

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA



UNICAMP

**DESENVOLVIMENTO DE ELETRODOS ÍON-SELETIVOS:
APLICAÇÃO EM SISTEMA DE DETECÇÃO EM FIA E
ESTRATÉGIAS PARA A MELHORIA DO LIMITE DE
DETECÇÃO**

Tese de Doutorado apresentada à Comissão de Pós-graduação
do Instituto de Química como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aluno: Karin Yanet Chumbimuni Torres

Orientador: Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota

Campinas – SP

Setembro / 2005

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA
UNICAMP**

T636d

Torres, Karin Yanet Chumbimuni.

Desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos: aplicação em sistema de detecção de FIA e estratégias para a melhoria do limite de detecção / Karin Yanet Chumbimuni Torres. -- Campinas, SP: [s.n], 2005.

Orientador: Lauro Tatsuo Kubota.

Tese - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. ISEs. 2. Análise por FIA. 3. Detecção nanomolar.
I. Kubota, Lauro Tatsuo. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Título em inglês: Development of ion-selective electrodes: application in detection system of FIA and strategies for the improvement of detection limit

Palavras-chave em inglês: ISEs, FIA analyses, Nanomolar detection

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora: Yaico Tanimoto de Albuquerque, Ivano Rolf Gutz, Jarbas José Rodrigues Rohwedder, José Alberto Fracassi da Silva

Data de defesa: 27/09/2005

Feliz o homem que encontrou a sabedoria e alcançou o entendimento, porque a sabedoria vale mais do que a prata, e dá mais lucro que o ouro. Ela é mais valiosa do que as pérolas e não existe objeto precioso que se iguale a ela.

Provérbios 3:13-15.

*A Percy, meu esposo,
pelo seu constante apoio, cuidado,
paciência e amor no dia a dia.....*

A Pedro e Doris, meus pais, Laura e Javier,
meus irmãos, pelo amor e apoio em todo momento,
mesmo que separados pela distância mas unidos no
coração.....

*.....dedico esta tese,
obrigado pelo amor de vocês, e incondicional
apoio para lograr todos meus sonhos.*

Agradecimentos

Ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, pela oportunidade concedida na minha formação, aos professores do Departamento de Química Analítica, pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Prof. Lauro Tatsuo Kubota, pela orientação neste trabalho de doutorado, paciência, constante incentivo, apoio e oportunidades oferecidas em todo este tempo.

A FAPESP pela bolsa concedida (Processo 00/14702-2)

Ao Prof. Eric Bakker, pela grande colaboração no desenvolvimento da segunda parte deste trabalho de doutorado, e pela oportunidade de estágio em seu laboratório na Auburn University nos EUA.

Aos colegas de laboratório com quem tive a oportunidade de compartilhar momentos agradáveis, Altair, Alaécio, Arnaldo, Antonio, Adriano, Bárbara, Carlita, Diogo, Flavio, Lucilene, Paulo, Rafaela, Renata, Rita e Rodrigo.

Aos amigos, Laura, Betty, Jim, Jose, Alexey, Nastassia, Chao Xu, Yu Qin, Yda, Vish, Kebede, Sergey, Alexander, pelo apoio e amizade durante minha estadia na Auburn University.

A todos os amigos que sempre estiveram presentes: Maria C., Maria A. Gliseida, Pilar, Hilda, Rosangela, Pascual, Honorato, Adolfo, Ruben, José, Rodolfo, pela amizade, motivação e convívio amistoso.

Aos funcionários do Instituto de Química, em especial a Bel e Rodrigo da CPG pela eficiência em suas funções e apoio constante, ao Mario

pelos trabalhos de mecânica fina e a todos da Biblioteca do IQ por estarem sempre dispostos.

Em geral a toda minha família, que sempre foi e segue sendo a minha fortaleza e motivação de luta diária no caminhar da vida, em especial a meus avós, Urbano, Celinda, Angel e Alfreda.

CURRICULUM VITAE

Karin Yanet Chumbimuni Torres

Formação Acadêmica

- 1997 Graduação em Química, Facultad de Ciências, “Universidad Nacional de Ingeniería”, Lima-Perú.
- 2001 Mestre em Química Analítica, Instituto de Química, “Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP”, São Paulo-Brasil.

Experiência Profissional e Estágios Docentes

- 1997 Laboratório de Análises Químico, “Empresa-Glasesa”, na área de investigação e desenvolvimento, Lima-Perú.
- 1998 Laboratório de Análises Químico, “Força Aérea Peruana-FAP”, Lima-Perú.
- 1996 Estágio Docente no Laboratório de Química Analítica Quantitativa, “Universidad Nacional de Ingeniería”, Lima-Perú.
- 1997 Estágio Docente no Laboratório de Electroquímica Aplicada, “Universidad Nacional de Ingeniería”, Lima-Perú.
- 2003 Estágio Docente no Laboratório de Química Geral, “Universidade estadual de Campinas-UNICAMP”, São Paulo-Brazil.

Publicações

Karin Yanet Chumbimuni Torres, Percy Calvo Marzal, Lauro Tatsuo Kubota. “*Recentes avanços e novas perspectivas dos eletrodos íon-seletivos*” Quim. Nova, submetido (2005).

Karin Y. Chumbimuni-Torres, Nastassia Rubinova, Aleksandar Radu, Lauro T. Kubota, Eric Bakker. “*A Universal Recipe for Solid Contact Potentiometric Sensors for Trace Level Measurements*” Anal. Chem., submetido (2005).

Calvo-Marzal, P., Chumbimuni-Torres, K. Höeher, N., Kubota, L. T. “*Determination of glutathione in erythrocyte hemolysate using amperometric sensor based on TTF-TCNQ*”. Clin. Chim. Acta, submetido (2005).

Chumbimuni-Torres K. Y., Kubota, L. T. **“Simultaneous determination of calcium and potassium in coconut water by a flow-injection method with tubular potentiometric sensors”** J. of Food Composition and Analysis, aceito para publicação.

Calvo-Marzal, P., Chumbimuni-Torres K. Y., Fenalti Höehr, N., Oliveira Neto, G., Kubota, L.T. **“Determination of reduced glutathione using an amperometric carbon paste electrode chemically modified with TTF-TCNQ”** Sens. Actuators B, 100 (2004) 333-340.

Karin Yanet Chumbimuni Torres, Nelci F. Höehr, Graciliano de Oliveira Neto, Lauro T. Kubota. **“Determination of calcium ion in biological fluid using flow injection analysis with a tubular electrode”** Lecta, 20 (2002) 37-46.

Karin Yanet Chumbimuni Torres; Carlos Alexandre B. Garcia; Julio César B. Fernandes; Graciliano de Oliveira neto; Lauro T. Kubota, **“Use of self-plasticizing EVA membrane for potentiometric anion detection”** Talanta, 53 (2001) 807-814.

Trabalhos apresentados em Congressos

28^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), Poços de Caldas – MG, **“Nanodetection limit of silver with solid contact ion selective electrode”**. Karin Y. Chumbimuni-Torres, Bakker, E., Lauro T. Kubota, 2005.

XIV Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica (SIBEE), Teresópolis- RJ, **“Determinação simultânea de cálcio, potássio e cloreto em amostras de suco usando eletrodo tubular-íon-seletivo acoplado a sistema de injeção em fluxo”**. Karin Y. Chumbimuni-Torres, Percy Calvo Marzal, Lauro Tatsuo Kubota, 2004.

XIV Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica (SIBEE), Teresópolis- RJ, **“Construção e otimização de um sensor potenciométrico sensível a tiocianato baseado em ftalocianina de cobre-EVA”**. Bárbara de Oliveira, Karin Y. Chumbimuni-Torres, Lauro Tatsuo Kubota, 2004.

XXVI Congresso Latinoamericano de Química e 27^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (CLAQ/SBQ), **“Eletrodo potenciométrico baseado em ftalocianina de cobre sensível a tiocianato”**. Bárbara de Oliveira, Karin Y. Chumbimuni-Torres, Lauro Tatsuo Kubota, 2004.

26^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), Poços de Caldas – MG, **“Quantificação de potássio em água de coco utilizando sistema de injeção em fluxo com eletrodo íon-seletivo”**. Karin Y. Chumbimuni-Torres, Lauro T. Kubota, 2003.

26^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), Poços de Caldas – MG, **“Desenvolvimento de um eletrodo seletivo para Heparina”**. Bárbara de Oliveira, Karin Y. Chumbimuni-Torres, Lauro T. Kubota, 2003.

XII Encontro Nacional de Química Analítica “*Desenvolvimento de um eletrodo íon-seletivo para ibuprofeno*”, Paulo José F. Ribeiro, Karin Y. Chumbimuni-Torres, Graciliano de O. Neto, Lauro T. Kubota, 14 a 17 de Outubro de 2003.

54th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, “*Sequential determination of calcium and potassium in coconut water by a flow-injection method based on the use of ion-selective electrodes*” Karin Y. Chumbimuni-Torres and Lauro T. Kubota. 31 setembro-5 agosto, 2003.

XI Congresso Interno de Iniciação Científica-Unicamp, Campinas-SP, “*Determinação de Heparina em fármaco por sensor potenciométrico*”. Bárbara de Oliveira, Karin Y. Chumbimuni-Torres, Lauro T. Kubota. 25 a 26 de setembro de 2003.

25^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), Poços de Caldas – MG, “*Determinação potenciométrica em FIA de iodeto em presença de cloreto, usando redes neurais*”. Karin Y. Chumbimuni-Torres, Eduardo O. Cerqueira, Ronei J. Poppi, Lauro T. Kubota, 2002.

XII Encontro Nacional de Química Analítica, Campinas-SP, “*Determinação simultânea de I^- e Cl^- usando eletrodo íon seletivo com calibração multivariada em sistema FIA*” Karin Y. Chumbimuni-Torres, Eduardo O. de Cerqueira, Ronei J. Poppi, Lauro T. Kubota, 2001.

24^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), Poços de Caldas – MG, “*Otimização da determinação potenciométrica de ácido ascórbico utilizando um eletrodo de matriz co-polimérica dopado com cobre-II*”. Vauter, D. Dias, Eduardo O. Cerqueira, Karin Y. Chumbimuni, Julio C. B. Fernandes, Ronei J. Poppi, Lauro T. Kubota, 28 a 31 de maio de 2001.

XII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica (SIBEE), Gramado-RS, “*Desenvolvimento de um eletrodo íon seletivo para cálcio e sua aplicação em FIA para análise de soro sanguíneo*”, Karin Y. Chumbimuni Torres, Julio C. B. Fernandes, Nelci F. Höehr, Lauro T. Kubota, 26 de abril de 2001.

VIII Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp, Campinas-SP, “*Determinação potenciométrica de ácido ascórbico em amostras de sucos utilizando-se eletrodo tubular dopado com cobre-II*” Valter D. Dias; Karin Y. Ch. Torres, Júlio C. B. Fernandes; L. T. Kubota; 19 e 20 de setembro de 2000.

23^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), Poços de Caldas – MG, “*Desenvolvimento de um eletrodo íon seletivo para determinação de iodeto por análise de injeção em fluxo*”, Karin Y. Ch. Torres; Carlos A. B. Garcia; Julio C. B. Fernandes; G. de Oliveira Neto; Lauro T. Kubota. Livro de Resumos QA-139, 2000.

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE ELETRODOS ÍON-SELETIVO: APLICAÇÃO EM SISTEMA DE DETECÇÃO SIMULTÂNEA EM FIA E ESTRATÉGIAS PARA A MELHORIA DO LIMITE DE DETECÇÃO

Autor: Karin Yanet Chumbimuni Torres

Orientador: Lauro Tatsuo Kubota

Palavras chave: ISEs, determinação simultânea em FIA, detecção nanomolar.

O presente trabalho de doutorado descreve o desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos para cálcio, potássio, sódio e cloreto em sistema de injeção em fluxo e sua aplicação para determinação simultânea em sucos de frutas, bem como o desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos de contato sólido com baixo limite de detecção.

A construção dos eletrodos íon-seletivos para os íons cálcio, potássio, sódio e cloreto foi primeiramente realizado em estado estacionário para logo ser incorporada em sistema de injeção em fluxo. A otimização de parâmetros comuns, tais como: pH, tampão, volume de injeção, vazão, entre outros, possibilitaram a realização da determinação simultânea, utilizando um arranjo de eletrodos em série. O sistema FIA potenciométrico proposto foi satisfatório para determinação simultânea destes íons em amostras de sucos,

e os resultados quando comparados com os obtidos pelo método de referência foram estatisticamente iguais num nível de confiança de 95%.

Em relação ao desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos com baixo limite de detecção, quatro eletrodos diferentes foram desenvolvidos para os íons prata, chumbo, cálcio e iodeto com excelente resposta nernstiana e limite de detecção na faixa nanomolar, que foram 2 nmol L^{-1} para Ag^+ , 1 nmol L^{-1} para Pb^{2+} , 4 nmol L^{-1} para Ca^{2+} e 10 nmol L^{-1} para I^- . Isto foi conseguido pelo uso do polímero condutor, poli(3-octiltiofeno) como interface entre o contato sólido e a membrana polimérica, o copolímero metilmetacrilato-decilmacrilato. Os eletrodos desenvolvidos mostraram resposta rápida e boa repetibilidade, sendo promissores para sua utilização em determinações em nível de traço.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF ION-SELECTIVE ELECTRODES: APPLICATION IN SIMULTANEOUS DETECTION SYSTEM IN FIA AND STRATEGIES FOR THE IMPROVEMENT OF THE DETECTION LIMIT

Author: Karin Yanet Chumbimuni Torres

Adviser: Lauro Tatsuo Kubota

Key words: ISEs, simultaneous determination in FIA, nanomolar detection.

The present work describes the development of ion-selective electrodes for calcium, potassium, sodium and chloride to be employed in flow injection analyses and its application for the simultaneous determination in samples, as well as, the development of solid contact ion-selective electrodes with detection limit in the nanomolar range.

The preparation of ion-selective electrodes for calcium, potassium, sodium and chloride was performed optimizing them in steady-state and then incorporated in simultaneous low injection analyses. The optimization of common parameters, such as: pH, buffer, injection volume, flow, etc., was performed looking for the simultaneous determination, using an array of electrodes in series. The proposed potentiometric FIA system was satisfactory for simultaneous determination of these ions in juice samples, and the results, when compared to the reference method, were statistically the same in the 95% of confidence level.

In relation to the development of solid contact ion-selective electrodes with low detection limit, four different electrodes were developed for silver, lead, calcium and iodide, with excellent nernstian response and detection limit in the nanomolar range. The obtained detection limits were 2 nmol L^{-1} for Ag^+ , 1 nmol L^{-1} for Pb^{2+} , 4 nmol L^{-1} for Ca^{2+} e 10 nmol L^{-1} for I^- . It was possible by using the conducting polymer, poly(3-octylthiophene) as an interface between the solid contact and polymeric membrane, methyl metacrylate decyl metacrylate copolymer. The electrodes presented short response time and good repetibility, being potentially useful for determination in trace levels.

ÍNDICE

Lista de Figuras	xxv
Lista de Tabelas	xxix
Abreviaturas, Siglas e Símbolos	xxxii
APRESENTAÇÃO	1
Apresentação da Tese	3
CAPITULO I	
I. Desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos para determinação simultânea em sistema FIA	7
I.1. INTRODUÇÃO	9
I.1.1. Eletrodos íon-seletivos	9
I.1.1.1. A membrana íon-seletiva	10
A. Ionóforos	11
B. Íons lipofílicos	12
C. Plastificantes	13
D. Matriz polimérica	13
I.1.1.2. Importância dos eletrodos íon-seletivos	14
I.1.1.3. Eletrodos íon-seletivos para cálcio	15
I.1.1.4. Eletrodos íon-seletivos para sódio	16
I.1.1.5. Eletrodos íon-seletivos para potássio	18
I.1.1.6. Eletrodos íon-seletivos para cloreto	19
I.1.2. Análise por injeção em fluxo	21
I.1.2.1. Determinação simultânea em FIA	22
I.1.2.2. Uso de arranjo de eletrodos	23
A. Tipos de arranjos para eletrodos íon-seletivos	23
I.1.3. Sucos de frutas industrializados	25
I.2. OBJETIVOS	27
I.3. PARTE EXPERIMENTAL	29
I.3.1. Reagentes e soluções	29
I.3.2. Aparelhagem	30
I.3.2.1. Estado estacionário	30
I.3.2.2. Sistema por injeção em fluxo (FIA)	30
I.3.3. Preparação das membranas	32
I.3.3.1. Membrana para cálcio	32
I.3.4. Estudos realizados em estado estacionário	34
I.3.4.1. Preparação dos eletrodos em estado estacionário	34
I.3.4.2. Otimização dos parâmetros em estado estacionário	35

	A. Estudo da influência do pH na resposta do eletrodo	35
	B. Estudo da influência do tampão na resposta do eletrodo	36
	C. Influência da concentração do tampão	36
	D. Avaliação da interferência analítica	36
I.3.5.	Estudos realizados no sistema FIA	37
	I.3.5.1. Preparação do eletrodo tubular	37
	I.3.5.2. Montagem do eletrodo tubular na cela de medida	38
	I.3.5.3. Otimização dos parâmetros em sistema FIA	39
	A. Volume	39
	B. Vazão	39
	C. Obtenção da curva analítica	39
	D. Estudo do tempo de vida do eletrodo tubular	40
I.3.6.	Estudo dos eletrodos em série para a análise simultânea	40
I.3.7.	Aplicação do sistema desenvolvido nas amostras de suco	40
I.4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
I.4.1.	Preparação das membranas	43
	I.4.1.1. Preparação da membrana para cálcio	43
I.4.2.	Otimização dos eletrodos em estado estacionário	44
	I.4.2.1. Otimização do ISE para cálcio	45
	A. Efeito do pH	45
	B. Efeito do tampão	46
	C. Efeito da concentração do tampão	48
	I.4.2.2. Resposta do eletrodo íon-seletivo para cálcio em estado estacionário	50
	I.4.2.3. Resposta do eletrodo íon-seletivo para potássio em estado estacionário	51
	I.4.2.4. Resposta do eletrodo íon-seletivo para sódio em estado estacionário	52
	I.4.2.5. Resposta do eletrodo íon-seletivo para cloreto em estado estacionário	54
I.4.3.	Estudo do tempo de vida dos eletrodos	56
I.4.4.	Avaliação da interferência analítica	56
I.4.5.	Otimização dos eletrodos no sistema FIA	61
	I.4.5.1. Otimização do eletrodo íon-seletivo para sódio	61
	A. Volume	61
	B. Vazão	61
	C. Obtenção da curva analítica	63
	I.4.5.2. Otimização do eletrodo íon-seletivo para cloreto	65
	A. Volume	65
	B. Vazão	66
	C. Desempenho do sensor em sistema FIA	67
I.4.6.	Tempo de vida dos eletrodos em FIA	71
I.4.7.	Determinação simultânea de cálcio, potássio e cloreto utilizando sistema FIA	73

I.4.7.1. Desempenho dos eletrodos no sistema simultâneo em FIA	74
I.4.7.2. Determinação simultânea de cálcio, potássio e cloreto em amostras de suco com o sistema FIA proposto	76
I.5. CONCLUSÕES	79
I.6. REFERÊNCIAS	81
CAPITULO II	
II. Desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos de contato sólido com baixo limite de detecção	85
II.1. INTRODUÇÃO	87
II.1.1. Limite de detecção	89
II.1.2. Mecanismos que influenciam o limite de detecção	90
II.1.2.1. Processo de co-extração	91
II.1.2.2. Processo de contra-difusão	92
II.1.3. Meios para melhorar os limites de detecção	95
II.1.4. Eletrodos de contato sólido	99
II.1.4.1. Eletrodos de contato sólido com baixo limite de detecção	100
II.1.5. Seletividade	103
II.1.5.1. Modificações nas condições experimentais	105
A. Uso de complexantes (tampão iônico) na amostra	105
B. Uso de membranas que são acondicionados com o íon interferente	106
II.1.5.2. Determinação do coeficiente de seletividade potenciométrica pelo método das soluções separadas modificado	106
II.2. OBJETIVOS	109
II.3. PARTE EXPERIMENTAL	111
II.3.1. Reagentes e soluções	111
II.3.2. Aparelhagem	112
II.3.3. Preparação das membranas	113
II.3.3.1. Preparação do copolímero MMA-DMA	115
II.3.4. Preparação dos eletrodos	117
II.3.5. Limpeza do material de medida	119
II.3.6. Protocolos de condicionamento	119
II.3.6.1. Protocolo de condicionamento para o ISE de prata	120
II.3.6.2. Protocolo de condicionamento para os demais eletrodos	120
II.3.7. Avaliação da existência de filme de água no eletrodo de prata	121
II.3.8. Avaliação da interferência analítica do eletrodo para prata	121

II.4.	RESULTADOS	123
II.4.1.	Preparação dos eletrodos utilizando PVC-DOS	123
II.4.2.	Preparação dos ISEs de contato sólido utilizando MMA-DMA	125
II.4.2.1.	Eletrodo íon-seletivo de contato sólido para prata	126
A.	Estudos de condicionamento do ISE para prata	126
B.	Efeito da agitação da solução na resposta do eletrodo	130
C.	Avaliação do desvio do potencial (“ <i>drifting</i> ”) no ISE para prata	131
D.	Avaliação da existência de camada de água entre a membrana e o contato sólido	132
E.	Avaliação do tempo de resposta do ISE de contato sólido para prata	134
F.	Avaliação da interferência analítica do ISE de contato sólido para prata	136
G.	Desempenho do ISE de contato sólido para íon prata	139
II.4.2.2.	Desempenho do ISE de contato sólido para íon cálcio	141
II.4.2.3.	Desempenho do ISE de contato sólido para íon chumbo	143
II.4.2.4.	Desempenho do ISE de contato sólido para iodeto	144
II.5.	CONCLUSÕES	149
II.6.	REFERÊNCIAS	151
CAPITULO III		
III.	Propostas para trabalhos futuros	157
APÊNDICE		
	Desenvolvimento de um eletrodo de contato líquido com baixo limite de detecção para íon prata	159
A.1.	OBJETIVO	161
A.2.	PARTE EXPERIMENTAL	161
A.2.1.	Reagentes	161
A.2.2.	Membrana	161
A.2.3.	Preparação da solução de preenchimento do ISE para prata	162
A.2.4.	Preparação do eletrodo	163
A.2.5.	Aparelhagem	165
A.3.	RESULTADOS	166
A.3.1.	Limite de detecção	166
A.3.2.	Caracterização da resina	166
A.3.2.1.	Calculo da capacidade da resina	166

A.3.2.2.	Cálculo da seletividade da resina	168
A.3.3.	Otimização da solução de preenchimento do ISE	171
A.3.4.	Avaliação da interferência analítica do eletrodo desenvolvido	173

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO I

Figura 1.1.	Representação esquemática dos componentes da membrana polimérica I^+ : íon primário, A^- : contra-íon, L: ionóforo e IL^+ : ionóforo complexado com o íon primário dentro da membrana, R_T : íon lipofílico.	10
Figura 1.2.	Ionóforos neutros para cálcio. 1. <i>N,N,N',N'</i> -tetraisopropil-3-oxapentanodiamida. 2. <i>N,N,N',N'</i> -tetraciclohexil-3-oxapentanodiamida. 3. <i>N,N,N',N'</i> -tetrafenil-3-oxapentanodiamida. 4. <i>N,N,N',N'</i> -tetrapropil-furano-3-dicarboxamida.	16
Figura 1.3.	Monensina.	17
Figura 1.4.	Éster decil monensina.	17
Figura 1.5.	Valinomicina.	19
Figura 1.6.	ETH 9009	21
Figura 1.7.	ETH 9033	21
Figura 1.8.	(C) Solução carregadora (tampão), (A) Solução amostra, (BP) Bomba peristáltica, (VI) Válvula de injeção manual, (ETIS) Eletrodos tubular íon-seletivos, (ER) Eletrodo de referência Ag/AgCl, $LiNO_3$ ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$), (P) Potenciômetro, (M) Microcomputador, (D) Descarte.	31
Figura 1.9.	Diagrama do procedimento seguido na preparação da membrana para cálcio.	32
Figura 1.10.	Esquema do eletrodo utilizado em estado estacionário.	35
Figura 1.11.	Preparação da membrana sobre o eletrodo.	35
Figura 1.12.	Vista frontal do eletrodo tubular.	38
Figura 1.13.	Vista em perspectiva do eletrodo tubular com o suporte condutor incluído.	38
Figura 1.14.	Cela de acrílico para suporte do eletrodo.	38
Figura 1.15.	Esquema da disposição dos eletrodos colocados em série.	38
Figura 1.16.	Resposta do eletrodo sem ânion lipofílico.	43
Figura 1.17.	Resposta do eletrodo com ânion lipofílico.	43
Figura 1.18.	Diagrama de Reilley para o eletrodo íon-seletivo para Cálcio. (A) $[Ca^{2+}] = 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, (B) $[Ca^{2+}] = 1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.	46
Figura 1.19.	Efeito do tampão na resposta do eletrodo íon-seletivo para cálcio numa concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0.	47
Figura 1.20.	Efeito da concentração do tampão na resposta do eletrodo íon-seletivo para cálcio. Concentrações estudadas do tampão: 0,01; 0,1 e $0,2 \text{ mol L}^{-1}$.	48
Figura 1.21.	Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para cálcio em estado estacionário, em tampão TRIS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0. Temperatura ambiente = $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$.	50

Figura 1.22.	Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para potássio em estado estacionário, em tampão TRIS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0. Temperatura ambiente = (25±2)°C	52
Figura 1.23.	Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para sódio em estado estacionário, em tampão TRIS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0. Temperatura ambiente = (25±2)°C.	53
Figura 1.24.	Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para cloreto em estado estacionário, em tampão TRIS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0. Temperatura ambiente = (25±2)°C.	54
Figura 1.25.	Avaliação da interferência analítica do íon sódio (A) e potássio (B) no eletrodo íon-seletivo para cálcio, em tampão TRIS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0. Temperatura ambiente = (25±2)°C.	59
Figura 1.26.	Avaliação da interferência analítica do íon cálcio (A) e sódio (B) no eletrodo íon-seletivo para potássio, em tampão TRIS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0. Temperatura ambiente = (25±2)°C.	60
Figura 1.27.	Avaliação da interferência analítica do íon cálcio (A) e potássio (B) no eletrodo íon-seletivo para sódio, em tampão TRIS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0. Temperatura ambiente = (25±2)°C.	60
Figura 1.28.	Curvas mostrando a resposta do eletrodo em função de (A) volume injetado numa vazão de 2,5 mL min ⁻¹ e (B) da vazão para um volume injetado de 125 µL. Para uma concentração de sódio de 1,0 10 ⁻³ mol L ⁻¹ .	62
Figura 1.29.	Diagrama obtido para sódio na faixa de 5,0 10 ⁻⁵ a 1,0 10 ⁻¹ mol L ⁻¹ , em TRIS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0. Vazão de 2,5 mL min ⁻¹ , volume injetado 125 µL.	64
Figura 1.30.	Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para sódio, em tampão TRIS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0. Vazão de 2,5 mL min ⁻¹ e volume injetado de 125 µL.	65
Figura 1.31.	Curva mostrando a resposta do eletrodo em função do volume injetado numa vazão de 2,5 mL min ⁻¹ . Para uma concentração de cloreto de 1,0 10 ⁻³ mol L ⁻¹ .	66
Figura 1.32.	Curva mostrando a resposta do eletrodo em função da vazão para o eletrodo sensível a cloreto, com um volume injetado de 125 µL. Para uma concentração de cloreto de 1,0 10 ⁻³ mol L ⁻¹ .	67
Figura 1.33.	Diagrama das injeções de cloreto obtidas numa faixa de 2,0 10 ⁻⁵ a 1,0 10 ⁻¹ mol L ⁻¹ e injeções de uma concentração fixa de 1,0 10 ⁻³ mol L ⁻¹ para cálculo da repetibilidade em tampão TRIS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0. Vazão = 2,5 mL min ⁻¹ e volume injetado 125 µL.	68
Figura 1.34.	Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para cloreto em tampão TRIS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0. Vazão = 2,5 mL min ⁻¹ e volume injetado 125 µL.	69
Figura 1.35.	Sensibilidade do eletrodo íon-seletivo para sódio em função do tempo.	72
Figura 1.36.	Sensibilidade do eletrodo íon-seletivo para cloreto em função do tempo.	72

Figura 1.37.	Sensibilidade dos eletrodos íon-seletivo para potássio (A) e cálcio (B) em função do tempo.	72
Figura 1.38.	Fiagramas obtidos com o sistema FIA potenciométrico proposto utilizando o arranjo de eletrodos, assim como os sinais para as cinco diferentes amostras analisadas. Volume de injeção = 125 μL , vazão = 2,5 mL min^{-1} . Tampão TRIS 0,1 mol L^{-1} , pH 7,0. Amostras 1-5. Temperatura ambiente = $(25\pm 2)^\circ\text{C}$.	77

CAPITULO II

Figura 2.1.	Limite de detecção de um eletrodo íon-seletivo segundo as recomendações da IUPAC.	90
Figura 2.2.	Esquema representativo da difusão e contra-difusão dos íons nas interfaces membrana/solução.	92
Figura 2.3.	Representações dos mecanismos que influenciam no limite de detecção dos ISEs. (A) Co-extração, (B) e (C) Contra-difusão. $[\text{IL}^+]$ e $[\text{JL}^+]$: concentrações na membrana do ionóforo com o íon primário e o interferente. R_T e $[\text{A}^-]$: concentrações na membrana do íon lipofílico e o contra-íon do íon primário. d_{aq} e d_{m} : espessuras da camada de difusão das fases aquosa e orgânica. $a_i(\text{bulk})$ e $a_j(\text{bulk})$: atividades do íon primário e do interferente no <i>bulk</i> da solução. $a_i(\text{if})$ e $a_j(\text{if})$: atividades do íon primário e do interferente na interface membrana/amostra. a'_i e a'_j : atividades do íon primário e do interferente na solução interna.	94
Figura 2.4.	<i>Sputter Coating</i> utilizado para recobrir as pontas de cobre (A). Compartimento para o recobrimento (B).	112
Figura 2.5.	Diagrama do procedimento empregado na preparação da membrana para o ISE de contato sólido para prata com PVC-DOS.	114
Figura 2.6.	Diagrama do procedimento seguido na preparação das membranas para os ISEs de contato sólido com MMA-DMA.	115
Figura 2.7.	Diagrama da síntese do copolímero MMA-DMA.	117
Figura 2.8.	Construção dos eletrodos íon-seletivos de contato sólido.	119
Figura 2.9.	Eletrodo íon-seletivo de contato sólido para prata utilizando poli(3-octiltiofeno) como interface e PVC-DOS como matriz suporte.	124
Figura 2.10.	Comportamento do eletrodo íon-seletivo para prata em diferentes protocolos de condicionamento. (1) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AgNO_3 e 2 dias em 1,0 nmol L^{-1} de AgNO_3 . (2) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AgNO_3 e 2 dias em 1,0 nmol L^{-1} de AgNO_3 . (1) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em 1 mmol L^{-1} de AgNO_3 e 2 dias em 1,0 nmol L^{-1} de AgNO_3 .	127

Figura 2.11.	Dependência da solução de condicionamento na resposta do eletrodo para prata em $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 . (A) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em 1 mmol L^{-1} de NaNO_3 . (B) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em 1 mmol L^{-1} de AgNO_3 . (C) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em 1 mmol L^{-1} de AgNO_3 e 1 dia em $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$ de AgNO_3 . (D) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em 1 mmol L^{-1} de AgNO_3 e 2 dias em $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$ de AgNO_3 .	129
Figura 2.12.	Efeito da agitação da solução na resposta do eletrodo, com agitação (A) e sem agitação (B). Em NaNO_3 , para dois eletrodos.	131
Figura 2.13.	Resposta do ISE-Ag (A) sem poli(3-octiltiofeno) e (B) com poli(3-octiltiofeno).	132
Figura 2.14.	Teste para verificar a presença de camada de água no eletrodo íon-seletivo de contato sólido para prata baseado em matriz suporte de MMA-DMA.	134
Figura 2.15.	Tempo de resposta para o eletrodo íon-seletivo de contato sólido para prata. Em NaNO_3 .	135
Figura 2.16.	Tempo de resposta para o eletrodo íon-seletivo de contato líquido a base de PVC para prata. Em NaNO_3 .	136
Figura 2.17.	Resposta do eletrodo íon-seletivo para prata no estudo de seletividade para 3 diferentes eletrodos.	138
Figura 2.18.	Resposta do eletrodo íon-seletivo de contato sólido para íon prata em função do tempo.	140
Figura 2.19.	Curva analítica obtida com o eletrodo íon-seletivo de contato sólido para prata, medidas realizadas em NaNO_3 $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.	140
Figura 2.20.	Curva analítica obtida com o eletrodo íon-seletivo de contato sólido para cálcio.	142
Figura 2.21.	Curva analítica obtida com o eletrodo íon-seletivo de contato sólido para chumbo, medidas realizadas em HNO_3 $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.	143
Figura 2.22.	Curva analítica obtida com o eletrodo íon-seletivo de contato sólido para iodeto, medidas realizadas em H_3PO_4 $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.	145
Figura 2.23.	Curva de resposta em função do tempo do eletrodo íon-seletivo de contato sólido para iodeto numa solução de H_3PO_4 $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.	146

APÊNDICE

Figura A.1.	Desenho do esquema do eletrodo de contato líquido.	164
Figura A.2.	Disposição do eletrodo para condicionamento da membrana em alta concentração de íon prata (A) e em baixa concentração do íon prata (B).	165
Figura A.3.	Curva de calibração do ISE-B, utilizado para medir a concentração do íon prata na resina.	169
Figura A.4.	Respostas obtidas para o ISE-A para as três diferentes soluções de preenchimento: SP1 = $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 , SP2 = $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 e $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 , SP3 = $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 e $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 .	171

- Figura A.5. Curva de calibração e limite de detecção para o ISE-A com solução 173
de preenchimento (SP2).
- Figura A.6. Seletividade do eletrodo desenvolvido utilizando o método das 174
soluções separadas modificado.

