electrode, **Anal. Chim. Acta**, v. 344, p. 181-185, 1997.
66. YU, A. M.; CHEN, H. Y. Electrocatalytic Oxidation of Hydrazine at the Poly(Glutamic Acid) Chemically Modified Electrode, **Anal. Lett.**, v. 30, n. 3, p. 599-607, 1997.
67. YANG, W. C.; YU, A. M.; DAI, Y. Q.; CHEN, H. Y. Determination of Hydrazine Compounds by Capillary Electrophoresis with a Poly(Glutamic Acid) Chemically Microdisk Carbon Fiber Electrode, **Anal. Lett.**, v. 33, n. 15, p. 3343-3353, 2000.
68. NARASIAH, D.; MITRA, C. K. A Polytyrosine Modified Conducting Electrode, **Anal. Lett.**, v. 25, n. 3, p. 443-452, 1992.
69. NARASIAH, D.; MITRA, C. K. A Polytryptophan-Modified Electrode, **Electroanalysis**, v. 5, p. 589-594, 1993.
70. ANSON, F. C.; OSAKA, T.; SAVANT, J. M. Diffusional Pathways for Multiply Charged Ions Incorporated in Polyelectrolyte Coatings on Graphite Electrode. **J. Phys. Chem.**, v. 87, n 1-4, p. 640-647, 1983.
71. IMMANENI, A.; McHUGH, A. J. Flow-Induced Conformational Changes and Phase Behavior of Aqueous Poly-L-Lysine Solutions, **Biopolymers**, v. 45, p. 239-246, 1998.

-
72. DAVIDSON, B.; FASMAN, G. D. The Conformational Transitions of Uncharged Poly-L-Lysine. **Biochemistry**, v. 6, n. 6, p. 1616-1629, 1967.
73. PIRZAD, R.; MOREIRA, J. C.; DAVIES, A. E.; FOGG, A. G. Differential-Pulse Cathodic Stripping Voltammetric Determination of Nedocromil Sodium at an Unmodified and at a Poly-L-Lysine Modified Electrode, **Analyst**, v. 111, p. 2439-2442, 1994.
74. PIRZAD, R.; MOREIRA, J. C.; DAVIES, A. E.; FOGG, A. G. Differential-Pulse Cathodic Stripping Voltammetric Determination of Sodium Nitroprusside at a Hanging Mercury Drop Electrode Aided by Copper (II) and Poly-L-Lysine modification, **Analyst**, v. 119, p. 963-968, 1994.
75. MOREIRA, J. C.; FOGG, A. G. Modification of Electrode with Adsorbed Polyamino Acids. **Analyst**, v. 115, p. 1565-1568, 1990.
76. FERREIRA, V. S.; ZANONI, M. V. B.; FOGG, A. G. Cathodic Stripping Voltammetric Determination of Ceftazidime with Reactive Accumulation at a Poly-L-Lysine Modified Hanging Mercury Drop Electrode, **Anal. Chim. Acta.**, v. 384, n. 2, p. 159-166, 1999.
77. HALADJIAN, J.; CHEF, I. T.; BIANCO, P. Permselective-Membrane Pyrolytic Graphite Electrode for the Study of Microvolumes of Ferredoxin, **Talanta**, v. 43 p. 1125-1130, 1996.
78. BIANCO, P.; HALADJIAN, J.; DEROCLES, G.,S. Ion-Exchange Properties of Poly-L-Lysine Coatings on Pyrolytic Graphite Electrodes, **Electroanalysis**, v. 6, p. 67-74, 1994.
79. FOGG, A. G.; PIRZAD, R.; MOREIRA, J. C.; DAVIES, A.E. Improving the Performance of Screen-Printed Carbon and Polished Platinum and Glassy Carbon Voltammetric Electrodes by Modification with Poly-L-Lysine, **Anal. Proc.**, v. 32, n. 6, p. 209-212, 1995.
80. MIZUTANI, F.; YABUKI, S.; HIRATA, Y. Amperometric Biosensors Using Poly-L-Lysine/Poly(Styrenesulfonate) Membrane with Immobilized Enzymes, **Denki Kagaku**, v. 63, n. 12, p. 1100-1105, 1995.

-
81. MIZUTANI, F.; SATO, Y.; YABUKI, S.; HIRATA, Y. Enzyme Ultra-Thin Layer Electrode Prepared by the Co-Adsorption of Poly-L-Lysine and Glucose Oxidase onto a Mercaptopionic Acid Modified Gold Surface, **Chem. Lett.**, p. 251-252, 1996.
82. MIZUTANI, S.; SATO, Y.; HIRATA, Y.; SAWAGUCHI, T.; YABUKI, S. Glucose Oxidase/Polyion Complex-Bilayer Membrane for Elimination of Electroactive Interferents in Amperometric Glucose Sensor, **Anal. Chim. Acta.**, v. 364, p. 173-179, 1998.
83. MIZUTANI, F.; SATO, Y.; YOSHIKI, Y.; YABUKI, S. Amperometric L-Lactate-Sensing Electrode Using an Enzyme Ultra-Thin Layer Produced through the Co-adsorption of Poly-L-Lysine and Lactate Oxidase onto Mercaptoalkanoic Acid-Modified Gold Surface, **Denki Kagaku**, v. 64, n. 12, p. 1266-1268, 1996.
84. MIZUTANI, F.; SATO, Y.; YUKARI, S.; HIRATA, Y. Amperometric Enzyme Electrode Using Polyion Complexes as Enzyme Matrices, **Proc. Electrochem. Soc.**, v. 97, n. 19, p. 1028-1038, 1997.
85. MIZUTANI, F.; YABUKI, S.; IJIMA, S. Amperometric Alcohol-Sensing Electrode Based on a Polyion Complex Membrane Containing Alcohol Oxidase **Anal. Sci.**, v. 13, n. 1, p. 83-87, 1997.
86. MIZUTANI, F.; SATO, Y.; HIRATA, H.; YOSHIKI, Y.; YABUKI, D S. **Chem. Sens.**, v. 14, p. 157, 1998.
87. EDWARD, A. M.; HOWELL, J. B. L. The Chromones: History, Chemistry and Clinical Development, **Clin. Exper. Aller.**, v. 30, p. 756-774, 2000.
88. KAUFFMAN, G. B.; Asthma, Anti-Allergens and Aerosols, **Educ. Chem.**, p. 42-44, 1984.
89. ZANINI, A. C.; OGA, S. **Guia de medicamentos**, São Roque, IPEX editora, 1997, p. 600-601.
90. ASPURU, E. O.; ZATON, A. M. L. Binding of Disodium Cromoglycate to Human Serum Albumin, **Spectrochim. Acta, Part A.**, v. 54, p. 983-988, 1998.

