

1 Introdução

1.1. Ciclofenil

O ciclofenil ou bis(p-acetoxifenil)cicloexilidenometano (Figura 1) age no organismo como antagonista dos receptores de estrogênio, estimulando a ovulação nas mulheres e aumentando a produção de testosterona nos homens. O ciclofenil tem a capacidade de se ligar aos receptores de estrogênio impedindo a ação de estrogênios mais fortes, conseqüentemente, por causa dessa propriedade, atletas usam o ciclofenil durante o treinamento para manter baixo o nível de estrogênio no corpo. Um dos resultados de seu uso é a menor retenção de água pelo corpo e maior definição da musculatura, o que faz desta droga muito atrativa para fisiculturistas.

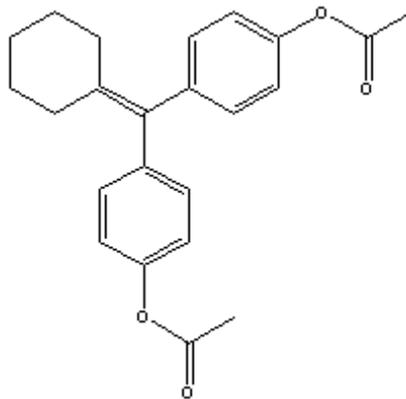


Figura 1 – Estrutura química do ciclofenil ou bis(p-acetoxifenil)cicloexilidenometano

O ciclofenil é usado em conjunto com outros anabolizantes, mas também pode ser utilizado sozinho, pois em doses relativamente altas (400 a 600 mg/dia) gera um leve aumento da massa muscular, força física e energia. Os efeitos

colaterais incluem erupções na epiderme, diminuição do desejo sexual e ginecomastia.

Por causa do seu modo de ação, o uso do ciclofenil é considerado ilícito e por isso proibido pelo Comitê Olímpico Internacional (COI)¹. Essa proibição é específica para os atletas do sexo masculino, pois o efeito da droga no organismo feminino é completamente diferente.

O ciclofenil foi inicialmente lançado no mercado como um fármaco para o tratamento da infertilidade feminina^{2,3,4} mas seu uso atual é no tratamento da síndrome climatérica⁵, que é o conjunto de sintomas que as mulheres sofrem logo após atingirem o ciclo não-reprodutivo. Outros estudos apontam o ciclofenil como uma droga apropriada para o tratamento do fenômeno de Raynaud e da esclerodermia.^{6,7,8} O fenômeno de Raynaud é um episódio de constrição de pequenas artérias, desencadeando alterações da cor da pele das extremidades, ora com palidez, ora com cianose (extremidades roxas), seguidas ou não de hiperemia reacional (vermelhidão)⁹. Normalmente esta mudança de cor é acompanhada de dormência ou mesmo dor, e é mais comum nos dedos das mãos do que dos pés. Já a esclerodermia é uma doença conectiva do tecido causando fibrose e comumente afeta a pele e os órgãos internos tais como trato gastrointestinal, pulmões, rim e coração¹⁰.

Por causa da restrição de seu uso por atletas e pela necessidade do controle das suas dosagens nos pacientes que sofrem da síndrome do climatério ou de esclerodermia, se faz necessário o desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de ciclofenil em formulações farmacêuticas e em fluidos biológicos. No entanto, poucas metodologias analíticas para ciclofenil são encontradas na literatura. Crucs¹¹ descreveu um método para a determinação do composto após extração em músculo de boi. O material foi previamente submetido a um procedimento de limpeza para então se determinar o analito por cromatografia em fase gasosa (GC) com ionização por chama. Com esse método os autores obtiveram 95% nos ensaios de recuperação e capacidade para detectar $0,02 \mu\text{g g}^{-1}$ de ciclofenil. Em outro trabalho, Myung¹², desenvolveu uma maneira de detectar ciclofenil e dois de seus metabólitos em urina usando a cromatografia em fase gasosa com espectrometria de massa de impacto eletrônico (GC-EI-MS) e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em

duas dimensões em atmosfera quimicamente ionizada (HPLC/APCI-MS/MS). Nenhum parâmetro de mérito é reportado nesse trabalho.

No caso da determinação do ciclofenil em formulações farmacêuticas existem dois trabalhos publicados. No primeiro deles, a espectrofotometria na região do UV-Vis¹³ é utilizada, no qual os autores fazem uso da absorvância de um produto gerado pela degradação ácida do ciclofenil. Essa derivação promoveu a obtenção de um produto mais estável em solução aquosa em relação ao composto original. As medições quantitativas, usando espectros de 2^a derivada, foram feitas em 272 nm com recuperação de $101,1 \pm 0,8\%$. Limite de detecção do método não foi reportado. No outro trabalho, o ciclofenil foi determinado indiretamente por voltametria adsorptiva de redissolução catódica a partir do sinal analítico (em 1280 mV) de seu fotoproduto obtido pelo tratamento com radiação UV. O sinal analítico do fotoproduto foi usado após se constatar a falta de estabilidade do ciclofenil no meio metanol/água¹⁴. Limite de detecção de $1,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ foi estimado, mas com uma faixa linear dinâmica estreita (duas ordens de magnitude). Testes de recuperação permitiram a obtenção de valores entre 93,6 e 106,5% para o ciclofenil. Nenhum método analítico baseado nas características luminescentes do ciclofenil está descrito na literatura.

1.2. Azoxistrobina e dimoxistrobina

Segundo o decreto nº 4074, de 4 de janeiro de 2002 que regula a Lei Federal número 7.802 de 11/07/1989¹⁵, o termo agrotóxico é descrito como: “Os produtos e os componentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento”. Inicialmente chamados apenas de DEFENSIVOS AGRÍCOLAS, aqui no Brasil, nos últimos anos tem se preferido usar o termo agrotóxico, para

reforçar o seu caráter tóxico, denominações comuns também são praguicidas e pesticidas.

Os pesticidas podem ser classificados de acordo com três critérios distintos: alvo de ação, ação química e formulação. A classificação mais comum deles é quanto ao modo de ação (ver Tabela 1).

Tabela 1 – Grupos de pesticidas e alvo de ação

Tipos de pesticida	Alvo de ataque
Acaricida	Carraças, Aranhas, Acarinos
Antimicrobiano	Micróbios
Avicida	Pássaros
Fungicida	Fungos
Herbicida	Plantas, Ervas daninhas
Inseticida	Insetos
Moluscicida	Caracóis e Lesmas
Piscicida	Peixes
Rodenticidas	Roedores (Ratos)

O uso de pesticidas no combate a agentes nocivos ao plantio objetivando uma melhora no rendimento da plantação esta longe de ser novidade. Os primeiros relatos de uso de pesticidas são atribuídos as antigas civilizações grega, romana e chinesa, há três mil anos¹⁶, quando estes já faziam uso do pó de enxofre para controlar insetos e do sal para matar ervas daninhas.

Como não poderia deixar de ser diferente para a época, a utilização era um tanto quanto empírica, o conhecimento científico não era suficiente para elucidar nenhum mecanismo de ação dos pesticidas, ou mesmo ter uma clareza de qual era o princípio ativo que efetivamente agia na praga. Desse modo, várias outras substâncias foram utilizadas como pesticidas nos anos seguintes, alguns com certa eficácia, outros com resultados questionáveis, entre estes dois grupos se encontram extratos de pimenta, nicotina, água com sabão, cal, vinagre etc.

Um composto que pode ser considerado como um marco na história dos pesticidas é o acetoarsenito de cobre, usualmente conhecido como “verde de Paris”. Este composto começou a ser comercializado em 1814 como um mero

pigmento de tintas, devido sua intensa coloração verde. Alguns anos depois teve seu uso como corante banido, uma vez constatada o seu caráter tóxico, até que em 1867 este composto foi introduzido como pesticida, principalmente para combater o escaravelho de batata. Em 1900 seu uso era tão intenso que levou a criação da primeira legislação sobre o uso de pesticidas nos Estados Unidos da América¹⁷, o que levou em alguns anos ao seu banimento, uma vez constatada o seu alto efeito tóxico para mamíferos.