LISTA DE TABELAS

CAPITULO I

Tabela 1.1.	Composições das membranas poliméricas para os íons cálcio, potássio, sódio e cloreto. Utilizando cloreto de polivinila como suporte matriz numa proporção de 32,5%.	33
Tabela 1.2.	Parâmetros otimizados em estado estacionário para os eletrodos sensíveis a cálcio, potássio, sódio e cloreto.	49
Tabela 1.3.	Parâmetros analíticos em estado estacionário para os eletrodos sensíveis a cálcio, potássio sódio e cloreto.	55
Tabela 1.4.	Valores de $K_{A,B}^{POT}$ para os eletrodos de cálcio, potássio, sódio e cloreto, calculados pelo método dos potenciais equivalentes.	58
Tabela 1.5.	Parâmetros analíticos no sistema FIA para os eletrodos tubulares sensíveis a cálcio, potássio, sódio e cloreto.	70
Tabela 1.6.	Parâmetros otimizados para determinação simultânea dos íons cálcio, potássio e cloreto com os eletrodos tubulares íon-seletivo.	74
Tabela 1.7.	Resultados obtidos para determinação simultânea de cálcio, potássio e cloreto em amostras de sucos utilizando sistema FIA e o respectivo método de referência.	78

CAPITULO II

Tabela 2.1.	Eletrodos íon-seletivos desenvolvidos com baixo limite de detecção.	98
Tabela 2.2.	Coefficientes de seletividade potenciométrica do ISE de contato sólido para íon prata.	139

APÊNDICE

Tabela A.1.	Valores calculados da capacidade da resina para três amostras diferentes.	167
Tabela A.2.	Valores medidos e calculados utilizando a equação 2, com objetivo de obter a seletividade da resina.	170
Tabela A.3.	Coefficientes de seletividade potenciométrica calculados para o ISE para íon prata utilizando matriz de PVC-DOS.	175

Abreviaturas, Siglas e Símbolos

a	atividade
A^-	contra-íon
AIBN	2,2'-azo- <i>bis</i> (isobutironitrilo)
c	concentração
d_{aq}	espessura da camada aquosa
d_m	espessura de membrana
DOS	bis(2-etilhexil) sebacate
E	potencial
EDTA	ácido etilenodiaminotetracético
EPA	agencia de proteção ambiental, do inglês environmental protection agency
EVA	poli(etileno co-acetato de vinila) de inglês poly(ethylene-co-vinyl acetate)
F	constante de Faraday
F	fração molar do componente
FEM	força eletromotriz
FIA	análise por injeção em fluxo, do inglês flow injection analysis
HEPES	<i>N</i> -(2-hidroxietil)piperazina- <i>N'</i> -(ácido 2 etanossulfônico)
I^+	íon primário
if	interface
IL^+	ionóforo complexado com o íon primário
ISE(s)	eletrodo(s) íon-seletivo, do inglês ion-selective electrode(s)
J^+	íon interferente
JL^+	ionóforo complexado com o íon interferente
$K_{A,B}^{POT}$	coeficiente de seletividade potenciométrica
L	ionóforo
LD	limite de detecção
MMA-DMA	metilmetacrilato-decilmetacrilato

MIF	método do interferente fixo
MPE	Método dos potenciais equivalente
MSS	método das soluções separadas
NTA	ácido nitro-triacético
<i>o</i> -NPOE	<i>o</i> -nitrofeniloctiléter do inglês <i>o</i> -nitro phenyl octyl ether
P _c	lipofilicidade
PIPES	ácido piperazina-N,N'-bis(ácido 2 etanosulfônico)
POT	poli(3-octiltiofeno)
PVC	cloro de polivinila, do inglês poly(vinyl chloride)
R	constante dos gases
R _T	íon lipofílico
T	temperatura absoluta
T _g	temperatura de transição vítrea
THF	tetrahidrofurano
TRIS	tris(hidroximetil)amino metano
z	carga do íon

TESE DE DOUTORADO

APRESENTAÇÃO



APRESENTAÇÃO DA TESE

Os eletrodos íon-seletivos (ISEs) têm uma história relativamente longa. Desde o primeiro eletrodo desenvolvido para o íon hidrogênio, há quase cem anos, um grande número de eletrodos foram desenvolvidos para muitos analitos. Através dos anos estes eletrodos passaram por uma série de modificações e melhorias, na procura de estabilidade, robustez, reprodutibilidade e eficiência tanto nas suas medidas como nas suas construções. E isto foi motivo de muitas pesquisas.

Os eletrodos íon-seletivos são talvez os dispositivos mais usados em qualquer laboratório de análise ou pesquisa, pois é uma ferramenta fundamental nas medidas de pH, por exemplo. A importância destes eletrodos para análise é também muito conhecida, principalmente por estes determinarem as espécies em suas formas iônicas, livres ou não-complexadas, tornando-a uma das poucas técnicas com este alcance. A importância de determinar substâncias na sua forma iônica, reside no fato em que são elas geralmente as espécies biologicamente ativas no nosso organismo, assim como em processos industriais. Assim, esta técnica aliada a outras pode dar um reflexo total do estado da matéria nos mais diversos sistemas.

A aplicação dos eletrodos íon-seletivos foi por muitos anos focada na área clínica, para o qual existem inúmeros métodos reportados. A sua aplicação na área alimentícia e ambiental foi restrita principalmente devido a problemas de efeito de matriz e insuficientes limites de detecção.

As análises na área alimentícia requerem metodologias rápidas e simples, pois muitas delas são feitas em processos em linha. Um alcance

para isto são as análises em sistemas simultâneos que permitam diminuir o tempo das análises. Assim, sistemas que usam arranjo de eletrodos aliados a sistemas FIA são requeridos os quais se tornam uma boa opção para satisfazer esta necessidade.

Embora os eletrodos íon-seletivos tenham uma história de mais de 100 anos, eles não foram utilizados para análises na área ambiental, devido principalmente a seu pobre limite de detecção, comumente na faixa de micromolar, o qual desmotivou grandemente as pesquisas no desenvolvimento dos ISEs. No entanto, há poucos anos isto vem sendo superado e eletrodos de contato líquido com limite de detecção na faixa nanomolar já podem ser encontrados na literatura. Isto fez redespertar a pesquisa no desenvolvimento desta classe de eletrodos potenciométricos e tem proporcionado importantes melhorias nos últimos anos.

Com base neste panorama, este trabalho descreve o desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos tubulares para determinação simultânea em sistema em fluxo e sua aplicação para análises de cálcio, potássio e cloreto em amostras de sucos industrializados. Assim também, o desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos de contato sólido com limite de detecção em nível de nanomolar.

Para facilitar o entendimento da pesquisa aqui realizada o trabalho foi dividido em duas partes, de forma que o Capítulo I, apresenta uma revisão dos eletrodos íon-seletivos existentes para os analitos em questão, assim como as vantagens de se usar o sistema de injeção em fluxo (FIA) com o uso de arranjo de eletrodos. Neste capítulo, também são apresentados os resultados obtidos na construção de cada um dos eletrodos em estado estacionário como em sistema de fluxo contínuo. Diferentes parâmetros, tais

como: pH, tampão, concentração do tampão, fluxo, volume de injeção foram otimizados. O sistema proposto também foi aplicado para a determinação dos analitos em amostras de sucos industrializadas e a sua viabilidade para análises em fluxo foi mostrada.

No capítulo II apresenta-se uma revisão dos parâmetros exigidos na obtenção de baixos limites de detecção e dos avanços obtidos até agora. Este capítulo também apresenta os resultados obtidos no desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos de contato sólido com baixo limite de detecção bem como resultados dos estudos referentes ao protocolo de condicionamento, avaliação da ausência da camada de água, variação do potencial do eletrodo, efeito da agitação da solução obtidos pelo eletrodo íon-seletivo para prata são apresentados. Finalmente, estudos da seletividade deste eletrodo e os resultados obtidos para outros eletrodos, entre eles, cálcio, chumbo e iodeto também são apresentados.

**DESENVOLVIMENTO DE
ELETRODOS ÍON-SELETIVOS PARA
DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA EM
SISTEMA FIA**

CAPITULO I



I.1. INTRODUÇÃO

I.1.1. Eletrodos íon-seletivos

Eletrodos íon-seletivos (ISEs), são sensores eletroquímicos que monitoram atividades iônicas em solução [1]. Isto é, um ISE converte a atividade iônica de uma espécie em solução em um sinal de potencial elétrico, o qual pode ser medido com um potenciômetro, onde a diferença de potencial, em relação a um eletrodo de referência, é dependente do logaritmo da atividade iônica segundo a equação de Nernst [2, 3].

$$E = E^\circ + \frac{RT}{zF} \ln a_I$$

sendo R , F e T a constante universal dos gases ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), constante de Faraday ($96485,31 \text{ C mol}^{-1}$) e a temperatura absoluta em graus Kelvin, respectivamente, e a_I a atividade da espécie iônica. Vale ressaltar, que apesar da Eq. de Nernst estabelecer uma relação entre o potencial desenvolvido no eletrodo e a atividade do íon em solução, usualmente nos cálculos são utilizados as concentrações das soluções. Isto é possível através de um artifício experimental, onde a força iônica das soluções medidas é mantida constante.

A parte sensível e mais importante de um eletrodo íon-seletivo é a membrana íon-seletiva. Esta é a componente chave, pois estabelece a preferência do sensor pelo analito de interesse na presença de vários outros íons, que são chamados de interferentes.

Da condição que os íons podem penetrar a fronteira entre duas fases, e alcançar o equilíbrio eletroquímico, podemos estabelecer que se apenas um

tipo de íon é trocado entre as duas fases, a diferença de potencial formado é então unicamente governada pela atividade deste íon.

Os ISEs de membrana polimérica são os mais amplamente estudados e pesquisados, motivo pelo qual serão apresentados aqui. Os mais importantes nesta classe de ISEs são aqueles baseados em ionóforos.

I.1.1.1. A membrana íon-seletiva

A membrana íon-seletiva é a parte mais importante no desenvolvimento dos ISEs, e os componentes chaves da membrana são o ionóforo e o íon lipofílico, o primeiro assegura a seletividade para o íon alvo e o segundo se encarrega do funcionamento do ISE (Figura 1.1).

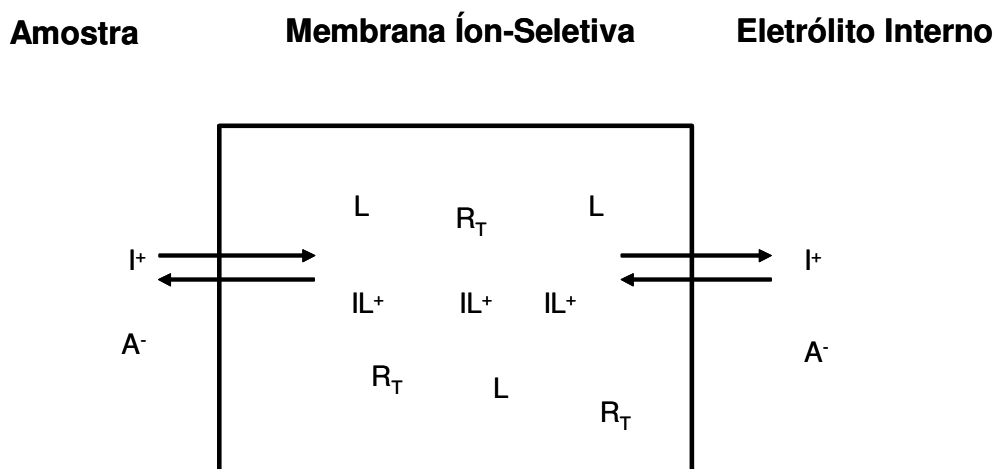


Figura 1.1. Representação esquemática dos componentes da membrana polimérica. I^+ : íon primário, A^- : contra-íon, L : ionóforo, e IL^+ : complexo formado pelo ionóforo e o íon primário, R_T : íon lipofílico.

A. Ionóforos

O ionóforo é o componente mais importante da membrana íon-seletiva, pois liga-se seletivamente ao íon primário, discriminando-o dos íons interferentes. Esta seletividade vem da forte complexação com o íon primário, e da deficiente ou mínima complexação com os íons interferentes [4,5].

O ionóforo utilizado no desenvolvimento da membrana polimérica pode ser carregado ou neutro. Os eletrodos íon-seletivos para cátions geralmente usam ionóforos neutros, os quais usualmente contêm anéis macrocíclicos de heteroátomos ou grupos funcionais que são capazes de complexar o íon primário, onde a cavidade do anel serve para excluir os íons interferentes, baseado nos diferentes raios iônicos, por exemplo, a valinomicina seletiva a íons potássio [6].

Embora exista atualmente um grande número de ligantes descritos para cátions, a quantidade de ionóforos existentes para ânions é menor. Os ionóforos existentes para ânions mais comuns são os compostos organometálicos que se ligam com o ânion de interesse através de uma ligação de coordenação [6].

Em geral, há vários fatores que determinam a possibilidade de empregar um composto como ionóforo. Entre os mais importantes estão: a força da interação ionóforo-íon e a lipofilicidade. A força da interação do ionóforo-íon talvez seja a mais importante e é determinada pela constante de formação do complexo, por exemplo, uma constante de formação na faixa de 10^4 a 10^9 é necessária para um complexo com estequiometria de 1:1. A lipofilicidade (P_c) do ionóforo é também importante e pode ser determinada

pela medida da distribuição do equilíbrio por cromatografia de camada delgada [7, 8].

A lixiviação do ionóforo da matriz polimérica é determinada pela sua lipofilicidade e pode influenciar substancialmente no tempo de vida da membrana seletiva. Geralmente, quando o ionóforo é mais lipofílico o tempo de vida do ISE é mais prolongado. Em aplicações práticas um ISE com um tempo de vida no mínimo de um mês em análises clínicas requer uma lipofilicidade ($\log P_o$) de 11,3 ou maior para uma membrana com espessura média de 200 μm [6].

B. Íons lipofílicos

Eletrodos íon-seletivos de membrana polimérica que não possuem íons lipofílicos não trabalham apropriadamente como um ISE [6]. Um pré-requisito para um ISE fornecer resposta nernstiana é que nenhuma quantidade de íons com carga oposta ao íon primário sejam extraídos da solução para a membrana [6]. Isto significa que a membrana deve ser permeável somente a íons com a mesma carga que o íon primário. Esta característica da membrana é chamada de permeabilidade seletiva ou também conhecida como exclusão de Donan [9, 10], e refere-se à repulsão eletrostática de íons carregados com carga diferente ao íon primário. A presença na membrana de íons lipofílicos garante a exclusão de íons com carga oposta ao íon primário. Assim, como a operação do ISE mantendo a concentração do íon primário constante na membrana.

Conseqüentemente é bem estabelecido que o uso de íons lipofílicos tais como: os sais de amônio quaternário para ânions e os derivados de

tetrafenilborato para cátions na preparação das membranas seletivas são necessários.

Por outro lado, membranas que prescindem do uso de íons lipofílicos, muitas vezes podem apresentar respostas sub-nernstianas com inclinações que muitas vezes alcançam a metade do valor esperado [11]. Entretanto, outros sistemas poderiam mostrar respostas super-nernstianas, que muitas vezes atingem duas vezes a inclinação esperada [12]. Todos estes estudos recentes claramente enfatizam que apenas o ionóforo não determina totalmente o comportamento potenciométrico do eletrodo íon-seletivo.

C. Plastificantes

Os plastificantes são importantes porque reduzem a temperatura de transição vítrea do polímero, proporcionam homogeneidade e asseguram uma relativa mobilidade dos íons na membrana, desta forma, eles devem ser compatíveis com todos os componentes da membrana.

Os plastificantes usualmente empregados são o *bis*(2-etilhexil) sebacato (DOS) o qual é apolar e o *o*-nitrofeniloctiléter (*o*-NPOE) o qual é polar [13]. Dependendo da sua polaridade e lipofilicidade, os plastificantes podem influenciar na seletividade e resposta dos eletrodos íon-seletivos [14].

D. Matriz polimérica

A matriz polimérica fornece estabilidade mecânica à membrana. Esta deve ser inerte e não deve apresentar interação química com o analito. ISEs de membrana polimérica geralmente empregam o cloreto de polivinila (PVC) como matriz.

Embora PVC seja o mais empregado como suporte de matriz polimérica durante muito tempo na preparação dos ISEs, ultimamente vêm sendo utilizados diferentes copolímeros, os quais têm melhorado o desempenho e prolongado o tempo de vida dos ISEs. Estes copolímeros tais como: metilmetacrilato-decilmetacrilato (MMA-DMA) e o poli(etileno co-acetato de vinila) (EVA), prescindem do uso de plastificantes e apresentam temperaturas de transição vítrea (T_g) menor em relação ao PVC [15].

I.1.1.2. Importância dos eletrodos íon-seletivos

O desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos para determinação de íons se faz necessária e importante, pois, é conhecido que a concentração destes íons na sua forma livre são parâmetros mais importantes que as concentrações totais, uma vez que estes são biologicamente ativos e têm funções chaves no organismo, como por exemplo, na regulação de hormônios, onde a concentração do cálcio livre pode estimular ou inibir a atividade de muitas enzimas como a adenilato ciclase [16], por exemplo. Assim, muitas vezes a quantidade do analito na sua forma livre ou não complexada, poderá estar em ordens de magnitude bem menores do que a concentração do analito total, devido à presença de complexantes.

Assim também os ISEs apresentam vantagens sobre outras técnicas de análises, no que diz respeito a: determinar espécies iônicas, não afetar a solução em análise, realizar determinações diretas e rápidas e não requerer equipamentos dispendiosos ou operadores altamente treinados.

I.1.1.3. Eletrodos íon-seletivos para cálcio

Desde o primeiro eletrodo para cálcio desenvolvido por Luther em 1898 [17] sem muito sucesso, uma série de outros eletrodos foram relatados na literatura. Estes ISEs apresentavam, em geral, problemas muito graves, sobretudo em relação à baixa seletividade e repetibilidade nas respostas. Assim, diversas tentativas foram realizadas até aparecer o primeiro eletrodo íon-seletivo para cálcio, baseado no trocador iônico organofosfato desenvolvido por Ross em 1967 [18]. No entanto, este eletrodo apresentava problemas de interferência na presença de íons hidrônio. Assim, surgiram eletrodos para cálcio a base de carregadores neutros (ionóforos), nos quais o pH não tinha uma influência significativa.

Existe uma variedade de ionóforos neutros para cálcio como mostrados na Figura 1.2, que oferecem grande seletividade discriminando cátions interferentes, como magnésio [19], por exemplo. De acordo com a literatura, o *N,N,N',N'*-tetraciclohexil-3-oxapentanodiamida apresenta maior preferência pelo íon cálcio [19].

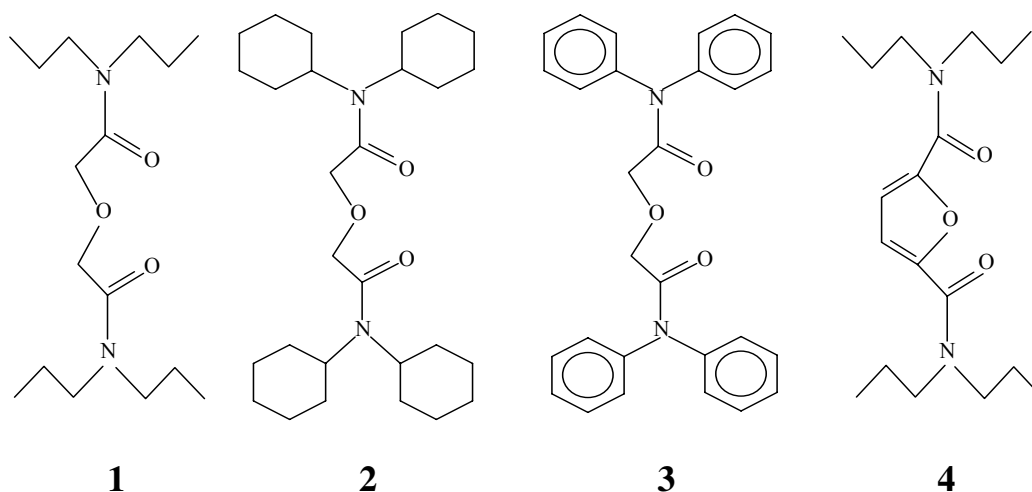


Figura 1.2. Ionóforos neutros para cálcio. 1. *N,N,N',N'*-tetraisopropil-3-oxapentanediamida. 2. *N,N,N',N'*-tetraciclohexil-3-oxapentanediamida. 3. *N,N,N',N'*-tetrafenil-3-oxapentanediamida. 4. *N,N,N',N'*-tetrapropil-furano-3-dicarboxamida.

I.1.1.4. Eletrodos íon-seletivos para sódio

Diferentes compostos vêm sendo usados como materiais sensíveis a sódio [20, 21] na obtenção de eletrodos íon-seletivos. Entre o mais usado encontra-se o composto monensina produzidos pelos fungos *streptomyces cinnamensis* [22, 23]. No entanto, este ISE apresenta desvantagens como interferência de íons hidrogênio, devido à presença de um grupo carboxílico na estrutura da monensina, o qual se carrega negativamente após desprotonação. Além desta interferência, estes eletrodos também sofrem interferência de cátions divalentes tais como o Ba^{2+} [24].

Alguns pesquisadores tentaram solucionar este problema, realizando a metilesterificação dos grupos carboxílicos da monensina natural. Assim, podemos encontrar o trabalho descrito por Tohda *et al.* [25], onde eletrodos

íon-seletivos para sódio utilizando diferentes classes de monensina esterificada são apresentados. Estes eletrodos apresentaram boa sensibilidade e seletividade para sódio, e menor interferência do íon hidrogênio e de compostos divalentes.

Nas Figuras 1.3 e 1.4 são apresentadas as estruturas da monensina e da monensina esterificada.

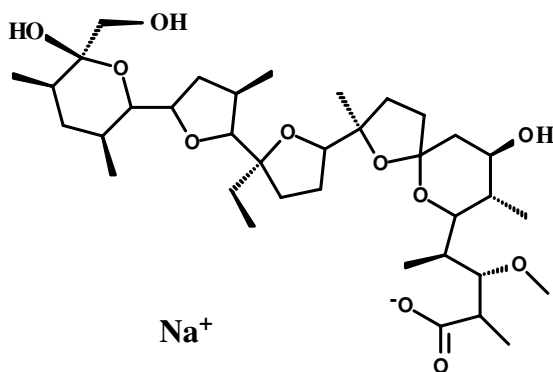


Figura 1.3. Monensina

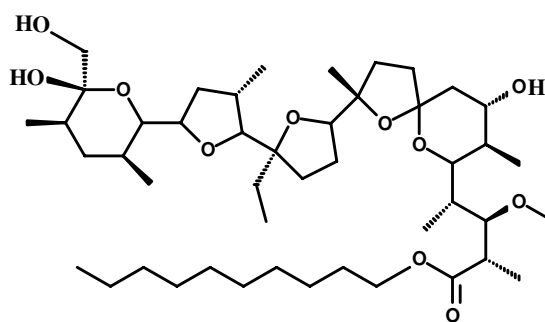


Figura 1.4. Éster decil monensina

Entre outros ISEs desenvolvidos para sódio podemos encontrar aqueles que utilizam ionóforos éter coroa, onde a relação entre o íon de interesse e a cavidade do éter coroa estabelece a seletividade do eletrodo. Assim, um ISE baseado no ionóforo alquil *sim-R*-dibenzeno-16-coroa-5-oxiacetato suportado numa matriz de cloreto de polivinila foi reportado por Ohki *et al.* [20].

Outros ISEs sensíveis para sódio são aqueles que utilizam os ionóforos calixarenos. Um exemplo é o ISE baseado no ionóforo tetra-etil éster *p*-ter-butilcalix(4)areno suportado em matriz de cloreto de polivinila [26]. Este eletrodo foi construído utilizando uma superfície de disco de

platina onde o ionóforo foi colocado, apresentando boa sensibilidade, mas pouca seletividade e estabilidade.

I.1.1.5. Eletrodos íon-seletivos para potássio

O principal interesse para determinar potássio vem de sua importância clínica, já que mudanças nas concentrações de potássio originam uma série de doenças relacionadas com o coração, como arritmia cardíaca aguda [27], por exemplo. A maioria dos ionóforos para potássio podem ser classificados em três grupos: antibióticos, mono e di-éteres coroa.

Dentre esses grupos o mais importante é dos antibióticos, onde o mais utilizado é a valinomicina (Figura 1.5), a qual apresenta uma grande seletividade pelo íon potássio. A valinomicina foi conhecida como um dos primeiros ionóforos na construção de ISEs para o íon K^+ , e exibe efeitos quelantes e macrocíclicos. A valinomicina é um antibiótico proveniente de culturas de *streptomyces fulvissimus*, e apresenta uma constante de formação com o íon potássio bastante alta de $2,0 \cdot 10^6$ numa estequiometria de 1:1 [28].

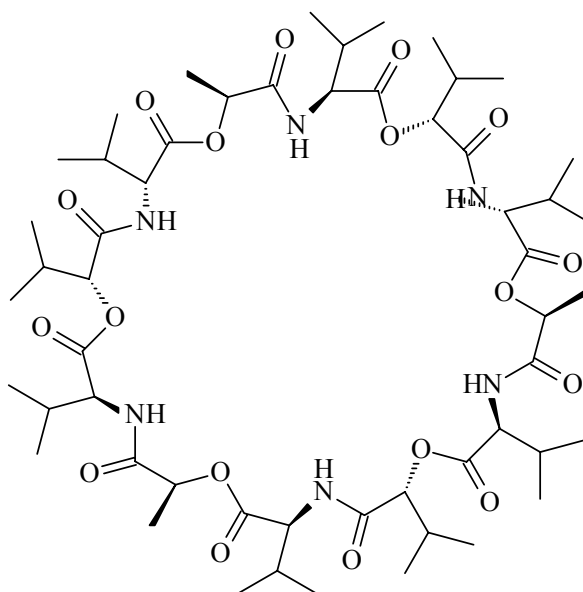


Figura 1.5. Valinomicina

I.1.1.6. Eletrodos íon-seletivos para cloreto

Em contraste à grande variedade de compostos conhecidos como substâncias sensíveis para cátions, existem poucos compostos que complexam ânions reversivelmente e que tenham sido empregados como ionóforos em membranas poliméricas para determinação de ânions.

As principais interações dos compostos sensíveis a ânions em membranas poliméricas podem ser divididas em quatro tipos [29]:

(A) *Interações coulômbicas*: os compostos com estas características são os ânions trocadores clássicos [30], compostos contendo nitrogênio quaternário [31, 32] e derivados de guanina [33].

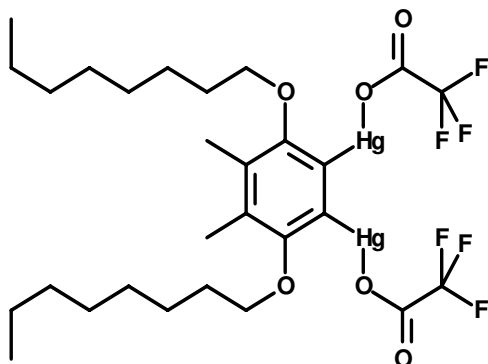
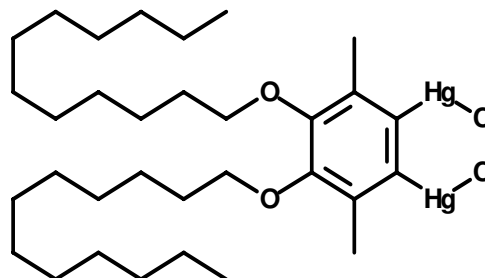
(B) *Ligante trocador*: observado em complexos metaloporfíricos e derivados, os quais têm sido usados em eletrodos seletivos para nitrito [34].

(C) *Ligação covalente*: dentre os compostos com estas características, podemos encontrar as trifluoroacetofenonas, as quais formam ligações covalentes com carbonato [35].

(D) *Interações entre ácidos e bases de Lewis*: Diferentes eletrodos íon-seletivos a base de ácidos de Lewis foram descritos na literatura contendo boro [36], silício [36], estanho [37] ou mercúrio [38].

No que diz respeito aos ISEs sensíveis ao íon cloreto, podemos encontrar aqueles baseados em sais de cloreto de cobre com a seguinte fórmula química, $\text{Cu}^I(\text{Cl})\text{L}$ onde L=N,N-di-ter-butil-tiouréia [39], no entanto este eletrodo sofre grande interferência do íon tiocianato.

Recentemente, têm sido descritos na literatura ISEs sensíveis a cloreto, preparados a base de ácidos de Lewis com estruturas cíclicas e não cíclicas com duas ou mais ligações covalentes de átomos de mercúrio [40-42]. Entre eles podemos citar o 4,5-dimetil-3,6-*bis*(octiloxi-*o*-fenileno) *bis*(mercúrio trifluoroacetato (ETH 9009) (Figura 1.6), e o cloreto de 3,6-didodeciloxi-4,5-dimetil-*o*-fenileno-*bis*(mercúrio) (ETH 9033) (Figura 1.7).

**Figura 1.6.** ETH 9009**Figura 1.7.** ETH 9033

I.1.2. Análise por injeção em fluxo

A análise por injeção em fluxo (FIA) foi uma das primeiras técnicas propostas que permitiu realizar de forma eficiente, ensaios rápidos, com baixo custo e pouco consumo de reagentes. Foi introduzida no Brasil em 1975, obtendo uma grande aceitação por parte da comunidade científica.

O grande interesse por análises de rotina mais rápidas, com a utilização de pequena quantidade de amostra, levou os pesquisadores a desenvolverem técnicas de análise em fluxo, que permitissem melhorar o desempenho dos instrumentos existentes, fazendo com que mais detectores e sensores pudessem ser utilizados de forma mais reprodutível e eficiente [43].

Dentre as numerosas publicações, as determinações espectrofotométricas são as mais aplicadas em sistemas FIA. No entanto, existe um aumento no uso da detecção eletroquímica em fluxo contínuo. Uma vez que sistemas FIA acoplados a sensores apresentam vantagens como lavagem contínua do detector, baixo consumo de reagente, análises rápidas e possibilidade de automação [44].

O uso de eletrodos íon-seletivos para análise em sistemas de fluxo (FIA) mostra-se muito atrativo devido ao grande número de vantagens, tais como: simplicidade, pouco ou nenhum pré-tratamento da amostra, nenhuma interferência de amostras coloridas e turvas, confiabilidade, reprodutibilidade, etc. Permitindo a determinação de diferentes analitos numa ampla variedade de matrizes [45-54].

I.1.2.1. Determinação simultânea em FIA

Na maioria dos métodos descritos na literatura sobre análises por injeção em fluxo usando detector potenciométrico, determinações de uma só espécie são os mais referidos [43]. Contudo, verifica-se um aumento, nos últimos anos, dos procedimentos descrevendo determinações simultâneas de duas ou mais espécies [55]. Embora, métodos como a espectrometria de emissão ótica de plasma acoplado indutivamente (ICP OES) ou cromatográficos, ofereçam a possibilidade de determinações simultâneas, eles apresentam altos custos de instrumentação, necessitando procedimentos trabalhosos e longos tempos de análises, tornando estes sistemas pouco apropriados para análises de rotina e de campo [56].

Das metodologias existentes que descrevem determinações simultâneas podemos citar: a de Ruzicka *et al.* [57], na qual usou-se um arranjo de eletrodos para determinar sódio e potássio simultaneamente em soro sangüíneo; a de Mascini e Palleschi [58], na qual foram determinadas glicose e uréia em amostras de soro; a de Hansen *et al.* [59], na qual foi proposta a idéia de eletrodos em série para a determinação simultânea de pH e cálcio em soro; a de Van Staden [60], na qual o conceito de fluxo contínuo

usando arranjo tubular para determinação simultânea de cloreto e pH foi estudado.

I.1.2.2. Uso de arranjo de eletrodos

A junção de eletrodos individuais para formação de arranjos de eletrodos é importante nas mais diversas áreas de análises, tais como: ambiental, alimentícia, clínicas entre outras.

A capacidade dos eletrodos íon-seletivos para determinar íons, mesmo na presença de interferentes, os torna atrativos para uso de arranjos. A miniaturização dos arranjos de sensores também torna possível a realização de ensaios simultâneos *in vivo* de íons inorgânicos e de pH [61, 44], ao mesmo tempo em que, arranjos de sensores acoplados a sistemas de detecção em análise por injeção em fluxo aumentam a rapidez da análise [62].

A aplicação de arranjos de sensores pouco seletivos juntamente com modelos matemáticos modernos de processamento de sinal baseados no uso da calibração multivariada, reconhecimento de padrões e redes neurais (ANN) é citado também como uma grande vantagem. Desta forma, muitas aproximações que combinam o sinal representativo de um arranjo de sensores com ajustes matemáticos avançados vêm oferecendo bons resultados [63].

A. Tipos de arranjos para eletrodos íon-seletivos

Para o acoplamento dos eletrodos íon-seletivos no sistema FIA alguns avanços vêm sendo realizados como naquele proposto por Ruzicka *et al.*

[57], onde o eletrodo indicador e o de referência foram montados em cascata, para possibilitar que a solução escoasse sobre a superfície sensível do eletrodo indicador. Posteriormente, foram propostos outros arranjos, dentre eles a montagem *wall-jet* que é uma das mais citadas [64]. Enquanto na montagem proposta por Ruzicka *et al.*, a solução escorria sobre a superfície sensível do eletrodo de trabalho, na montagem *wall-jet* a solução era bombeada contra a superfície da membrana sensora.