-
91. ASWANIA, O. A.; CORLETT, S. A.; CHRYTYN, H. Developed and Validation of an Ion-Pair Liquid Chromatographic Method for the Quantitation of Sodium Cromoglycate in Urine Following Inhalation, **J. Chromat., B.**, v. 690, p. 373-378, 1997.
92. FALLIERS, C. J. Cromolyn Sodium, **J. Allergy**, v. 47, n. 5, p. 298-305, 1971.
93. SPINGER, V.; HORNACKOVA, M.; KOPECKA, B.; KETTMANN, V. On the Problems of Spectrophotometric Determination of Sodium Cromoglycate, **Cesk. Farm.**, v. 40, n. 1, p. 21-4, 1991. In: **Chem. Abstr.** v. 114, 1991, abstract 254109v.
94. TILLMAN, J.; WHYMARCK, D. W. A Method for the Determination of Disodium Cromoglycate and Other Chromones, **Analyst**, v. 96, p. 689-698, 1971.
95. DUHAIME, R. M.; ROLLINS, L. K.; GORECKI, D. J. K.; LOVERING, E. G. Liquid Chromatographic determination of Cromolyn Sodium and Related Compounds in Raw Materials, **J. Ass. Off. Amer. Chem.**, v. 77, n. 6, p. 1439-1442, 1994.
96. LINDA, L. N. Reversed-Phase Liquid Chromatographic Determination of Cromolyn Sodium in Drugs Substance and Select Dosage Forms, **J. Ass. Off. Amer. Chem.**, v. 77, n. 6, p. 1689-1694, 1994.
97. KOCIC, P. V.; RADULOVIC, D.; PECANAC, D.; ZIVANOVIC, L. Determination os Sodium Cromoglicate in Pharmaceutical Dosage Forms Using TLC-Densitometry, **II Farmaco**, v. 47, n. 12, p. 1563-1567, 1992.
98. SHAKYA, A. K.; KARAJGI, J.; TALWAR, N.; SINGHAI, A. K.; JAIN, N. K. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Sodium Cromoglycate, **Ind. J. Pharm. Sci.**, v. 54, n. 5, p. 204-206, 1992.
99. SEGALL, A. V.; FABIANA; R. R.; GIANCASPRO, G. P; MARIA T. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Sodium Cromoglycate, **Drug Rev. Ind. Pharm.**, v. 23, n. 8, p. 839-842, 1997.
100. MANSFIELD, R.; HUANG, J.; THATCHER, S.; MILLER, R.B.; DAVIS, C.W. Developed and Validation of a Stability-Indicating HPLC Method for the Determination of Cromolyn Sodium and its Related Substances in Cromolyn Sodium Drug Substance and

- Cromolyn Sodium Inhalation Solution, 1%, **J. Liq. Chromatog. Relat. Technol.**, v. 22, n. 14, p. 2187-2209, 1999.
101. GARDNER, J. J. Determination of Sodium Cromoglycate in Human Urine by High-Performance Liquid Chromatography on an Anion-Exchange Column, **J. Chromatogr.**, v. 305, n. 1, p. 228-232, 1984.
102. MAWATARI, K. I.; MASHIKO, S.; SATE, Y.; USUI, Y.; LINUMA, F.; WATANABE, M. Determination of Sodium Cromoglycate in Human Urine by High-Performance Liquid Chromatography with Post-Column Photoirradiation-Fluorescence Detection, **Analyst**, v. 122, p. 715-717, 1997.
103. BROWN, K.; GARDNER, J. J.; LOCKLEY, W. J. S.; PRESTON, J. R.; WILKINSON, D. J. Radioimmunoassay of Sodium Cromoglycate in Human Plasma, **Ann. Clin. Biochem.**, v. 20, n. 1, p. 31-36, 1983.
104. FOGG, A. G.; FAYAD, N. Differential Pulse Polarographic Determination of Disodium Cromoglycate in Urine, **Anal. Chim. Acta.**, v. 102, p. 205-210, 1978.
105. MOREIRA, J. C.; FOSTER, S. E.; RODRIGUES, J. A.; FOGG, A. G. Differential-Pulse Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Disodium Cromoglycate at a Hanging Mercury Drop Electrode, **Analyst**, v. 117, p. 989-991, 1992.
106. BUTLER, A. R.; GLIDEWELL, C. Recent Chemical Studies of Sodium Nitroprusside Relevant to its Hypotensive Action, **Chem. Soc. Rev.**, v. 16, p. 361-380, 1987.
107. **DICIONÁRIO DE ESPECIALIDADES FARMACÊUTICAS**, J.B.M., (RJ), p. 726-8, 2000/01.
108. GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**, 6ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1980, vol. 1, cap. 32.
109. RUCKI, R. **Analytical profiles of drugs substances**, New York, Academic Press, 1977, vol. 6, p. 487-13.

-
110. LEEUWENKAMP, O. R.; MARK, E. J. V. D.; KLAUW, P. M. V. D.; BENNEKOM, W. P. V.; BULT, A. Reversed-Phase ion-Pair Chromatographic Method for the Determination of Nitroprusside in Photolyzed Solution, **Anal. Chim. Acta.**, v. 161, 211-219, 1984.
111. BAASKE, D. M.; SMITH, M. D.; CARTER, J. E.; KARNATZ, N. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Sodium Nitroprusside, **J. of Chromatogr.**, v. 212, p. 339-346, 1981.
112. REGNAULT, R. C.; BORBA, A.; MALBOSC, R.; Spectrophotometric Study of the Preservation of Nitroprusside in Aqueous Solution, **Ann. Pharm. Fr.**, v. 45, n. 3, 225-231, 1987.
113. ALWARTHAN, A. A. Determination of Nitroprusside by Flow Injection with Spectrophotometric Detection, **Anal. Lett.**, v. 28, n. 2, p. 295-306, 1995.
114. ALWARTHAN, A. A.; LOHEDAN, H. A. A. Direct Kinetic Determination of Sodium Nitroprusside in Pharmaceutical Formulations, **Anal. Lett.**, v. 28, n. 3, p. 485-491, 1995.
115. TOSHIHIKO, T.; KAZUNORI, K.; TOSHIO, I. **Bunsek Kagaku**, v. 32, n. 2, p. 130-133, 1983. In: **Chem. Abstr.**, v. 98, 1983, abstract 136761e.
116. SANE, R. T.; DOSHI, V. J.; JUKAR, S. R. **Acta Cienc. Indica Chem.**, v. 10, n. 4, p. 264-266, 1984. In: **Chem. Abstr.** v. 103, 1985, abstract 92951g.
117. HARTLEY, T. F.; PHILCOX, J. C.; WILLOUGHBY, J.; **J. Pharm. Sci.**, v. 74, n. 6, p. 668-671, 1985.
118. LI, D.; ZHU, B. **Yiyao Gongye**, v. 18, n. 8, p. 365-368, 1987. In: **Chem. Abstr.** v. 107, 1987, abstract. 205318j.
119. WEHAID, A. M. A.; Flow Injection Spectrophotometric Determination of Sodium Nitroprusside, **Anal. Lett.**, v. 24, n. 4, p. 589-601, 1991.
120. ALWEHAID, A. M. **Anal. Sci.**, v. 7, n. 3, p. 393-396, 1991.