Até a segunda grande guerra a variedade de pesticidas conhecidos era muito pequena, alguns sais inorgânicos - a base de chumbo, arsênio e cobre principalmente - e poucos compostos orgânicos, como nicotina rotenona e piretrinas. Nessa época já se sabia que a toxicidade dos sais inorgânicos era tão grande para as pragas como para o homem. Como resultado de pesquisas durante a segunda guerra, houve um grande desenvolvimento na produção dos pesticidas¹⁸, sendo introduzidos vários compostos como: DDT, BHC, aldrin, dieldrin, endrin e 2,4 D. Estes compostos eram baratos, eficientes e incrivelmente acessíveis. O DDT foi o mais popular na época, antes de se descobrir seus devastadores efeitos ao meio ambiente. Na década de 60, só nos Estados Unidos, este composto era aplicado para uma variedade de 334 diferentes produtos agrícolas, sendo por isso apelidado como o pesticida “salva-vidas”. Ao seu uso foi atribuída a erradicação da malária na América do Norte, na Europa e da febre tifóide na Itália.

A partir da Segunda Guerra Mundial, vários pesticidas continuaram a serem produzidos e comercializados. Os preços baixos, a ação incrivelmente efetiva e aparentemente segura ao homem, popularizaram os pesticidas, sendo apenas em 1962, com o livro de Rachel Carson “Silent Spring”¹⁹ que a confiança nos pesticidas começou a ser abalada. Apesar de seu trabalho ter sido bastante criticado, por apresentar um quadro extremamente pessimista, Carson foi a primeira que efetivamente levantou os riscos sobre o uso indiscriminado de pesticidas, o que fez mudar o rumo da forma de se trabalhar com os mesmos. A publicação de Carson pode ser considerada como um divisor de águas para o estudo de pesticidas, introduzindo alguns termos se referindo a pesticidas, como bioacumulação, toxidez, intoxicação crônica e intoxicação aguda.

O próprio DDT, por exemplo, foi descoberto que seu grande efeito tóxico era o fato de ele ser muito estável, não ser hidrossolúvel, e sim lipossolúvel. Isto

significa que quando o DDT é pulverizado sobre os alimentos, ele ali se mantém, não sendo retirado com uma simples lavagem (uma vez que não se dissolve), assim, ele persiste no alimento até ser ingerido pelo homem. E mesmo dentro do organismo ele não vai ser excretado pela urina, mas sim se depositar nas células adiposas, e por ali fica por alguns anos ou mesmo décadas até ser completamente excretado. Estes estudos levaram ao banimento de muitos destes compostos, e ainda hoje, muitos estudos são feitos relacionando algum efeito tóxico aos vários tipos de pesticidas comercializados anualmente.

A preocupação com alguns dos pesticidas já banidos é compreensível ao se levar em consideração sua estabilidade e seu uso. Por exemplo, nos Estados Unidos e na Europa onde houve uma utilização indiscriminada de vários pesticidas ao longo de várias décadas, é bastante plausível imaginar que, no caso dos mais estáveis, resíduos destes pesticidas possam ser encontrados em quase todos os lugares, mas resta saber, se estes resíduos possuem alguma relevância do ponto de vista sobre sua ação tóxica. Estas perguntas justificam a grande publicação sobre determinação de resíduos de pesticidas encontrados na literatura. Gil ²⁰ publicou um artigo no qual ele revisa os vários trabalhos publicados sobre determinação de resíduos de pesticidas na atmosfera, especialmente na Europa. Segundo os trabalhos revisados, durante a aplicação dos pesticidas pulverizados nos plantios, 30 a 50% deste montante são perdidos no ar. Além desta forma direta, os pesticidas, depois de aplicados, podem chegar à atmosfera por volatilização, degradação (hidrólise em águas e solos, fotólise e mesmo reação com radicais OH atmosférico) e por erosão eólica.

Muitos estudos também são publicados relacionando o uso de vários pesticidas aos mais diversos tipos de doenças. Maele-Fabr ²¹ publicou uma revisão de vários trabalhos que relacionam o uso de pesticidas a leucemia enquanto Garr ²² revisou vários artigos que relacionam a maior suscetibilidade de crianças aos riscos tóxicos dos pesticidas.

Por causa de dados como esses que a Organização Mundial de Saúde/Organização Internacional do Trabalho classificam o trabalho agrícola como uma das mais perigosas da atualidade. Publicações recentes destes órgãos ²³ ²⁴ estimam que nos países em desenvolvimento os agrotóxicos causam todo ano cerca de 70 mil intoxicações crônicas e agudas, que evoluem para óbito, e pelo menos 7 milhões de doenças crônicas e agudas não fatais.

O consumo de pesticidas anual no Brasil tem sido superior a 150 mil toneladas (de princípio ativo),²⁵ isto representa um aumento de mais de 400% no uso de agrotóxico nas últimas quatro décadas enquanto que a área agrícola aumentou pouco menos de 80% no mesmo período.

Azoxistrobina e dimoxistrobina (Figura 2) pertencem a uma classe relativamente nova de fungicidas, os estrobilurinas. A descoberta desta nova classe foi inspirada em um grupo natural de β -netoxiacrilatos, dos quais os mais simples são estrobilurinas-A e oudenasina-A. Embora os compostos naturais não sejam adequados ao uso agrícola, o conhecimento de suas estruturas e propriedades foi um excelente ponto de partida para o desenvolvimento desta nova classe de fungicidas²⁶.

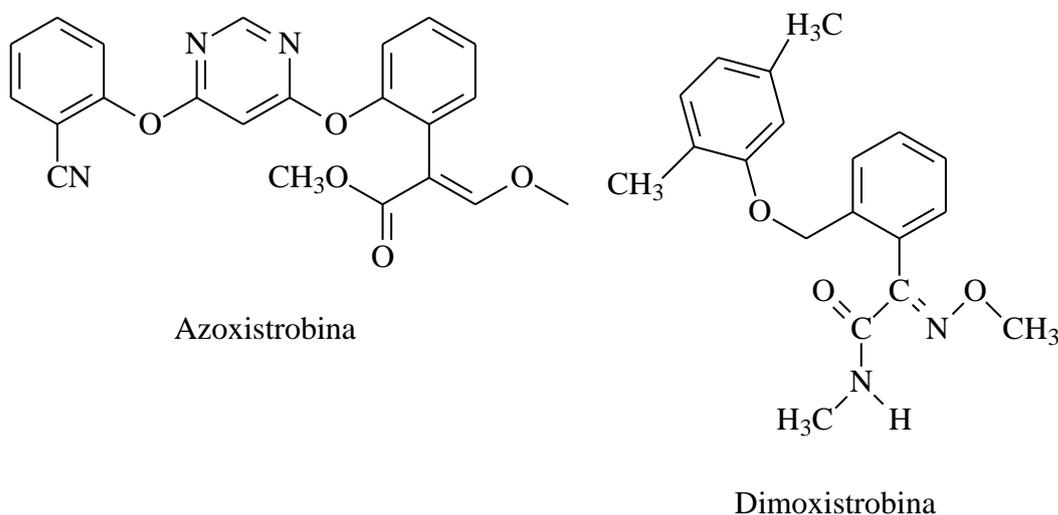


Figura 2 – Estrutura química da a) Azoxistrobina e b) dimoxistrobina

Estes compostos agem inibindo a respiração mitocondrial nos fungos, bloqueando a transferência de elétrons entre o citocromo *b* e citocromo *c*₁ no centro Q₀. Como família, os fungicidas estrobilurinas apresentam altos níveis de defesa contra uma vasta gama de pragas para as colheitas. De fato, a principal razão do grande sucesso da azoxistrobina é que ele é efetivo contra as quatro classes de patógenos para as plantas (Ascomycetes, basidiomycetes, Deuteromycetes e Oomycetes). Antes deste composto, era necessária uma combinação de dois ou mais fungicidas para conseguir a mesma eficiência. Inclusive isto fez com que a azoxistrobina se tornasse o fungicida mais vendido do mundo²⁷, no Brasil este produto foi liberado há poucos anos pela Agência

Nacional de Vigilância Sanitária para utilização em um vasto número de culturas, enquanto a dimoxistrobina, por ser um composto mais recente, ainda não possui parecer deste órgão.