Nos primeiros trabalhos empregando eletrodos em sistemas FIA, as aplicações foram implementadas com eletrodos convencionais [65, 66], o que dificultava o acoplamento dos mesmos nestes sistemas, e originava montagens pouco robustas. Visando superar estas dificuldades e obter um melhor aproveitamento das potencialidades do processo FIA, foram desenvolvidos eletrodos com geometrias mais apropriadas para o acoplamento aos módulos de análises [64, 67].

Dentre as geometrias propostas, a tubular permite a construção do eletrodo indicador com diâmetro igual ao do percurso analítico, facilitando o acoplamento direto [68-70].

Os eletrodos de geometria tubular construídos com o diâmetro interno igual ao do percurso analítico, evitam a diminuição do sinal analítico por dispersão no detector e não alteram as características hidrodinâmicas do fluido. Esta última característica facilita a montagem dos mesmos em série no percurso analítico para viabilizar determinações multiparamétricas [71, 72].

I.1.3. Sucos de frutas industrializados

O interesse em análise de alimentos vem crescendo recentemente. Neste contexto, diferentes métodos de determinação vêm sendo desenvolvidos para suprir esta necessidade, os quais são importantes para o controle de qualidade na indústria alimentícia. Para isto, métodos *on-line* são bastante requeridos.

Sucos de frutas industrializados são produtos elaborados à base de polpa de frutas naturais, diluídos e adoçados, os quais não necessitam de qualquer preparo para o consumo. Os sucos hidratam, refrescam e constituem-se numa fonte inesgotável de vitaminas e sais minerais. No entanto, a principal vantagem desses sucos naturais ainda permanece pouco conhecida, eles são capazes de mexer com as emoções, já que muitos deles atuam diretamente sobre as glândulas endócrinas [73]. O consumo de sucos pode também contribuir para a saúde cardiovascular, ampliar a capacidade física, ajudar a controlar a pressão arterial, dormir bem, ter mais energia, etc. [74].

Os métodos eletroquímicos, particularmente os potenciométricos que usam eletrodos íon-seletivos, vêm sendo amplamente usados em sistema de injeção em fluxo para determinação de Ca^{2+} e K^+ separadamente [75]. Há alguns artigos que descrevem determinações simultâneas de ambos os íons [76, 77], onde a ênfase é colocada em análises clínicas. Assim, há uma carência de trabalhos descrevendo determinações simultâneas para análise em alimentos.

I.2. OBJETIVOS:

O objetivo desta parte da Tese foi desenvolver eletrodos íon-seletivos para cálcio, sódio, potássio e cloreto a fim de acoplá-los em sistema por injeção em fluxo (FIA), e realizar a análise simultânea destes íons em amostras de suco.

Para alcançar este objetivo foram necessários realizar os seguintes estudos:

- Preparar e otimizar os eletrodos para cálcio, sódio, potássio e cloreto em estado estacionário, e realizar estudos de interferência analítica para cada eletrodo.
- Preparar os eletrodos tubulares para cálcio, sódio, potássio e cloreto, para incorporá-los em FIA, no intuito de realizar a otimização destes eletrodos no sistema em fluxo.
- Construir um arranjo com os eletrodos de cálcio, potássio e cloreto e estudar a viabilidade de realizar análises simultâneas, utilizando parâmetros comuns no sistema em fluxo, tais como: volume de injeção e vazão.
- Determinar simultaneamente cálcio, potássio e cloreto em amostras de suco e validar o método.

I.3. PARTE EXPERIMENTAL

I.3.1. Reagentes e soluções

Os ionóforos *N,N,N',N'*,-tetraciclohexil-3-oxapentanodiamida ($C_{28}H_{48}N_2O_3$) (Ionóforo para cálcio); Valinomicina ($C_{54}H_{90}N_6O_{18}$) (Ionóforo para potássio); éster decil monensina ($C_{46}H_{82}O_{11}$) (Ionóforo para sódio) e 4,5-dimetil-3,6-dioctiloxi-*o*-fenileno-bis(mercúrio trifluoroacetato) ($C_{28}H_{40}F_6OHg_2O_6$) (Ionóforo para cloreto) foram obtidos da Fluka (Buchs, Suíça).

Os plastificantes *bis*(2-etilhexil) adipato, *bis*(2-etilhexil) sebacato e *o*-nitrofeniloctiléter (*o*-NPOE) foram obtidos da Acros (New Jersey, USA). O tetrakis(*p*-clorofenil)borato de potássio (KTpClPB) usado como ânion lipofílico nos eletrodos para cátions e o cloreto de tridodecilmetilamônio (TDMACl) utilizado como cátion lipofílico para o eletrodo de cloreto, foram adquiridos da Fluka. O polímero cloreto de polivinila (PVC) foi adquirido da Sigma-Aldrich (Millwaukee, USA), e o tetrahidrofurano (THF) da Mallickrodt (Cidade do México, México).

Os tampões PIPES (Piperazina-*N,N'*-*bis*[ácido 2-etanossulfônico]), TRIS (Tris(hidroximetil)aminometano) e HEPES (*N*-[2-hidroxi-etil]piperazina-*N'*-[ácido 2-etanossulfônico]) foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha).

Todos os demais reagentes químicos utilizados foram de grau analítico, usando-se para o preparo das soluções água deionizada (resistividade = 18,2 MΩ cm) pelo sistema Milli-Q da Millipore (São Paulo, Brasil).

As diferentes amostras de sucos de frutas industrializadas foram obtidas em supermercado e mantidas em geladeira até sua utilização para as análises.

I.3.2. Aparelhagem

I.3.2.1. Estado estacionário

As medidas de potencial no estado estacionário foram realizadas utilizando um potenciômetro da Corning modelo 350. Como eletrodo de referência empregou-se o eletrodo de dupla junção de Ag/AgCl modelo 476416 com solução interna de LiNO_3 ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) e para as medidas de pH, foi utilizado um eletrodo de vidro combinado. Ambos os eletrodos foram adquiridos da Corning (New York, USA) e o eletrodo íon-seletivo desenvolvido foi utilizado como eletrodo indicador.

I.3.2.2. Sistema por injeção em fluxo (FIA)

Para o sistema por injeção em fluxo foram utilizadas: uma bomba peristáltica de oito canais modelo Ismatec IPC-8 (Glattbrugg, Suíça), uma válvula de injeção manual (construída no próprio laboratório), além de tubos de Tygon™ e polietileno para as conexões (0,80 mm de diâmetro interno). Na Figura 1.8 mostra-se a disposição do sistema FIA.

As medidas de potencial no sistema FIA foram realizadas simultaneamente para todos os íons, e os dados foram adquiridos utilizando-se um sistema constituído de uma placa ACL-8111 da ADLink Technology, associado a um potenciômetro da Corning modelo 350. Esse equipamento

foi acoplado a um microcomputador para comutação dos eletrodos, controlados por um software desenvolvido em Visual Basic 4.0, como descrito por Fernandes *et al.* [78].

Como eletrodo de referência, empregou-se o eletrodo de dupla junção de Ag/AgCl com solução interna de LiNO_3 ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) da Corning, e um arranjo de eletrodos composto pelos eletrodos tubulares íon-seletivos desenvolvidos, os quais foram utilizados como eletrodos indicadores.

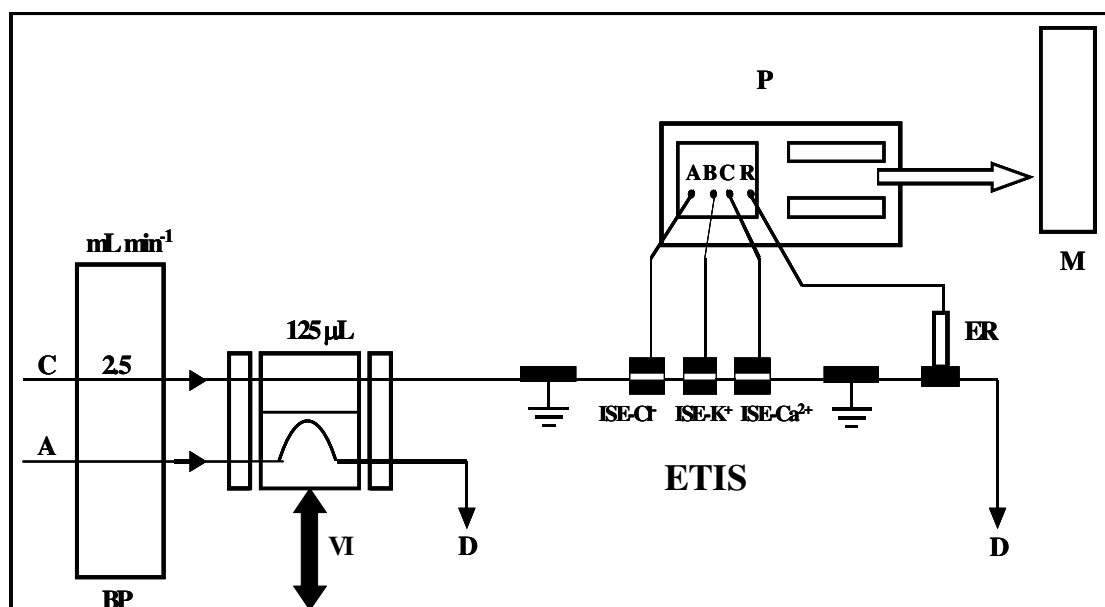


Figura 1.8. (C) Solução carregadora (tampão), (A) Solução amostra, (BP) Bomba peristáltica, (VI) Válvula de injeção manual, (ETIS) Eletrodos tubulares íon-seletivos, (ER) Eletrodo de referência Ag/AgCl, LiNO_3 ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) (P) Potenciômetro, (M) Microcomputador, (D) Descarte.

I.3.3. Preparação das membranas

I.3.3.1. Membrana para cálcio

Na construção do eletrodo íon-seletivo para cálcio, a preparação da membrana foi feita da seguinte forma: preparou-se uma solução homogênea contendo o ionóforo *N,N,N',N'*-tetraciclohexil-3-oxapentanodiamida [79] sensível a íons Ca^{2+} , utilizando-se como plastificante o *o*-NPOE (*o*-nitrofeniloctiléter) e o cloreto de polivinila (PVC), previamente dissolvido em tetrahydrofurano (THF), de acordo com o procedimento esquematizado na Figura 1.9:

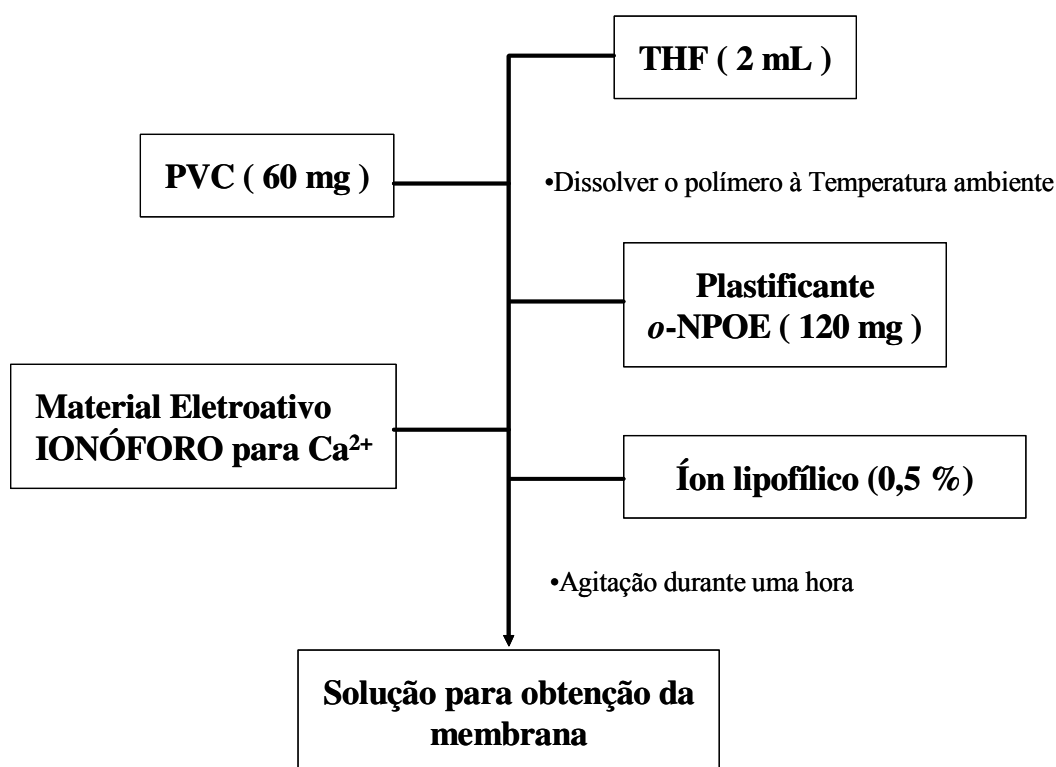


Figura 1.9. Diagrama do procedimento seguido na preparação da membrana para cálcio.

As quantidades de polímero e plastificante empregadas na preparação da membrana foram as mesmas reportadas na literatura [80]. No entanto, com o objetivo de verificar a influência do ânion lipofílico, foram preparadas membranas na ausência e na presença do ânion lipofílico tetrakis(*p*-clorofenil)borato de potássio numa quantidade de 0,5% em relação à massa total da membrana.

As membranas sensíveis a potássio, sódio e cloreto foram preparadas de forma similar daquela mostrada no esquema da Figura 1.9, e seguindo os procedimentos descritos na literatura [4, 26, 81]. Os componentes utilizados assim como as respectivas quantidades para a preparação das membranas para cada um dos eletrodos íon-seletivos, se encontram indicadas na Tabela 1.1.

Tabela 1.1. Composições das membranas poliméricas para os íons cálcio, potássio, sódio e cloreto. Utilizando cloreto de polivinila como suporte matriz numa proporção de 32,5%.

ISE	Ionóforo (1% m/v)	Plastificante (66% m/v)	Aditivo (0.5% m/v)	Referência
Ca ²⁺	Ionóforo para cálcio	<i>o</i> -ONPE	KTpCIPB	[80]
K ⁺	Valinomicina	<i>o</i> -ONPE	KTpCIPB	[4]
Na ⁺	Éster decil monensina	Adipato	KTpCIPB	[26]
Cl ⁻	Ionóforo para cloreto	Sebacato	TDMACl	[81]

I.3.4. Estudos realizados em estado estacionário

I.3.4.1. Preparação dos eletrodos em estado estacionário

O suporte condutor, o qual foi preparado misturando-se grafite, resina epóxi e endurecedor [82], foi colocado no corpo do eletrodo (Figura 1.10), numa quantidade aproximada de 500 mg, para fixar o cabo condutor ao mesmo (1 cm de espessura aproximadamente). Após esta etapa, foi deixado secar por um período mínimo de 48 h.

Em seguida, a solução para obtenção da membrana foi gotejada com auxílio de uma micropipeta (Figura 1.11) diretamente na superfície do eletrodo (suporte condutor), cuja área superficial é de $0,5 \text{ cm}^2$, e deixado secar à temperatura ambiente para evaporação do solvente e obtenção da membrana. Uma quantidade aproximada de 200 a 250 μL foi necessária para obter um filme com espessura aproximada de 0,2 mm. Os melhores resultados foram obtidos para um tempo de secagem de 24 h antes do uso do eletrodo.

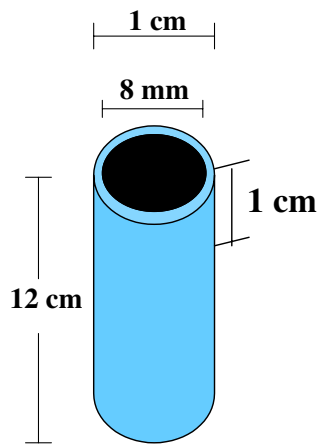


Figura 1.10. Esquema do eletrodo utilizado em estado estacionário.

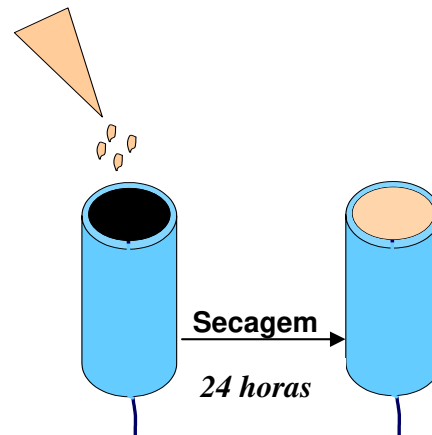


Figura 1.11. Preparação da membrana sobre o eletrodo.

I.3.4.2. Otimização dos parâmetros em estado estacionário

Uma vez construído e montados os eletrodos conforme a descrição anterior, procedeu-se a estudar as melhores condições de resposta do eletrodo em estado estacionário.

A. Estudo da influência do pH na resposta dos eletrodos

Para o estudo da influência do pH, utilizaram-se soluções padrões de cálcio, potássio, sódio e cloreto em concentrações de $1,0 \cdot 10^{-3}$ e $1,0 \cdot 10^{-2}$ mol L⁻¹, sendo o pH ajustando com soluções diluídas de HCl e NaOH. Para o íon cloreto, o pH foi ajustado com H₂SO₄ e NaOH e para o íon sódio, Ca(OH)₂ foi usado em substituição ao NaOH.

B. Estudo da influência do sistema tampão na resposta dos eletrodos

Para verificar a influência do tampão, foram preparadas diferentes soluções tampão, tais como: HEPES, PIPES e TRIS na concentração de 0,1 mol L⁻¹. Todas as soluções foram ajustadas em pH = 7,0.

C. Influência da concentração do tampão

No estudo da influência da concentração do tampão foram utilizadas soluções tampão nas concentrações de 0,01; 0,1 e 0,2 mol L⁻¹, em pH = 7,0, com força iônica ajustada.

D. Avaliação da interferência analítica

Uma vez otimizadas as respostas dos eletrodos em estado estacionário, foi verificada a interferência de diferentes íons para cada um dos eletrodos, e os seus respectivos valores de $K_{A,B}^{POT}$ (coeficiente de seletividade potenciométrica) foram calculados, pelo método dos potenciais equivalentes (MPE) “*matched-potential*” [83, 84]. Este método consiste em determinar a concentração do íon interferente que provoca a mesma variação de potencial numa dada concentração fixa do íon primário.

O grau de interferência é então calculado pela equação:

$$K_{A,B}^{pot} = \frac{c'_A - c_A}{c_B}$$

onde, A e B são o íon primário e o íon interferente, respectivamente; c_A é a concentração do íon primário responsável pelo potencial inicial de resposta nernstiana do eletrodo; c'_A e c_B são as concentrações do íon primário e do íon interferente, respectivamente, que produzem a mesma variação de potencial.

Para realizar o estudo de interferência na resposta dos eletrodos para cátions, soluções de cloreto de diferentes cátions foram testadas tais como: Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} e Fe^{3+} . Para o estudo de interferência do eletrodo sensível a cloreto, utilizaram-se soluções de NO_3^- , CH_3COO^- , SCN^- , I^- , SO_4^{2-} e Br^- todos sais de potássio, e o procedimento descrito acima foi seguido, calculando-se os respectivos coeficientes de seletividade potenciométrica.

I.3.5. Estudos realizados no sistema FIA

I.3.5.1. Preparação do eletrodo tubular

O suporte condutor, preparado misturando-se grafite, resina epóxi e endurecedor, cujas proporções foram previamente otimizadas [82], foi introduzido no corpo do eletrodo (Figura 1.12), e deixando-o secar por no mínimo 48 h. Uma vez seco, fez-se um orifício de 0,2 cm de diâmetro na parte central do eletrodo (Figura 1.13), e a seguir, a solução para obtenção da membrana foi gotejada com auxílio de uma micropipeta, dentro do orifício do suporte condutor. Finalmente o eletrodo foi deixado secar para evaporação do solvente e obtenção da membrana.

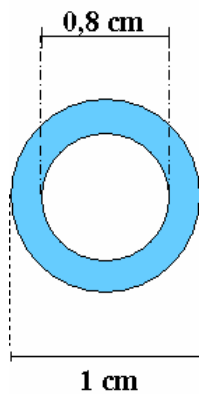


Figura 1.12. Vista frontal do eletrodo tubular.

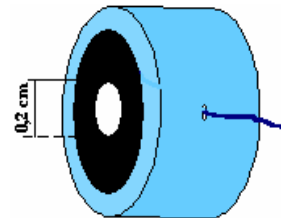


Figura 1.13. Vista em perspectiva do eletrodo tubular com o suporte condutor incluído.

I.3.5.2. Montagem do eletrodo tubular na cela de medida

Uma vez obtido o eletrodo tubular, este foi inserido numa cela de acrílico de acordo com a Figura 1.14, e fixado por quatro parafusos nos extremos. As celas foram colocadas em série como indicado na Figura 1.15, verificando-se que os eletrodos ficassem fixos a fim de evitar vazamentos.

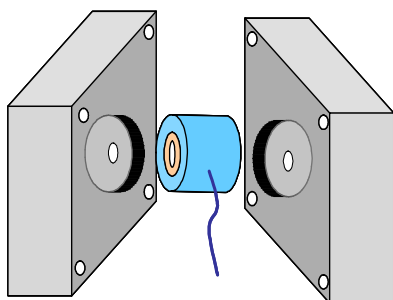


Figura 1.14. Cella de acrílico para suporte do eletrodo.

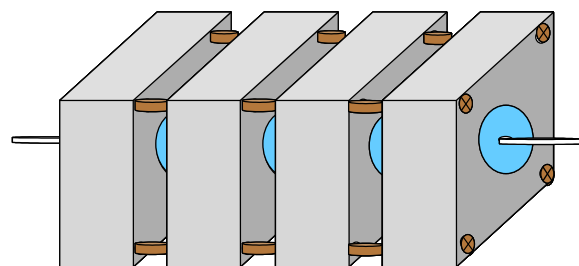


Figura 1.15. Esquema da disposição dos eletrodos colocados em série.

I.3.5.3. Otimização dos parâmetros em sistema FIA

A otimização dos parâmetros para o sistema FIA também foi realizada. Para isto parâmetros tais como: volume de injeção, vazão, frequência analítica e tempo de vida do eletrodo, foram avaliados.

A. Volume

Na otimização dos parâmetros no sistema FIA, realizou-se primeiramente o estudo do volume de injeção da amostra. Para isto, injeções sucessivas de diferentes volumes dos analitos (K^+ , Ca^{2+} , Na^+ ou Cl^-) a uma concentração de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foram realizadas. Os volumes testados foram: 25, 50, 75, 100, 125, 150, e 200 μL e os respectivos potenciais foram registrados.

B. Vazão

A influência da vazão foi estudada variando-se a velocidade da bomba peristáltica. Para o presente estudo foram testadas as seguintes vazões 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 e 3,5 mL min^{-1} . A concentração do analito empregada foi a mesma do estudo do volume.

C. Obtenção da curva analítica

Concentrações na faixa de $1,0 \cdot 10^{-6}$ até $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ foram avaliadas para cada eletrodo. Dos diagramas obtidos, parâmetros como frequência analítica e repetibilidade foram avaliados. Onde a repetibilidade foi calculada em termos do desvio padrão médio relativo (RSD).

D. Estudo do tempo de vida do eletrodo tubular

O estudo do tempo de vida do eletrodo foi realizado a fim de verificar se a resposta do eletrodo variava ao longo do tempo. Este foi realizado periodicamente, obtendo-se curvas de calibração e calculando-se as respectivas inclinações.

I.3.6. Estudo dos eletrodos em série para a análise simultânea

Para o estudo das análises simultâneas colocaram-se os eletrodos tubulares íon-seletivos desenvolvidos para cálcio, potássio e cloreto num arranjo em série, com o eletrodo de referência no final da linha como mostrado na Figura 1.8. Parâmetros analíticos comuns tais como: pH, tampão, concentração do tampão, volume de injeção e vazão, foram escolhidos de forma a serem os ótimos na análise simultânea e ao mesmo tempo não prejudiquem o desempenho dos eletrodos quando avaliados independentemente.

I.3.7. Aplicação do sistema desenvolvido nas amostras de suco

Para realizar a determinação simultânea de cálcio, potássio e cloreto foram utilizadas 5 amostras diferentes de sucos de frutas industrializados. As amostras foram analisadas sem nenhum pré-tratamento, quando necessário, foram filtradas. As amostras foram diluídas numa proporção de 1:10 em tampão TRIS 0,1 mol L⁻¹, pH = 7,0 com força iônica ajustada e as medidas foram realizadas injetando 125 µL da amostra a uma vazão de 2,5 mL min⁻¹ no sistema FIA, usando como carregador o tampão TRIS. As medidas foram realizadas em triplicata para todas as amostras.

Como método de referência na determinação de cálcio e potássio foi utilizada a fotometria de chama e para a determinação de cloreto o método de volumetria de precipitação (Método de Mohr) [85]. Testes de recuperação para cada eletrodo também foram realizados.

I.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

I.4.1. Preparação das membranas

A preparação da membrana é a etapa mais crítica na construção do eletrodo, pois ela contém o composto sensível (reconhecedor) que interage com o analito de interesse, originando os potenciais de medida.

I.4.1.1. Preparação da membrana para cálcio

As quantidades de polímero e plastificante empregadas para a preparação da membrana para cálcio, como já indicadas na parte experimental, foram as mesmas reportadas na literatura [80]. Estudos da influência do ânion lipofílico tetrakis(*p*-clorofenil)borato de potássio (KTPClPB) foram realizados, devido às controvérsias existentes pelo seu uso [87]. Os resultados obtidos são observados nas Figuras 1.16 e 1.17.

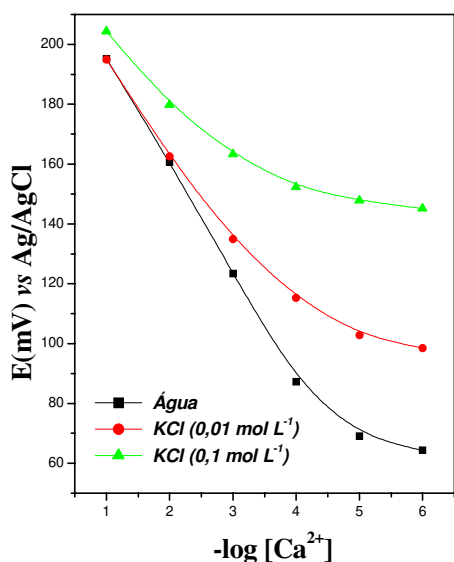


Figura 1.16. Resposta do eletrodo sem ânion lipofílico.

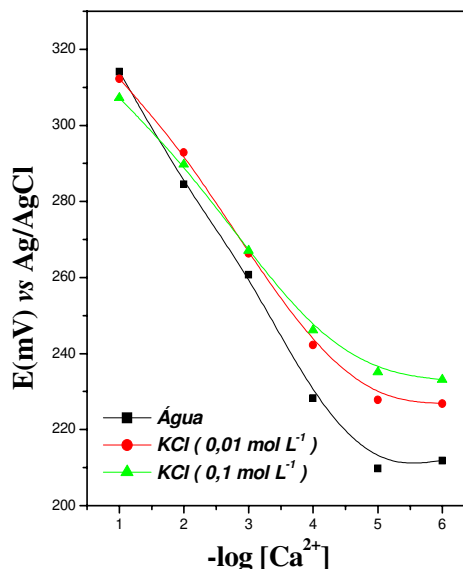


Figura 1.17. Resposta do eletrodo com ânion lipofílico.

Observou-se que o eletrodo, no qual foi incorporado o ânion lipofílico, apresentou uma melhor resposta para cálcio na presença do íon potássio. Verificando-se um aumento na seletividade da membrana, já que o ânion lipofílico define a razão da concentração entre o ionóforo complexado e o não complexado na membrana [87].

Desta forma, pode-se concluir que só o ionóforo não é capaz de determinar totalmente a resposta do eletrodo íon-seletivo. Assim, o uso do ânion lipofílico é imprescindível para a obtenção de ISEs mais reprodutíveis e mais seletivos.

As membranas dos eletrodos íon-seletivos para potássio, sódio e cloreto foram preparadas de acordo com a literatura como já indicadas na parte experimental, com a diferença de que, para o eletrodo sensível a cloreto, o cátion lipofílico cloreto de tridodecilmetilamônio foi utilizado em substituição ao KTpCIPB. Uma vez preparadas as membranas, estas foram condicionadas em solução de concentração $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de seus respectivos íons por 12 h, antes de serem utilizados pela primeira vez, com objetivo de saturar os sítios ativos da membrana.

I.4.2. Otimização dos eletrodos em estado estacionário

As respostas dos eletrodos íon-seletivos desenvolvidos para cada um dos diferentes analitos em questão, foram otimizadas em estado estacionário, em termos de: pH, tampão e concentração de tampão, com objetivo de obter o melhor desempenho de cada eletrodo.

Assim, a seguir serão apresentados e discutidos os resultados obtidos com o eletrodo íon-seletivo para o cálcio, como exemplo. Os resultados

obtidos na otimização dos outros eletrodos sensíveis aos demais íons aqui estudados serão resumidos em Tabela apresentados posteriormente.

I.4.2.1. Otimização do ISE para cálcio

A. Efeito do pH

A resposta do eletrodo íon-seletivo para cálcio, para duas diferentes concentrações do analito, foi estudada através do diagrama de Reilley (Figura 1.18) no intervalo de pH de 3,0 a 11,0. Dos resultados obtidos observou-se que a sensibilidade do eletrodo é praticamente estável em toda a faixa de pH estudada. Isto acontece provavelmente, devido ao fato de se usar um ionóforo neutro que independe do pH. Em pH maiores que 9,0 observou-se uma pequena diminuição no potencial do eletrodo, a qual pode ser devida à extração do ânion (OH^-) pela membrana, porém, este fato não afetou significativamente a sensibilidade do eletrodo.

Destaca-se aqui como vantagem, a possibilidade de se trabalhar em valores elevados de pH pois, na maioria das determinações do íon cálcio, o íon magnésio apresenta-se como principal interferente. Embora estes íons tenham a mesma carga e sejam complexados da mesma forma por alguns compostos, tal como o ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), existe uma diferença na precipitação na forma de hidróxido destes íons devido ao pH. Isto pode ser observado pela diferença de seus produtos de solubilidade, K_{ps} . Enquanto o hidróxido de magnésio apresenta um $K_{ps} = 1,1 \cdot 10^{-11}$ o de cálcio apresenta um $K_{ps} = 5,5 \cdot 10^{-6}$, por tanto o magnésio precipita num pH menor que o cálcio [88].

Isto é uma grande vantagem, pois em amostras onde o magnésio se apresenta como interferente, um simples ajuste do pH da solução pode minimizar o problema de interferência na análise.

Assim, o eletrodo íon-seletivo desenvolvido para cálcio pode ser usado num intervalo de pH entre 3,0 a 11,0 sem variação significativa na resposta do eletrodo. Desta forma, para estudos posteriores, um pH de 7,0 foi escolhido.

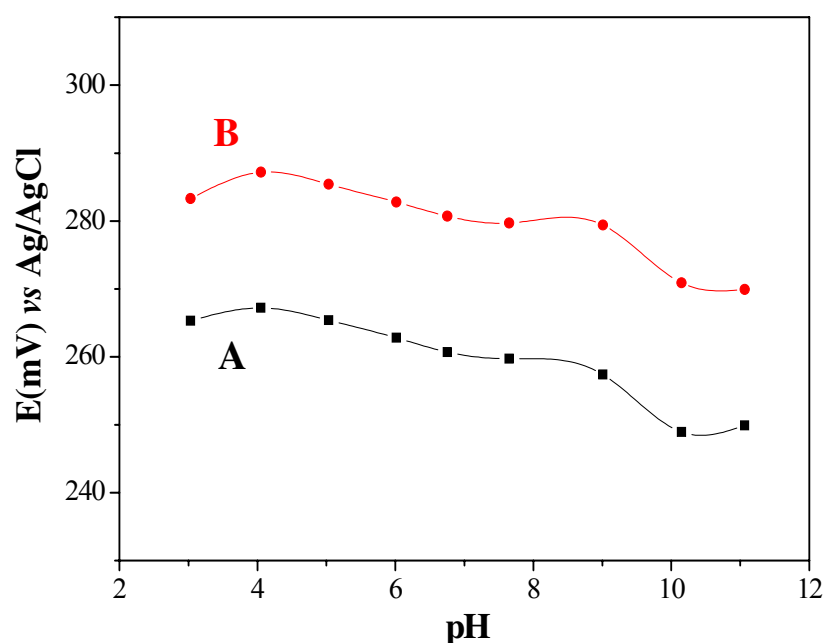


Figura 1.18. Diagrama de Reilley para o eletrodo íon-seletivo para Cálcio. (A) $[Ca^{2+}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, (B) $[Ca^{2+}] = 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

B. Efeito do tampão

O estudo do efeito do tampão na resposta do eletrodo íon-seletivo para cálcio, foi realizado levando-se em consideração as interferências químicas,

evitando-se assim o emprego de sistemas tampão que envolva complexação ou precipitação do analito, como por exemplo, o tampão fosfato. Os tampões estudados foram: HEPES, PIPES e TRIS, preparados em pH 7,0. Assim, na Figura 1.19, são apresentadas as respostas para Ca^{2+} , na faixa de concentração de $1,0 \cdot 10^{-6}$ até $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, na presença destes sistemas tampão. Observou-se respostas semelhantes na presença dos sistemas HEPES e TRIS.