-
121. MALBOSC, R.; ROGER, C. R.; BORGA, A.; Rapid and Covenient Method for the Determination of Sodium Nitroprusside in Aqueous Solution **Anal. Lett.**, v. 17, n. A11, p. 1317-1323, 1984.
122. ALWARTHAN, A. A.; Chemiluminescesce Detection of Sodium Nitroprusside Using Flow Injection Analysis, **Talanta**, v. 41, n. 10, p. 1683-1688, 1994.
123. KOLTHOFF, I. M.; TOREN, P. E.; Polarography of Nitroprusside. Equilibrium Constant of the Reaction Between Nitroprusside and Hydroxyl Ions, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 75, p. 1197-1201, 1953.
124. SWINEHART, J. H. The Nitroprusside Ion, **Coord. Chem. Rev.** v. 2, p. 385-402, 1967.
125. MASEK, J.; MASLOVA, E. The Nitroprusside Ion reduction Products, **Collect. Czech. Chem. Commun.**, v. 39, n. 8, p. 2141-2161, 1974.
126. KASHYAP, R. S.; SHARMA, P. N.; KUMAR, A. Polarographic Behaviour of Nitroprusside Ion in Different Supporting Electrolytes, **Ind. J. Chem.**, v. 19a, p. 535-537, 1980.
127. KASHYAP, R. S.; SHARMA, P. N.; KUMAR, A. Polarographic Electro-Redution of Nitroprusside Ion, **Ind. J. Chem.**, v. 21a, p. 543-545, 1982.
128. LEEUWENKAMP, O. R.; JOUSMA, H.; MARK, E. J. V. D.; BENNEKOM, W. P. V.; BULT, A. Polarographic of Disodium Pentacyanonitrosylferrate (II). Part I, **Anal. Chim. Acta.**, v. 56, p. 51-59, 1984.
129. LEEUWENKAMP, O. R.; JOUSMA, H.; MARK, E. J. V. D.; BENNEKOM, W. P. V.; BULT, A. Polarographic of Disodium Pentacyanonitrosylferrate (II). Part II, **Anal. Chim. Acta.**, v. 166, p. 129-140, 1984.
130. KAMEL, A. G.; ELKADER, K. A.; GOMAA, E. A.; ASKANANY, A. H. E.; Polarographic Electro-Redution of Nitroprusside Ion, **Acta Chim. Hung.**, v. 118, n. 3, p. 197-200, 1985.

-
131. GOMAA, E. A.; EWADY, Y. A.; ASKALANY, A. H. E. Mechanism of Electroreduction of Sodium Nitroprusside, **Rev. Roum. Chim.**, v. 35, n. 4, p. 491-494, 1990.
132. ASKALANY, A. H. E.; GOMAA, E. A.; EWADY, Y. A. E. Mechanism of Electroreduction of Sodium Nitroprusside, **Oriental J. Chem.**, v. 4, n. 2, p. 204-206, 1988.
133. ASKALANY, A. H. E. Polarographic of Sodium Nitroprusside, **Bull. Natl. Res. Cent. Egypt**, v. 20, n. 1, p. 93-99, 1995.
134. ASKALANY, A. H. E. Electrochemical Studied of Sodium Nitroprusside Ion in Aqueous-Methanol Solutions, **Commun. Fac. Sci. Univ. Ank. Serie B.**, v. 41, p. 67-76, 1995.
135. BOWDEN, W. L.; BONNAR, P.; BROWN, D. B.; GEIGER, W. E. Electrochemistry of the Nitroprusside Ion in Nonaqueous Solvents, **Inorg. Chem.**, v. 16, n. 1, p. 41-43, 1977.
136. CARAPUÇA, H. M.; SIMAO, J. E. J.; FOGG, A. G. Voltammetric Behaviour of Sodium Nitroprusside in Aqueous Solution of Low pH, **Port. Electrochim. Acta**, v. 13, p. 349-353, 1995.
137. CARAPUÇA, H. M.; SIMAO, J. E. J.; FOGG, A. G. Electrochemistry of the Nitroprusside Ion, **Analyst**, v. 121, n. 12, p. 1801-1804, 1996.
138. CARAPUÇA, H. M.; SIMAO, J. E. J.; FOGG, A. G. Comproportionation and Disproportionation Reactions in the Electrochemical Redution of Nitroprusside at a Hanging Mercury Drop Electrode in Acid Solution, **J. of Electroanal. Chem.**, v. 455, p. 93-105, 1998.
139. CARAPUÇA, H. M.; FELIPE, O. M. S.; SIMAO, J. E. J.; FOGG, A. G. Electrochemical Studies of Nitroprusside in the Presence of Copper (II), **J. of Electroanal. Chem.**, v. 480, p. 84-93, 2000.
140. FOGG, A. G.; ARCINIEGA, M. A. F.; ALONSO, R. M. Flow injection Amperometric Determination of Nitroprusside at a Glassy Carbon Electrode and at a Sessile Mercury Drop Electrode, **Analyst**, v. 110, p. 345-348, 1985.