Várias são as metodologias encontradas na literatura para a determinação de azoxistrobina, mas nenhuma para a dimoxistrobina. Todos os métodos para a determinação de azoxistrobina envolvem etapas prévias de separação do analito da matriz (utilizando procedimentos de extração líquido-líquido ou extração sólido-líquido em cartuchos), depois determinados por cromatografia gasosa com captura de elétron^{28,29,30,31,32,33} ou por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fotometria de absorção na região do UV-vis^{34,35,36,37}. (Limites de detecção reportados variam da ordem de 3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, em todos os trabalhos testes de recuperação foram realizados obtendo valores entre 80 e 120%, e o método foi aplicado para diferentes tipos de amostras). Nenhuma metodologia para a determinação de azoxistrobina e dimoxistrobina utilizando métodos voltamétricos foi identificada na literatura.

1.3. Metais em cachaça

Produzido a partir da destilação da cana de açúcar fermentada, a cachaça é a bebida destilada mais popular no Brasil, com produção anual da ordem de dois bilhões de litros³⁸, movimentando uma quantia no mercado nacional superior a dois bilhões de dólares por ano. Apesar da quantidade voltada para a exportação ser inferior a 1%, algumas marcas da cachaça brasileira podem ser encontrada não apenas nas adegas dos melhores restaurantes do Brasil, mas também do mundo.

Esse produto tipicamente brasileiro foi descoberto por acidente ainda no Brasil colônia (mais especificamente entre os anos de 1532 e 1538) e foi muito consumido desde aquela época, sendo que nas primeiras décadas o principal consumidor eram os escravos, até seu uso difundir pela burguesia a tal ponto de ser responsável pela diminuição na importação de vinhos portugueses³⁹. O termo cachaça foi patentado em três de janeiro de 2002, pelo decreto 4.602/02. Neste decreto o termo cachaça é definido como: “denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38% a 48%, em volume, a 20 graus Celsius e com características sensoriais particulares”.

Sendo assim, o nome cachaça só pode ser utilizado quando se estiver falando da aguardente de cana de açúcar e sendo esta um produto nacional.

Atualmente existem duas formas distintas de se produzir cachaça, o modo artesanal e o modo industrial, sendo que a grande maioria das cachaças (mais que 90%) é produzida pela forma industrial. A Figura 3 representa um diagrama da produção da cachaça de forma industrial. Na produção artesanal, normalmente a cachaça é fermentada em alambique de cobre. Com a popularização mundial da cachaça há uma expectativa que haja um aumento na produção deste produto visando atender principalmente a este crescente mercado internacional.

Assim como nos mercados interno e externo, a melhoria na qualidade dos produtos é um aspecto decisivo para uma maior participação dos produtos no mercado, em contrapartida, a expansão dos mercados aumenta a pressão por este controle de qualidade. Certificados de qualidade baseado em padrões e especificações técnicas serão pré-requisitos para qualquer produto comercializável do tipo exportação. A procura por níveis de qualidade superior, tempo e competitividade é uma preocupação constante das agências de economia, e no setor de agro-negócio não poderia ser diferente. O produto nacional deve estar atento a estas preocupações para a cachaça não perder mercado para outros países.

Uma das ações para estimular a produção da cachaça foi a criação do Programa Brasileiro de Desenvolvimento e apoio a Cachaça (PBDAC) em 1997 pela Associação Brasileira de Bebidas. O objetivo deste programa é a capacitação do setor de cachaça para competir com eficiência no mercado internacional e aumentar as exportações; geração de empregos e a valorização da imagem da cachaça com um produto nacional.

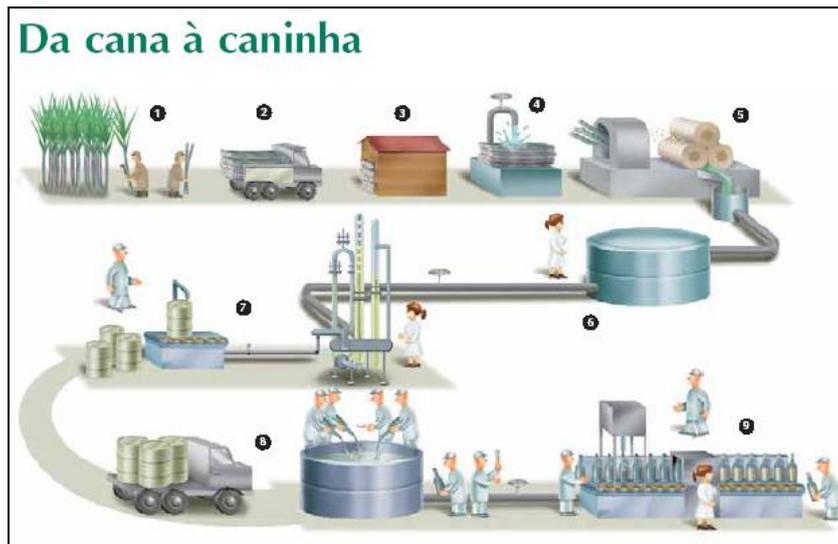


Figura 3 – Representação esquemática da produção de cachaça de forma industrial. (1) coleta da cana, (2) transporte, (3) armazenamento, (4) lavagem (5) picagem e moagem (6) fermentação (7) destilação (8) embalagem (9) rotulagem e comercialização. Adaptado da PRO TESTE ³⁹.

Neste cenário nacional de estímulo à exportação da cachaça, tem crescido a necessidade de novas técnicas de controle de qualidade de aditivos intencionais e acidentais na bebida. Uma destas carências é a avaliação da presença de contaminantes inorgânicos. Uma vez que os contaminantes inorgânicos estão presentes em concentrações muito baixas, é necessário que o método analítico seja muito sensível para possibilitar a determinação destes compostos na bebida.

O elemento inorgânico mais indesejável e preocupante na cachaça é o cobre. A presença deste metal na bebida provém da constituição do material utilizado na construção dos alambiques. Ainda se usa alambiques a base de cobre pela maior eficiência que estes possuem em eliminar odores desagradáveis observados em aguardentes.

A contaminação de cobre na cachaça se dá no momento da destilação, quando ocorre a formação do carbonato básico de cobre (azinhavre) na superfície do metal, este carbonato é então solubilizado pelos vapores ácidos produzidos durante a destilação, e por arraste conduz à contaminação do produto final por íons de cobre.

Em níveis traço, o cobre é um elemento indispensável ao ser humano. Sua ingestão diária recomendada para adultos pela Food and Nutrition Board é de 900

µg. No organismo ele é componente de várias enzimas, cujas ações compreendem: oxidação do ferro antes de ser transportado ao plasma, produção de energia mitocondrial, proteção contra oxidantes e radicais livres e síntese da melanina e catecolaminas⁴⁰.

A toxicologia do cobre é caracterizada por lesões ao fígado (cirrose hepática) e a doença de Wilson (acúmulo excessivo de cobre nos tecidos corporais). A legislação brasileira estipula como 5 µg/mL o limite de cobre presente na cachaça.