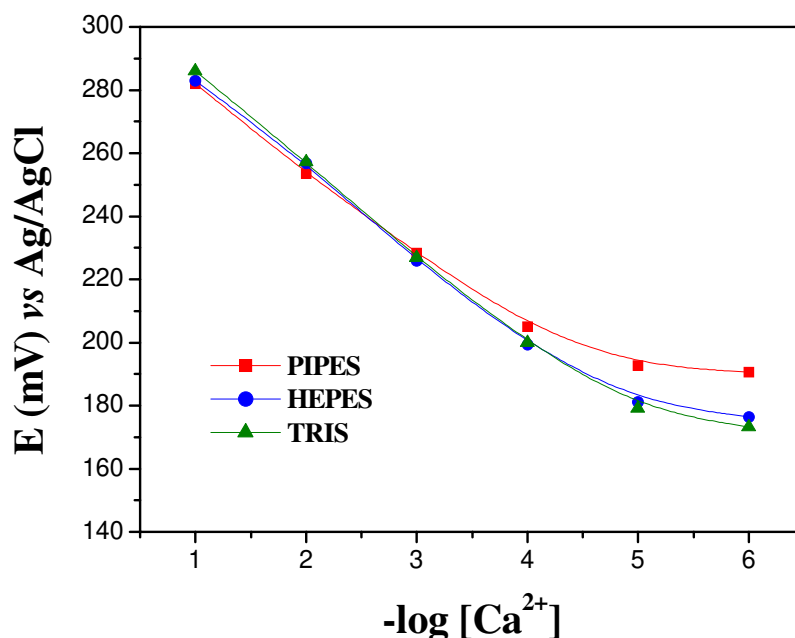


Figura 1.19. Efeito do tampão na resposta do eletrodo íon-seletivo para cálcio, numa concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0.

Já para o tampão PIPES, a resposta foi afetada só em baixas concentrações do analito, provavelmente por este tampão conter íons sódio os quais podem interferir na resposta do eletrodo, obtendo-se uma diminuição na faixa operacional de resposta do eletrodo.

Assim, os tampões HEPES e TRIS podem ser usados sem nenhum problema, sendo escolhido o tampão TRIS para estudos posteriores.

C. Efeito da concentração do tampão

Este estudo foi realizado testando-se o tampão TRIS em diferentes concentrações. De acordo com a Figura 1.20, observou-se que não há mudança significativa da resposta do eletrodo com variação da concentração do tampão. Assim uma concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi escolhida para manter o sistema tamponado, mantendo a força iônica ajustada.

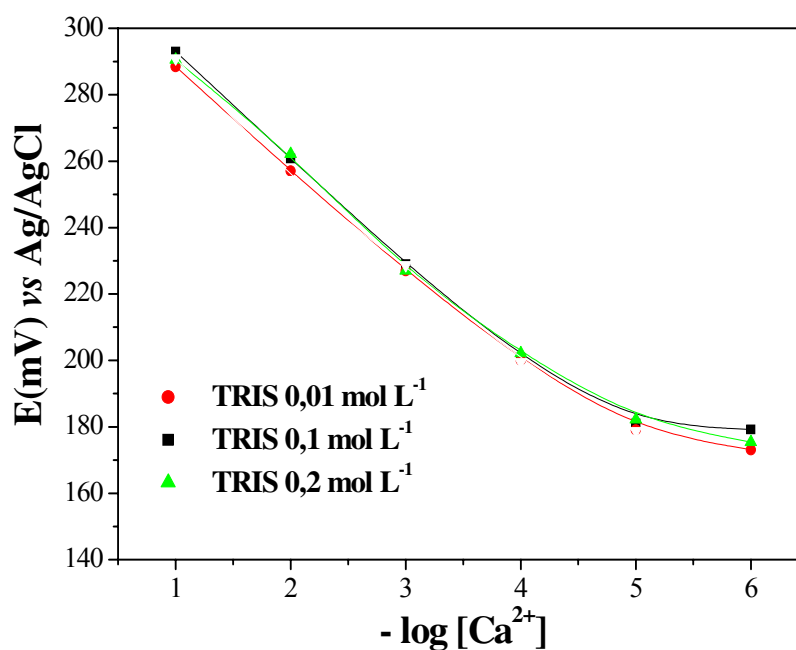


Figura 1.20. Efeito da concentração do tampão na resposta do eletrodo íon-seletivo para cálcio. Concentrações estudadas do tampão: $0,01$; $0,1$; $0,2 \text{ mol L}^{-1}$.

Da mesma forma que para o eletrodo de cálcio, o qual foi descrito em detalhe, os eletrodos íon-seletivos para sódio, potássio e cloreto também foram otimizados em estado estacionário, e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 1.2.

Tabela 1.2. Parâmetros otimizados em estado estacionário para os eletrodos sensíveis a cálcio, potássio, sódio e cloreto.

Parâmetros	Ca²⁺	K⁺	Na⁺	Cl⁻
pH	3-11	2-10	3-11	2-8
Tampão	HEPES, TRIS	PIPES, HEPES, TRIS	TRIS	TRIS, HEPES
Concentração do tampão (mol L ⁻¹)	0,1	0,1	0,1	0,1

Dos resultados da Tabela 1.2, observa-se que todos os eletrodos íon-seletivos desenvolvidos apresentam resposta numa ampla faixa de pH. Contudo, observou-se que o eletrodo sensível a íons cloreto apresentou um aumento na resposta em pH maiores que 8,0; indicando que o eletrodo sofre interferência dos íons hidroxila.

Todos os eletrodos apresentaram melhor resposta em tampão TRIS, além disso é o único tampão que não contém sódio, podendo assim ser este utilizado como tampão comum para todos os íons, em uma concentração de 0,1 mol L⁻¹.

I.4.2.2. Resposta do eletrodo íon-seletivo para cálcio em estado estacionário

Após a otimização dos parâmetros para obter o melhor desempenho do ISE para cálcio procedeu-se à construção de uma curva de calibração para o íon cálcio, onde os parâmetros analíticos tais como: faixa de resposta nernstiana, sensibilidade e limite de detecção foram utilizados para verificar o desempenho do eletrodo. Da Figura 1.21 observa-se que a resposta do eletrodo íon-seletivo para cálcio foi linear na faixa de concentração de $1,0 \cdot 10^{-5}$ até $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, apresentando um limite de detecção de $8,9 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, calculado segundo as recomendações da IUPAC [89], além de exibir um comportamento nernstiano, com uma sensibilidade de $31(\pm 1) \text{ mV}$ por década de concentração.

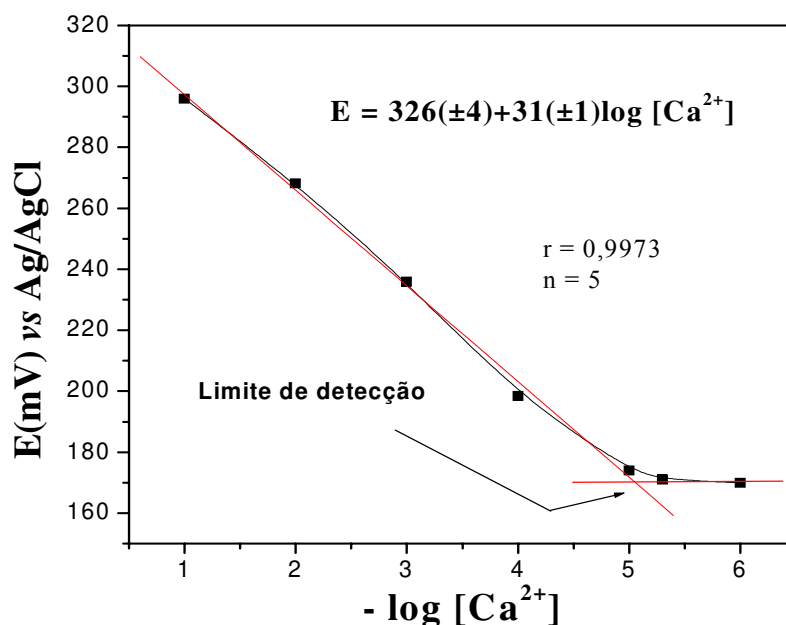


Figura 1.21. Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para cálcio em estado estacionário, em tampão TRIS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0. Temperatura ambiente = $(25 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$.

O desempenho do eletrodo desenvolvido foi similar ao observado nos eletrodos preparados utilizando o *R,R-N,N'*-bis[11-etoxi-carbonil) undecil]-*N,N'*-4,5-tetrametil-3,6-dioxaoctano amida como ionóforo [90], em termos de sensibilidade, resposta linear e intervalo de pH da solução. No entanto, quando comparado com o eletrodo preparado com dodecil fosfato dissolvido em di-(*n*-octilfenil)fosfonato utilizado como trocador iônico, o eletrodo desenvolvido neste trabalho foi superior em termos de estabilidade a mudanças de pH [91].

I.4.2.3. Resposta do eletrodo íon-seletivo para potássio em estado estacionário

Da mesma forma que para o eletrodo de cálcio, após otimizar os parâmetros, tais como: pH, tampão e concentração do tampão, os parâmetros analíticos, tais como: faixa linear, sensibilidade e limite de detecção, foram também utilizados para verificar o desempenho do eletrodo sensível ao íon potássio. A resposta para potássio foi linear na faixa de concentração de $1,0 \cdot 10^{-5}$ até $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, apresentando um limite de detecção de $7,6 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, além de exibir um comportamento nernstiano, com uma sensibilidade de $62 \pm 2 \text{ mV}$ por década de concentração apresentando um coeficiente de correlação de 0,9983 para $n = 5$, como mostrado na Figura 1.22.

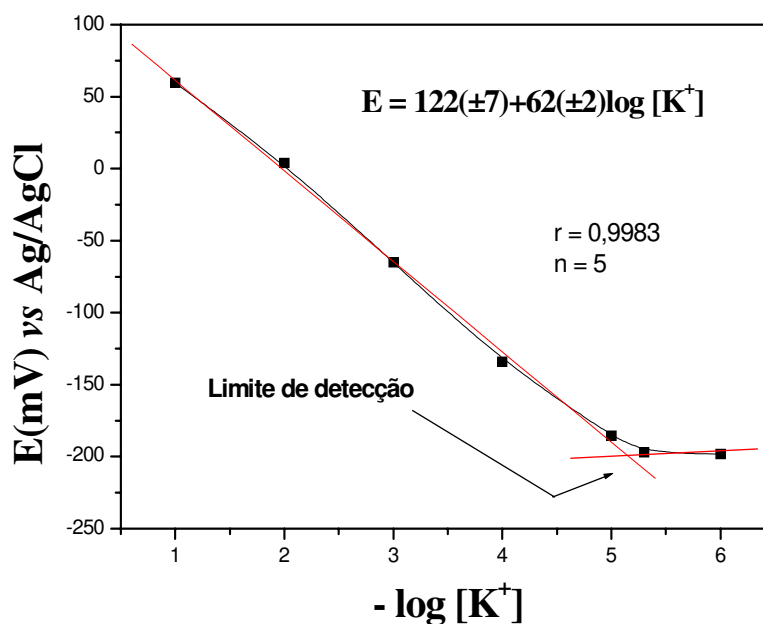


Figura 1.22. Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para potássio em estado estacionário, em Tampão TRIS 0,1 mol L⁻¹, pH 7,0. Temperatura ambiente = (25±2) °C.

O eletrodo desenvolvido para potássio, apresentou uma ótima estabilidade durante o intervalo de tempo testado (três meses), quando comparado com outros eletrodos baseados em matrizes diferentes como poli(vinil ferroceno) [92].

I.4.2.4. Resposta do eletrodo íon-seletivo para sódio em estado estacionário

A resposta para o eletrodo sensível a sódio foi linear na faixa de concentração de 1,0 10⁻⁵ até 1,0 10⁻¹ mol L⁻¹, apresentando um limite de detecção de 8,5 10⁻⁶ mol L⁻¹. O eletrodo exibiu um comportamento

nernstiano, com uma sensibilidade de $62(\pm 3)$ mV por década de concentração, apresentando um coeficiente de correlação de 0,9976 para $n = 5$, como mostrado na Figura 1.23.

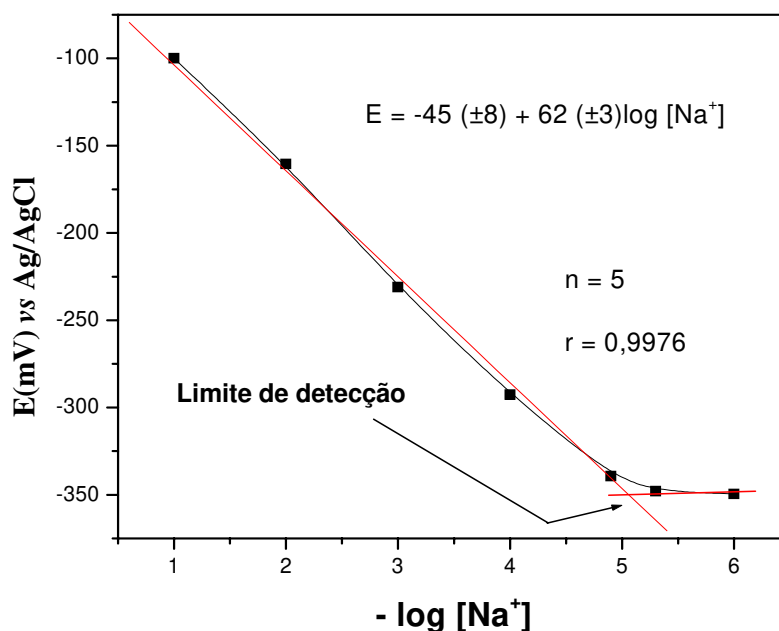


Figura 1.23. Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para sódio em estado estacionário, em tampão TRIS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0. Temperatura ambiente = $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

O eletrodo desenvolvido apresentou uma boa sensibilidade e faixa de resposta linear semelhante quando comparado com eletrodos que usam outros compostos sensíveis a sódio, tais como: *p-tert*-butilcalix[4]areno [93] e *N,N,N',N'*-tetraciclohexil-1,2-fenilendioxidiacetamida [94].

I.4.2.5. Resposta do eletrodo íon-seletivo para cloreto em estado estacionário

A resposta para o cloreto foi linear na faixa de concentração de $1,0 \cdot 10^{-5}$ até $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, apresentando um limite de detecção de $9,8 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

De forma semelhante ao eletrodo íon-seletivo para sódio, este eletrodo exibiu um comportamento nernstiano, com uma sensibilidade de $59(\pm 2) \text{ mV}$ por década de concentração, apresentando um coeficiente de correlação de 0,9984 para $n = 5$, como mostrado na Figura 1.24.

O eletrodo desenvolvido sensível a cloreto, apresentou ampla faixa linear de trabalho, tal como outros eletrodos a base de ionóforos semelhantes [29].

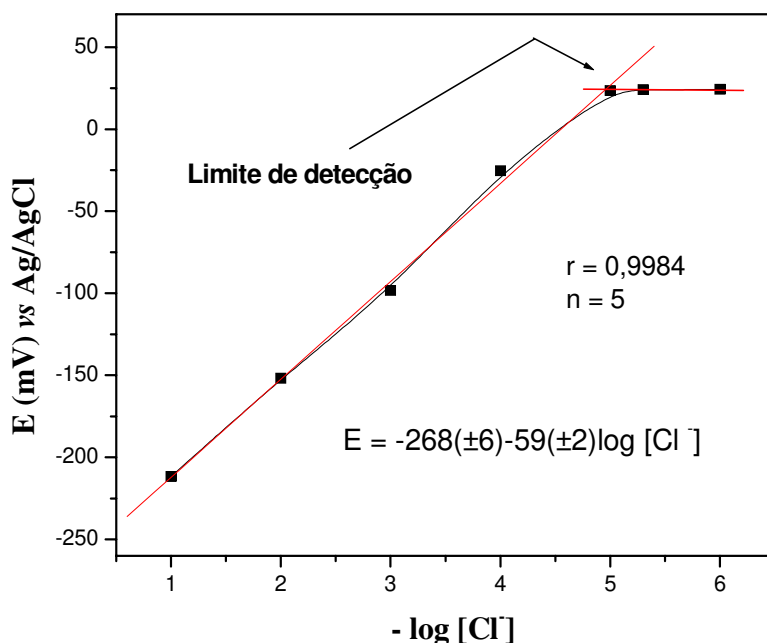


Figura 1.24. Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para cloreto em estado estacionário, em tampão TRIS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0. Temperatura ambiente = $(25 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$.

Os parâmetros analíticos para cada um dos eletrodos desenvolvidos são apresentados na Tabela 1.3. Destes resultados, pode-se observar que a faixa linear e o limite de detecção para todos os eletrodos são similares. Todos os eletrodos apresentaram boa resposta nernstiana com sensibilidades próximas dos valores teóricos, 59,2 mV década⁻¹ para íons monovalentes e 29,6 mV década⁻¹ para íons divalentes. No que diz respeito ao tempo de resposta, o eletrodo de cálcio apresentou o maior tempo de resposta quando comparado com os outros eletrodos.

Tabela 1.3. Parâmetros analíticos em estado estacionário para os eletrodos sensíveis a cálcio, potássio, sódio e cloreto.

Parâmetros analíticos	Ca²⁺	K⁺	Na⁺	Cl⁻
Faixa linear (mol L ⁻¹)	10 ⁻⁵ – 10 ⁻¹	10 ⁻⁵ – 10 ⁻¹	10 ⁻⁵ – 10 ⁻¹	10 ⁻⁵ – 10 ⁻¹
Limite de detecção (mol L ⁻¹)	8,9 10 ⁻⁶	7,6 10 ⁻⁶	8,5 10 ⁻⁶	9,8 10 ⁻⁶
Sensibilidade (mV década ⁻¹)	31±1	62±2	62±3	59±2
Tempo de resposta* (s)	72 ± 2	45 ± 2	41 ± 2	25 ± 2

* Determinado para uma concentração de 10⁻³ mol L⁻¹.

I.4.3. Estudo do tempo de vida dos eletrodos

Uma vez construídos os eletrodos em estado estacionário, estes foram testados continuamente durante três meses, sendo realizadas mais de 300 determinações para cada um dos eletrodos. Durante este período, os eletrodos apresentaram bom desempenho e não houve perda significativa, pois observou-se uma perda na sensibilidade de menos de 5% nas respostas. Além disso, os eletrodos mostraram-se estáveis, podendo ser estocados entre medidas ao ambiente sem nenhum cuidado adicional.

I.4.4. Avaliação da interferência analítica

Em potenciometria é bem conhecido o estudo de interferentes através da determinação dos coeficientes de seletividade potenciométricos ($K_{A,B}^{POT}$) pelos métodos das soluções misturadas ou separadas, na qual estes coeficientes são obtidos por equações derivadas da equação de Nicolskii-Eisenman (N-E) [89]. No entanto, a equação de N-E apresenta algumas limitações, sendo uma delas a necessidade do eletrodo responder nernstianamente para o íon primário e o interferente.

A União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) recomenda como método para expressar o $K_{A,B}^{POT}$ de um sensor potenciométrico o Método dos Potenciais Equivalentes (MPE) (*matched-potential*) [83]. Este método, proposto por Gadzekpo e Christian [84] consiste em determinar a concentração para o íon interferente na qual a variação de potencial é a mesma para uma dada concentração do íon primário em uma solução de referência. As principais características do

método do potencial equivalente são: a) não é levada em consideração a carga do íon primário e do interferente e b) não assume resposta nernstiana para o íon primário nem para o íon interferente. Estas características fazem do método dos potenciais equivalentes, um método mais realístico na prática, que aquele em que se aplica a equação de N-E, evitando os problemas de íons interferentes que não respondem nernstianamente [83].

Assim, baseados no método dos potenciais equivalentes, estudos de interferência analítica para cada um dos eletrodos foram realizados, onde os principais íons interferentes foram investigados e os valores de coeficiente de seletividade potenciométrica foram calculados (Tabela 1.4). De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar que para os eletrodos de cálcio e potássio, os valores de coeficiente de seletividade potenciométrica foram respectivamente $K_{Ca,K}^{POT} = 5,0 \cdot 10^{-4}$ e $K_{K,Ca}^{POT} = 2,0 \cdot 10^{-4}$. Estes valores indicam que é possível fazer a determinação destes íons na mesma amostra, onde a concentração de um em relação ao outro não ultrapasse um valor de 10000. Já para o eletrodo de sódio, o íon potássio mostrou ser altamente interferente apresentando um valor de $K_{Na,K}^{POT} = 0,44$.

Tabela 1.4. Valores de $K_{A,B}^{POT}$ para os eletrodos de cálcio, potássio, sódio e cloreto, calculados pelo método dos potenciais equivalentes.

Íon interferente	Íon primário			
	Cálcio	Potássio	Sódio	Cloreto
Ca ²⁺	---	5,0 10 ⁻⁴	4,0 10 ⁻³	---
Na ⁺	4,0 10 ⁻³	5,0 10 ⁻⁵	---	---
K ⁺	2,0 10 ⁻⁴	---	0,44	---
Mg ²⁺	1,0 10 ⁻³	4,0 10 ⁻⁴	8,0 10 ⁻⁴	---
Mn ²⁺	2,0 10 ⁻²	8,0 10 ⁻⁵	7,7 10 ⁻⁴	---
Cu ²⁺	2,0 10 ⁻⁵	8,0 10 ⁻³	---	---
Fe ³⁺	2,0 10 ⁻⁴	4,0 10 ⁻²	2,5 10 ⁻³	---
NO ₃ ⁻	---	---	---	7,5 10 ⁻⁴
SCN ⁻	---	---	---	6,5 10 ⁻²
I ⁻	---	---	---	5,0 10 ⁻³
CH ₃ COO ⁻	---	---	---	2,0 10 ⁻⁴
SO ₄ ²⁻	---	---	---	1,0 10 ⁻⁵
Br ⁻	---	---	---	3,0 10 ⁻³

Para verificar a interferência do eletrodo íon-seletivo para cloreto, diferentes ânions foram testados, dos quais observou-se que a menor interferência foi encontrada para os íons SO_4^{2-} e CH_3COO^- , verificada pelos seus coeficientes de seletividade potentiométrica calculados (Tabela 1.4). As maiores interferências foram registradas para os íons tiocianato, iodeto e brometo, contudo nas amostras testadas estes ânions não estão presentes.

Com o objetivo de mostrar a interferência analítica entre os cátions de análise: cálcio, potássio e sódio, curvas de calibração para cada eletrodo foram realizadas em diferentes concentrações de cada um dos interferentes (de $1,0 \cdot 10^{-5}$ até $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$) como pode ser observado nas Figuras 1.25, 1.26 e 1.27. Das curvas de calibração obtidas pode-se observar que o eletrodo sensível a potássio é altamente seletivo na presença de sódio e cálcio, já o eletrodo sensível a sódio apresentou alta interferência do íon potássio.

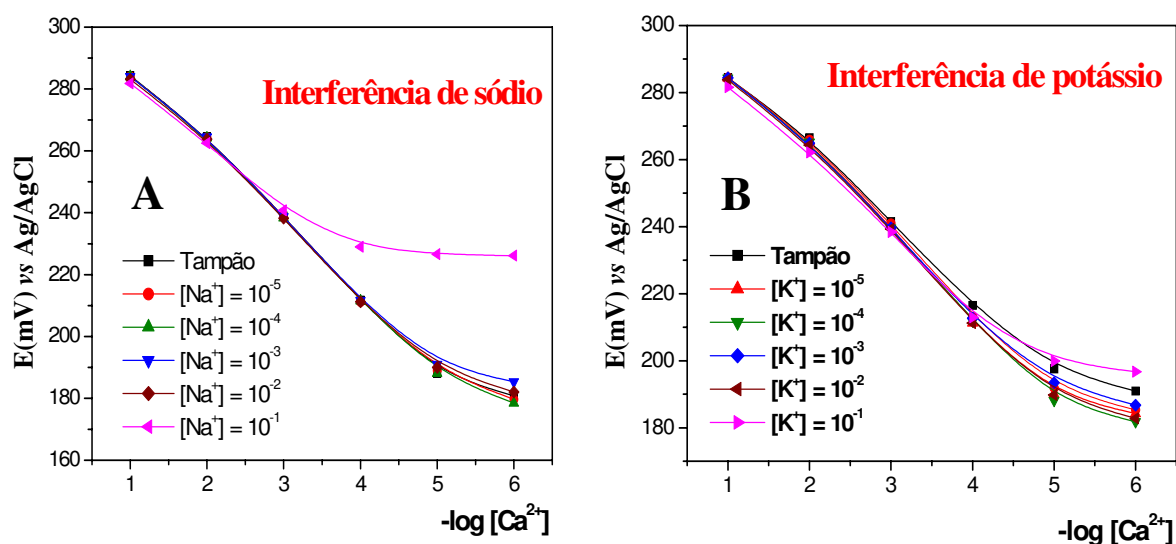


Figura 1.27. Avaliação da interferência analítica do íon sódio (A) e potássio (B) no eletrodo íon-seletivo para cálcio, em tampão TRIS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0. Temperatura ambiente = $(25 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$.

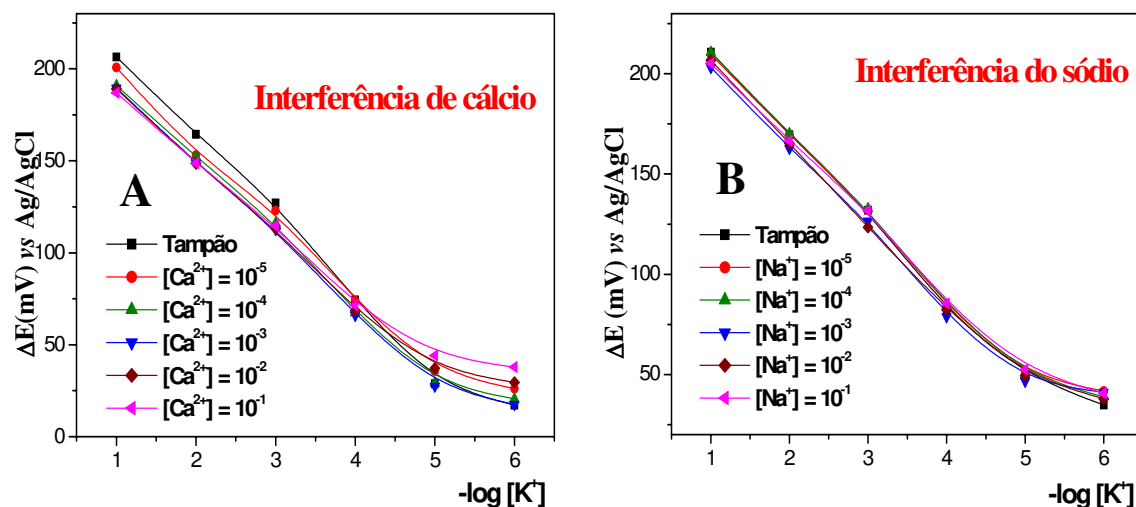


Figura 1.26. Avaliação da interferência analítica do íon cálcio (A) e sódio (B) no eletrodo íon-seletivo para potássio, em tampão TRIS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0. Temperatura ambiente = $(25 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$.

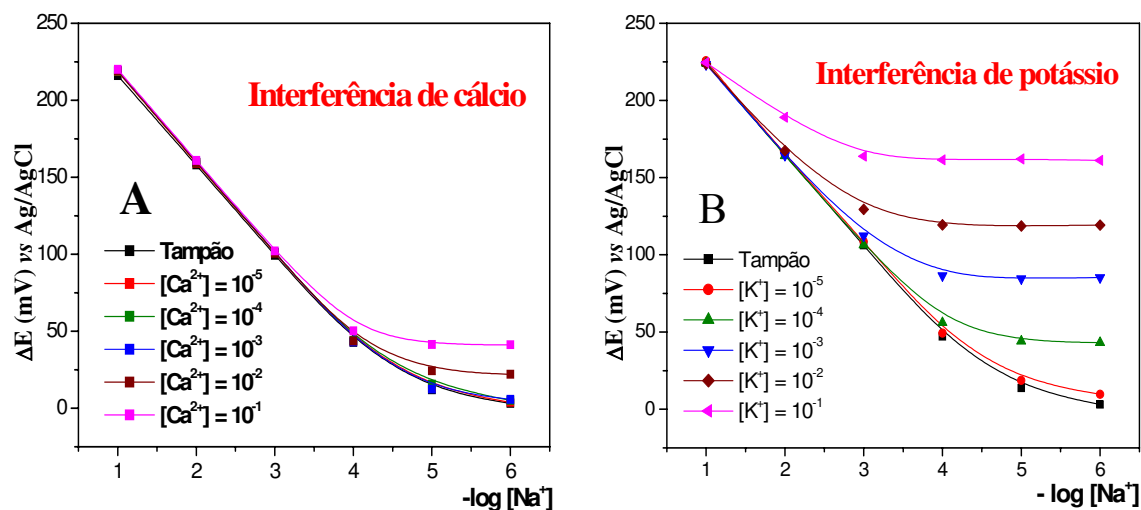


Figura 1.27. Avaliação da interferência analítica do íon cálcio (A) e potássio (B) no eletrodo íon-seletivo para sódio, em tampão TRIS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0. Temperatura ambiente = $(25 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$.

I.4.5. Otimização dos eletrodos no sistema FIA

Após os eletrodos desenvolvidos em estado estacionário serem otimizados e avaliados, estes foram acoplados a um sistema em fluxo tal como mostrado na Figura 1.8. na Parte Experimental. Para isto, parâmetros como volume e vazão foram otimizados. A seguir são apresentados em detalhe os resultados obtidos para os eletrodos de sódio e cloreto. Os resultados correspondentes aos eletrodos de cálcio e potássio são apresentados resumidamente em Tabelas.

I.4.5.1. Otimização do eletrodo íon-seletivo para sódio

A. Volume

Observou-se que, para volumes pequenos, os sinais obtidos eram menores e, a medida que se aumentava o volume de injeção, o variação do potencial também aumentava, até se atingir um máximo de resposta.

De acordo com a Figura 1.28, curva A, observa-se que acima de 125 μL ocorre uma saturação da membrana do eletrodo, verificando-se que não há aumento significativo do potencial. Assim, um volume de 125 μL foi escolhido para estudos posteriores.

B. Vazão

No caso da vazão do carregador, observou-se que para um aumento da vazão há uma diminuição na resposta do eletrodo de acordo com a Figura 1.28 curva B.

Este comportamento do eletrodo mostra que em vazões altas, não há tempo suficiente para uma boa interação entre o analito e o eletrodo, prejudicando o sinal obtido. Embora, em vazões maiores a resposta do eletrodo diminua, esta variação não é significativa, assim uma vazão de 2,5 mL min⁻¹ foi escolhido, já que vazões menores diminuiria a frequência analítica do sistema.

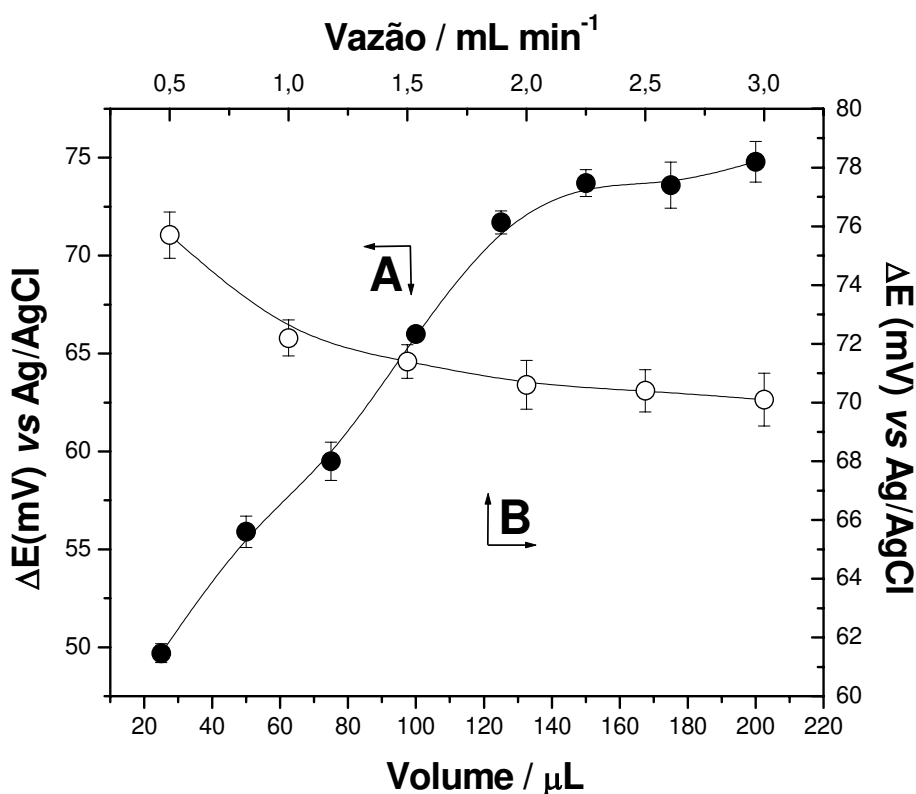


Figura 1.28. Curvas mostrando a resposta do eletrodo em função de (A) volume injetado numa vazão de 2,5 mL min⁻¹ e (B) da vazão para um volume injetado de 125 μL . Para uma concentração de sódio de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

C. Obtenção da curva analítica

Após otimização dos principais parâmetros do sistema em fluxo o desempenho do eletrodo para sódio foi verificado. A Figura 1.29 apresenta o fiagrama obtido para o íon sódio numa faixa de concentração de $5,0 \cdot 10^{-5}$ até $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ no sistema FIA otimizado. Três injeções sucessivas da solução padrão de sódio utilizando como carregador o tampão TRIS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7,0 foram realizadas.

Verificou-se também a repetibilidade do eletrodo para uma concentração de sódio de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e o valor encontrado para 12 repetições no sistema foi de 1,5 %, sendo expressa como a estimativa do desvio padrão relativo (DPR).