-
141. NARAYANAN, S., Current Concepts of Thyroid Function and Laboratory Evaluation, **Ind. J. Clin. Biochem.**, v. 12, n. 1, p. 25-34, 1997.
142. KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. **Química farmacêutica**, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1988.
143. GOODMAN, M. A. L. S.; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1967.
144. SILVA, P. **Farmacologia**, 5^a ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1998, cap. 72.
145. GARCIA, A. M.; URIA, J. E. S.; MEDEL, A. S.; ORTEGA, M. C. Q.; BAUTISTA, J. C. Tandem On-Line Continuous Separations for Atomic Spectroscopic Indirect Analysis: Iodide Determination by ICP-AES, **Mikrochim. Acta**, v. 106, p. 277-285, 1992.
146. ANDERSON, K. A.; CASEY, B.; DIAZ, E.; MARKOWSKI, P.; WRIGHT, B. Speciation and Determination of Dissolved iodide and Iodine in Environmental Aqueous Samples by ICP-AES, **J. Ass. Off. Amer. Chem.**, v. 79, n. 3, p. 751-756, 1996.
147. NAG, J. K.; CHATTARAJ, S.; DAS, A. K.; Indirect determination of Iodide Using Flame Atomic Absorption Spectrometry, **Bull. Chem. Soc. Jpn.**, v. 66, p. 774-777, 1993.
148. ALMEIDA, A. A.; JUN, X.; LIMA, J. L. F. C. Ion Chromatographic Determination of Iodide in Urine and Serum Using a Tubular Ion-Selective Electrode Based on a Homogeneous Crystalline Membrane, **Mikrochim. Acta**, v. 127, p. 55-60, 1997.
149. YASHIN, A. Y.; BELYAMOVA, T. T. Simultaneous Determination of Sulfide, Iodide, Rhonide by Ion Chromatographic with the Use of an Amperometric Detector, **J. Anal. Chem.**, v. 53, n. 4, p. 344-346, 1998.
150. TUCKER, H. L.; FLACK, R. W. Determination of Iodide in Ground Water and Soil by Ion Chromatography, **J. Chromat. A**, v. 804, p. 131-135, 1998.
151. YANG, X.; CHEM, P.; WEI, W.; YOA, S. Determination of Iodide by Ion Chromatography with Series Bulk Accoustic Wave Detection, **Microchem. J.**, v. 58, p. 58-66, 1998.

-
152. KALLIO, M. P.; MANNINEN, P. K. G. Speciation of Halogenides and Oxyhalogens by Ion Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, **Anal. Chem. Acta**, v. 360, p. 161-166, 1998.
153. HU, W.; HADDAD, P. R. Electrostatic Ion Chromatography Using Dilute Electrolyte as Eluents, **Anl. Commun**, v. 35, p. 317-320, 1998.
154. ITO, K. Determination of Iodide in Seawater by Ion Chromatography, **Anal. Chem.**, v. 69, p. 3628-3632, 1997.
155. BRANDÃO, A. C. M.; BUCHBERGER, W. W.; BUTLER, E. C. V.; FAGAN, P. A.; HADDAD, P. R. Matrix-Elimination Ion Chromatography with Post-Column Reaction Detection for the Determination of Iodide in Saline Water, **J. Chromat. A.**, v. 706, p. 271-275, 1995.
156. SHIN, H. S.; SHIN, Y. S. O.; KIM, J. H.; RYU, J. K. Trace Level Determination of Iodide, Iodine and Iodate by Gas Chromatography-Mass Spectrometry, **J. Chromat. A**, v. 732, p. 327-333, 1996.
157. BJERGEGAARD, C.; MOLLER, P.; SORENSEN, H. Determination of Thiocyanate, Iodide, Nitrate and Nitrite in Biological Samples by Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography, **J. Chromatogr. A.**, v. 717, p. 409-414, 1995.
158. ARAIN, M. A.; KHUHAWAR, M. I.; BHANGER, M. I.; **Acgr. Chem. Res. Commun.**, v. 6, p. 33-38, 1997. In: **Chem. Abstr.** v. 128, 1998, abstract 188012.
159. MOUSSA, F.; DEMAY, M. C. R.; VEINBERG, F.; DEPASSE, F.; GHARBI, R.; HAUTEM, J. Y.; AYMARD, P. Determination of Iodide in Serum and Urine by Ion-Pair Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography with Coulometric Detection, **J. Chromat. B**, v. 667, p. 69-74, 1995.
160. MURA, P.; PAPET, Y.; SANCHEZ, A.; PIRIOU, A. Rapid and Specif High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Iodide in Urine, **J. Chromat. B**, v. 664, p. 440-443, 1995.

-
161. VERMA, K. K.; JAIN, A.; VERMA, A. Determination of Iodide by High-Performance Liquid Chromatography After Precolumn Derivatization, **Anal. Chem.**, v. 64, p. 1484-1489, 1992.
162. GENARO, M. C.; ABRIGO, C.; SAINI, G. **Ann. Chim.**, v. 83, n. 3-4, p. 125-46, 1993. In: **Chem Abstr.** v. 119, 1993, abstract 167323.
163. UTSUMI, S. Spectrophotometric Determination of Micro-Amounts of Bromide and Iodide-Ions with Bindschedler Green Leuco Base, **J. Chem. Soc. Japan. Pure Chem. Sect.**, v. 74, p. 32-5, 1953. In **Chem. Abstr.**, v. 47, 1953, p. 6815.
164. TSUBOUCHI, M. Spectrophotometric Determination of Iodide Ions by Solvent Extraction with Neutral Red, **Bull. Chem Soc. JPN.**, v. 44, p. 554-555, 1971.
165. CLARK, B. R. Spectrophotometric Determination of Iodide and Iodine at Parts-Per-Million Level as a Thiocyanate Complex, **Anal. Chem.**, v. 47, n. 14, p. 2458-2460, 1975.
166. HAMADA, S.; MOTOMIZU, S.; TOEI, K. Spectrophotometric Determination of Iodide Ion Using Palladium and 2-Nitroso-5-Diethylaminophenol, **Analyst**, v. 104, p. 880-881, 1979.
167. BARUA, S.; GARG, B. S.; SINGH, R. P. Spectrophotometric Micro-Determination of Silver (I) and Iodide Ions, **Analyst**, v. 105, p. 996-998, 1980.
168. DIAZ, V. G.; GONZALES, C. R. T.; MONTELONGO, F. G. Indirect Spectrophotometric Determination of Iodide in Table Salts and Pharmaceutical Products, **Analyst**, v. 106, p. 1224-1227, 1981.
169. HAJJAJI, M. A. A. Spectrophotometric and Spsectrofluorimetric Determination of Iodide by Extraction of ICl_3^- with Rhodamine B, **Anal. Chim. Acta**, v. 197, p. 281-284, 1987.
170. KOH, T., ONO, M.; MAKINO, I. Spectrophotometric Determination of Iodide at the 10^{-6} Mol^{-1} Level by Extraction with Methylene Blue, **Analyst**, v. 113, p. 945-948, 1988.