Não só o material que compõe o alambique pode ser responsável pela contaminação da cachaça, o solo utilizado para cultivar a cana e a própria água utilizada podem ser fontes de contaminação. A presença de metais no solo é relacionada a fatores naturais como localização geográfica, tipo de solo, potencial redox, capacidade de troca iônica do solo e tipo de planta cultivada, entre outros fatores. Além disto, ainda existe a ação antropogênica que aumenta a quantidade de elementos metálicos em solos e águas, seja pela produção industrial, exploração mineral, rejeitos sólidos, uso de pesticidas e fertilizantes, etc. Além disso, a produção de cana de açúcar faz uso de vários tipos de pesticidas e fertilizantes e todos estes fatores somados podem contaminar a cachaça.

O cádmio está presente em uma grande variedade de pesticidas fosfatados, e também por causa disso é comum encontrá-lo em todo tipo de bebidas e alimentos. Sua ação tóxica ao organismo se agrava com a idade, o que pode fazer como que um homem de 50 anos tenha de 20 a 30 mg de Cd acumulado principalmente nos rins e paredes das artérias. As doenças causadas por Cd dependem dos níveis dos íons protetores zinco, cobre, ferro e cálcio, mas costumam ser: fibrose e edema pulmonar, enfisema pulmonar, doenças renais, hipertensão arterial sistêmica, diminuição da produção de anticorpos, anemia e diminuição da testosterona.

Assim como o cádmio, o chumbo também não se encontra naturalmente no organismo humano e uma vez entrando em contato com o organismo não sofre metabolização, sendo complexado por macromoléculas, diretamente absorvido, distribuído e excretado. Uma vez absorvido, o chumbo é distribuído para o sangue onde tem meia vida de 37 dias, nos tecidos moles sua meia vida é de 40 dias e nos ossos sua meia vida é de 27 anos, constituindo estes o maior depósito corporal do metal armazenando 90 a 95% do chumbo presente no corpo.

A intoxicação aguda pelo chumbo é bastante rara, mas muito perigosa, podendo causar a morte de uma pessoa em 1 ou 2 dias ⁴¹. A intoxicação crônica é mais comum e mais perigosa. Este tipo de exposição pode gerar distúrbios gastrointestinais, neuromusculares e sobre o Sistema Nervoso Central (SNC), além de alterar a pressão arterial e causar lesões sobre o fígado, e afetar o funcionamento do sistema renal⁴².

Vários são os métodos eletroanalíticos para se fazer à determinação de metais nas mais diferentes matrizes. O uso do eletrodo de mercúrio, em especial, faz com que as técnicas voltamétricas sejam bastante populares para determinação de Cu, Pb e Cd. A voltametria permite a determinação sensível e simultânea destes metais dentro faixa de potencial do eletrodo de mercúrio. Até o presente momento, nenhum método voltamétrico foi proposto para determinação de metais, em especial Cu em cachaça utilizando o eletrodo de filme de bismuto.

As metodologias analíticas disponíveis para a determinação de metais na cachaça são baseadas na espectrometria de absorção atômica (AAS) ^{43 44}, em cromatografia líquida ⁴⁵, ou de espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) ⁴⁶. Em especial, AAS e ICP OES são técnicas que são escolhas naturais para a determinação de metais. No entanto, os métodos voltamétricos podem oferecer limites de detecção menores aos obtidos por AAS e ICP OES (ou até mesmo melhores) com a vantagem da utilização de instrumentação mais barata e de operação mais simples.

1.4. Luminescência molecular

1.4.1. O fenômeno luminescente.

O fenômeno caracterizado pela emissão de luz por uma molécula quando esta retorna do estado excitado é chamado de luminescência molecular. Basicamente três tipos de técnicas analíticas estão relacionados com os fenômenos luminescentes, são elas: fluorimetria, fosforimetria e espectrofotometria de quimioluminescência. Na quimioluminescência, a molécula atinge o estado excitado após participar de reação química com um reagente, normalmente um oxidante forte como ozônio ou peróxido de hidrogênio, na presença ou não de outros componentes. Neste caso, a emissão de radiação é característica do produto oriundo desta reação. Já nos casos da fluorescência e da fosforescência, que são bases respectivamente das técnicas fluorimétricas e fosforimétricas, a molécula do analito atinge o estado excitado após absorção de energia proveniente da interação com radiação eletromagnética na região do uv-vis. Por causa disso, esses fenômenos são chamados de fotoluminescência.

No modelo ondulatório, a luz pode ser descrita como a sobreposição de um campo elétrico e um campo magnético, no qual as vibrações estão distribuídas no meio de um número enorme de planos centrados perpendicularmente ao caminho do feixe (Figura 4).

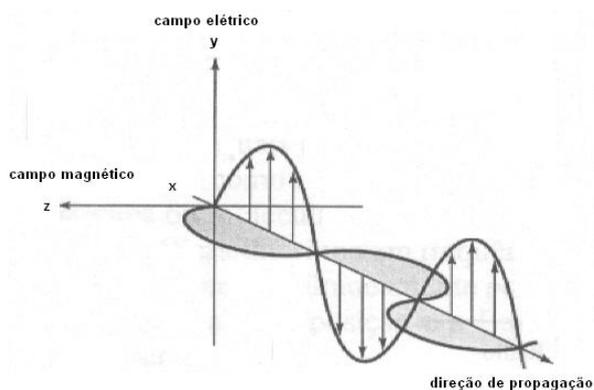


Figura 4 – Representação esquemática de uma radiação eletromagnética.

Alguns itens caracterizam este campo, como a frequência de vibração dos vetores elétricos e magnéticos (ν) a distância percorrida pela onda para completar

cada período, que é chamada de comprimento de onda (λ) e a velocidade de propagação desta onda, ou velocidade da luz (c), estas grandezas estão relacionadas entre si pela seguinte reação.

$$C = \lambda \nu \text{ (Equação 1)}$$

Devido ao campo eletromagnético associado com a luz, uma partícula carregada (como um elétron) quando incidido pela luz irá sentir uma força e será capaz de absorver energia deste campo. Se o elétron pertencente a uma molécula no seu estado fundamental absorver energia de um feixe luminoso, o elétron será promovido para um orbital inicialmente desocupado. O resultado global disto é a promoção da molécula do estado fundamental para um estado excitado. Cada um destes estados é caracterizado pela distribuição das cargas eletrônicas na molécula e cada um possui um valor de energia associado. Contudo, vale ressaltar que nem todas as frequências da luz serão capazes de serem absorvidas pelos elétrons da molécula. A teoria quântica diz que a relação entre energia e comprimento de onda é:

$$E = h \nu = hc / \lambda \text{ (Equação 2)}$$

Sendo h a constante de Planck. Uma condição necessária para que a luz seja absorvida pela molécula no seu estado fundamental S_0 para um estado excitado S_n é que a absorção da luz seja equivalente à diferença de energia entre estes estados energéticos, ou seja:

$$E_{S_0} - E_{S_n} = h\nu \text{ (Equação 3)}$$

Se esta igualdade não for respeitada, a molécula não irá absorver luz, e será assim transparente a radiação.

1.4.2. Fotoluminescência

Tanto a fluorescência como a fosforescência tem em comum a absorção da luz de comprimento de onda característico. O que irá diferenciar um fenômeno do outro será a forma como a luz será emitida. Para entender esta diferença, é melhor visualizar o diagrama de energia (Figura 5) abaixo.