A Figura 1.29 também mostra injeções de sódio da solução mais concentrada até a mais diluída, isto foi realizado com o objetivo de verificar a existência do efeito de memória no eletrodo. Do fiagrama pode-se observar que não existe efeito de memória apreciável. O sistema aqui proposto permitiu uma frequência analítica de 54 injeções por hora.

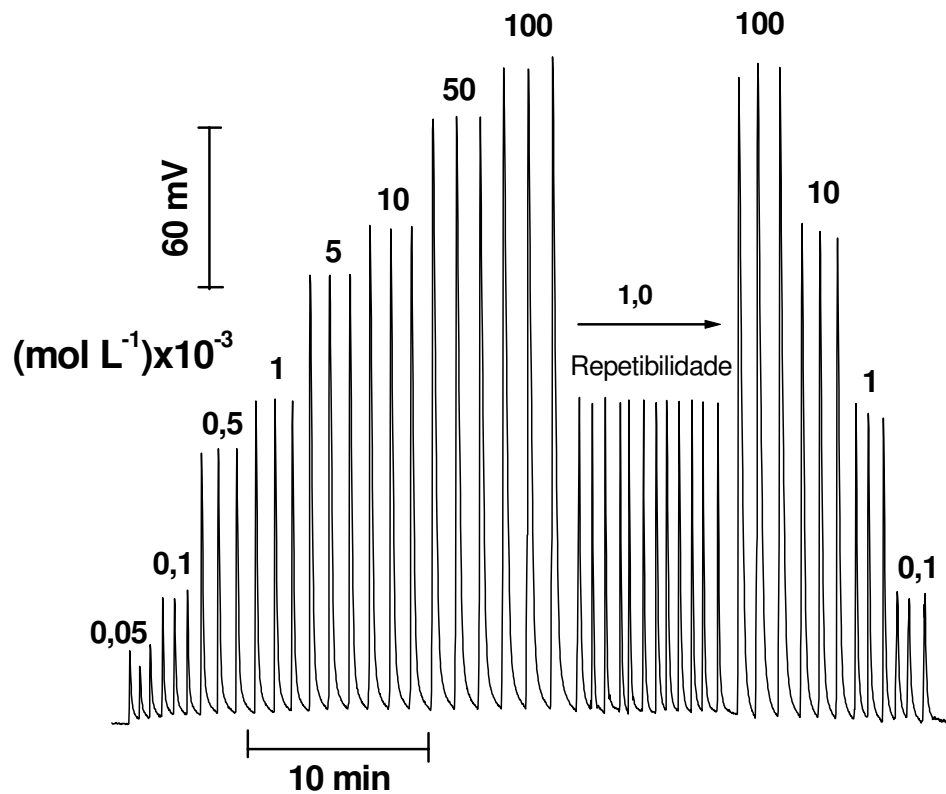


Figura 1.29. Fiagrama obtido para sódio na faixa de $5,0 \cdot 10^{-5}$ a $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, em TRIS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0. Vazão de $2,5 \text{ mL min}^{-1}$, volume injetado $125 \mu\text{L}$.

O eletrodo íon-seletivo tubular para sódio sob as condições otimizadas, respondeu nernstianamente no sistema FIA apresentando uma resposta linear na faixa de $5,0 \cdot 10^{-5}$ a $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ com uma sensibilidade de $60,1 \text{ mV}$ por década de concentração como pode ser observado na Figura 1.30.

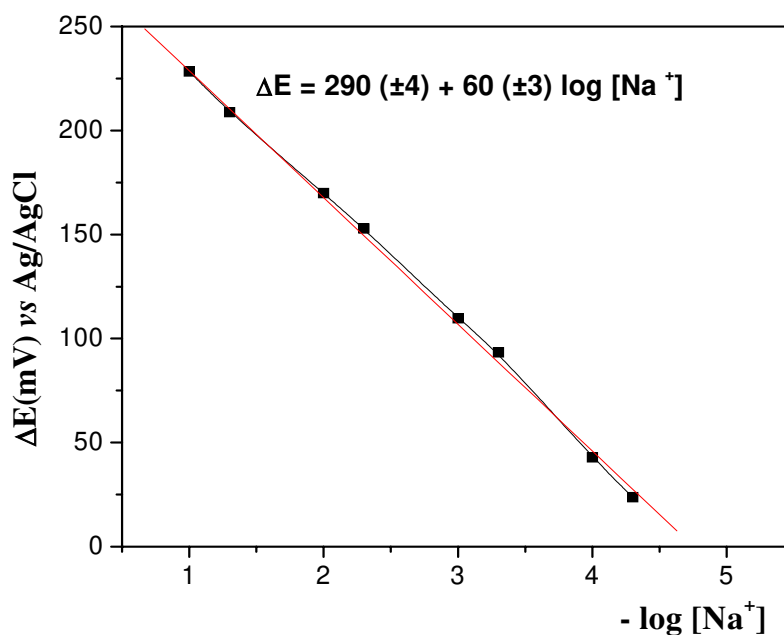


Figura 1.30. Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para sódio. Em tampão TRIS 0,1 mol L⁻¹, pH 7,0. Vazão de 2,5 mL min⁻¹ e volume injetado 125 μL.

I.4.5.2. Otimização do eletrodo íon-seletivo para cloreto

A. Volume

No eletrodo para cloreto observou-se um comportamento semelhante ao eletrodo para sódio, onde para volumes pequenos obtiveram-se também sinais menores e, à medida que este foi aumentado, o valor do potencial incrementou-se, atingindo um sinal máximo o qual indica uma saturação da membrana do eletrodo. Da Figura 1.31 observa-se que não há mais aumento apreciável do potencial do eletrodo para volumes maiores que 125 μL, pelo qual este volume foi escolhido.

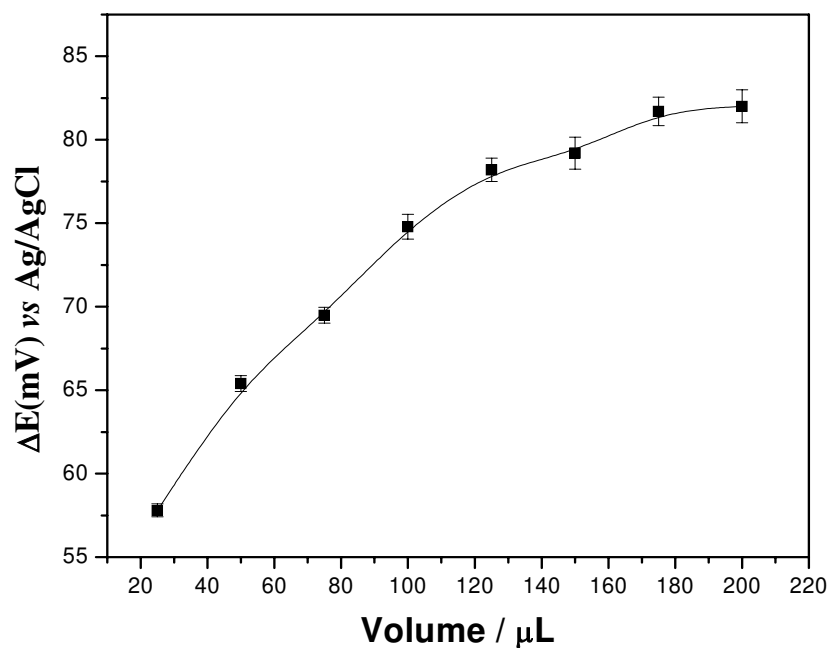


Figura 1.31. Curva mostrando a resposta do eletrodo em função do volume injetado numa vazão de $2,5 \text{ mL min}^{-1}$, para uma concentração de cloreto de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

B. Vazão

No que diz respeito ao estudo da vazão, observa-se na Figura 1.32 que quando vazões maiores foram usadas o sinal analítico também aumentava até atingir um patamar numa vazão de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$. Este comportamento pode ser devido ao rápido tempo de resposta do eletrodo. Já as baixas respostas obtidas em vazões menores podem ser devidas à dispersão da amostra antes desta chegar no detector. Para estudos posteriores uma vazão de $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ foi escolhida, pois isto nos permitiria ter uma boa frequência analítica.

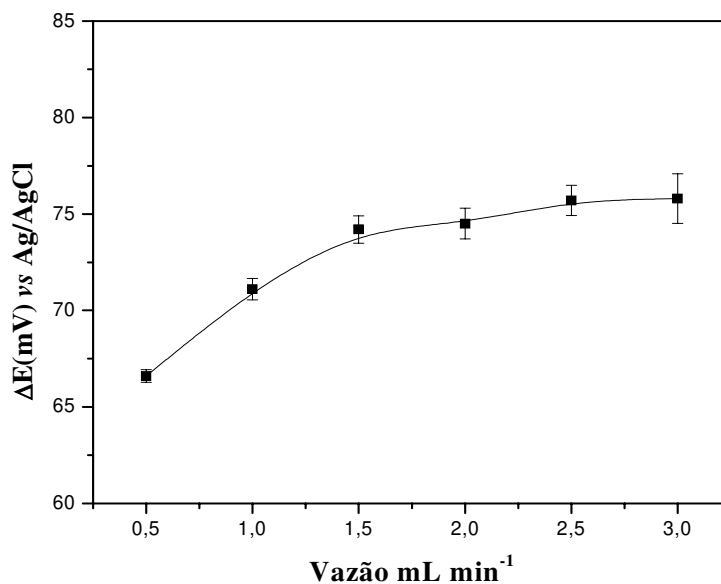


Figura 1.32. Curva mostrando a resposta do eletrodo em função da vazão para o eletrodo sensível a cloreto, com um volume injetado de 125 μL . Para uma concentração de cloreto de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

C. Desempenho do sensor em sistema FIA

A Figura 1.33 mostra os sinais das soluções padrão obtidos para o eletrodo sensível a cloreto empregando-se o sistema FIA. Para isto 3 injeções sucessivas para cada solução padrão em tampão TRIS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 foram realizadas. O sistema permitiu uma frequência analítica de 60 amostras por hora e a repetibilidade, expressa como a estimativa do desvio padrão relativo (DPR) para 12 medidas, foi inferior a 2,3%, o que permite verificar uma boa repetibilidade.

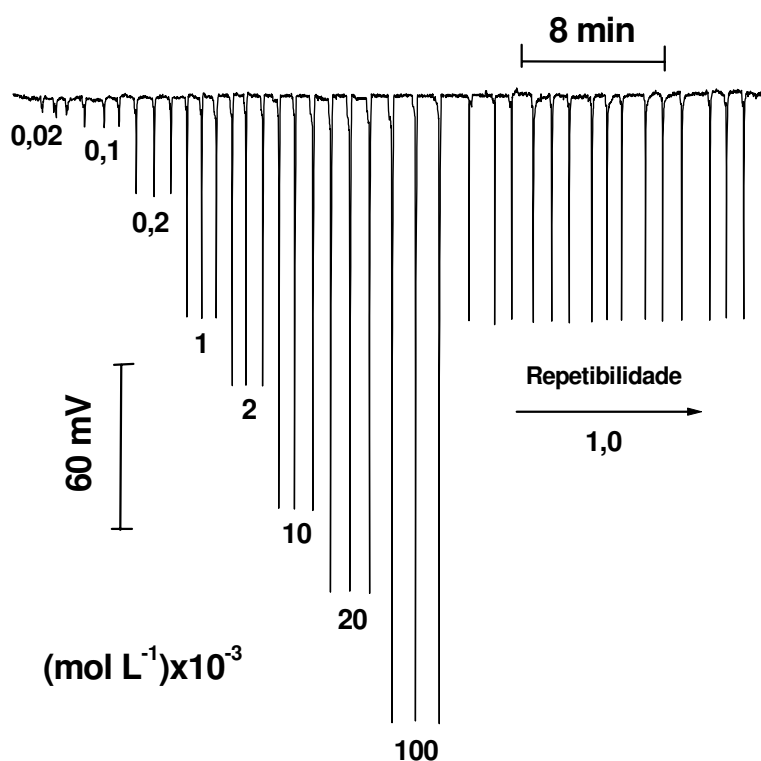


Figura 1.33. Fiagrama das injeções de cloreto obtidas numa faixa de $2,0 \cdot 10^{-5}$ a $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, e injeções de uma concentração fixa de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para cálculo da repetibilidade, em tampão TRIS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0. Vazão = $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ e volume injetado $125 \mu\text{L}$.

O eletrodo tubular íon-seletivo para cloreto sob as condições otimizadas, respondeu nernstianamente no sistema FIA proposto, apresentando uma resposta linear na faixa de $1,0 \cdot 10^{-4}$ a $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ com uma sensibilidade de 57 mV por década de concentração e um limite de detecção de $8,8 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de acordo com a Figura 1.34.

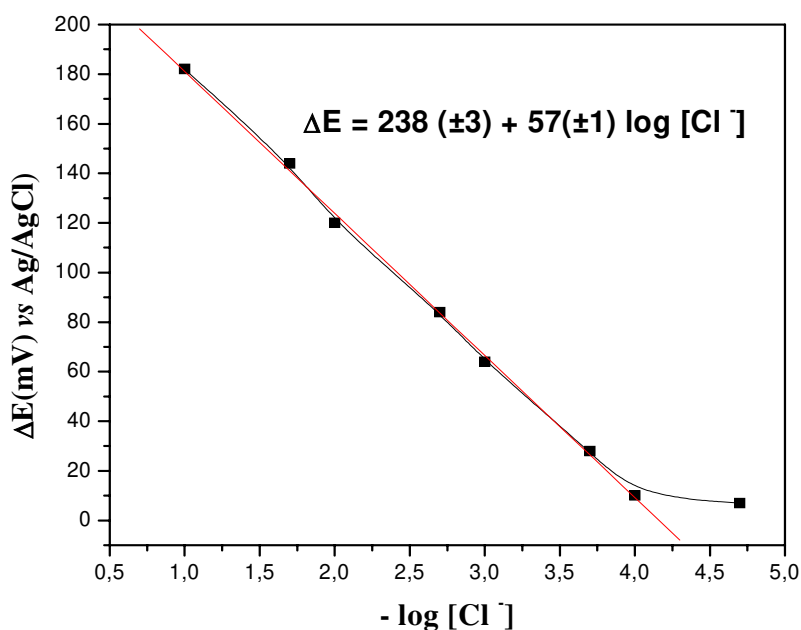


Figura 1.34. Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para cloreto, em tampão TRIS 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0. Vazão = 2,5 mL min⁻¹ e volume injetado de 125 μL.

Da mesma forma que para os eletrodos descritos (sódio e cloreto) os eletrodos tubulares íon-seletivo para cálcio e potássio também foram otimizados no sistema FIA, e apresentaram valores de volumes de injeção e vazão de 125 μL e 2,5 mL min⁻¹, respectivamente.

Em relação aos parâmetros analíticos, tais como: faixa linear e limite de detecção todos os eletrodos foram similares com exceção do eletrodo sensível a cloreto, o qual apresentou menor faixa linear e maior limite de detecção como pode ser observado na Tabela 1.5.

Tabela 1.5. Parâmetros analíticos no sistema FIA para os eletrodos tubulares sensíveis a cálcio, potássio, sódio e cloreto.

Parâmetros analíticos	Ca²⁺	K⁺	Na⁺	Cl⁻
Faixa linear (mol L ⁻¹)	10 ⁻⁵ –10 ⁻¹	10 ⁻⁵ –10 ⁻¹	5,0 10 ⁻⁵ –10 ⁻¹	10 ⁻⁴ – 10 ⁻¹
Sensibilidade (mV década ⁻¹)	25(±1)	51(±2)	60(±1)	57(±2)
Limite de detecção (mol L ⁻¹)	5,6 10 ⁻⁶	9,8 10 ⁻⁶	4,0 10 ⁻⁵	8,8 10 ⁻⁵
Frequência Analítica (amostras/h)	42	50	54	60
Repetibilidade (% (n))	2,2 (10)	1,8 (12)	1,5 (12)	2,3 (15)

n = número de medidas.

Além disso, observou-se que o eletrodo de cálcio apresentou uma menor frequência analítica, como já era esperado pelo seu maior tempo de resposta quando comparado com os demais eletrodos.

A repetibilidade dos eletrodos para uma concentração fixa de cada íon de 1,0 10⁻³ mol L⁻¹, expressa como a estimativa do desvio padrão relativo para várias repetições, foi de 2,2; 1,8; 1,5 e 2,3 % para os eletrodos de cálcio, potássio, sódio e cloreto, respectivamente.

I.4.6. Tempo de vida dos eletrodos em FIA

O tempo de vida dos eletrodos em FIA foi também avaliado, já que a passagem contínua da solução no sistema em fluxo, pode influenciar na durabilidade do eletrodo, devido principalmente a lixiviação dos componentes da membrana.

Desta forma, os eletrodos tubulares desenvolvidos para sistema em fluxo foram monitorados por um período de até dois meses, onde foram realizadas mais de 100 determinações. Estes eletrodos apresentaram bom desempenho e não houve uma perda significativa na sensibilidade, como pode ser observado nas Figuras 1.35, 1.36 e 1.37. Após um mês de uso, houve um pequeno decréscimo na sensibilidade do eletrodo, no entanto estes continuaram respondendo por um longo período de tempo.

Por exemplo, para o eletrodo sensível a cloreto (Figura 1.36), observa-se que depois de um mês a sensibilidade do eletrodo diminuiu em aproximadamente 6%. Contudo esta variação não significou nenhum problema para as análises, uma vez que, periodicamente curvas de calibração para o eletrodo podem ser obtidas.

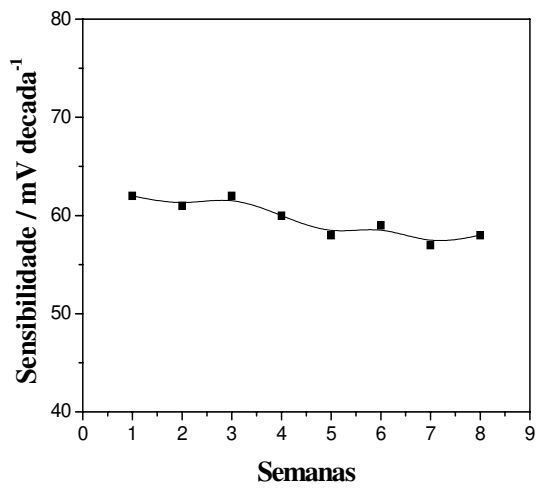


Figura 1.35. Sensibilidade do eletrodo íon-seletivo para sódio em função do tempo.

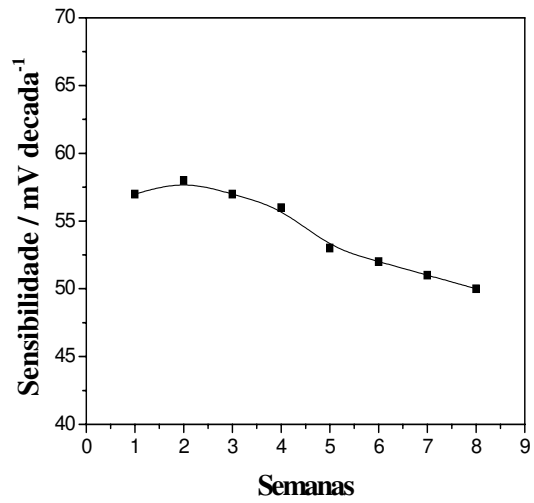


Figura 1.36. Sensibilidade do eletrodo íon-seletivo para cloreto em função do tempo.

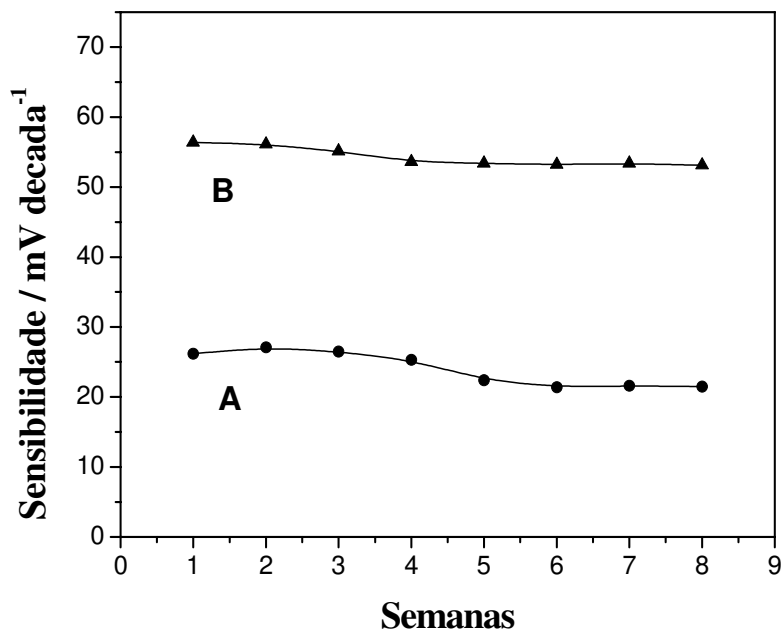


Figura 1.37. Sensibilidade dos eletrodos íon-seletivo para potássio (A) e cálcio (B) em função do tempo.

I.4.7. Determinação simultânea de cálcio, potássio e cloreto utilizando sistema FIA

Após os eletrodos íon-seletivos para cálcio, potássio, e cloreto serem otimizados independentemente no sistema FIA, estes foram colocados em série como indicado na Parte Experimental (Item I.3.5.2), com o eletrodo de referência no final da linha para realizar a determinação simultânea destes íons. O eletrodo íon-seletivo para sódio não foi considerado na determinação simultânea, porque este apresentou alta interferência analítica do íon potássio, verificada pelo coeficiente de seletividade potenciométrica apresentada $K_{Na,K}^{POT} = 0,44$.

Os parâmetros analíticos comuns, tais como: pH, tampão, concentração do tampão, volume de injeção e vazão, foram escolhidos de tal forma que sejam comuns a todos os eletrodos tubulares íon-seletivos para realizar a determinação simultânea dos três íons.

Um pH de 7,0 foi escolhido para o sistema simultâneo, já que uma ampla faixa comum de pH entre 3,0 e 8,0, foi obtida para todos os eletrodos.

Assim também foi escolhido o tampão TRIS, já que este apresentou melhor performance analítica para todos os íons, o qual foi utilizado como carregador na análise simultânea em sistema FIA. Por outro lado, o ajuste de pH do tampão TRIS foi realizado utilizando-se soluções de H_2SO_4 e CH_3COOH em concentrações de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, nas quantidades necessárias para evitar interferência analítica com o íon cloreto e reação química do íon sulfato com o cálcio, por isso como precaução: a quantidade de H_2SO_4 adicionada foi muito menor que a necessária para precipitar o cálcio.

Os parâmetros otimizados para a determinação simultânea encontram-se resumidos na Tabela 1.6.

Tabela 1.6. Parâmetros otimizados para a determinação simultânea dos íons cálcio, potássio e cloreto com os eletrodos tubulares íon-seletivo.

Parâmetros	Condições ótimas
pH	7,0
Tampão	TRIS
Concentração do Tampão	0,1 mol L ⁻¹
Volume de injeção	125 µL
Vazão	2,5 mL min ⁻¹

I.4.7.1. Desempenho dos eletrodos no sistema simultâneo em FIA

Uma vez otimizados os parâmetros, injeções sucessivas de soluções contendo KCl e CaCl₂ foram realizadas. Os fiagramas obtidos com os três eletrodos simultaneamente, utilizando o arranjo de eletrodos em série, são observados na Figura 1.38. As medidas foram realizadas em triplicata e as respostas analíticas para cada eletrodo, obtidas simultaneamente, são representadas pelas seguintes equações:

$$\Delta E = (157 \pm 2) - (26,6 \pm 0,6) pCa^{2+}$$

$$\Delta E = (2605 \pm 3) - (51,8 \pm 0,9) pK^+$$

$$\Delta E = (-238 \pm 2) - (57,3 \pm 0,9) pCl^-$$

Observa-se que as sensibilidades obtidas simultaneamente para cada eletrodo no sistema FIA, não apresentaram variação significativa quando comparados com cada eletrodo usado independentemente (Tabela 1.5), o qual indica que o sistema aqui proposto pode ser utilizado em análises simultâneas sem perda da sensibilidade na resposta do eletrodo.

O sistema permitiu uma frequência analítica de 40 amostras por hora para cada eletrodo, conseqüentemente, para o sistema simultâneo proposto 120 determinações por hora podem ser realizadas. Cabe ressaltar, que a posição dos eletrodos no arranjo não influenciou significativamente na sensibilidade, isto muito provavelmente se deva à alta seletividade que os eletrodos apresentam entre eles.

A estabilidade dos eletrodos no sistema simultâneo é também um fator importante a ser verificado. Para isto medidas sucessivas foram realizadas por um tempo prolongado, da qual observou-se que os eletrodos apresentaram boa estabilidade, sendo que o eletrodo de potássio foi o melhor dos três, apresentando uma diminuição de apenas 2% na resposta relativa depois de 50 determinações. Os eletrodos de cálcio, potássio e cloreto apresentaram diminuição de 6, 5 e 10%, respectivamente para o mesmo procedimento descrito para o eletrodo íon-seletivo para potássio.

I.4.7.2. Determinação simultânea de cálcio, potássio e cloreto em amostras de suco com o sistema FIA proposto

O sistema FIA potenciométrico com arranjo de eletrodos em série proposto para determinação de íons cálcio, potássio e cloreto, foi utilizado e bons resultados foram obtidos na análise de amostras de sucos de diferentes procedências (marcas diferentes). Os sinais obtidos para estas amostras podem ser observados na Figura 1.38.

Os resultados obtidos foram comparados com os correspondentes métodos de referência: fotometria de chama para cálcio e potássio, e volumetria de precipitação (método de Mohr) para cloreto. Os resultados obtidos se encontram resumidos na Tabela 1.7 e estes foram muito próximos quando comparados com os métodos de referência. No entanto, para o cloreto encontra-se uma diferença maior. Isto pode ser devido ao fato de que a amostra apresentava uma certa turbidez, e o ponto final da titulação foi de difícil visualização, requerendo um excesso de titulante.

Uma vez que os resultados encontrados com o eletrodo íon-seletivo e a fotometria de chama para cálcio e potássio foram muito próximos, isto nos indica que o cálcio e potássio estão na sua forma livre nas amostras estudadas.

Nas análises das diferentes amostras de sucos, os resultados quando comparados com o método de referência foram estatisticamente iguais num nível de confiança de 95%, utilizando o teste “t” pareado.

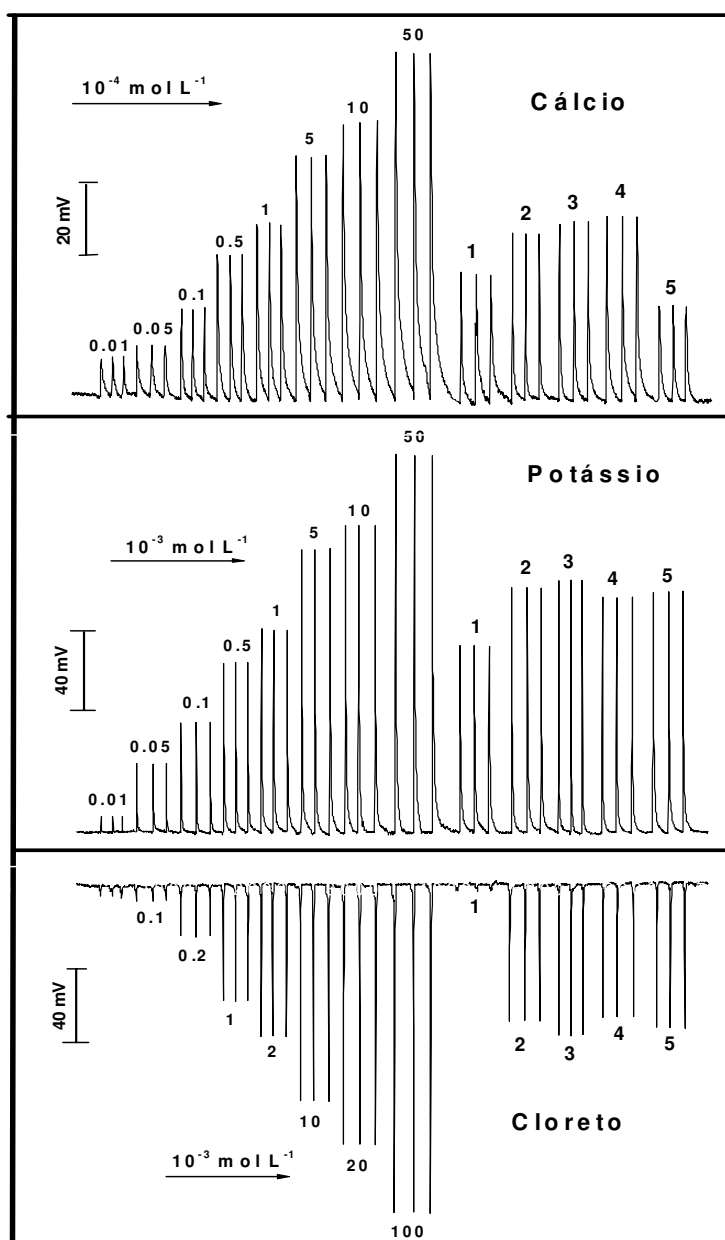


Figura 1.38. Diagramas obtidos com o sistema FIA potenciométrico proposto utilizando o arranjo de eletrodos, assim como os sinais para as cinco diferentes amostras analisadas. Volume de injeção = 125 μL , Vazão = 2,5 mL min^{-1} . Tampão TRIS 0,1 mol L^{-1} , pH 7,0. Amostras 1-5. Temperatura ambiente = $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

Tabela 1.7 Resultados obtidos para determinação simultânea de cálcio, potássio e cloreto em amostras de sucos utilizando sistema FIA e o respectivo método de referência.

Amostra	Cálcio		Potássio		Cloreto	
	ISE*	Fotom. Chama*	ISE*	Fotom. Chama*	ISE*	Volumétrico*
#1	7±1	7±1	124±12	114±9	n.d.**	14±2
#2	17±1	17±1	475±15	498±15	247±12	260±18
#3	21±1	22±1	577±18	567±10	343±10	353±15
#4	25±1	27±1	376±14	425±20	223±15	262±4
#5	3,0±1	3±1	425±16	410±12	294±21	315±14

* Estimativa do desvio padrão para três determinações.

** Não determinado.

Resultados em mg de analito para cada 200 mL de suco.

I.5. CONCLUSÕES

O desenvolvimento de eletrodos íon-seletivo para cálcio, sódio, potássio e cloreto foi realizado com sucesso. Estes eletrodos apresentaram um comportamento nernstiano com ampla faixa de resposta linear em estado estacionário, assim como boa repetibilidade e longo tempo de vida.

A construção dos eletrodos tubulares para cada um dos íons em questão foi realizada, e sua incorporação no sistema em fluxo foi satisfatória. Estes eletrodos apresentaram sensibilidade, faixa linear e limite de detecção similares quando comparados com os eletrodos em estado estacionário.

Foi possível encontrar parâmetros comuns, tais como: pH, tampão, concentração do tampão, volume de injeção e vazão, para os eletrodos de cálcio, potássio e cloreto que permitiram realizar as determinações simultâneas, utilizando o arranjo de eletrodos em série acoplados no sistema FIA.

O íon sódio não foi possível de ser incluído no arranjo de eletrodos, uma vez que o eletrodo íon-seletivo para sódio apresentou alta interferência do íon potássio.

O sistema FIA potenciométrico para determinações simultâneas proposto aqui, mostrou-se satisfatório para determinação de cálcio, potássio e cloreto em amostras de sucos de frutas.

Os resultados obtidos quando comparados com os métodos de referência utilizados, foram estatisticamente iguais num nível de confiança de 95%.

Assim, se faz possível a incorporação do sistema proposto em análises industriais em linha, onde tempos rápidos de análises são requeridos, com um sistema simples e de baixo custo.

Embora os eletrodos aqui desenvolvidos, apresentem características semelhantes aos eletrodos já reportados na literatura, este trabalho permitiu verificar a potencialidade destes eletrodos em análises simultânea e a viabilidade de serem empregados em análises de alimentos.

I.6. REFERÊNCIAS

1. Morf, W. E.; “*The Principles of Ion-Selective Electrodes and of Membrane Transport*”, Elsevier, New York, **1981**.
2. Janata, J. “*Principles of Chemical Sensors*”, Plenum P. C. New York, **1989**.
3. Armstrong, R. D.; Horvai, G.; *Electrochim. Acta* 35 (**1990**) 1.
4. Mi, Y.; Bakker, E.; *Anal. Chem.* 71 (**1999**) 5279.
5. Qin, Y.; Mi, Y.; Bakker, E.; *Anal. Chim. Acta* 421 (**2000**) 207.
6. Bakker, E.; Buehlmann, P.; Pretsch, E.; *Chem. Rev.* 97 (**1997**) 3083.
7. Kossoy, A. D.; Risley, D. S.; Kleyale, R. M.; Nurok, D.; *Anal. Chem.* 64 (**1992**) 1345.
8. Dinten, O.; Spichiger, U. E.; Chaniotakis, N.; Gehrig, P.; Rusterholz, B., Morf, W. E.; Simon, E.; *Anal. Chem.* 63 (**1991**) 596.
9. Morf, W. E.; Ammann, D.; Simon, W.; *Chimia* 28 (**1974**) 65.
10. Morf, W. E.; Kahr, G.; Simon, W.; *Anal. Lett.* 7 (**1974**) 9.
11. Mi, Y.; Green, C.; Bakker, E.; *Anal. Chem.* 70 (**1998**) 5252.
12. Amemiya, S.; Buehlmann, P.; Umezawa, Y.; *Anal. Chem.* 70 (**1998**) 445.
13. Fiedler, U.; *Anal. Chim. Acta* 89 (**1977**) 111.
14. Bedlechowicz, I.; Maj-Zurawaska, M.; Sokalski, T.; Hulanicki, A.; *J. Electroanal. Chem.* 537 (**2002**) 111.
15. Skeist, H.; “*Handbook of Adhesives*”, 2nd Edition, Van Nostrand Reinhold, New York, **1977**, pp. 484.
16. Burtis, A. C.; Ashwood, R. E.; “*Tietz Textbook of Clinical Chemistry*”, 3rd Edition, W. B. Saunders Company, Philadelphia, **1999**, pp. 1395.
17. Luther, R. Z.; *Phys. Chem.* 27 (**1898**) 365.
18. Ross, J. W.; *Science* 156 (**1967**) 3780.
19. Esbensen, K.; Geladi, P.; *Chemom. Intel. Lab. Syst.* 2 (**1987**) 37.
20. Ohki, A.; Ping, L.; Hallman, J. L.; Huang, X.; Bartsch, R. A.; *Anal. Chem.* 67 (**1995**) 2405.
21. Steiner, R. A.; Oehme, M.; Ammann, D.; Simon, W.; *Anal. Chem.* 51 (**1979**) 351.
22. Westly, J. W.; *Adv. Appl. Microbiol.* 22 (**1977**) 177.
23. Lutz, W. K.; Wipg, H. K.; Simon W.; *Helv. Chim. Acta* 53 (**1970**) 205.
24. Suzuki, K.; Tohda, K.; Aruga, H.; Matsuzue, M.; Ivone, H.; Shirai, T.; *Anal. Chem.* 60 (**1988**) 1714.