-
171. NIAZI, S. B.; MOZAMMIL, M. Spectrophotometric Determination of Traces of Iodide by Liquid-Liquid Extraction of Brilliant Green-Iodide Ion Pair, **Anal. Chim. Acta**, v. 252, p. 115-119, 1991.
172. LIANG, B.; KAWAKOBU, S.; IWATSUKI, M.; FUKASAWA, T. Catalytic Determination of Iodide by a Maximum Absorbance Method Using the Oxidation Reaction of Chlorpromazine with Hydrogen Peroxide, **Anal. Chim. Acta**, v. 282, p. 87-94, 1993.
173. MOHAMED, A. A.; IWATSUKI, M.; SHAHAT, M. F. E.; FUKASAWA, T.; Catalytic Determination of Iodide Using the Promethazine-Hydrogen Peroxide Redox Reaction, **Analyst**, v. 120, p. 1201-1204, 1995.
174. CHANDRAWANSHI, S.; and PATEL, K. S. Field determination of Iodide in Water, **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 352, p. 599-600, 1995.
175. WEHAID, A. A.; TOWNSHEND, A. Flow-Injection Amplification for the Spectrophotometric Determination of Iodide, **Anal. Chim. Acta**, v. 198, p. 45-51, 1987.
176. MONKS, C. D.; NACAPRICHA, D.; TAYLOR, C. G. Determination of Iodide Ion in Impregnated Charcoals by Flow Injection, **Analyst**, v. 118, p. 623-626, 1993.
177. MOTOMIZU, S.; YODEN, T. Porous Membrane Permeation of Halogens and its Application to the determination of Halide Ions and Residual Chlorine by Flow-Injection Analysis, **Anal. Chim. Acta**, v. 261, p. 461-469, 1992.
178. FITSEV, I. M.; ZOLOTUKHIN, A. V.; ERMOLAEVA, N. A.; TOROPOVA, V. F.; GARIFZYANOV, A. R.; BUDNIKOV, G. K. Flow-Injection Systems for Determination Iron(III) and Iodide with the Use of Catalytic Reactions, **J. Anal. Chem.**, v. 52, n. 6, p. 514-517, 1997.
179. SUN, J.; CHEM, X.; HU, Z. Spectrophotometric Flow Injection Determination of Trace Iodide in Table Salts and Laver Through the Reaction of Iodate with 3,5-Br₂-PADAP and Thiocyanate, **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 357, p. 1002-1005, 1997.

-
180. PEDREÑO, C. S.; ORTUÑO, J. A.; ROS, A. L. Kinetic-Potentiometric Determination of Iodide with an Antimony(V) Coated-Wire Ion-Selective Electrode, **Analyst**, v. 117, p. 1619-1621, 1992.
181. LI, Z. Q.; YING, R. Y. M.; SON, Y. Q.; SHEN, G. L.; YU, R. Q. Iodide-Selective PVC Membrane Electrodes Based on Five Transitional Metal Chelates of Bis-Furfural-Semi-o-Tolidine, **Anal. Lett.**, v. 30, n. 8, p. 1455-1464, 1997.
182. YING, M.; YUAN, R.; ZHANG, X. M.; SONG, Y. Q.; LI, Z. Q.; SHEN, G. L. YU, R. Q. Highly Selective Iodide Poly(vinyl Chloride) Membrane Electrode Based on a Nickel (II) Tetraazaannulene Macrocyclic Complex, **Analyst**, v. 122, p. 1143-1146, 1997.
183. SONG, Y. Q.; YUAN, R.; YING, M.; LI, Z. Q.; CHAIN, Y. Q.; CUI, H.; SHEN, G. L.; YU, R. Q. A Highly Selective iodide Electrode Based on the Bis(Benzoin)-Semiethylenediamine Complex of Mercury (II) as a Carrier, **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 360, p. 47-51, 1998.
184. SUN, C.; ZHAO, J.; XU, H.; SUN, Y.; ZHANG, X.; SHEN, J. Fabrication of a Multilayer Film Electrode Containing Porphyrin and its Application as a Potentiometric Sensor of Iodide Ion, **Talanta**, v. 46, p. 15-21, 1998.
185. NAJIB, F. M.; OTHMAN, S. Simultaneous Determination of Cl^- , Br^- , I^- and F^- with Flow-Injection/Ion-Selective Electrode Systems, **Talanta**, v. 39, n. 10, p. 1259-1267, 1992.
186. BENEDETTO, L. T.; DIMITRAKOPOULOS, T. Evaluation of a New Wall-Jet-Through Cell for Commercial Ion-Selective in Flow Injectio Potentiometry, **Electroanalysis**, v. 9, n. 2, p. 179-182, 1997.
187. GUANGHAN, L.; MIN, Y.; QIFANG, Z.; AILAN, W.; ZEXIANG, J. Anodic Stripping Voltammetry for the Determination of Trace Iodide, **Electroanalysis**, v. 7, n. 6, p. 591-593, 1995.

-
188. YANO, J. Selective Potential Response of a Poly(N,N-dimethylaniline)/Poly(o-Chloroaniline) Dual-Layer Coated Electrode to Dissolved Iodide Ions, **Bull. Chem. Soc. Jpn.**, v. 64, n. 5, p. 1490-1496, 1991.
189. YANO, J.; SHIMOYAMA, A.; OGURA, K. Poly(o-Phenylenediamine)-Film-Coated Electrode, **J. Chem. Soc. Faraday Trans.**, v. 88, n. 17, p. 2523-2527, 1992.
190. YANO, J.; SHIMOYAMA, A.; OGURA, K. Poly(o-Phenylenediamine)-Film-Coated Electrode Having a Permselective Response to Halogenide Ions, **J. Electrochem. Soc.**, v. 139, n. 5, p. L52-L53, 1992.
191. TANG, H.; KINATI, A.; SHIOTANI, M. Cyclic Voltammetry of KI at Polyaniline-Filmed Pt Electrodes Part I, **J. App. Electrochem.**, v. 26, p. 36-44, 1996.
192. TANG, H.; KINATI, A.; SHIOTANI, M.; Cyclic Voltammetry of KI at Polyaniline-Filmed Pt Electrodes Part II, **J. App. Electrochem.**, v. 26, p. 45-50, 1996.
193. KWAK, M. K.; PARK, D. S.; WON, M. S.; SHIM, Y. B. Anodic Differential Pulse Voltammetric Analysis of Iodide with a Cinchonine-Modified Carbon Paste Electrode, **Electroanalysis**, v. 8, n. 7, p. 680-684, 1996.
194. WANG, L. G.; WANG, X.; OTTOVA, A. L.; TIEN, H. T. Iodide Sensitive Sensor Based on a Supported Bilayer Lipid Membrane Containing a Cluster Form of Carbon, **Electroanalysis**, v. 8, n. 11, p. 1020-1022, 1996.
195. SVANCARA, I.; KONVALINA, J.; SCHACHL, K.; KALCHER, K.; VYTRAS, K. Stripping Voltammetric Determination Iodide With Synergistic Accumulation at a Carbon Paste Electrode, **Electroanalysis**, v. 10, n. 6, p. 435-441, 1998.
196. YEOM, J. S.; WON, M. S.; SHIM, Y. B. Voltammetric Determination of the Iodide Ion with a Quinine Copper(II) Complex Modified Carbon Paste Electrode, **J. Electroanal. Chem.**, v. 463, p. 16-23, 1999.
197. WALCARIUS, A.; LEFEVRE, G.; RAPIN, J. P.; RENAUDIN, G.; FRANCOIS, M. Voltammetric Detection of Iodide After Accumulation by Friedel's Salt, **Electroanalysis**, v. 13, n. 4, p. 313-320, 2001.