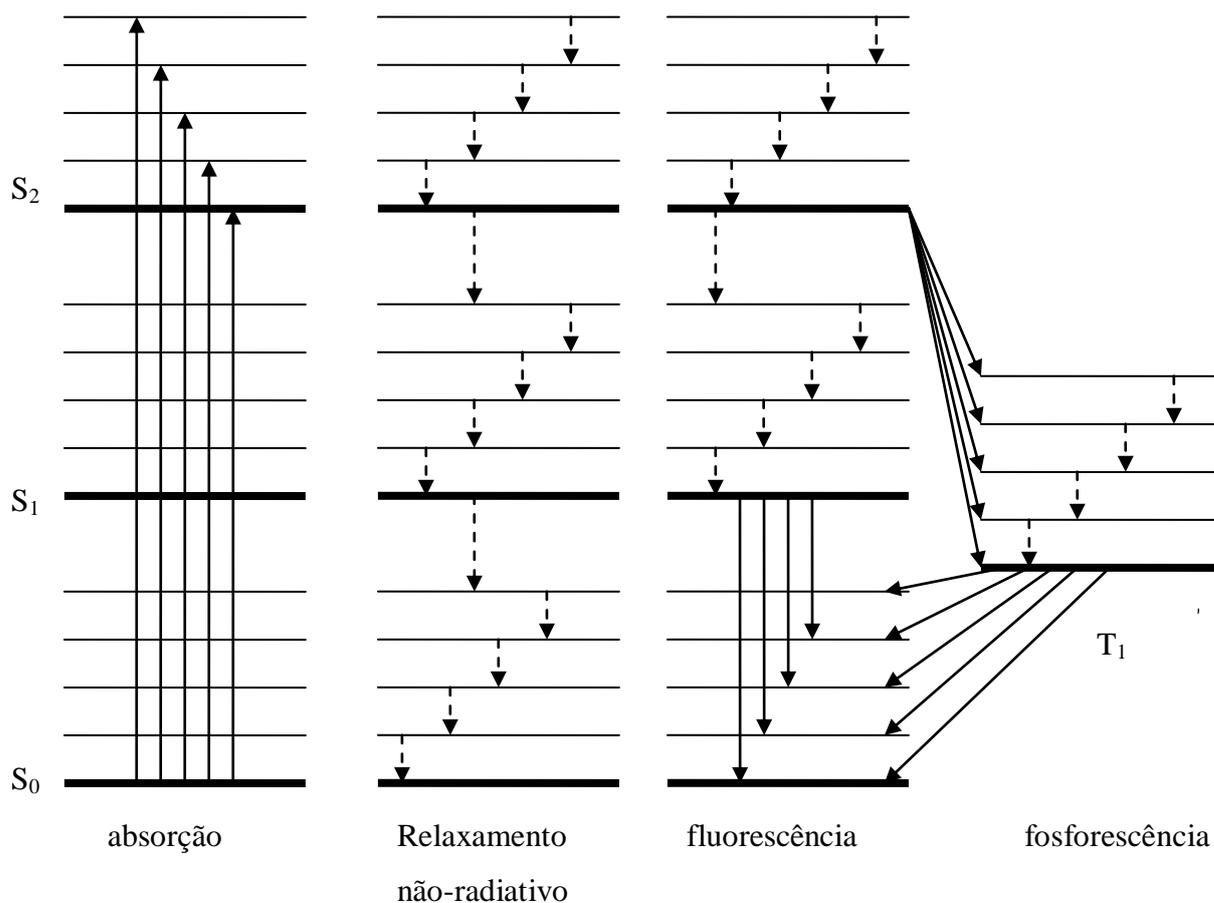


Figura 5 – Diagrama de Jablonski modificado para um sistema molecular mostrando as transições eletrônicas e processos de decaimento de energia relevantes aos métodos luminescentes. S singlete, T tripleto.

As linhas grossas horizontais indicam níveis eletrônicos, as linhas horizontais mais finas indicam níveis vibracionais associados a cada nível eletrônico. Considerando inicialmente a molécula no estado eletrônico singlete fundamental S_0 , ao absorver luz na frequência adequada a molécula será

promovida deste estado para um estado excitado (S_n). O conseqüente excesso de energia pode ser perdido de várias formas. Uma delas seria por meio de relaxamento vibracional, ou seja, este excesso de energia é perdido por choques com outras moléculas que a circundam ou por sucessivas combinações de relaxamento vibracional (conversão interna) que podem levar a completa desativação da amostra de forma não-radiativa.

No caso em que a diferença de energia entre dois níveis eletrônicos é muito grande, é possível que a conversão interna seja minimizada, sendo a desativação do estado excitado singlete feita por emissão de radiação ultravioleta ou visível. Este processo é conhecido como fluorescência e ocorre e tem tempo de vida entre 10^{-7} a 10^{-10} segundos.

Outra possibilidade seria a passagem da população excitada, a partir de um estado eletrônico singlete mais baixo, para o estado excitado tripleto, fenômeno conhecido como conversão intersistema. Essa conversão é facilitada se houver sobreposição entre níveis vibracionais dos dois estados excitados de diferentes multiplicidades.

Ao atingir este estado tripleto excitado, a molécula pode perder o excesso de energia por processos não-radiativos ou pode emitir energia na forma de radiação, passando deste estado tripleto excitado para o estado singlete fundamental. Este fenômeno é denominado fosforescência. Como a fosforescência envolve a inversão do spin eletrônico, etapa “proibida” segundo as leis quânticas, o fenômeno de fosforescência é menos comum que o fenômeno de fluorescência, possuindo também um maior tempo de vida (acima de 10^{-4} s).

As técnicas analíticas fotoluminescentes se baseiam na fluorescência e na fosforescência (natural ou induzida) de espécies químicas de interesse. Essas técnicas, além de serem sensíveis, quando otimizadas adequadamente, apresentam grande capacidade seletiva, conseqüência da relação excitação/emissão e da grande dependência das características espectrais luminescentes com os parâmetros experimentais escolhidos. Os parâmetros principais para garantir a observação de luminescência de um analito em solução na temperatura ambiente são: o tipo de sistema de solventes, o pH do meio, a força iônica do meio, a organização do meio (micelas, ciclodextrinas) e a presença de substâncias concomitantes interferentes.

1.5. A derivação fotoquímica

O pré-tratamento de amostra é definido como o conjunto dos procedimentos necessários para converter física e quimicamente uma amostra em uma forma que seja possível fazer a sua determinação, rompendo as barreiras impostas pela natureza e/ou pela morfologia da mesma.

A derivação fotoquímica é um tipo de pré-tratamento da amostra que faz uso da radiação ultravioleta. As vantagens da derivação fotoquímica foram resumidas por Pérez-Ruis e colaboradores⁴⁷, sendo a principal a eliminação de adição de reagentes (derivação química).

A radiação ultravioleta (UV) é a fração do espectro eletromagnético compreendida entre os comprimentos de onda de 100 a 400 nm. A incidência desta radiação sobre uma amostra pode mudar as suas características químicas, seja por meio de decomposição de matrizes orgânicas ou por reações fotoquímicas das espécies analíticas de interesse. Cavicchioli e colaboradores⁴⁸ revisaram a aplicação de radiação UV como etapa de pré-tratamento de amostras. Ele cita vários exemplos onde à radiação ultravioleta é utilizada para decompor a matéria orgânica contida na matriz, principalmente quando se quer fazer a determinação de uma espécie inorgânica. Neste tipo de pré-tratamento a radiação interage com os compostos orgânicos presentes na matriz destruindo-os, ou então, convertendo-os em uma forma não-interferente para o tipo de metodologia analítica em questão. Este tipo de aplicação é muito comum para a determinação de metais em amostras ambientais por métodos voltamétricos, uma vez que esta técnica é muito sensível à presença de matéria orgânica dissolvida, a radiação UV costuma aumentar a sensibilidade destes pela destruição da matéria orgânica (interferente).