25. Tohda, K.; Suzuki, K.; Kosuge, N.; Nagashina, N.; Watarabe, K.; Ivone, H.; Shirai, J.; *Anal. Sci.* 6 (1990) 227.
26. Cadogan, A.; Gao, Z.; Lewenstam, A.; Ivaska, A.; *Anal. Chem.* 24 (1992) 2496.
27. Buhlmann, P.; Pretsch, E.; Bakker, E.; *Chem. Rev.* 98 (1998) 1593.
28. Morf, W. E.; Simon, W.; *Helv. Chim. Acta* 54 (1971) 2683.
29. Rothmaier, M.; Simon, W.; *Anal. Chim. Acta* 271 (1991) 135.
30. Wegmann, D.; Weiss, H.; Ammann, D.; Morf, W. E.; Pretsch, E.; Sugahara, K.; Simon, W.; *Microchim. Acta* 3 (1984) 1.
31. Park, C. H.; Simmons, H. E.; *J. Am. Chem. Soc.* 24 (1968) 2431.
32. Schmidtchen, F. P.; *Chem. Ber.* 114 (1981) 597.
33. Dietrich, B.; Fyles, D. L.; Fyles, T. M.; Lehn, J. M.; *Helv. Chim. Acta* 62 (1979) 2763.
34. Schulthess, P.; Ammann, D.; Kräutler, B.; Caderas, C.; Stepánek, R.; Simon W.; *Anal. Chem.* 57 (1985) 1397.
35. Meyerhoff, M. E.; Pretsch, E.; Welti, D. H.; Simon, W.; *Anal. Chem.* 59 (1987) 144.
36. Katz, H. E.; *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 7640.
37. Wuthier, U.; Pham, H. V.; Zünd, R.; Welti, D.; Funck, R. J. J.; Bezegh, A.; Ammann, D.; Pretsch, E.; Simon, W.; *Anal. Chem.* 56 (1984) 535.
38. Nadeau, F.; Simard, M.; Wuest, J. D.; *Organometallics* 9 (1990) 1311.
39. Kachanovskii, A. E.; Shevchenko, U. N.; Petrukhin, O. M.; Dunina, U. V.; Zolotov, Y. A.; *J. Anal. Chem. USSR* 36 (1981) 1667.
40. Wuest, J. D.; Zacharle, B.; *Organometallics* 4 (1985) 410.
41. Beauchamp, A. L.; Olivier, M. J.; Wuest, J. D.; Zacharie, B.; *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 73.
42. Pranis, D. M.; Meyerhoff, M. E.; *Anal. Chim. Acta* 217 (1989) 123.
43. Van Staden, J. F.; Stefan, R. I.; *Talanta* 49 (1999) 1017.
44. Cosofret, V. V.; Erdosy, M.; Timothy, A. J.; Buck, R. P.; Bruce Ash, R.; Neuman, M. R.; *Anal. Chem.* 67 (1995) 1647.
45. Takashi, M.; Risa, S.; Yasukazu, A.; *Talanta* 52 (2000) 1123.
46. Pérez-Olmos, R.; Rios, A.; Fernández, J. R.; Lapa, R. S. A.; Lima, J. L. F. C.; *Talanta* 53 (2001) 741.
47. Hara, H.; Yabuchi, K.; Mayumi, H.; Masahiro, O.; *Anal. Chim. Acta* 364 (1998) 117.
48. Chen, Z.; Adams, M. A.; *Talanta* 47 (1998) 779.
49. Abbaspour, A.; Tavakol, F.; *Anal. Chim. Acta* 378 (1999) 145.
50. Elmosallamy, M. A. F.; Mohamed, R. A.; *Anal. Lett.* 30 (1997) 2175.
51. Atef, A. O.; Sweileh, J. A.; *Talanta* 51 (2000) 993.

52. Oliveira, C. M. R. R.; Rebelo, M. J. F.; Camões, M. F. G. F. C.; *Analyst* 121 (1996) 1907.
53. Yu, R. Q.; Zhang, Z.; Shen, G. L.; *Sens. Actuators B* 65 (2000) 150.
54. Liu, D.; Chen, W. C.; Shem, G. L.; Yu, R. Q.; *Analyst* 121 (1996) 1495.
55. Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *Analyst* 109 (1984) 413.
56. Izquierdo, A.; Luque de Castro, M. D.; *Electroanalysis* 7 (1995) 505.
57. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; Zagatto, E. A.; *Anal. Chim. Acta* 88 (1977) 1.
58. Mascini, M.; Palleschi, G.; *Anal. Chim. Acta* 145 (1983) 213.
59. Hansen, E. H.; Ruzicka, J.; Ghose, A. K.; *Anal. Chim. Acta* 100 (1980) 151.
60. Van Standen, J. F.; *Analyst* 111 (1986) 1231.
61. Ratton, L.; Kunt, T.; Mcavoy, T.; Fuja, T.; Cavicchi, R.; Semanci, S.; *Sens. Actuators B* 41 (1997) 105.
62. Stefan, R. I.; Staden, J. F.; Hassan Y. A. E.; *Crit. Rev. Anal. Chem.* 29 (1999) 133.
63. Vlasov, Y., Legin, A.; *Fresenius J. Anal. Chem.* 361 (1998) 255.
64. Ferreira, I. M. P. L. V. O., Lima, J. L. F. C.; *J. Flow Injection Anal.* 10 (1993) 17.
65. Slanina, J.; Lingerak, W. A.; *Anal. Chim. Acta* 117 (1980) 91.
66. Opdycke, W. N.; Parkas, S. J.; Meyerhoff, M. E.; *Anal. Chim. Acta* 155 (1983) 11.
67. Hauser, P. S.; Cardiwall, T. J.; Cattrall R. W.; Tan, S. S.; Hamilton I. C.; *Anal. Chim. Acta* 221 (1989) 139.
68. Montenegro, M. C. S. M.; Lima, J. L. F. C.; Mattos, I. L.; Oliveira Neto, G.; Gomes Neto, J. A.; Zagatto, E. A. G.; *Talanta* 40 (1993) 1563.
69. Alegret, S.; Alonso, J.; Bartroli, J.; Paulís, J. M.; Lima, J. L. F. C.; Machado, A. A. S. C.; *Anal. Chim. Acta* 164 (1984) 147.
70. Arújo, A. N.; Etxebarria, M. B.; Lima, J. L. F. C.; Montengro, M. C. B. S. M.; Olmos, R. P.; *Anal. Chim. Acta* 293 (1994) 35.
71. Ferreira, . M. P. L. V. O.; Lima, J. L. F. C.; Montengro, M. C. B. S. M.; Olmos, R. P.; Rios, A.; *Analyst* 121 (1996) 1393.
72. Alonso, J.; Bartrolí, J.; Jun, S.; Lima, J. F. L. C.; Montenegro, M. S. B. S. M.; *Analyst* 118 (1993) 1527.
73. Steven, N.; Chin, S. C.; Philip, E. S.; “*Fruit juice processing technology*”, Auburndale, Florida, USA, 1993, pp. 20.
74. Helmke, P. A.; Ney, D. M.; *J. Agric. Food Chem.* 40 (1992) 1547.
75. Chen, Z.; Adams, A. A.; *Talanta* 47 (1998) 779.

76. Diamond, D.; Forster, R. J.; *Anal. Chim. Acta* 276 (1993) 75.
77. Forster, R. J.; Regen F.; Diamond, D.; *Anal. Chem.* 63 (1991) 876.
78. Fernandes, J.C.B.; Neto, G.O.; Rohwedder, J. J. R.; Kubota, L, T.; *J. Braz. Chem. Soc.* 11 (2000) 349.
79. Pretsch, E.; Ammann, D.; Oswald, H. F.; Guggi, M.; Simon, W.; *Helv. Chim. Acta* 63 (1980) 191.
80. Anker, D.; Wieland, E.; Ammann, D.; Dohner, R. E.; Asper, R.; Simon, W.; *Anal. Chem.* 53 (1981) 1970.
81. Behringer, C.; Lehmann, B.; Haug, J. P.; Seiler, K.; Morf, W. E.; Hartman, K.; Simon, W.; *Anal. Chim. Acta* 233 (1990) 41.
82. Chumbimuni-Torres, K. Y.; Tese de Mestrado, UNICAMP, T636d, fevereiro, 2001.
83. Umezawa, Y.; Umezawa, K.; Sato, H.; *Pure Appl. Chem.* 67 (1995) 507.
84. Gadzekpo, U. P. Y.; Christian, G. D.; *Anal. Chim. Acta* 164 (1984) 279.
85. Baccan, N.; Andrade, J. C.; Godinho, O. E. S.; Barone, J. S.; “*Química Analítica Quantitativa Elementar*”, Edgard Blücher Ltda. São Paulo, 2001, pp. 230.
86. Schefer, U.; Ammann, D.; Pretsch, E.; Oesch, U.; Simon, W.; *Anal. Chem.* 58 (1986) 2282.
87. Telting-Diaz, M.; Bakker, E.; *Anal. Chem.* 73 (2001) 5582.
88. Atkins, A.; Jonnes, L.; “*Princípios de química*”, Editora Bookman, Porto Alegre, 2001, pp. 584.
89. Buck, R. P.; Linder, E.; *Pure Appl. Chem.* 66 (1994) 2528.
90. Ammann, D.; Guggi, M.; Pretsch, E.; Simon, E.; *Anal. Lett.* 67 (1975) 709.
91. El-Jammal, A.; Bouklouze, A. A.; Patriarcho, G. J.; *Talanta* 38 (1991) 929.
92. Hauser, P. C.; Chiand, D. W. L.; Wrigth, G. A.; *Anal. Chim. Acta* 302 (1995) 241.
93. Wegmann, D.; Weiss, H.; Ammann, D.; Morf, W. E.; Pretsch, E.; Sugahara, K.; Simon, W.; *Microchim. Acta* 3 (1984) 1.
94. Maruizumi, T.; Wegmann, D.; Suter, G.; Ammann, D.; Simon, W.; *Microchim. Acta* 1 (1986) 331.

**DESENVOLVIMENTO DE
ELETRODOS ÍON-SELETIVOS DE
CONTATO SÓLIDO COM BAIXO
LIMITE DE DETECÇÃO**

CAPITULO II



II.1. Introdução

Há alguns anos foi evidente a diminuição da pesquisa na área dos sensores potenciométricos, possivelmente por acreditar-se que tudo nesta área estava muito bem entendido e não existia a possibilidade para novos avanços. No entanto, mesmo que a potenciometria tenha completado mais de cem anos, muitos aspectos sobre o mecanismo de resposta dos eletrodos potenciométricos e sua seletividade não foram inteiramente compreendidos, o qual motivou o surgimento de estudos que conduziram a elucidar estas lacunas e levar a um melhor entendimento deste tipo de eletrodo originando novas perspectivas de pesquisa nesta área.

Uma classe de eletrodos potenciométricos, são os eletrodos íon-seletivos (ISEs) que embora conhecidos e amplamente estudados durante muitos anos, suas aplicações foram limitadas somente a algumas áreas de análises, devido a duas principais limitações: altos limites de detecção e baixa seletividade.

No entanto, tais limitações vêm sendo superadas nos últimos anos, e foram possíveis somente após verificar que o uso de agentes complexantes, como tampões iônicos, na solução amostra melhoravam substancialmente o limite de detecção dos ISEs de contato líquido [1,2], indicando que os altos limites de detecção obtidos na ausência de tais agentes complexantes não era uma propriedade intrínseca do eletrodo. Isto evidenciou que tais limites de detecção alcançados eram devido ao fato de que os íons primários da membrana eram liberados (lixiviados) para a solução amostra [3].

Por exemplo, para uma membrana íon-seletiva que contém uma concentração do ionóforo ligado ao íon primário na ordem de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$,

com uma espessura de 200 μm e um raio de 5 mm, a quantidade de íons primários nesta membrana é de 80 nmol. Se existisse um mecanismo que liberasse somente 1% destes íons numa solução de um volume de 10 mL, esses íons poderiam concentrar a amostra em 80 nmol L⁻¹. Na prática os desvios observados nas medidas eram ainda maiores, uma vez que os ISEs são sensíveis a mudanças de concentração na interface membrana/solução, e não no *bulk* (interior) da solução [4]. Conseqüentemente, os mais baixos limites de detecção encontrados estavam em níveis de micromolar ($\sim 1,0 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹).

Além disso, nos ISEs convencionais, também ficou comprovado que o íon primário pode difundir-se da solução interna do eletrodo através da membrana para a solução amostra, originando uma alta concentração de íons primários na interface membrana/solução, mesmo que a solução amostra não contenha íons primários. Esta difusão acontece pois soluções internas de alta concentração ($\sim 1,0 \cdot 10^{-2}$ mol L⁻¹) são usualmente empregadas [5].

No entanto, esta situação tem mudado drasticamente nos últimos anos, e hoje é possível construir ISEs para vários analitos com limites de detecção em níveis de partes por trilhão (10^{-10} mol L⁻¹), o qual tem redespertado o interesse na pesquisa por sensores potenciométricos. Em conseqüência, o número de estudos no desenvolvimento de ISEs com baixo limite de detecção vem aumentando dia a dia, e ao contrário de outras técnicas analíticas para a determinação em níveis de traço, estes avanços não foram conseguidos pela melhoria da técnica instrumental, mas pelo estudo de princípios químicos básicos e pela eliminação de desvios experimentais [6].

Um trabalho pioneiro neste sentido foi o reportado por Sokalski *et al.* em 1997 [7], onde pela primeira vez um limite de detecção em nível de

picomolar foi apresentado para o íon Pb^{2+} com eletrodo íon-seletivo de contato líquido. A partir deste trabalho o desenvolvimento de vários outros ISEs com baixos limites de detecção foi possível. Desta forma, podem-se encontrar ISEs para K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Cd^+ entre outros [8-10].

Em decorrência da impressionante melhora no limite de detecção de diversos ISEs, também foi possível a aplicação destes em amostras ambientais, que requerem baixos limites de detecção. Desta forma, tem sido demonstrado recentemente que o íon Pb^{2+} pode ser determinado em águas de consumo humano e amostras ambientais, como águas de rios, lagos, etc, com limite de detecção 10 vezes menor que o limite estabelecido pela agência de Proteção Ambiental (EPA) [11].

II.1.1. Limite de detecção

Desvios na resposta linear do eletrodo são normalmente observados em baixas atividades do íon primário (analito), e são estes desvios que determinam o limite de detecção de um ISE.

Segundo as recomendações da IUPAC [12] o limite de detecção de um ISE é definido como a concentração na qual, a força eletromotriz (FEM) apresenta um desvio da média da força eletromotriz na região A (Figura 2.1) por um múltiplo do erro padrão de uma única medida da força eletromotriz nesta região A. Na prática, o limite de detecção é normalmente referido como a concentração obtida da seção que cruza os dois segmentos lineares (linhas tracejadas na Figura 1.1) extrapolados da curva de calibração.

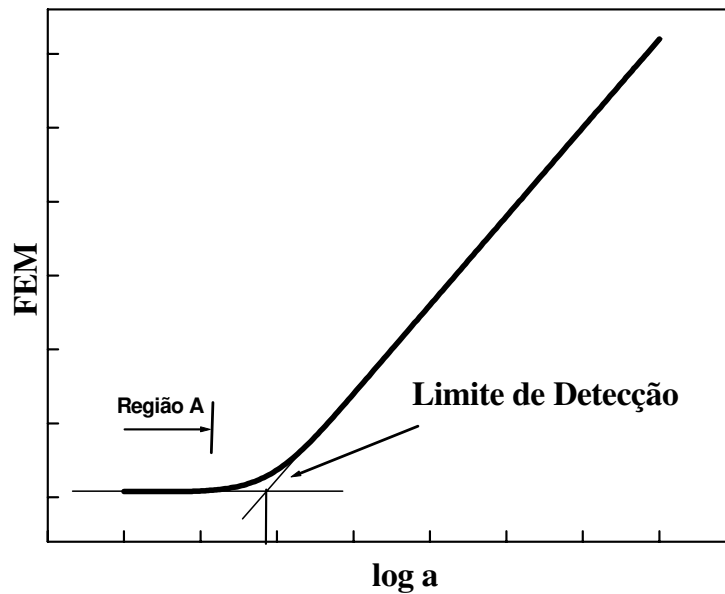


Figura 2.1. Limite de detecção de um eletrodo íon-seletivo segundo as recomendações da IUPAC [12].

Quando a atividade do íon primário é menor que o limite de detecção, a resposta do eletrodo está determinada pela atividade do íon interferente (a qual permanece constante) e não pela atividade do íon primário.

II.1.2. Mecanismos que influenciam o limite de detecção

Nos eletrodos íon-seletivos de membrana polimérica, dois importantes processos podem influenciar o limite de detecção: a co-extração e a contra-difusão. Pelo entendimento destes processos, melhoras significativas foram conseguidas na obtenção de baixos limites de detecção nos ISEs.

II.1.2.1. Processo de co-extração

A co-extração descreve a distribuição de um analito não complexado junto com um contra-íon entre uma fase aquosa e uma fase orgânica [13]. O processo de co-extração em membranas pode ocorrer através de três rotas diferentes:

1. Pela lixiviação do íon primário (I^+) juntamente com o íon lipofílico (R_T) da membrana para a solução [14]. Isto é possível de ser evitado pelo uso de íons lipofílicos com alta lipofilicidade, os quais são comercialmente disponíveis.
2. Pela extração dos íons primários (I^+) juntamente com o seu contra-íon (A^-) da solução interna para a membrana [9]. Este efeito é significativo se a solução interna é de alta concentração e os íons envolvidos são altamente lipofílicos.
3. Pela lixiviação do íon primário (I^+) juntamente com o seu contra-íon (A^-) ocluído na membrana (durante o condicionamento do eletrodo) antes do seu contato com a amostra. Este efeito é observado se ISEs são condicionados em soluções de alta concentração.

Em geral o processo de co-extração pode ser esquematizado segundo a Figura 2.3(A). Este esquema representa a situação onde cátions e ânions são co-extraídos da solução interna de alta concentração e transportados através da membrana, atingindo a solução amostra. Conseqüentemente, uma alta concentração de íons primários é originada na interface membrana/solução em relação ao *bulk* (interior) da amostra, e então altos limites de detecção são obtidos.

II.1.2.2. Processo de contra-difusão

O processo de contra-difusão ou troca iônica é definido como a troca de íons primários por íons interferentes entre a fase orgânica e a fase aquosa [15, 16]. Este tipo de mecanismo é principalmente induzido pela presença de alta concentração de íons interferentes, e pode ocorrer no lado da amostra ou no lado da solução interna, originando fluxos de íons em direções opostas como mostrado na Figura 2.2.

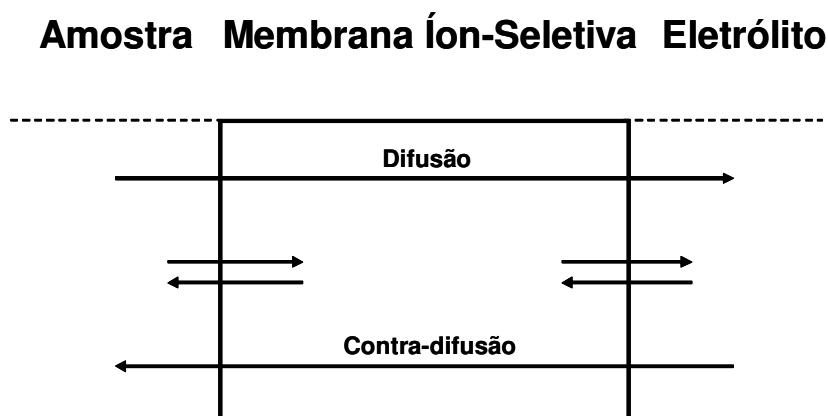


Figura 2.2. Esquema representativo da difusão e contra-difusão dos íons nas interfaces membrana/solução.

Se o eletrodo é exposto à amostra contendo íons interferentes como observado no esquema B da Figura 2.3, estes poderiam trocar-se com o íon primário, conduzindo a um decréscimo da concentração do íon primário na membrana do lado da amostra, originando um gradiente de concentração, o qual induz fluxos do íon primário da membrana para a amostra. Isto pode produzir uma elevada concentração de íons primários na interface membrana/solução, e neste caso, o equilíbrio de cargas é preservado pela

criação de fluxos do íon interferente da amostra para a solução interna. Tais concentrações elevadas do íon primário na interface foram observadas por microscopia eletrônica de varredura [17].

Como mencionado anteriormente, este fenômeno de troca iônica, pode também ocorrer na interface membrana/solução interna. Desta forma, como observado no esquema C da Figura 2.3, uma troca iônica parcial na interface membrana/solução interna poderia induzir a um decréscimo da concentração dos íons primários na direção da solução interna. Este fluxo reverso poderia, em princípio, atuar contra os efeitos mostrados no esquema A e B conduzindo a substanciais diminuições nos limites de detecção.

Amostra Membrana Íon-Seletiva Eletrólito Interno

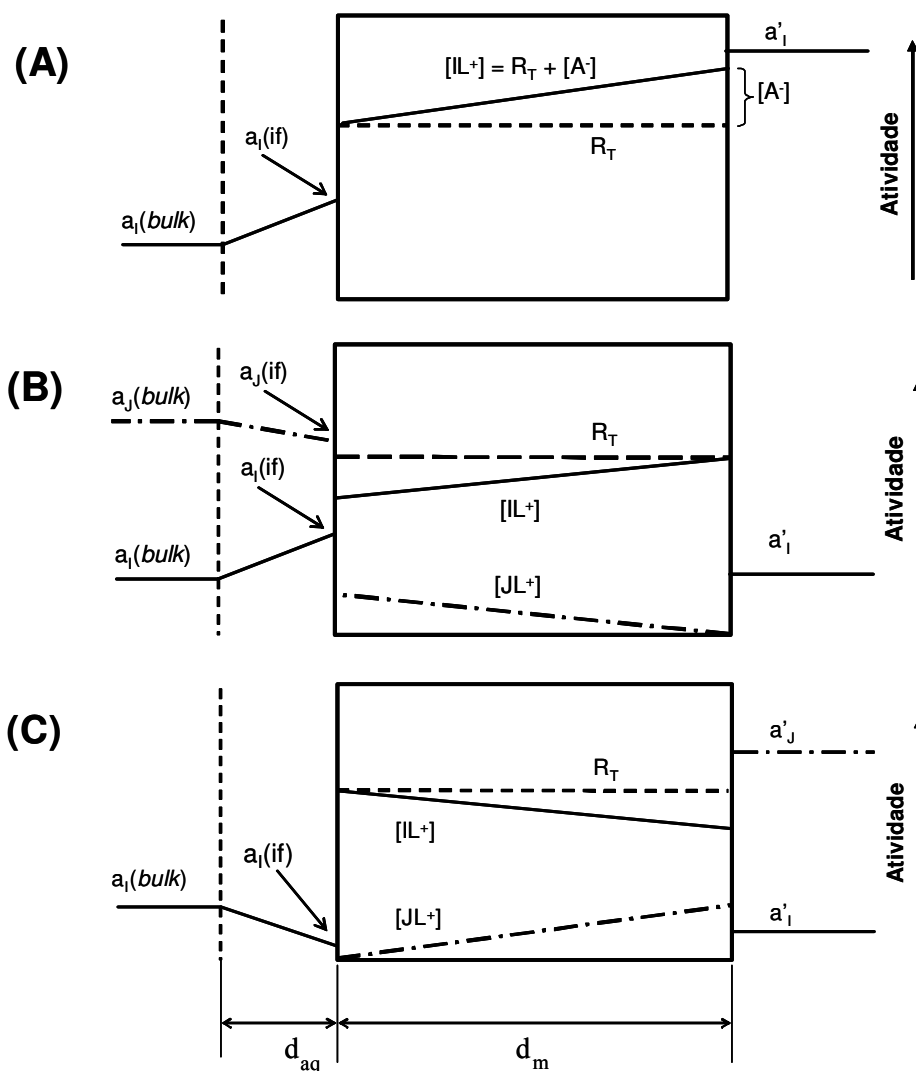


Figura. 2.3. Representação dos mecanismos que influenciam no limite de detecção dos ISEs. (A) Co-extração, (B) e (C) Contra-difusão. $[IL^+]$ e $[JL^+]$: concentrações na membrana do ionóforo com o íon primário e o interferente. R_T e $[A^-]$: concentrações na membrana do íon lipofílico e o contra-íon do íon primário. d_{aq} e d_m : espessuras da camada de difusão das fases aquosa e orgânica. $a_I(bulk)$ e $a_J(bulk)$: atividades do íon primário e do interferente no *bulk* da solução. $a_I(if)$ e $a_J(if)$: atividades do íon primário e do interferente na interface membrana/amostra. a'_I e a'_J : atividades do íon primário e do interferente na solução interna.

II.1.3. Meios para melhorar os limites de detecção

O limite de detecção dos ISEs pode ser melhorado diminuindo-se o fluxo dos íons no interior da membrana para interface membrana/solução [18]. Para a diminuição de tais fluxos, a composição da solução interna deve ser ajustada em relação ao da amostra com o objetivo de equilibrar os efeitos de contra-difusão e co-extração nas interfaces membrana/solução.

Observações iniciais neste aspecto foram realizadas com o ISE para K^+ baseado em valinomicina. Inicialmente, onde foi observado que o limite de detecção dependia fortemente da concentração da solução interna [13]. Da mesma forma, com o ISE para Ag^+ baseado no ionóforo altamente lipofílico, ditiocarbamato [18], foi observado que uma simples variação na concentração da solução interna de $1,0 \cdot 10^{-1}$ para $1,0 \cdot 10^{-6}$ conduzia a uma substancial redução no limite de detecção de $3,0 \cdot 10^{-5}$ para $1,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

No entanto, o trabalho mais relevante foi o apresentado por Sokalski *et al.* [7], que mostrou a primeira evidência de que a inclusão de complexantes (que atuam como tampões iônicos) na composição da solução interna conduzem a limites de detecção em nível de picomolar. Com este experimento, foi demonstrado que a diminuição da concentração da solução interna não era suficiente para atingir baixos limites de detecção. No entanto, era necessária uma troca de íons primários da membrana por íons interferentes da solução interna, que conduzam a uma pequena concentração de polarização dentro da membrana, originando um pequeno fluxo de íons para a solução interna de acordo com o processo de contra-difusão.

Embora uma substancial troca de íons na solução interna conduza a baixos limites de detecção, uma excessiva troca iônica pode ocasionar respostas super-nernstianas como explicado no esquema C da Figura 2.3.

Por este motivo, uma otimização da composição da solução interna que mantenha os fluxos do íon primário em equilíbrio nas interfaces da membrana é necessária [5]. Atualmente a composição da solução interna requerida pode ser prevista por alguns modelos teóricos estabelecidos [19, 20].

No entanto, mesmo que a composição da solução interna seja otimizada, qualquer mudança na composição da amostra pode induzir a alguma concentração de polarização na interface membrana. Assim, para superar este problema, os fatores que influenciam no surgimento de gradientes de concentração deveriam ser minimizados.

De acordo a condição de que os fluxos dos íons entre as ambas fases deveriam ser iguais, logo os gradientes de concentração iônica na camada de Nernst da fase aquosa ($c_I - c_{I,bulk}$) e da membrana ($[IL_n]' - [IL_n]$) podem ser relacionados da seguinte forma [21]:

$$\frac{c_I - c_{I,bulk}}{[IL_n]' - [IL_n]} = \frac{D_m d_{aq}}{D_{aq} d_m} = q$$

onde c_I e $c_{I,bulk}$ são as concentrações aquosas do íon primário na interface membrana/amostra e no *bulk* (interior) da amostra, respectivamente; $[IL_n]'$ é a concentração do íon primário complexado no lado interno da membrana; $[IL_n]$ é a concentração no lado externo da membrana; d_{aq} e d_m são a espessura da camada de Nernst do lado da amostra e a espessura da membrana, respectivamente, e D_m e D_{aq} são os coeficientes de difusão do íon primário na fase orgânica (membrana) e na fase aquosa (amostra), respectivamente. Assim, o valor do fator “q”, que é entendido como a razão dos coeficientes de difusão na membrana e na solução, é de

aproximadamente 10^{-3} , desde que as soluções sejam agitadas (espessuras de d_{aq} e d_m são aproximadamente iguais) e os coeficientes de difusão iônico (10^{-7} a 10^{-8} $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) [22, 23] na membrana, sejam de cerca de 10^3 vezes menores que na solução amostra [24].

Da equação, a minimização dos gradientes de concentração pode ser obtida pela redução do fator “q”. A redução deste fator pode ser conseguida através da diminuição do coeficiente de difusão dos íons na membrana, da diminuição da camada de Nernst na solução amostra e pelo incremento da espessura da membrana.

A diminuição dos coeficientes de difusão pode ser conseguida pelo aumento do conteúdo polimérico na composição da membrana, pela ligação covalente do ionóforo ao suporte polimérico e pela redução da quantidade total dos íons lipofílicos na membrana [25]. A diminuição da camada de Nernst pode ser conseguida pela agitação da solução amostra ou usando sistemas em fluxo [3].

Do entendimento dos processos que afetam o limite de detecção e dos efeitos que influenciam na redução dos fluxos dos íons, vários ISEs de contato líquido com baixos limites de detecção já foram reportados. Assim, na Tabela 2.1 são listados os ISEs com baixo limite de detecção desenvolvidos até agora, onde são especificados o limite de detecção atingido, a solução interna utilizada e o íon determinado.

Estes ISEs são extraordinariamente melhores do que aqueles que poderiam ser esperados há alguns anos, e podem agora competir com os métodos mais sofisticados para análises em níveis de traço. Baseados nestes conhecimentos, a potenciometria pode oferecer limites de detecção tão baixos quanto os obtidos por qualquer técnica eletroquímica.

Tabela 2.1. Eletrodos íon-seletivos com baixo limite de detecção.

Analito	LD (mol L⁻¹)	Membrana, solução interna	referência
K ⁺	5 10 ⁻⁹	Polimérica, contendo resina de troca iônica	8
NH ₄ ⁺	2 10 ⁻⁸	Polimérica, contendo resina de troca iônica	8
Ca ²⁺	prox. 10 ⁻¹⁰	Polimérica, com micropartículas	21
	3 10 ⁻⁹	Polimérica, com EDTA	26
	2 10 ⁻⁹	Polimérica, contendo resina de troca iônica	8
	ca. 10 ⁻¹¹	Polimérica, com EDTA	27
Ag ⁺	10 ⁻⁹	Polimérica, contendo resina de troca iônica	4
Pb ²⁺	8 10 ⁻¹¹	Polimérica, com EDTA	26
	10 ⁻⁹	Polimérica, com NTA	11, 28
	6 10 ⁻¹¹	Polimérica, com eletrodo rotatório	29
	10 ⁻⁹	Polimérica, covalentemente ligado	30
Cd ²⁺	10 ⁻¹⁰	Polimérica, com NTA	10
Cu ²⁺	10 ⁻⁸	Polimérica	31
	2 10 ⁻⁹	Polimérica, contendo Et ₄ NNO ₃	32
Vitamina B1	10 ⁻⁸	Polimérica, contendo trocador iônico altamente lipofílico	14
ClO ₄ ⁻	2 10 ⁻⁸	Polimérica, contendo resina de troca iônica	33
I ⁻	2 10 ⁻⁹	Polimérica, contendo resina de troca iônica	33

EDTA: ácido etilenodiaminotetraacético. NTA: ácido nitro-triacético.

II.1.4. Eletrodos de contato sólido

Nos eletrodos íon-seletivos de membrana polimérica descritos anteriormente, a membrana sensora é colocada entre duas fases aquosas: amostra e solução interna. O eletrodo de referência interna, fio de Ag/AgCl, não está em contato direto com a membrana. Com esta construção, ISEs com potenciais estáveis e longos tempos de vida são obtidos [34]. No entanto, estes carecem de robustez, são difíceis para miniaturização e sua aplicação em análises em campo é dificultada.

Assim, neste sentido, uma aproximação para eletrodos mais robustos é a eliminação da solução interna, onde conseqüentemente os indesejáveis fluxos de íons na interface membrana/solução interna também são eliminados.