-
198. WU, X.; LU, G.; ZHANG, X.; YAO, X.; Anodic Voltammetric Behavior of Iodide at a Chitosana-Modified Glassy Carbon Electrode, **Anal. Lett.**, v. 34, n. 7, p. 1205-1214, 2001.
199. TAVARES, W., **Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos**, São Paulo, Atheneu, 1996, cap. 36.
200. GOODMAN, M. A. L. S.; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**, 6ª edição, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1983, v. 2, p. 1086-1122,
201. KAUFMAN, H. E. Antiviral Drugs, **Inter. J. Dermatology**, v. 16, n. 6, p. 464-475, 1977.
202. NETO, A. V.; BARONE, A. A. Antivirais, **Rev. Hosp. Clin.**, v. 36, n. 5, p. 221-229, 1981.
203. LERNER, A. M. BAILEY, E. J. **J. Clin. Invest.**, v. 51, p. 45-49, 1972.
204. BELOTTO, N.; REINER, V.; VERGA, F.; CANOBBIO, G.; LIETTI, F.; MAGNANI, P.; LUCARELLI, C. Determination of 2'-Deoxy-5-Iodouridine and its Metabolite 5-Iodouracil by High-Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet Absorbance Detection in Human Serum, **J. Chromatograf.**, v. 572, p. 327-332, 1991.
205. DIDUK, N.; CARRIL, M. G. Idoxuridina Jalea: Determinacion Cuantitativa, **Rev. Cubana Farm.**, v. 27, n. 2, p. 101-107, 1993.
206. SZEPESEI, G.; GAZDAG, M.; MEZEI, J. Investigation of the Hydrolytic Decomposition of 5-Iodine-2-Desoxyuridine by High-Performance Liquid Chromatography, **Pharmazie**, v. 35, n. H10, p. 602-604, 1980.
207. YABUKI, H.; NATH, R. A Method for Determination of Iododeoxyuridine Substitution of Thymidine Using Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography, **Cell. Prolif.**, v. 24, p. 33-47, 1991.
208. CARR, G. P. R. The Development of British Pharmacopoeia Monographs for Idoxuridine and Idoxuridine Eys Drops Using High-Performance Liquid Chromatography for Assay and for Controlling Related Impurities, **J. Chromatog.** v. 157, p. 171-184, 1978.

-
209. TEMPE, M.; JONVEL, P.; SPITTLER, J.; ANDERMANN, G. Stability Study of Idoxuridine in Gels by Very High Speed Liquid Chromatography, **J. Pharm. Belg.**, v. 40, n. 4, p. 222-228, 1985.
210. SIMPSON, C. A.; ZAPPALA, A. F. Procedure for Assay and Stability Determination of Idoxuridine, **J. Pharm. Sci.**, v. 53, n. 10, p. 1201-1204, 1964.
211. SCHEPDAEL, A. V.; OSSEMBE, N.; HERDEWIJN, P.; ROETS, E.; HOOGMARTENS, J. Liquid Chromatography Study of the Stability of 5-Halogeno-2-Deoxyuridine, **J. Pharmac. Biomed. Anal.**, v. 11, n. 4-5, p. 345-351, 1993.
212. GARRETT, E. R.; SUZUKI, T.; WEBER, D. The Acid Solvolytic Transformation of an iodinated, the Antiviral 5-Iodo-2-Deoxyuridine, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 86, p. 4460-4468, 1964.
213. SETHI, S. K.; NELSON, C. C.; McCLOSKEY, J. A. Dehalogenation Reactions in Fast Atomic Bombardment Mass Spectrometry, **Anal. Chem.**, v. 56, p. 1977-1979, 1984.
214. RAHN, R. O. Photochemistry of Halogen Pyrimidines, **Photochem. Photobiolog.**, v. 56, n. 1, p. 9-15, 1992.
215. RAHN, R. O.; SELLIN, H. G. Action Spectral for the Photolysis of 5-Iododeoxyuridine in DNA and Related Model System, **Photochem. Photobiolog.**, v. 35, p. 459-465, 1982.
216. HILP, M. Optimization of iodine Determination According to Schoniger, **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 360, p. 184-191, 1998.
217. MASSAGLIA, A.; ROSA, U.; SOSI, S. Thin-Layer Chromatography of Some I^{131} and I^{125} Labelled Iodo Pyrimidines and Nucleosides, **J. Chromatogr.**, v. 17, p. 316-321, 1965.
218. SAFFHILL, R.; HUME, W. J. The degradation of 5-Iododeoxyuridine and 5-Bromodeoxyuridine by Serum from Different Sources and its Consequences for the Use the Compounds for Incorporation into DNA, **Chem. Biol. Interact.**, v. 57, p. 347-355, 1986.

-
219. BARRETT, H. W.; WEST, R. A. Dehalogenation of Substituted Pyrimidines in Vitro, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 78, p. 1912-1915, 1956.
220. KORTYLEWICZ, J. B.; ADELSTEIN, J.; KASSIS, A. I. 5-Iodo-2-deoxyuridine-Protein Conjugates: Synthesis and Enzymatic Degradation, **Sel. Can., Therap.**, v. 6, n. 1, p. 1-13, 1990.
221. OLAFSSON, P. G.; BRYAN, A. M.; LAU, K. A Differential Scanning Calorimetric-Thin-Layer Chromatographic of 5-Halo-2-Deoxynucleosides, **J. Chromatogr.**, v. 124, p. 388-393, 1976.
222. KADAR, M.; NAGY, Z.; KARANCSI, T.; FARSANG, G. The Electrochemical Oxidation of 4-bromoaniline, 2,4-dibromoaniline, 2,4,6-tribromoaniline and 4-Iodoaniline in Acetonitrile Solution, **Electrochim. Acta.**, v. 46, n. 22, p. 3405-3414, 2001.
223. CHATTEN, L. G.; AMANKWA, L. Studies on the Electrochemical Behavior of Two Anti-Herpes Uridines, **Analyst**, v. 110, p. 1369-1372, 1985.
224. BENSCHOTEN, J. J. V.; LEWIS, J. Y.; HEINEMAN, W. R.; ROSTON, D. A.; KISSINGER, P. T. Cyclic Voltammetry Experiment, **J. Chem. Educ.**, v. 60, n. 9, p. 772-776, 1983.
225. BARD, J. A., **Electrochemical methods fundamentals and applications**, New York, John Wiley & Sons, 1980, cap. 5.
226. KNOBLOCH, E. Über das Polarographische Verhalten Von Chromon-und Cumarinderivaten, **Adv. Polarogr.**, v. 3, p. 875-883, 1960.
227. GALUS, Z. **Fundamentals of electrochemical analysis**, Chichester: Ellis Horwood, 1976.
228. LAVIRON, E. **J. Electroanal. Chem.**, v. 63, p. 245-249, 1975.
229. BOND, A. M. **Modern polarographic methods in analytical chemistry**. New York, Marcel Dekker, 1980.