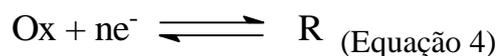
Outro importante campo de aplicação da radiação UV como pré-tratamento é na conversão do analito em uma forma mais sensível e/ou mais estável, pela indução de reações do composto. Vários são os tipos de mecanismos que podem resultar de uma reação fotoquímica: dissociação, ionização, isomerização, transferência de energia intermolecular, transferência de energia intramolecular, entre outras possibilidades. Invariavelmente, no entanto, existe a ocorrência de uma transição eletrônica, causada pela interação com a luz, que forma uma

espécie intermediária num estado excitado altamente reativo, a partir do qual se seguem estes diferentes tipos de reações de derivação.

Provavelmente o tipo mais comum de derivação fotoquímica de analitos é aquela usada para se obter um produto com maior eficiência quântica luminescente. Vários são os trabalhos publicados utilizando esta abordagem para melhorar a sensibilidade de uma metodologia luminescente^{49,50,51,52,53,54} na qual o produto gerado após fotoderivatização é utilizado para determinação indireta do composto original, inclusive por métodos cromatográficos com detecção eletroquímica ou luminescente⁵⁵. Nesses métodos é feita uma derivatização anterior a injeção cromatográfica, buscando não apenas eliminação de interferência, mas também a obtenção de um fotoderivado mais adequado ao trabalho. Este tratamento pode mudar não só o sinal do composto, como o tempo de retenção do mesmo na técnica cromatográfica (uma vez que pode fragmentar, rearranjar ou polimerizar o analito).

1.6. Voltametria

A voltametria é uma técnica eletroanalítica na qual, tanto informações quantitativas como qualitativas podem ser obtidas com base na corrente gerada pela transferência de elétrons entre o eletrodo de trabalho e uma espécie eletroativa adjacente a este eletrodo. A reação redox é decorrente de uma eletrólise na qual o analito é submetido (exemplificado na Equação 4).



Sendo Ox a espécie oxidada, R a espécie reduzida, n o número de elétrons (e) envolvidos na reação. Esta reação irá ocorrer em uma faixa de potencial que faça com que a transferência de elétrons seja favorável cineticamente ou termodinamicamente. Para os sistemas controlados pela lei da termodinâmica, o potencial do eletrodo pode ser usado para estabelecer a concentração da espécie eletroativa no eletrodo [$C_{\text{O}}(0,t)$ e $C_{\text{R}}(0,t)$] de acordo com a equação de Nernst.

$$E = E^0 + \frac{2,3RT}{nF} \text{Log} \frac{C_{\text{O}}(0,t)}{C_{\text{R}}(0,t)} \quad (\text{Equação 5})$$

Sendo E o potencial do eletrodo, E^0 o potencial padrão para a reação redox, R a constante universal dos gases ($8,314 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T a temperatura em Kelvin, F a constante de Faraday (96,487 Coulomb por mol de elétrons). A corrente resultante de uma mudança no estado de oxidação é chamada de *faradaica*, pois obedece a lei de Faraday. A corrente faradaica é uma medida direta da reação redox.

As reações eletródicas podem ocorrer em uma complicada seqüência de etapas, sendo que a velocidade da reação será controlada pela etapa mais lenta desta seqüência. Algumas destas possibilidades estão apresentadas na Figura 6. Reações mais simples consistem apenas da transferência do analito do seio da solução para a superfície do eletrodo (transporte de massa) aonde ele sofrerá a reação redox (transferência eletrônica), e depois da transferência do produto desta reação da superfície do eletrodo para o seio da solução. Mecanismos mais

complicados envolvem reações químicas prévias ou posteriores à transferência de elétrons, podendo ser homogêneas (protonação, dimerização, etc.) ou heterogêneas (decomposição catalítica, adsorção, desorção, cristalização). O resultado global desse processo é que a corrente pode ser limitada tanto pelo transporte de massa como pela transferência eletrônica.

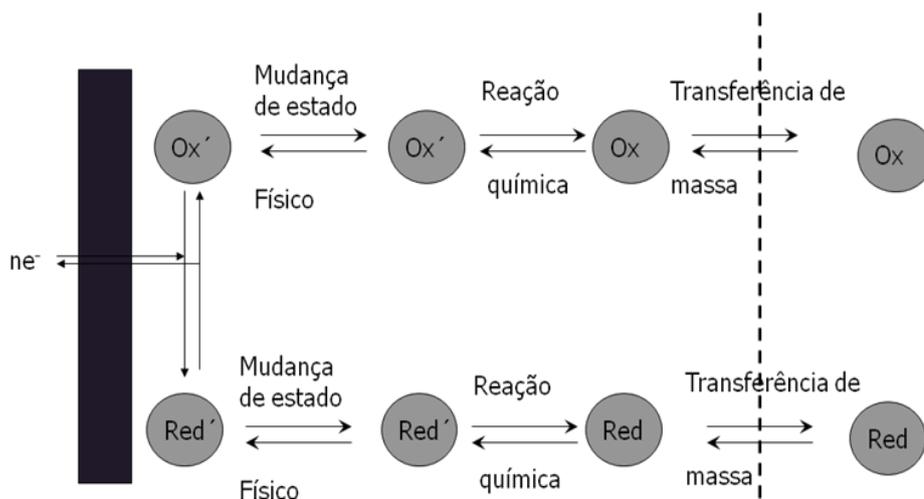


Figura 6 – Esquema para uma reação redox.

Quando a etapa mais lenta da reação global é a transferência de massa, o potencial do eletrodo de trabalho corresponde em todo o momento ao esperado pela equação de Nernst (condição termodinâmica) e é por isso chamada de *reversível*. Quando a etapa mais lenta da reação é transferência de elétrons, ocorre um *sobrepotencial*, no qual o resultado do potencial do eletrodo é diferente do esperado pela equação de Nernst, neste caso a reação é dita como irreversível. No caso de tanto a transferência de massa como a transferência de elétrons terem valores próximos, a reação é dita quase-reversível.

A transferência de massa ocorre por três modos diferentes: convecção, difusão, e migração⁵⁶. A convecção é o movimento causado pela agitação mecânica (ou mesmo térmica) da solução. A difusão é causada pela movimentação espontânea de espécies eletroativas dentro da solução que o fazem para diminuir o gradiente de concentração na solução. A migração é causada pela atração/repulsão eletrostática dos íons em solução em relação ao eletrodo de trabalho. Dentre estas três formas de movimentação das espécies iônicas, apenas a

difusão gera uma corrente proporcional a concentração (faradaica). Por causa disso, as análises devem ser realizadas de forma que haja predominantemente corrente de difusão na cela. Para diminuir a contribuição da convecção (a uma dada temperatura) basta realizar as medições numa solução sem agitação, já para diminuir a convecção, é necessário utilizar um eletrólito suporte.

A transferência de elétrons ocorre numa região de interface entre o eletrodo e a solução, chamada de dupla camada elétrica. Esta camada reflete as diferentes regiões iônicas formadas na solução para compensar o excesso de carga do eletrodo de trabalho. Esta camada pode ser representada como a descrita na Figura 7.

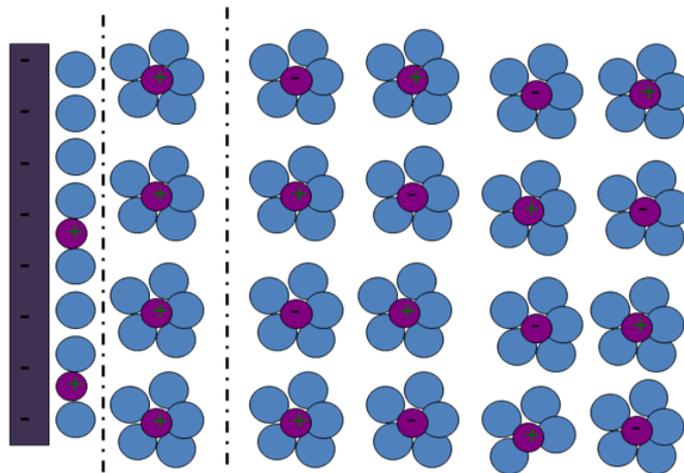


Figura 7 – Representação da síntese de Stern dos modelos de Helmholtz e Gouy-Chapman para a dupla camada elétrica

Segundo a síntese de Stern dos modelos de Helmholtz e Gout Chapman, a dupla camada elétrica é formada por dois planos compactos entre o eletrodo e o seio da solução.