Uma aproximação conhecida há muito tempo foi oferecida por Cattrall quem utilizou fios condutores [35]. Estes eletrodos íon-seletivos baseados em fios condutores foram preparados por simples gotejamento da solução da membrana diretamente no fio condutor. Embora esses eletrodos tenham um desenho simples e boa estabilidade mecânica, eles não fornecem potenciais estáveis e reproduzíveis, por este motivo eles apenas foram utilizados para aplicações especiais, como detectores em cromatografia [36] e análises por injeção em fluxo [37]. A instabilidade dos potenciais de tais sistemas foram atribuídos principalmente à falta de um par redox bem definido na interface membrana/metal [38, 39].

Com o objetivo de superar estas instabilidades e obter uma interface eletroquímica termodinamicamente bem definida entre a membrana e o contato sólido, o uso de componentes redox tais como complexos lipofílicos de prata [40] e polímeros condutores foi sugerido. Mais recentemente,

monocamadas auto-organizadas lipofílicas (SAM), com propriedades redox, mostraram ser uma outra alternativa [41, 42], no entanto, a fabricação desta classe de ISEs é complicada e longos tempos de estabilidade da SAM não são garantidos [43].

II.1.4.1. Eletrodos de contato sólido com baixo limite de detecção

Após os avanços conseguidos na melhoria dos limites de detecção com os eletrodos íon-seletivos de contato líquido, pesquisas foram realizadas no intuito de conseguir também melhoria nos limites de detecção dos eletrodos íon-seletivos de contato sólido, que fossem semelhantes aos atingidos nos de contato líquido ou ainda melhores.

Assim, para obter baixos limites de detecção em eletrodos íon-seletivos de contato sólido, os seguintes requisitos devem ser cumpridos:

1. Potenciais redox entre a membrana e o contato sólido (CS) devem ser bem controlados.
2. Formação de filmes de água na interface da membrana e o contato sólido devem ser evitados.
3. Nenhum processo redox espontâneo na camada do polímero condutor devem ocorrer.
4. Fluxos de íons dentro da membrana devem ser bem controlados, isto é a lixiviação do íon primário da membrana polimérica para a interface membrana/solução deveria ser diminuído ou evitado.

O primeiro requisito pode ser superado pelo uso de compostos com propriedades redox, tais como: complexos lipofílicos de prata, polímeros condutores, SAM entre outros, como comentado anteriormente.

O reconhecimento de que a formação de um filme de água entre a membrana e o metal poderia ser outra fonte de instabilidades no potencial, bem como ocasionar contaminação na interface membrana/amostra (segundo requisito) foi reportada pela primeira vez por Fibbioli *et al.* [44]. Esta foi uma consideração muito importante na conquista de baixos limites de detecção dos ISEs de contato sólido, pois a formação destes filmes de água fazem com que um ISE de contato sólido se assemelhe a um ISE de contato líquido com alta concentração de íons neste filme de água, adsorvidos previamente nas etapas de condicionamento. Uma vez que na formação deste filme de água, existem duas interfaces de fronteiras no lado interno da membrana (membrana/água e água/metal) em lugar de apenas uma (membrana/metal). No entanto, tais filmes de água poderiam ser evitados pelo emprego de poliuretanos [45], polissiloxanos [46], e poliacrilatos [47] os quais têm melhores propriedades adesivas que o cloreto de polivinila (PVC) e foram, portanto, propostos como suportes poliméricos para ISEs de contato sólido [48].

O terceiro requisito vem sendo superado pelo uso de compostos redox, que não desenvolvam reações de carga e descarga espontâneas. Assim, por exemplo, no caso de polímeros condutores, politiofenos são preferidos ao invés do polipirrol.

A lixiviação do íon primário da membrana polimérica para a interface membrana/solução (quarto requisito) ocorre nos ISEs de contato líquido como nos ISEs de contato sólido. No entanto, isto vem sendo superado pelo

uso de complexantes adsorvidos nos polímeros condutores que complexam os íons primários, assim como pelo uso de protocolos especiais de condicionamento, e pela aplicação de pequenas correntes na membrana.

Na procura de ISEs de contato sólido com baixo limite de detecção, primeiros indícios foram encontrados por Michalska *et al.* [49] que a menos de dois anos observaram que comportamentos super-nernstianos poderiam também ser obtidos com ISEs de contato sólido, da mesma forma que os obtidos com ISEs de contato líquido, pela deposição eletroquímica do polímero condutor poli(3-metil-tiofeno) dopado com BF_4^- e logo modificado com EDTA.

Uma aproximação na conquista de baixos limites de detecção em ISEs de contato sólido, foi o emprego de polipirrol depositado eletroquimicamente, como camada intermediária entre o contato sólido e a membrana sensora [50, 51]. No entanto, uma desvantagem neste sistema foi a aparição de descargas espontâneas do polímero condutor, originando um fluxo do íon primário na direção da amostra, conduzindo a altos limites de detecção, comportando-se de forma semelhante aos ISEs de contato líquido [50]. Alguns pesquisadores têm proposto o uso de correntes muito pequenas para compensar esta descarga, no entanto, limites de detecção ainda não foram melhorados com este sistema.

Um outro método para o controle do fluxo dos íons através da membrana e conseguir baixos limites de detecção nos ISEs de contato sólido é trabalhar sob condições de corrente zero. Neste método, uma corrente externa é aplicada ao eletrodo num nível que atue contra a corrente gerada pelo transporte de íons através da membrana induzida pelo carregador. Sob condições otimizadas este método elimina o transporte de íons através da

membrana e impõe um perfil de concentração ideal dentro da fase da membrana [52]. Este método de corrente controlada pode ser muito eficiente, mas requer instrumentação sofisticada e procedimentos experimentais complicados.

Outra aproximação para atingir baixos limites de detecção foi recentemente publicada [7], na qual um limite de detecção em nível de nanomolar foi atingido para o íon cálcio. Isto foi conseguido pela eletropolimerização de pirrol dopado com o complexante *Tiron*, entre a membrana e o contato sólido, embora o limite de detecção atingido tenha sido ótimo ($10^{-9,6}$ mol L⁻¹), a desvantagem apresentada por este eletrodo é sua falta de estabilidade pela lixiviação do complexante através da membrana.

Estes avanços mostram claramente que o desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos de contato sólido com baixo limite de detecção é possível e grandemente vantajoso para fins de miniaturização e produção em massa por prescindirem da solução interna. Desta forma, eles se mostram superiores a seus similares ISEs de contato líquido, e contínuos estudos nesta direção podem ser mais um caminho para o desenvolvimento da potenciometria.

II.1.5. Seletividade

Uma propriedade essencial dos eletrodos íon-seletivos é a seletividade. Esta é verificada pelo cálculo do coeficiente de seletividade potenciométrica ($K_{I,J}^{POT}$), para o qual vários métodos de determinação têm sido descritos na literatura.

Entre eles podem-se mencionar: o Método das Soluções Separadas (MSS) que envolve a medida de duas soluções, cada uma contendo apenas um íon de interesse por vez, e o Método do Interferente Fixo (MIF) onde o coeficiente de seletividade é determinado pela adição sucessiva do íon primário (I) na solução que contém uma concentração fixa do íon interferente (J) [53]. Esses dois métodos clássicos são, em princípio, capazes de determinar corretamente os valores de $K_{I,J}^{POT}$. No entanto, a principal desvantagem é que estes métodos exigem respostas nernstianas, tanto para o íon primário quanto para o íon interferente, para os valores de $K_{I,J}^{POT}$ serem determinados com exatidão, mas isto não é o que ocorre na prática. Em consequência destes inconvenientes têm surgido fatores de seletividade empíricos, que não requerem respostas nernstianas para os íons interferentes. Deste modo, uma aproximação é o uso do Método dos Potenciais Equivalentes (MPE) [54, 55]. Embora este método seja bastante prático, a desvantagem é que o valor de $K_{I,J}^{MPE}$ somente caracteriza a resposta do eletrodo numa dada condição experimental. A previsão das respostas para as soluções de diferentes concentrações não são possíveis. Como conclusão, o método dos potenciais equivalentes poderia ser apropriado para certas aplicações especiais, contudo não apropriado como um método geral.

Outra aproximação, proposta por Bakker *et al.* [56], foi a modificação das condições experimentais de tal forma que respostas nernstianas sejam obtidas para os íons interferentes e o uso de um modelo melhorado que substitui a equação de Nicolskii-Eisenman por um novo formalismo que permite usar íons de cargas diferentes [19], e, possibilita a obtenção de valores de $K_{I,J}^{POT}$ mais reais.

A seguir são descritas algumas modificações nas condições experimentais que foram usadas nesta aproximação com o objetivo de se obter respostas nernstianas para os íons interferentes.

II.1.5.1. Modificações nas condições experimentais

A. Uso de complexantes (tampão iônico) na amostra

Neste procedimento faz-se o uso de tampão iônico que atua como quelante do íon primário na amostra, para obter respostas dos íons interferentes em condições nernstianas [57]. Qualquer íon primário que tenha sido introduzido como impureza na solução de calibração ou que tenha lixiviado da membrana para a solução amostra é imediatamente complexado mantendo-o em baixa concentração. Isto permite que o íon interferente seja completamente trocado com o íon primário na interface membrana/amostra, e as inclinações resultantes do eletrodo, como requerido, sejam nernstianas para os íons interferentes. Este método é apropriado somente se o íon primário puder ser convenientemente tamponado e o íon interferente não. Por exemplo, a seletividade dos íons sódio e potássio podem ser determinados num eletrodo para cálcio em amostras tamponadas com EDTA [57], porém, a seletividade do magnésio não seria possível de ser determinado por este método. Similarmente, muitos eletrodos não podem ser caracterizados por este método porque poucos quelantes específicos são disponíveis para o íon primário.

B. Uso de membranas que são condicionadas com o íon interferente

O uso de membranas condicionadas com o íon interferente ajuda a resolver o problema de lixiviação do íon primário na amostra, o qual ocasiona desvios nas medidas de seletividade. Desta forma, as membranas não devem ser expostas ao íon primário, pelo contrário, elas devem ser condicionadas com um íon interferente altamente discriminado antes das medidas serem realizadas. Este método freqüentemente produz inclinações nernstianas do eletrodo para íons altamente discriminados. No entanto, as maiores desvantagens deste método são, a necessidade de soluções de condicionamento extremamente puras e livres do íon primário que são: difíceis de se obter e a impossibilidade da membrana ser utilizada mais de uma vez.

II.1.5.2. Determinação do coeficiente de seletividade potenciométrica pelo método das soluções separadas modificado

No método das soluções separadas modificado, a membrana é condicionada numa solução de um íon interferente altamente discriminado antes de qualquer contato com o íon primário. E as medidas são realizadas com cada uma das soluções em separado, onde primeiramente são medidos todos os íons interferentes e no final do experimento o íon primário.

Logo, a equação de Nicolskii-Eisenman para íons de cargas diferentes pode ser utilizada para encontrar os valores de coeficiente de seletividade potenciométrica $K_{I,J}^{POT}$.

$$\log K_{I,J}^{POT} = \frac{z_I F (E_J - E_I)}{2,303} + \log \left(\frac{a_I}{a_J^{z_I/z_J}} \right)$$

onde, E_I e E_J são os potenciais do eletrodo medidos para uma solução contendo uma atividade determinada do íon primário ($I^{z_I^+}$) e uma atividade determinada do íon interferente ($J^{z_J^+}$), com cargas z_I e z_J , respectivamente.

II.2. OBJETIVOS

O objetivo desta parte da Tese foi desenvolver eletrodos íon-seletivos de contato sólido para prata, cálcio, chumbo e iodeto com baixo limite de detecção.

Para alcançar este objetivo foi necessário realizar os seguintes estudos:

- Preparar o eletrodo de contato sólido para prata experimentando diferentes suportes matriz que permitam atingir um baixo limite de detecção.
- Realizar estudos de condicionamento de cada um dos eletrodos em diferentes etapas e em soluções de diferentes concentrações.

Realizar a avaliação da existência de filme de água, existência de desvios do potencial (“*drifting*”), tempo de resposta e reprodutibilidade dos eletrodos.

II.3. PARTE EXPERIMENTAL

II.3.1. Reagentes e soluções

Os ionóforos 4-*tert*-butilcalix[4]arenotetrakis-(ácido tioacético dimetilamida) (Ionóforo para chumbo), *o*-xilileno-*bis*(*N,N*-diisobutilditiocarbamato) (Ionóforo para prata), *N,N*-d ciclohexil-*N',N'*-dioctadecil-3-oxapentanodiamida (Ionóforo para cálcio), o sal lipofílico tetradodecilmônio tetrakis(4-clorofenil)borato (ETH 500), tetrakis[3,5-*bis*(trifluorometil)fenil] borato de sódio (NaTFPB), cloreto de tridodecilmetilamônio (TDMACl) e cloreto de polivinila (PVC) foram adquiridos em grau puríssimo da Fluka (Buchs, Suíça). O ionóforo 9-mercurocarborano-3 (Ionóforo para iodeto) foi sintetizado no laboratório do Prof. Bakker na Universidade de Auburn (USA), seguindo o procedimento descrito na literatura [58].

O solvente utilizado para a preparação das membranas, o cloreto de metila, foi obtido da Fisher (New Jersey, USA). Poli(3-octiltiofeno) (POT) foi obtido da Applications Chemistry & Technologies (AC&T) (Saint-Egreve, França). Todos os demais reagentes químicos utilizados foram de grau analítico, e água deionizada foi utilizada para o preparo das soluções (resistividade de 18,2 MΩ cm).

Para a síntese da matriz copolimérica de metilmetacrilato-decilmacrilato (MMA-DMA) os seguintes compostos obtidos da Polysciences, Inc. (Warrington, PA, USA) foram empregados: monômeros metilmetacrilato, 99,5 % (MMA) e *n*-decilmacrilato 99% (DMA). O iniciador da reação 2,2'-azo-*bis*(isobutironitrilo) 98% (AIBN) foi obtido da Aldrich (Milwaukee, USA). Acetato de etila e 1,4-dioxano foram de grau

analítico e obtidos da Fisher (New Jersey, USA). Os monômeros usados foram purificados por lavagem com uma solução cáustica contendo 5% (m/v) NaOH e 20% (m/v) NaCl numa proporção de 1:5 (monômero: solução cáustica). Após a purificação dos monômeros, estes foram lavados com excesso de água, tratados com Na₂SO₄ e filtrados antes de serem usados.

II.3.2. Aparelhagem

Para o recobrimento das pontas de cobre com ouro, foi utilizado o EMS 550X *sputter coating* (Emltech Ltd. Ashford, Inglaterra) como mostrado na Figura 2.4. O recobrimento foi realizado em atmosfera de argônio a uma pressão de 0,1 mbar.

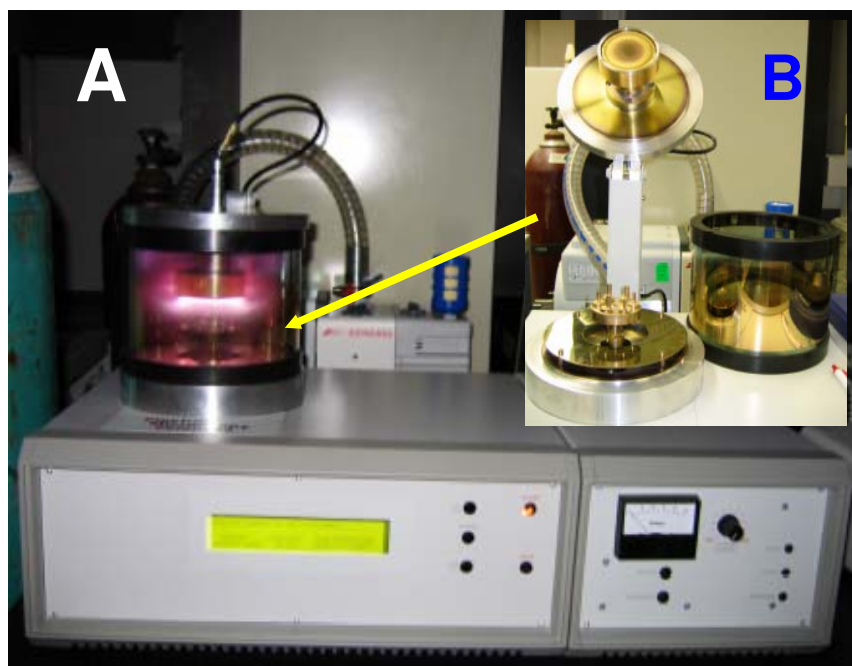


Figura 2.4. *Sputter Coating* utilizado para recobrir as pontas de cobre (A). Compartimento para o recobrimento (B).

As medidas de diferença de potencial foram monitoradas a temperatura ambiente (25°C) através de uma placa de aquisição de dados PCI MIO16XE (National Instruments, Austin, TX, USA) utilizando uma interface de quatro canais de alta impedância (WPI, Sarasota, FL, USA). A célula galvânica pode ser representada por: Ag/AgCl/3M KCl/1M LiOAc/solução amostra/ISE membrana/POT/Ouro com eletrodo de referência de dupla junção de Ag/AgCl modelo 6.0729.100 de Metrohm (Herisau, Suíça). Os coeficientes da atividade foram calculados pela aproximação da equação de Debye-Huckel estendida.

II.3.3. Preparação das membranas

Para obtenção de cada uma das diferentes membranas, soluções homogêneas contendo: o respectivo ionóforo (ionóforo para prata, chumbo, cálcio ou iodeto) (15 mmol kg^{-1} para cátions-ISE e 1 mmol kg^{-1} para iodeto-ISE), sítios iônicos (5 mmol kg^{-1} NaTFPB para cátions-ISE e $0,75 \text{ mmol kg}^{-1}$ TDMACl para iodeto-ISE), ETH500 (10 mmol kg^{-1}) e a matriz suporte (MMA-DMA ou PVC), foram dissolvidos em cloreto de metila.

Numa primeira etapa, na preparação das membranas foi utilizado o PVC como suporte matriz e o plastificante di-octil sebacato (DOS) seguindo o procedimento esquematizado na Figura 2.5. Numa segunda etapa, o copolímero MMA-DMA sem plastificante foi utilizado (Figura 2.6). Em ambos casos, os componentes numa massa total de 200 mg foram dissolvidos em 2,0 mL de cloreto de metila, e a solução resultante foi degaseificada por sonificação durante 10 minutos e logo colocada na superfície do eletrodo por gotejamento.

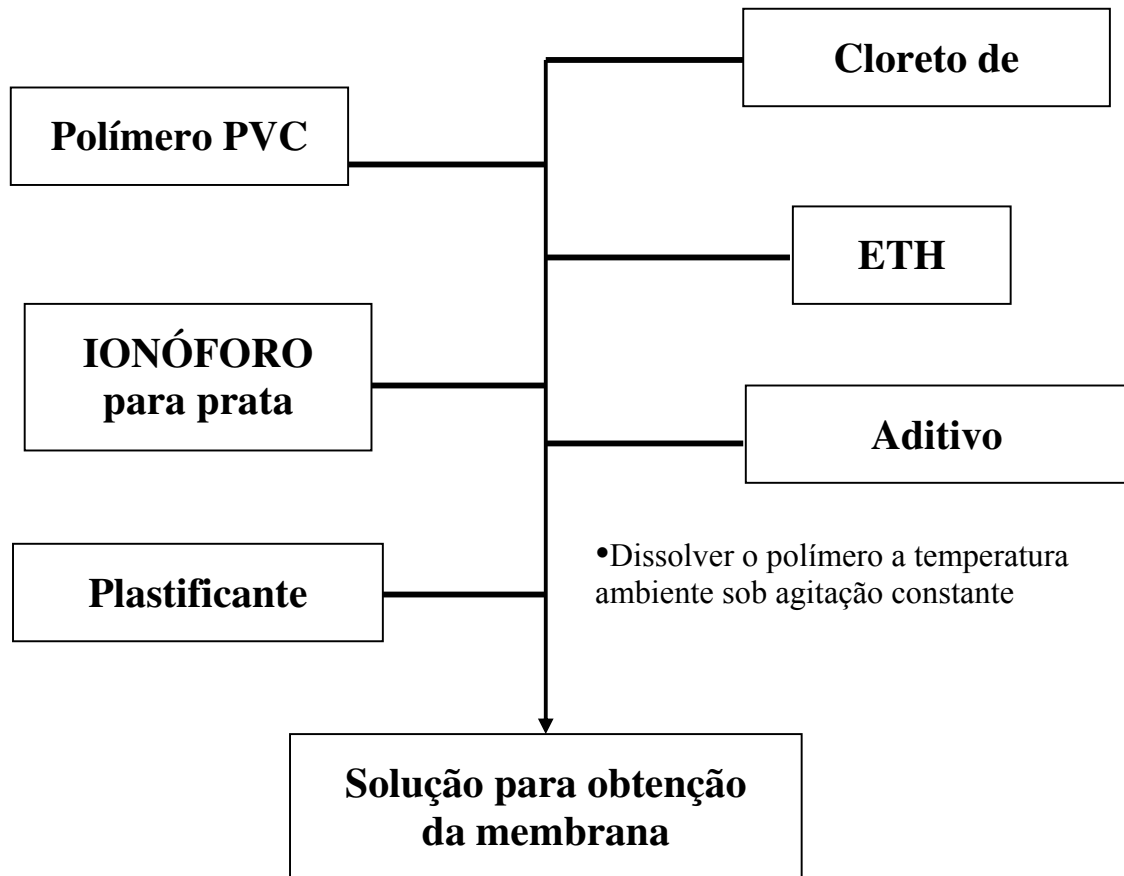


Figura 2.5. Diagrama do procedimento empregado na preparação da membrana para o ISE de contato sólido para prata com PVC-DOS.

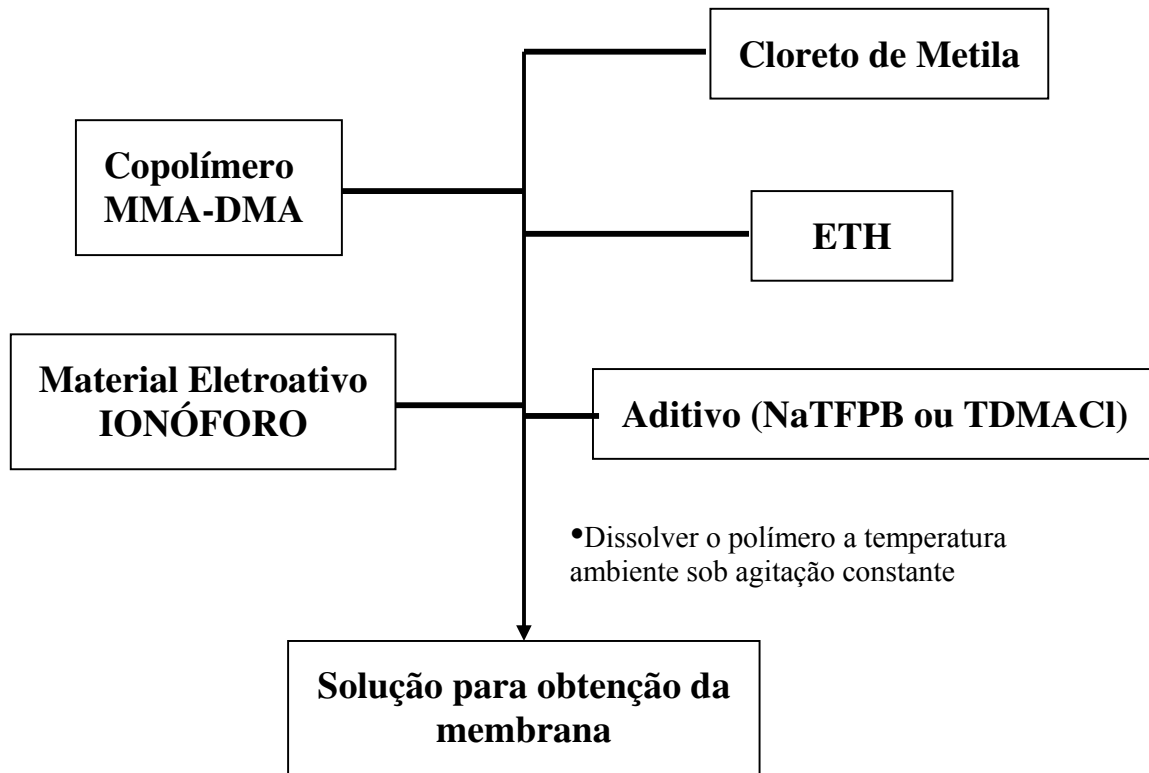


Figura 2.6. Diagrama do procedimento seguido na preparação das membranas para os ISEs de contato sólido com MMA-DMA.

II.3.3.1. Preparação do copolímero MMA-DMA

O copolímero MMA-DMA foi sintetizado de acordo com Qin *et al.* [59]. As quantidades dos monômeros utilizadas foram calculadas segundo a equação de Fox [60].

$$\frac{1}{T_g(co)} = \frac{F_A}{T_g(A)} + \frac{F_B}{T_g(B)}$$

onde F_A e F_B são as frações molares dos monômeros, e $T_g(A)$ e $T_g(B)$ são as temperaturas de transição vítrea em graus Kelvin e $T_g(co)$ é a temperatura de transição vítrea calculada para o copolímero resultante em graus Kelvin.

Para este trabalho uma temperatura de transição vítrea de $-5\text{ }^\circ\text{C}$ para o copolímero foi escolhida, assim foram pesados 1,305 g do metilmetacrilato e 3,695 g do decilmetacrilato. Ambos monômeros foram colocados num balão de reação, 25 mL de acetato de etila foi adicionado e então a mistura foi borbulhada em atmosfera de nitrogênio durante 10 min. A seguir, o composto 2,2'-azo-bis(isobutironitrilo) (AIBN) foi adicionado para dar início à reação radicalar. O balão foi colocado num banho de óleo e aquecido a 85°C durante 16 h sob atmosfera de nitrogênio.

Uma vez completada a reação, o solvente excedente foi evaporado e o produto foi dissolvido com 1,4-dioxano. Após esta etapa, a solução obtida foi adicionada gota a gota à água destilada sob agitação vigorosa. Após este procedimento um produto branco gelatinoso foi obtido. Este produto, foi então dissolvido com cloreto de metileno e o excesso de água foi removido com sulfato de sódio anidro. Finalmente, o solvente foi deixado evaporar e um copolímero transparente foi obtido.

Um diagrama do procedimento utilizado encontra-se ilustrado na Figura 2.7.

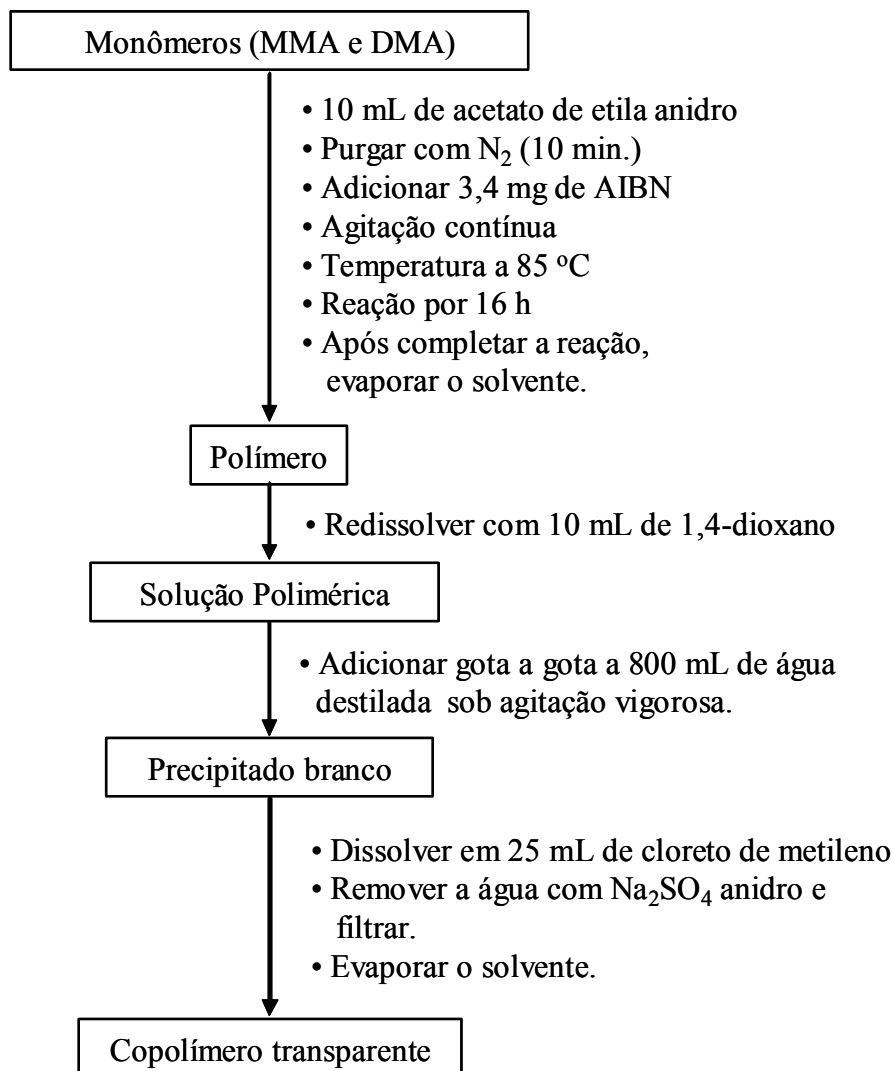


Figura 2.7. Diagrama da síntese do copolímero MMA-DMA

II.3.4. Preparação dos eletrodos

Para a preparação dos eletrodos, barras de cobre (1 cm de comprimento e 5 mm de diâmetro) soldadas num fio condutor para o contato elétrico foram utilizadas.

As pontas de cobre foram limpas cuidadosamente, primeiramente por polimento manual com lixa número 1200, e logo deixadas numa solução de H_2SO_4 diluído por 10 minutos e em seguida lavadas com excesso de água. Finalmente, os eletrodos foram lavados com acetona e deixados secar ao ar. Após a limpeza, os eletrodos foram recobertos com ouro por *sputtering* empregando uma corrente de 25 mA durante 4 minutos em atmosfera de argônio a uma pressão de 0,1 mbar (de acordo com as especificações do aparelho, nessas condições a espessura do filme de ouro foi de aproximadamente 60 nm).

A preparação do eletrodo íon-seletivo de contato sólido é mostrada na Figura 2.8. Após a ponta de cobre ter sido recoberta com ouro, os eletrodos foram lavados com cloreto de metila, e em seguida o polímero condutor poli(3-octiltiofeno) (POT) foi aplicado sobre a superfície de ouro por gotejamento de alíquotas de 15 μL em concentração de 25 mmol L^{-1} em clorofórmio (a concentração foi calculada considerando-se o peso molecular do monômero). O poli(3-octiltiofeno) foi utilizado como polímero condutor devido a ser um composto altamente lipofílico e ter boa aderência pela superfície de ouro.

Logo, o filme foi deixado secar por 5 min. Após a secagem do POT e a formação do filme, o eletrodo foi introduzido num tubo de PVC, deixando uma profundidade de 1,0 mm, a qual permitiu o gotejamento de aproximadamente 100 μL da solução polimérica na superfície do eletrodo recoberto com POT. Finalmente, o eletrodo foi deixado secar por 1 h à temperatura ambiente e a membrana polimérica foi obtida.

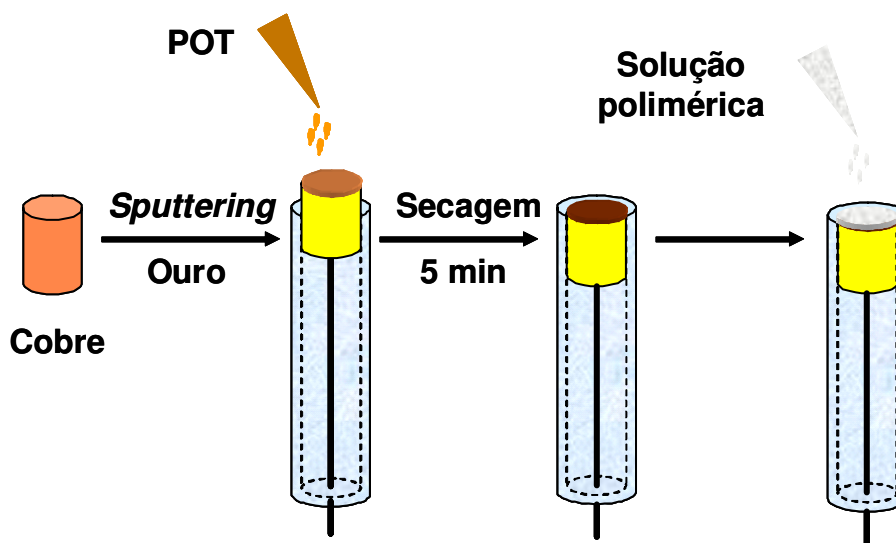


Figura 2.8. Construção dos eletrodos íon-seletivos de contato sólido.

II.3.5. Limpeza do material de medida

A limpeza do material de medida é uma etapa importante, que tem por objetivo atingir baixos limites de detecção. Para isto, recipientes PET foram utilizados e submetidos a um pré-tratamento com ácido nítrico diluído a 10% durante toda a noite, para eliminação de impurezas de íons metálicos, evitando contaminação.

II.3.6. Protocolos de condicionamento

O condicionamento do eletrodo foi a etapa mais importante na obtenção de baixos limites de detecção. Assim, diferentes protocolos de condicionamento foram testados.

II.3.6.1. Protocolo de condicionamento para o ISE de prata

Para o eletrodo íon-seletivo para prata os seguintes protocolos de condicionamento foram testados, com objetivo de verificar o melhor desempenho do eletrodo.

Protocolos de condicionamento:

Protocolo 1: Deixado um 1 dia em $10 \mu\text{mol L}^{-1} \text{AgNO}_3$ e 2 dias em $1,0 \text{nmol L}^{-1} \text{AgNO}_3$.