-
230. SKOOG, A. D.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J. **Fundamentals analytical chemistry**, 7^a ed., Philadelphia, Harcourt College Publisher, 1997, cap. 17.
231. HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**, 5^a ed., Rio de Janeiro, LTC editora, 2001, cap. 5.
232. BACCAN, N.; ANDRADE, J. C.; GODINHO, O. E. S., BARONE, J. C. **Química analítica quantitativa elementar**, 2^a ed. Campinas, Edgar Blücher, 1979, cap.1.
233. CONN, E. C.; STUMPF, P. K. **Introdução a bioquímica**, 4^a ed. São Paulo, Edgar Blücher, 1980, cap.1.
234. KULP, T. J.; CAMINS, I.; ANGEL, S. M.; MUNKHOLM, C.; WALT, D. R. **Anal. Chem.**, v. 59, p. 2849, 1987. APUD: WALT, D. R.; AGAYN, V. I.; The Chemistry of Enzyne and Protein Immobilization with Glutaraldehyde, **Trend. Anal. Chem.**, v. 13 n. 10, p. 425-430, 1994.
235. REDDY, S. M.; HIGSON, S. P.; VADGAMA, P. M. Amperometric Enzyme Electrode for the Determination of Urine Oxalate, **Anal. Chim. Acta**, v. 343, n. 1-2, p. 59-68, 1997.
236. COMPAGNONE, D.; GUILBAULT, G. G. Glucose Oxidase/Hexokinase Electrode for the Determination of ATP, **Anal. Chim. Acta**, v. 340, n. 1-3, p. 109-113, 1997.
237. LVOV, Y.; ARIGA, K.; ICHINOSE, I.; KUNITAKE, T. Assembly of Multicomponent Protein Films by Means of Electrostatic Layer-by-Layer Adsorption, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 117, p. 6117-6123, 1995.
238. KANG, T. F.; SHEN, G. L.; YU, R. Q. Amperometric Biosensor for Glucose Based on Electropolymerized Tetraaminophthalocyanatocobalto(II) and Phenol-Films, **Anal. Lett.**, v. 30, n. 4, p. 647-662, 1997.
239. AMINE, A.; KAUFFMAN, J. M.; PATRIARCHE, G. J.; CHRISTIAN, G. D., Characterization of Mediated and non-Mediated Oxidase Enzyne Based Glassy Carbon Electrodes, **Talanta**, v. 40, n. 8, p. 1157-1162, 1993.

-
240. LEI, C.; ZHANG, Z.; LIU, H.; KONG, J.; DENG, J. Biosensing of Hydrogen Peroxide Using New Methylene Blue N Incorporated in a Montmorillonite-Modified Horseradish Peroxidase Immobilization Matrix as an Electron Shuttle, **Anal. Chim. Acta**, v. 332, p. 73-81, 1996.
241. RUAN, C.; YANG, R.; CHEN, X.; DENG, J. A Reagentless Amperometric Hydrogen Peroxide Biosensor Based on Covalently Binding Horseradish Peroxidase and thionine Using a Thiol-Modified Gold Electrode, **J. Electroanal. Chem.**, v. 455, n. 1-2, p. 121-125, 1998.
242. MURTHY, A. S. N.; SHARMA, J. Glucose Oxidase Bound to Self-Assembled Monolayers of bis(4-Pyridyl) Disulfide at a Gold Electrode, **Anal. Chim. Acta**, v. 363, n. 2-3, p. 215-220, 1998.
243. KARALEMAS, I. D.; PAPASTATHOPOULOS, D. S. Construction and Analytical Applications of a Si-Gold Strip Enzyme Electrode Using Constant – Current Potentiometry, **Anal. Lett.**, v. 31, n. 6, p. 913-935, 1998.
244. CAI, C. X.; XUE, K. H.; ZHOU, Y. M.; YANG, H. Amperometric Biosensor for Ethanol Based on Immobilization of Alcohol Dehydrogenase on a Nickel Hexacyanoferrate Modified Microband Gold Electrode, **Talanta**, v. 44, n. 3, p. 339-347, 1997.
245. KYROLAINEN, M.; REDDY, S. M.; VADGAMA, P. M. Blood Compatibility and Extended Linearity of Lactate Enzyme Electrode Using Poly(Vinyl Chloride) outer Membrane, **Anal. Chim. Acta**, v. 353, n. 2-3, p. 281-289, 1997.
246. GUERRIERI, A.; BENEDETTO, G. E.; PALMISANO, F.; ZAMBONIN, P. G., Electrosynthesized Non-Conducting Polymers as Permselective Membrane in Amperometric Enzyme Electrode, **Biosens. Bioelectron.**, v. 13, n. 1, p. 103-112, 1998.
247. YANG, Q.; ATANASOV, P.; WILKINS, E. An integrated Needle-Type Biosensor for Intravascular Glucose and Lactate Monitoring, **Electroanalysis**, v. 10, n. 11, p. 752-757, 1998.