A região mais próxima ao eletrodo (chamado de plano interno de Helmholtz) é a mais compacta das duas, sua largura possui valores médios ente 10 a 100 μm para soluções sob agitação mecânica e de 500 μm em solução sem agitação. Nesta região, há uma grande concentração (e baixa mobilidade) de moléculas do solvente, podendo também haver moléculas do analito (não solvatadas). Além dessa camada (plano interno de Helmholtz) estão presentes moléculas solvatadas do analito que, por causa do seu raio de hidratação, não

conseguem atingir a superfície do eletrodo, no entanto, possuem certa mobilidade e estão sujeitas a atrações do eletrodo por interações de longa distância.

A concentração de analito na camada difusa é proporcional à concentração de analito no seio da solução, o que tem a importante conseqüência de proporcionar um aspecto analítico quantitativo na medida de corrente gerada pela interação do analito com o eletrodo. A largura da camada externa depende da composição da solução e é limitada por convecção, variando entre 0,3 a 0,5 mm num ambiente sem agitação mecânica. Quando a solução é mantida sob agitação, a largura dessa camada decresce significativamente para valores entre 0,01 a 0,001 mm. Além desta camada externa, existiria o seio da solução, onde as moléculas não sofrem nenhum tipo de interação com o eletrodo.

Uma forma comum de descrever o transporte de massa é através do fluxo (J). Fluxo pode ser definido como o número de moléculas penetrando uma área de um plano imaginário por unidade de tempo, e sua unidade é $\text{mol cm}^{-1} \text{s}^{-1}$. O fluxo para o eletrodo (para uma dimensão) é descrito matematicamente pela equação de Nernst-Planck:

$$J_{(x,t)} = -D \frac{\partial C_{(x,t)}}{\partial x} - \frac{zFD C}{RT} \frac{\partial \phi_{(x,t)}}{\partial x} + C_{(x,t)} V_{(x,t)} \quad (\text{Equação 6})$$

Sendo D o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), $\partial C_{(x,t)} / \partial x$ o gradiente de concentração (a distância x e no tempo t), $\partial \phi_{(x,t)} / \partial x$ é o gradiente de potencial, z e C são a carga e a concentração, respectivamente da espécie eletroativa, e $V(x,t)$ é a velocidade hidrodinâmica.

A corrente (i) é diretamente proporcional ao fluxo, e é descrito como:

$$i = -nFAJ \quad (\text{Equação 7})$$

Como normalmente as condições experimentais são tais que se eliminam as correntes de convecção e de migração, mantendo apenas a corrente de difusão, a equação que descreve a corrente (para processos limitados por difusão) é:

$$i = nFAD \frac{\partial C_{(x,t)}}{\partial x} \quad (\text{Equação 8})$$

Esta equação só pode ser aplicada para os casos no qual a reação geral é limitada por difusão (processo reversível), para os processos no qual a limitação é a transferência de elétrons (irreversível) a equação da corrente é dada por:

$$i = i_{\downarrow f} - i_{\downarrow b} = nFA[K_{\downarrow f} C_{\downarrow O}(\mathbf{0}, t) - K_{\downarrow b} C_{\downarrow R}(\mathbf{0}, t)] \quad (\text{Equação 9)}$$

Sendo i a corrente resultante, i_f a corrente devido ao sentido direto, i_r a corrente devido ao sentido reverso, K a constante de velocidade da reação de transferência de elétrons (para cada um destes sentidos).

1.6.1. Voltametria de onda quadrada

O que diferencia as várias técnicas voltamétricas entre si (voltametria de onda quadrada, voltametria de pulso diferencial, voltametria cíclica, voltametria de pulso normal, etc.) é a forma como se varia o potencial ao longo do tempo.

Até meados da década de 80, a técnica voltamétrica mais utilizada era a técnica de voltametria de pulso diferencial. Apesar de ter sido desenvolvida em 1957 como resultado dos estudos de Baker, a utilização da técnica de onda quadrada era limitada pela tecnologia eletrônica. Apenas com o maior desenvolvimento da eletrônica digital na década de 80 é que ela passou a ser incorporada nos equipamentos comerciais e, por isso, mais utilizada. A maior vantagem dessa abordagem está na velocidade de aquisição dos dados, que diminui o tempo de cada varredura de alguns minutos para poucos segundos, isto sem perda de sensibilidade. Ao contrário, em alguns casos, usando a voltametria de onda quadrada se consegue uma melhoria na sensibilidade da técnica

Na voltametria de onda quadrada aplica-se uma onda quadrada simétrica de amplitude ΔE_p sobreposta a uma rampa de potencial na forma de escada, caracterizada pela amplitude ΔE_s , largura a e período τ ⁵⁷. A Figura 8 mostra uma representação esquemática de como se é formado a voltametria de onda quadrada.

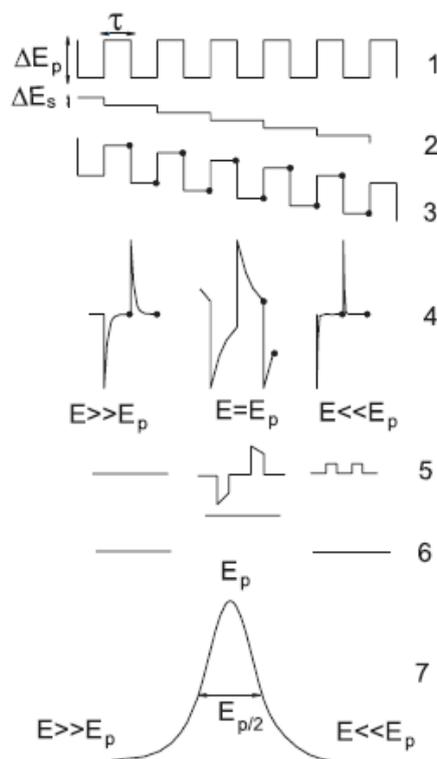


Figura 8 – Representação esquemática da voltametria de onda quadrada

A etapa 1 mostra a onda quadrada simétrica e a etapa 2 mostra a rampa de potencial sobre a qual esta onda será sobreposta, a etapa 3 é o resultado desta sobreposição, vale ressaltar que neste exemplo o potencial está variando para valores mais negativos. Os pontos em negrito na etapa 3 correspondem aos pontos onde é registrada a corrente, no início e no final de cada pulso, e usa-se a diferença entre estas correntes. A etapa 4 representa graficamente a corrente lida, neste exemplo, para valores de potencial antes do pico, no pico, e depois do pico. Observa-se ainda nesta etapa que para os valores de potenciais (E) diferentes do potencial do pico (E_p) a contribuição direta é igual à contribuição reversa, e por isso se anulam, ao contrário do potencial no pico. Isto também pode ser visualizado nas etapas 5 e 6. A etapa 7 mostra como fica o gráfico corrente x potencial (voltamograma) usando a diferença entre essas correntes. Idealmente, o gráfico apresenta o formato de uma distribuição gaussiana.

1.6.2. Voltametria de redissolução

As modernas técnicas de voltametria permitem atingir limites de detecção da ordem de 10^{-7} ou 10^{-8} mol L⁻¹. Limites mais baixos costumam ser difíceis de serem obtidos por causa dos ruídos da técnica. O sinal de fundo (ou ruído) na voltametria apresenta duas componentes principais, a capacitiva e a faradaica. A contribuição faradaica para o sinal de fundo é devido à presença de impurezas que sofram processos redox na janela de potencial de trabalho, e por isso geram corrente elétrica. O próprio oxigênio dissolvido na solução pode ser uma destas impurezas. Claro que toda esta contribuição pode ser minimizada aerando a solução e utilizando reagentes de maior grau de pureza.

A outra contribuição para o sinal de fundo é o proveniente da corrente capacitiva. Esta contribuição costuma ser minimizado pela forma de amostragem do sinal. No entanto, este artifício não elimina a corrente faradaica, apenas diminui a sua contribuição. Concentrações mais baixas que 10^{-8} mol L⁻¹ podem não ser conseguidas por que se atingiu o limite da técnica, ou seja, o valor da corrente medida para alguns compostos a este nível de concentração está do mesmo valor que a corrente capacitiva.

Um recurso muito eficaz utilizado na técnica voltamétrica para aumentar a sensibilidade da mesma, é a capacidade de pré-concentrar alguns compostos na superfície do eletrodo (ou dentro dele, no caso de eletrodo de gota de mercúrio), e depois re-dissolver este composto para a solução (do inglês, Stripping), o que aumenta em muito o sinal da corrente do pico. A deposição se dá pela aplicação de um potencial controlado ao eletrodo durante um tempo determinado, e com condições hidrodinâmicas (transporte de massa) controlados e reprodutíveis, isto fará com que o analito seja eletrodepositado no eletrodo. Após essa etapa de pré-concentração, é feita a varredura de potencial no sentido em que o analito será re-dissolvido para a solução. Idealmente, todo o material que foi depositado deve ser re-dissolvido, o que aumenta em muito a sensibilidade da técnica e diminui o efeito de memória nas determinações seguintes (problemas corriqueiros quando se utiliza eletrodos sólidos).

A voltametria de redissolução possui duas variantes, a catódica e a anódica. A diferença de uma para a outra é apenas o sentido no qual o potencial será varrido após a etapa de deposição.

Na voltametria de redissolução anódica aplica-se um potencial catódico ao eletrodo de trabalho. No caso do analito ser um íon metálico M^{n+} , este potencial catódico aplicado prévio a etapa de leitura irá causar redução (e conseqüentemente deposição) do íon metálico no eletrodo sobre a forma elementar. Caso o eletrodo utilizado seja um a base de mercúrio, a reação que descreve esta etapa pode ser descrita como:

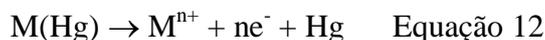


Já para o caso de eletrodos sólidos, a reação de deposição será descrita por:



Este potencial é determinado experimentalmente, assim como o tempo de aplicação do mesmo. Esta etapa (chamada de deposição) é feita em solução sob agitação, para aumentar a eficiência do transporte de massa. Como não esta sendo feito nenhuma leitura, o transporte por convecção não é prejudicial.

Após este tempo, a agitação da solução é desligado, a solução é mantida em repouso por alguns segundos, quando se aplica uma varredura de potencial no sentido anódico. As reações que descrevem esta reação, para eletrodo de mercúrio e eletrodo sólido, respectivamente são:



ou



A voltametria de redissolução anódica apesar de ser utilizada para a determinação de muitas espécies orgânicas, possui especial aplicação para a determinação de íons metálicos, especialmente quando se usa eletrodos a base de mercúrio ou filme de bismuto.

A voltametria de redissolução catódica é utilizada quando a aplicação de um potencial anódico ao eletrodo faz com que o analito seja oxidado na superfície do mesmo formando um sal ou um óxido insolúvel, desde que este sal ou óxido seja desfeito quando se aplica a varredura catódica de potencial, re-dissolvendo o composto para a solução.

Para que a voltametria de redissolução (catódica ou anódica) seja aplicável, é necessário que o analito sofra uma reação eletroquímica e se deposite no eletrodo através de processos faradaicos. Este pré-requisito limita a quantidade de espécies que podem ser depositadas por esta técnica. Uma alternativa a isto é a utilização da voltametria *adsortiva* de redissolução. Nesta técnica, o analito apenas precisa apresentar a propriedade de superfície ativa para se depositar de forma não específica na superfície do eletrodo.

Mesmo não sofrendo eletrodeposição, o analito se deposita na superfície do eletrodo, aumentando a massa de composto que depois sofrerá alguma reação de redução ou oxidação, gerando correntes mais intensas. Esta variante aumenta a aplicação da voltametria para muitas espécies orgânicas que não sofrem eletrodeposição, e também para algumas espécies metálicas cujos íons livres não se depositam, porém ao se complexarem com ligantes, se adsorvem na superfície do eletrodo.

1.7.

O eletrodo de filme de bismuto

O desempenho das técnicas voltamétricas é dependente do tipo de eletrodo utilizado⁵⁸. Idealmente, o eletrodo tem de possibilitar uma alta razão sinal/ruído, bem como permitir reprodutibilidade nos resultados. Tradicionalmente, os eletrodos de trabalho mais utilizados na voltametria de redissolução são os de mercúrio (gota pendente de mercúrio, HMDE, e filme de mercúrio, MFE) e o eletrodo de carbono vítreo (GCE).

Apesar da alta toxicidade, os eletrodos de mercúrios são ainda muito utilizados quando a espécie química a ser determinada é um metal, uma vez que a utilização do mercúrio costuma favorecer a deposição do metal sobre o eletrodo (normalmente é formado um amálgama entre o íon metálico e o mercúrio), além do fato da sobrevoltagem do mercúrio em relação ao hidrogênio possibilitar a aplicação do mesmo em regiões mais anódicas (negativas) do potencial (este fato estende a faixa negativa do potencial de -0,2 à -1,3 V).

A aplicação do mercúrio (na forma de gota ou em filme) para a determinação de compostos em regiões catódicas se encontra um pouco mais limitada, uma vez que o mercúrio é facilmente oxidado (próximo a + 0,25 V). Para determinar compostos na região catódica, normalmente se utilizam eletrodos sólidos (carbono vítreo e diamante dopado com boro, por exemplo).

Apesar de toda a sua eficiência na determinação de espécies metálicas, o mercúrio é um metal tóxico, assim, os eletrodos baseados nesse elemento têm sido preteridos, sendo feitos esforços para substituí-los. Já o eletrodo de carbono vítreo possui capacidade de pré-concentração de analitos mais limitada. Eletrodos construídos com vários outros tipos de material têm sido propostos como alternativas, como os mais tradicionais, eletrodos de ouro, platina, irídio, no entanto, estes eletrodos não têm se apresentado tão eficientes como os eletrodos a base de mercúrio.

Desde a primeira publicação de Wang e colaboradores⁵⁹ sobre a utilização do eletrodo de filme de bismuto (BiFE) como uma alternativa para a substituição dos eletrodos de mercúrio, vários trabalhos foram publicados propondo o BiFE como eletrodo de trabalho em detrimento dos eletrodos de mercúrio^{60,61,62,63,64,65}. Em especial, para a voltametria de redissolução anódica.

A fabricação do BiFE é um processo bastante simples, e a sua utilização tem se mostrado promissora, trazendo características de desempenho similar ou até melhores que os de eletrodos baseados no mercúrio, com vantagens do ponto de vista da minimização das interferências causadas pelo oxigênio dissolvido e sua baixa toxicidade. Assim, o BiFE tem se apresentado como um dos melhores candidatos para substituir o mercúrio ao contrário de outros tipos de eletrodos.

Um dos grandes inconvenientes da utilização do eletrodo de filme de bismuto é justamente para a determinação de Cu (II), uma vez que tanto cobre quanto bismuto apresentam picos de redissolução anódicos próximos a 80 mV, a determinação de Cu neste eletrodo é prejudicada pela sobreposição do pico do Bi (III).