-
248. VIEIRA, C. I.; FATIBELLO F. O. Amperometric Biosensor for the Determination of Phenols Using a Crude Extract of Sweet Potato, **Anal. Lett.**, v. 30, n. 5, p. 895-907, 1997.
249. PALMISANO, F.; BENEDETTO, G. E.; ZAMBONIN, C. G. Lactate Amperometric Biosensor Based on an Electrosynthesized Bilayer Film with Covalently Immobilized Enzyme, **Analyst**, v. 122, n. 4, p. 365-369, 1997.
250. MELO, J. V.; BELLO, M. E.; AZEVEDO, W. M.; SOUZA, J. M.; DINIZ, F. B. The Effect of Glutaraldehyde on the Electrochemical Behavior of Polyaniline, **Electrochim. Acta.**, v. 44, p. 2405-2412, 1999.
251. RUAN, C.; YANG, F.; LEI, C.; DENG, J. Thionine Covalently Tethered to Multilayer Horseradish Peroxidase in a Self-Assembled Monolayer as an Electro-Transfer Mediator, **Anal. Chem.**, v. 70, n. 9, p. 1721-1725, 1998.
252. WOODWARD, J. **Immobilised cells enzymes** – a practical approach, Oxford, IRL Press, 1985, cap. 2.
253. HERSEY, S. A.; LEUSSING, D.L. Rate of Carbinolamine Formation Between Pyridoxal 5-Phosphate and Alanine, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 99, n. 6, p. 1992-1993, 1977.
254. PINEDA, T.; BLAZQUEZ, M. Electrochemical Behavior of the Schiff Base From Pyridine-4-Aldehyde and n-Hexylamine, **J. Electroanal. Chem.** v. 280, p. 105-118, 1990.
255. PINEDA, T.; BLAZQUEZ, M. Electrochemical Behavior of the Schiff Base From Pyridine-4-Aldehyde and L-Alanine, **J. Electroanal. Chem.** v. 294, p. 179-92, 1990.
256. DOMINGUEZ, M.; SEVILLA, J. M.; BLANCO, F. G.; BLAZQUEZ, M. Electrochemical Behavior of Pyridoxal-5-Phosphate Schiff Base with n-Hexylamine, **Bioelectrochem. Bioenerg.**, v. 16, p. 317-324, 1986.
257. SEVILLA, J. M.; BLAZQUEZ, M.; BLANCO, F. G.; DOMINGUEZ, M., A. Polarographic Study of the Schiff Base of Pyridoxal-5-Phosphate, **J. Chim. Phys.**, v. 86, n. 5, p. 1143-1153, 1989.

-
258. BLAZQUEZ, M.; SEVILLA, J. M.; PEREZ, J. DOMINGUEZ, M.; BLANCO, F.G. The Schiff Base between Pyridoxal-5-Phosphate and Hexylamine, **J. Chem. Soc. Perkin Trans II**, p. 1229-1236, 1989.
259. ISHIDA, H., **Kagaku**, v. 53, n. 2, p. 46-47, 1998. IN: **Chem. Abstr**, v. 128, 1998, abstract. 148709,
260. SEVILLA, J. M.; BLAZQUEZ, M.; DOMINGUEZ, M.; BLANCO, F. G. A Study of the Schiff Base formed between Pyridoxal-5-Phosphate and Poly-L-Lysine of Low polymerization Degree, **J. Chem. Soc. Perkin Trans 2**, p 921-926, 1992.
261. BOND, A. M.; HEFTER, G. **J. Electroanal. Chem.**, v. 68, p 203-216, 1976.
262. FRY, A. J. **Sinthetic organic electrochemistry**, New York, Harper Row, 1972, cap 3.
263. CANTREL, L.; FULCONIS, J. M.; DUMAS, J. C. Voltammetric Analysis of Iodide and Diffusion Coefficients Between 25 and 85°C, **J. of Solut. Chem.**, v. 27, n. 4, p. 373-393, 1998.
264. VITT, J. E.; JOHNSON, D. C. Oxidation of Iodide to Iodate Concurrently with Evolution of Oxygen at Kelgraf Composite Electrodes, **J. of Appl. Electrochem.**, v. 24, p.107-113, 1994.
265. ZHANG, H.; ZHA, H.; YAO, B.; ZHANG, C.; ZHOU, X.; ZHONG, S. Electrochemical Quartz Crystal Microbalance Characterization of I^- and its Amperometric Detection by Microelectrode, **Talanta**, v. 46, p. 711-716, 1998.
266. CHEN, Y.; ZHANG, H.; WU, B. Determination of the Adsorbed Intermediate of Iodide Electro-oxidation on a Platinum Electrode by Rotating Disk Electrode Potential Step Coulometry (RDE-PSC), **J. Electroanal. Chem.**, v. 335, p. 231-236, 1992.
267. HAKEDAL, J. T.; EGEBERG, P. K. Determination of Iodide in Brines by Membrane Permeation Flow Injection Analysis, **Analyst**, v. 122, p. 1235-1237, 1997.
268. ALEKSANDROVA, T. P.; KLETENIK, Y. B. Direct Voltammetry of Halite Ions on Renewal Solid Electrodes, **J. Anal. Chem.**, v. 53, n. 7, p. 654-657, 1998.

-
269. BROWN, E.R.; LARGE, R.F. **Techniques chemistry**, New York, Jonh: Wiley & Sons, v. 1, 1971, p. 423.
270. NICHOLSON, R. S.; SHAIN, I. Theory of Stationary Electrode Polarography, **Anal. Chem.**, v.36, p. 706 - 723, 1964.
271. SHU, Z., X.; BRUCKENSTEIN, S. Iodine Adsorption Studies at Platinum, **J. Electroanal. Chem.**, v. 317, p. 263-277, 1991.
272. MANOHARAN, P. T.; GRAY, H. B. Eletronic Structure of Nitroprusside Ion, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 87, n. 15, p. 3340-3348, 1965.
273. VOGEL, A. I. **Análise química quantitativa**, 5ª edição, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1992, cap. 10.
274. IWASAKI, I.; UTSUMI, S.; OZAWA, T. A New Microdetermination of iodide by its Catalytic Reaction, **Bull. Chem. Soc. Japan.**, v. 26, n. 2, p.108, 1953.
275. ADCOCK, W.; CLARK, C. I.; HOUMAM, A.; KRSTIC, A. R.; PINSON, J.; SAVEANT, J. M.; TAYLOR, D. K.; TAYLOR, J. F. Dissociative Electron Transfer to Dihaloalkane, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 116, p. 4653-4659, 1994.
276. ADCOCK, W.; CLARK, C. I.; HOUMAM, A.; KRSTIC, A. R.; SAVEAT, J. M. Electrochemical Reduction of 3-(Trimethyistannyl)Adamantil and 4-(Trimethyistannyl) Bicyclo Bromides and Iodides, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 61, p. 2891-2894, 1996.
277. RIMOLI, M. G.; AVALONE, L.; CAPRARIIS, GALEONE, A.; FORNI, F.; VANDELLI, M. A. Synthesis and Characterization of Poly(D,L,-Lactic Acid)-Idoxuridine Conjugate, **J. Control. Rel.**, v. 58, p. 61-68, 1999.