Protocolo 2: Deixado um 1 dia em $100 \mu\text{mol L}^{-1} \text{AgNO}_3$ e 2 dias em $1,0 \text{nmol L}^{-1} \text{AgNO}_3$.

Protocolo 3: Deixado um dia em $1 \text{mmol L}^{-1} \text{AgNO}_3$ e 2 dias em $1,0 \text{nmol L}^{-1} \text{AgNO}_3$.

II.3.6.2. Protocolo de condicionamento para os demais eletrodos

Os protocolos de condicionamento aplicados para cada eletrodo foram os seguintes:

ISE- Ca^{2+} : O eletrodo foi condicionado 1 dia em $1 \text{mmol L}^{-1} \text{CaCl}_2$ seguido por 2 dias em $1 \text{nmol L}^{-1} \text{CaCl}_2$.

ISE- Pb^{2+} : O eletrodo foi condicionado 2 dias em $10 \mu\text{mol L}^{-1} \text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ em pH 4,0 seguido por 1 dia em $1 \text{nmol L}^{-1} \text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ em pH 4,0. O pH de ambas soluções foi ajustado com HNO_3 .

ISE- I^- : O eletrodo foi condicionado 1 dia em $100 \mu\text{mol L}^{-1} \text{NaI}$ em pH 3,0 seguido por 1 dia em $10 \text{nmol L}^{-1} \text{NaI}$ em pH 3,0. O pH de ambas soluções foi ajustado com H_3PO_4 .

II.3.7. Avaliação da existência de filme de água no eletrodo de prata

Para verificar a existência de filme de água, o experimento proposto por Fibbioli foi realizado [44]. O experimento consiste em colocar primeiramente o eletrodo em solução do íon primário de concentração conhecida e registrar o potencial, a seguir a solução de medida é trocada por uma solução contendo o íon interferente e o potencial do eletrodo é registrado novamente por um longo tempo.

Finalmente, o eletrodo é novamente colocado na solução inicial de medida e o potencial é registrado. Para nosso experimento uma solução de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 , e uma solução de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 foram utilizadas.

II.3.8. Avaliação da interferência analítica do eletrodo para prata

O estudo de interferência analítica para o eletrodo íon-seletivo para prata foi realizado modificando-se o método das soluções misturadas proposta por Bakker *et al.* [56]. Para isso, primeiramente o eletrodo é condicionado numa solução do íon interferente durante 1 dia. Neste caso utilizou-se uma solução de NaNO_3 $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, após este condicionamento, curvas de calibração para cada um dos íons interferentes foram obtidas, e no final do experimento uma curva de calibração para o íon primário foi obtida. Logo os coeficientes de seletividade potenciométrica foram calculados segundo a equação de Nicolskii-Eisenmam modificada.

II.4. RESULTADOS

II.4.1. Preparação dos eletrodos utilizando PVC-DOS

Cloreto de polivinila (PVC) é o polímero mais utilizado para a preparação de membranas na construção de eletrodos íon-seletivos, devido a suas importantes propriedades amplamente conhecidas, tais como: alta resistência elástica, inércia química e boa compatibilidade com os outros componentes da membrana [44].

Embora, o PVC apresente tais características, o uso de plastificantes é importante e necessária porque permite reduzir a temperatura de transição vítrea do polímero abaixo da temperatura ambiente [61], incrementando a elasticidade e estabilidade mecânica [62], obtendo-se assim polímeros mais flexíveis. Os plastificantes fornecem também um ambiente lipofílico dentro da membrana, que é importante para melhorar a solubilidade dos componentes da membrana [63].

Primeiramente foram realizados testes utilizando-se o PVC como matriz suporte e di-octil sebacato (DOS) como plastificante, na preparação das membranas dos ISEs de contato sólido, com o intuito de atingir baixos limites de detecção. As membranas foram preparadas seguindo o procedimento da Figura 2.5 (Item II.3.3 da Parte Experimental). Os eletrodos foram condicionados em solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 durante 1 dia, e posteriormente em solução de $1,0 \cdot 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ durante 2 dias, de acordo com o protocolo de condicionamento previamente otimizado.

No entanto, os limites de detecção obtidos com estes eletrodos não foram promissores, obtendo-se valores na ordem de $1,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, como pode ser observado na Figura 2.9. Este limite de detecção

obtido poderia ser devido à presença de filme de água entre a membrana polimérica e o polímero condutor utilizado, uma vez que as membranas baseadas em PVC contêm alta concentração de plastificante geralmente numa razão de PVC:DOS de 1:2 (m/m), onde a absorção de água geralmente é esperada.

Como consequência disto, íons primários podem ser concentrados (durante o condicionamento do eletrodo) neste filme de água formado. Portanto, durante as medidas, estes íons primários podem lixiviar através da membrana até a interface membrana/solução, perturbando a concentração de íons primário na interface, e como consequência, altos limites de detecção são observados.

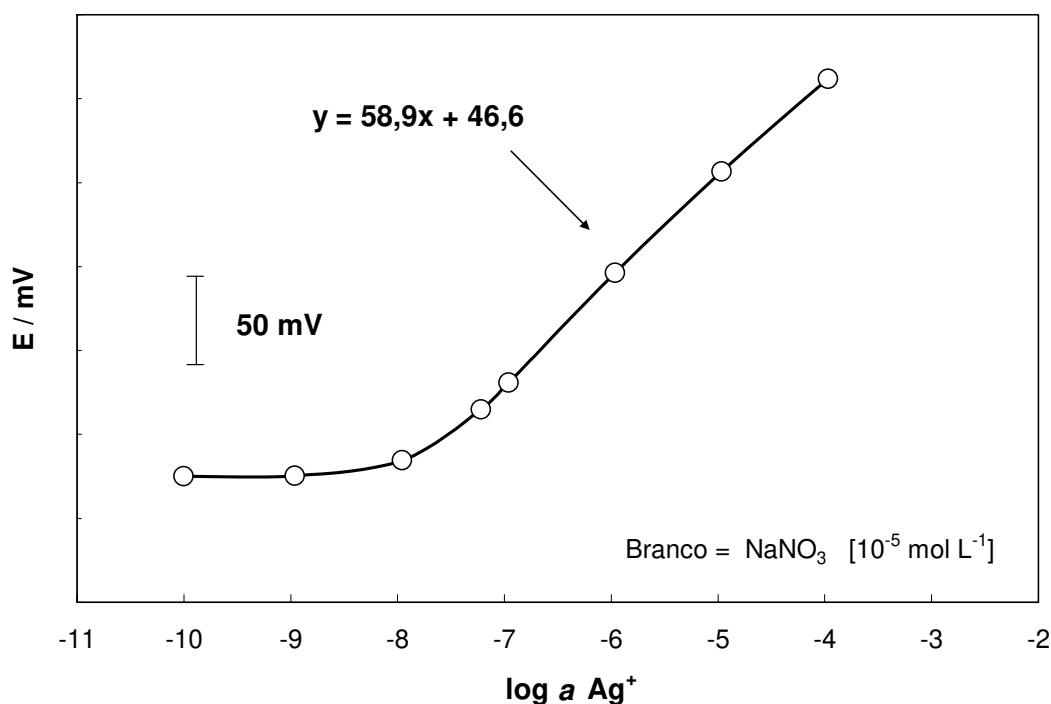


Figura 2.9. Eletrodo íon seletivo de contato sólido para prata utilizando poli(3-octiltiofeno) como interface e PVC-DOS como matriz suporte.

Embora PVC-DOS seja empregado como uma matriz polimérica por muitos anos, há muitas desvantagens associadas ao seu uso, como por exemplo, lixiviação do plastificante, causando uma diminuição do tempo da vida útil do sensor, respostas instáveis e perturbação da amostra. Por esta razão há um justificado interesse no campo de sensores químicos em desenvolver membranas poliméricas livres de plastificante.

Após observar os resultados obtidos com o ISE baseado em PVC, outras matrizes foram testadas com objetivo de obter melhores limites de detecção. Assim o copolímero metilmetacrilato-decilmecrilato (MMA-DMA) foi sintetizado e utilizado para preparação dos ISEs de contato sólido.

II.4.2. Preparação dos ISEs de contato sólido utilizando MMA-DMA

Devido aos resultados obtidos com os eletrodos íon-seletivos baseados em PVC-DOS não serem promissores, eletrodos íon-seletivos baseados no copolímero MMA-DMA foram utilizados. Este copolímero foi escolhido devido a suas boas propriedades adesivas.

Outra propriedade muito importante do MMA-DMA é o baixo coeficiente de difusão dos analitos nesse polímero, que é de três ordens de magnitude menor que o das membranas poliméricas convencionais de PVC que usam plastificantes [64]. Como é conhecido, o limite de detecção é influenciado pela lixiviação do íon analito da membrana [13], assim, é esperado que polímeros com baixo coeficiente de difusão melhorem o limite de detecção porque impedem lixiviação do íon primário [64].

A síntese do copolímero MMA-DMA foi realizada como descrita na Parte Experimental (Item II.3.3.1). Aqui, é importante mencionar que a

purificação dos monômeros é uma etapa crucial e importante para eliminar possíveis impurezas de íons metálicos (usados como estabilizantes) que podem ocasionar em contaminação. Além disso, todos os solventes utilizados devem ser anidros, pois o produto final não deve conter água. Com este objetivo o produto final (copolímero) foi tratado com Na_2SO_4 anidro.

II.4.2.1. Eletrodo íon-seletivo de contato sólido para prata

A. Estudos de condicionamento do ISE para prata

Três diferentes protocolos de condicionamento para o ISE de prata foram testados, como explicado na Parte Experimental (Item II.3.5.1).

No Protocolo 1, quando empregado um procedimento de condicionamento inicial de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AgNO_3 durante 1 dia, seguido por 2 dias em $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$, se observaram respostas super-nernstianas com uma inclinação de aproximadamente $170 \text{ mV década}^{-1}$ entre as concentrações de $1,0 \cdot 10^{-8}$ e $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Ag^+ indicando uma incompleta saturação da membrana com íons prata (Curva 1 da Figura 2.10).

Já no Protocolo 2, quando os eletrodos foram condicionados inicialmente em solução $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AgNO_3 por um dia, em lugar de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, a resposta super-nernstiana diminuiu, mas foi ainda evidente (próximo de $100 \text{ mV década}^{-1}$ na mesma faixa de concentração).

Já, o condicionamento referente ao Protocolo 3, de 1 dia em $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de AgNO_3 seguido de 2 dias em $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$ de AgNO_3 ofereceu o melhor limite de detecção (Curva 3 da Figura 2.10).

Como pode ser observado, através dos procedimentos expostos, os tempos de condicionamento foram relativamente longos (de dias), e estes podem ser devidos ao coeficiente de difusão do íon no copolímero em questão ser bastante baixo, aproximadamente $10^{-11} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ [64], o qual é de 3 ordens de magnitude menor que nas membranas de PVC tradicionais [65].

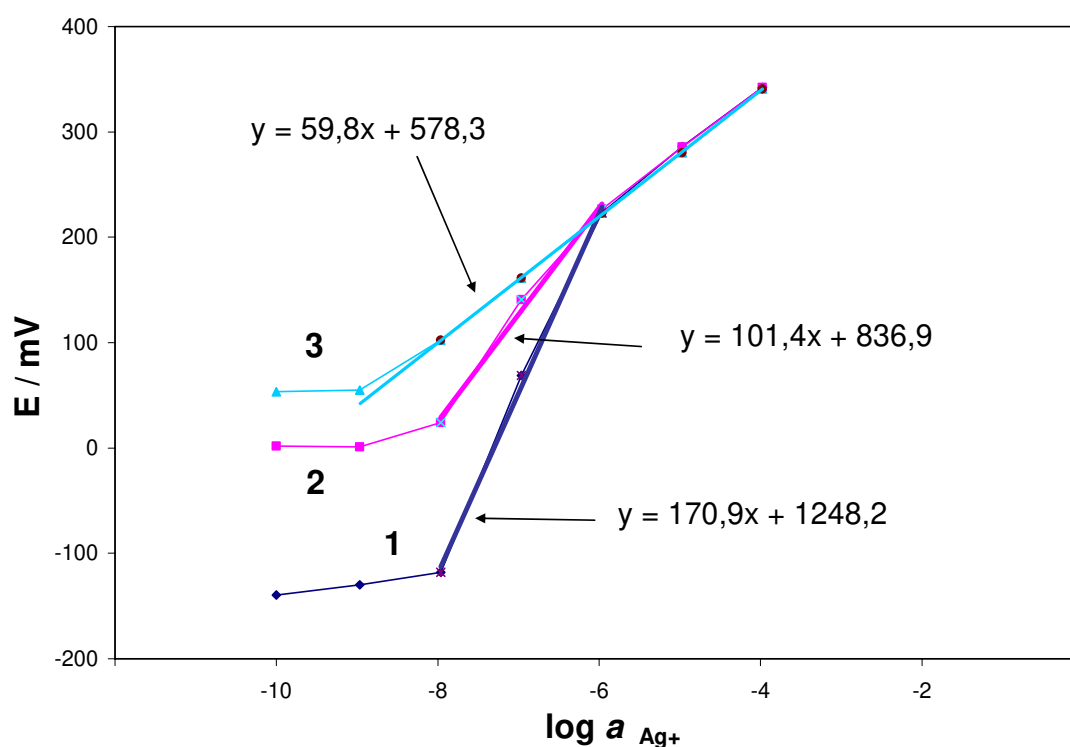


Figura 2.10. Comportamento do eletrodo íon-seletivo para prata em diferentes protocolos de condicionamento. (1) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AgNO_3 e 2 dias em $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$ de AgNO_3 . (2) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AgNO_3 e 2 dias em $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$ de AgNO_3 . (3) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em 1 mmol L^{-1} de AgNO_3 e 2 dias em $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$ de AgNO_3 .

O eletrodo íon-seletivo de contato sólido para prata foi primeiramente condicionado em solução de $1,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ com objetivo de verificar a resposta do eletrodo quando o mesmo é exposto a íon prata pela primeira vez. Exposições iniciais deste eletrodo a íons prata produziram respostas super-nernstianas a partir de uma concentração de $1,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de acordo com a Curva A da Figura 2.11. Este comportamento super-nernstiano é indicativo do transporte de massa limitado pelo fluxo por contra-difusão de íons prata na membrana, isto é a troca de íons sódio da membrana por íons prata [66].

A seguir a membrana foi condicionada por 1 dia em $1,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ AgNO}_3$, com objetivo de substituir todos os íons sódio originais na membrana por íons prata, semelhante aos procedimentos de condicionamento tradicionais. Com este procedimento a curva de calibração B na Figura 2.11 foi obtida. Neste caso, verifica-se que embora o comportamento super-nernstiano tenha desaparecido, indicando uma apropriada saturação da membrana com íons prata, o limite de detecção observado foi de $1,0 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

Este comportamento é normalmente observado com eletrodos de contato líquido convencionais e é atribuído à contínua lixiviação do íon da fase da membrana para a solução [13]. Após este experimento, os eletrodos foram condicionados durante 1 dia em $1,0 \text{ nmol L}^{-1} \text{ AgNO}_3$ e a calibração do eletrodo foi realizado obtendo-se a curva C da Figura 2.11, observando-se uma diminuição (de uma ordem de magnitude) no limite de detecção (2 nmol L^{-1}). Condicionamentos por mais 1 dia na mesma solução produzem eletrodos com limite de detecção nanomolar e resposta nernstiana, como mostrado na curva D da Figura 2.11.

Condicionamentos contínuos do eletrodo, mesmo em soluções de prata mais diluídas não mostraram uma melhora no limite de detecção.

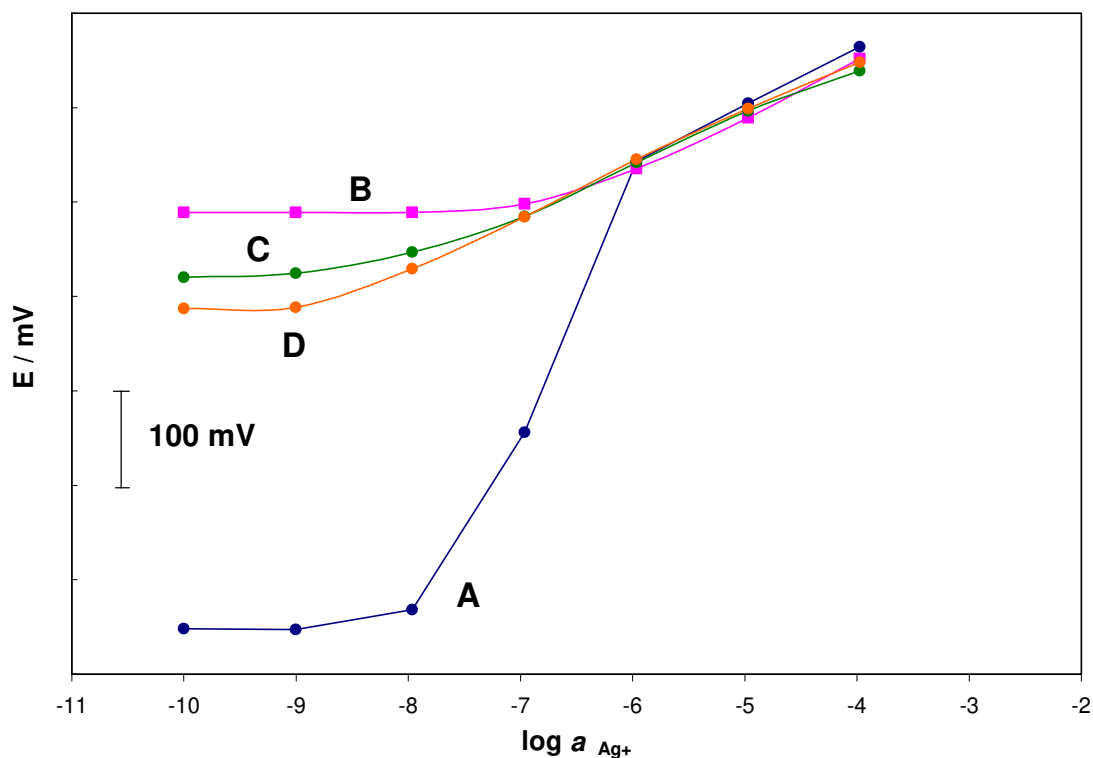


Figura 2.11. Dependência da solução de condicionamento na resposta do eletrodo para prata em $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 . (A) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em 1 mmol L^{-1} de NaNO_3 . (B) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em 1 mmol L^{-1} de AgNO_3 . (C) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em 1 mmol L^{-1} de AgNO_3 e 1 dia em $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$ de AgNO_3 . (D) Condicionamento do eletrodo de 1 dia em 1 mmol L^{-1} de AgNO_3 e 2 dias em $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$ de AgNO_3 .

Após estes estudos iniciais de condicionamento dos ISEs para prata, ficou estabelecido que duas etapas de condicionamento eram necessárias.

Uma primeira etapa de condicionamento em solução de alta concentração, onde o principal objetivo é saturar a membrana com íons primários, e uma segunda etapa de condicionamento em solução de baixa concentração com objetivo de eliminar íons que podem ter ficado adsorvidos na membrana (pelo uso de alta concentração do íon prata), durante a primeira etapa de condicionamento.

B. Efeito da agitação da solução na resposta do eletrodo

Para verificar a presença de fluxos de íons da membrana para a amostra, experimentos com e sem agitação foram realizados em intervalos iguais de tempo em água deionizada. Se existisse lixiviação de íons primários, uma diminuição no potencial deveria ser observada. Este decréscimo seria originado pelo aumento de transporte de massa dos íons primários da membrana para o *bulk* (interior) da amostra [13].

Nos experimentos realizados uma diminuição no potencial menor que 4,0 mV foi observada de acordo com a Figura 2.12 (resultados para dois eletrodos). Isto indica que lixiviação dos íons não é significativa, e que o limite de detecção está influenciado apenas pelas impurezas na amostra (impurezas de elementos traças nos reagentes ou no próprio ambiente), e não pelos fluxos de íons da membrana para a solução.

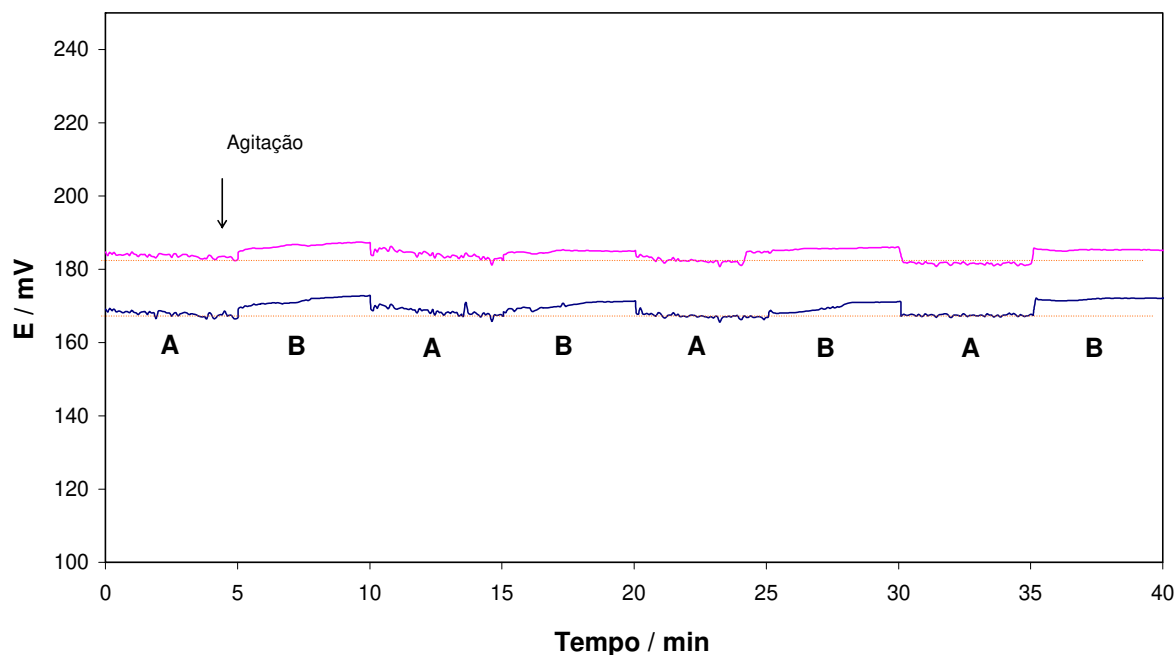


Figura 2.12. Efeito da agitação da solução na resposta do eletrodo, com agitação (A) e sem agitação (B). Em NaNO₃ para dois eletrodos.

C. Avaliação do desvio do potencial (“drifting”) no ISE para prata

Na Figura 2.13, a influência do polímero condutor poli(3-octiltiofeno) (POT) na resposta do eletrodo é observada. Quando POT não foi utilizado, uma variação de 9,2 mV/h foi observada (Curva A da Figura 2.13), no entanto, quando POT foi empregado o desvio no potencial (“drifting”) foi reduzido para um valor de 2,7 mV/h de acordo a Curva B da Figura 2.13.

Isto mostra claramente que o emprego da camada intermediária redox melhora o contato elétrico entre a membrana polimérica do eletrodo íon-seletivo e o contato sólido, fornecendo potenciais bem controlados.

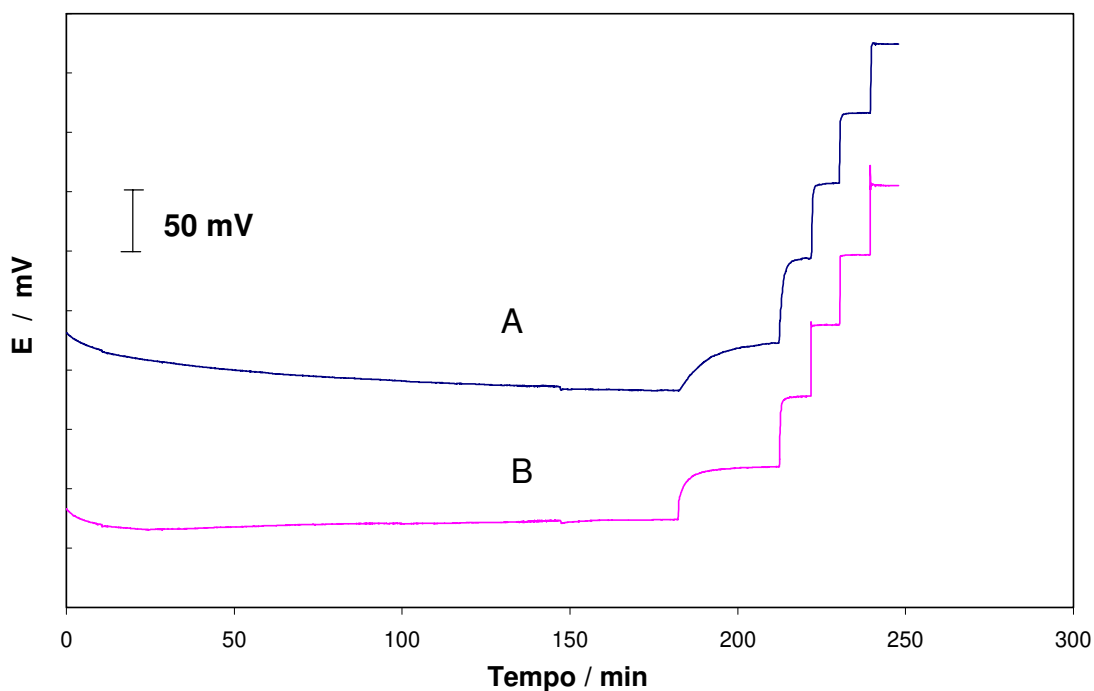


Figura 2.13. Resposta do ISE-Ag (A) sem poli(3-octiltiofeno) e (B) com poli(3-octiltiofeno).

D. Avaliação da existência de camada de água entre a membrana e o contato sólido.

Para testar a presença de camada de água entre a membrana e o contato sólido, o experimento proposto por Fibbioli [44] como já explicado na Parte Experimental (Item II.3.8) foi realizado. Assim, os eletrodos foram colocados numa solução de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 e o potencial foi registrado por 2 h. Em seguida a solução foi substituída por uma solução de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 e o potencial foi registrado durante 4 h. Finalmente, o eletrodo foi colocado novamente na solução inicial de AgNO_3 e o potencial foi registrado por mais de 12 h.

De acordo com recentes estudos realizados, quando uma camada de água é formada entre a membrana e o contato sólido, uma variação negativa de potencial inicial é seguida por uma variação positiva de potencial, porque íons primários no filme de água são lentamente substituídos por íons interferentes [34]. Então após substituir a solução contendo o interferente pela solução original do íon primário, a variação positiva inicialmente produzida, é seguida por uma variação negativa, porque os íons interferentes da camada de água formada estão sendo trocados por íons primários.

Este efeito não foi observado nos experimentos realizados (Figura 2.14), e então pode-se concluir que não há presença da camada de água. Assim, este resultado prevê um baixo limite de detecção. Esta observação da ausência de camada de água entre a membrana e o contato sólido (suporte de ouro) foi também observada no trabalho publicado recentemente por Sutter *et al.* [43], e é explicado pelas boas propriedades adesivas do copolímero MMA-DMA na superfície do eletrodo que contém POT.

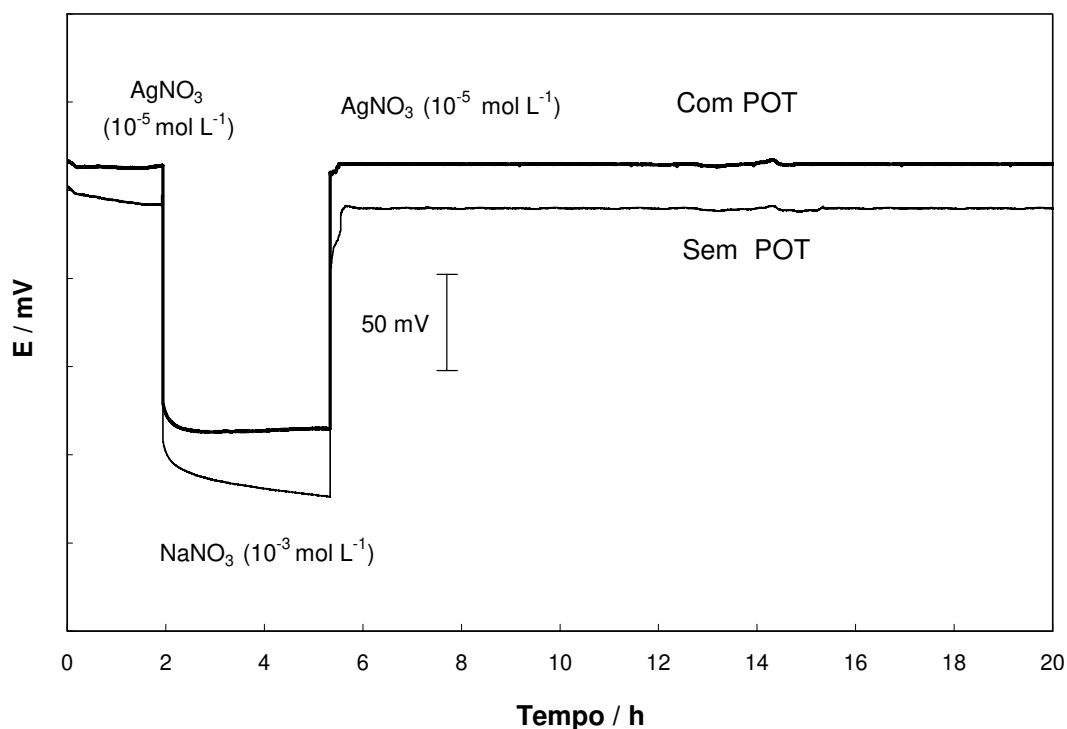


Figura 2.14. Teste para verificar a presença de camada de água no eletrodo íon-seletivo de contato sólido para prata baseado em matriz suporte de MMA-DMA.

E. Avaliação do tempo de resposta do ISE de contato sólido para prata

O tempo de resposta é definido, segundo as recomendações da IUPAC [12], como o tempo necessário para que o potencial final no estado de equilíbrio, devido à mudança da concentração do íon de interesse da solução em contato com o ISE e o eletrodo de referência, não varie mais do que $0,6 \text{ mV min}^{-1}$.

Assim, o ISE de contato sólido para prata sob condições otimizadas apresentou um tempo de resposta de 10 minutos para um incremento de concentração de $1,0 \cdot 10^{-9}$ a $1,0 \cdot 10^{-8}$ mol L⁻¹ de íons Ag⁺.

Uma vantagem muito importante do eletrodo íon-seletivo de contato sólido para prata utilizando o copolímero MMA-DMA foi o seu curto tempo de resposta, especialmente em baixas concentrações. Este tempo de resposta foi muito menor quando comparado com o seu equivalente ISE de contato líquido baseado em PVC (Eletrodo desenvolvido e otimizado utilizando o mesmo ionóforo, ver Apêndice) que apresentou um tempo de resposta muito maior em baixas concentrações (Figuras 2.15 e 2.16) (aproximadamente 30 minutos para 95% da resposta) para uma mudança de concentração de $1,0 \cdot 10^{-8}$ a $1,0 \cdot 10^{-7}$ mol L⁻¹. Para o caso do ISE de contato sólido o tempo de resposta foi de 8 minutos para a mesma variação de concentração.

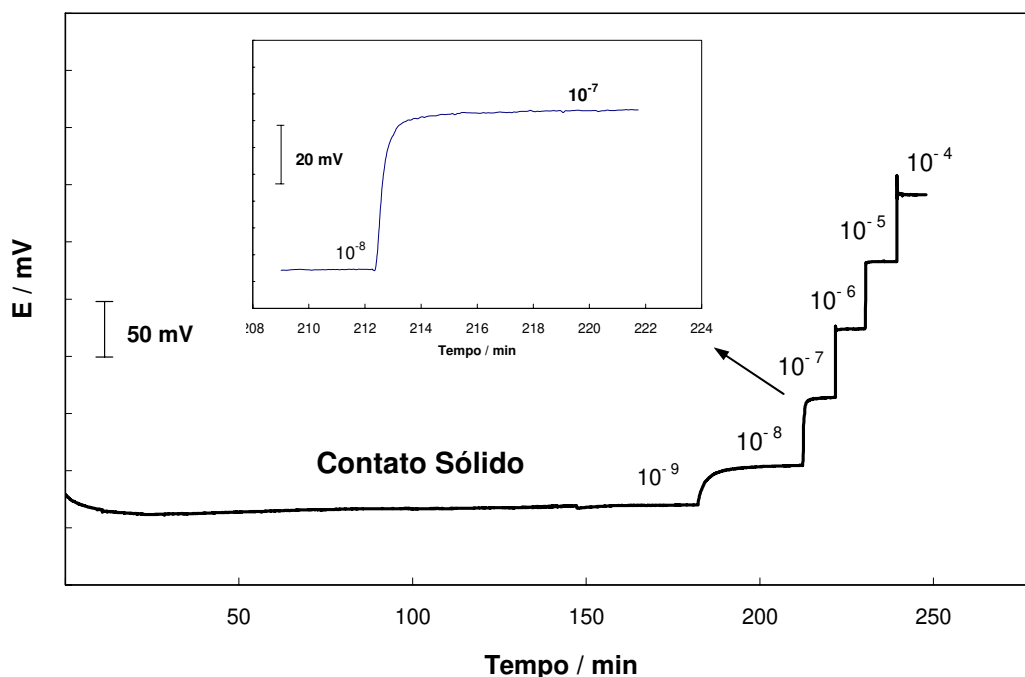


Figura 2.15. Tempo de resposta para o eletrodo íon-seletivo de contato sólido para prata. Em NaNO₃.

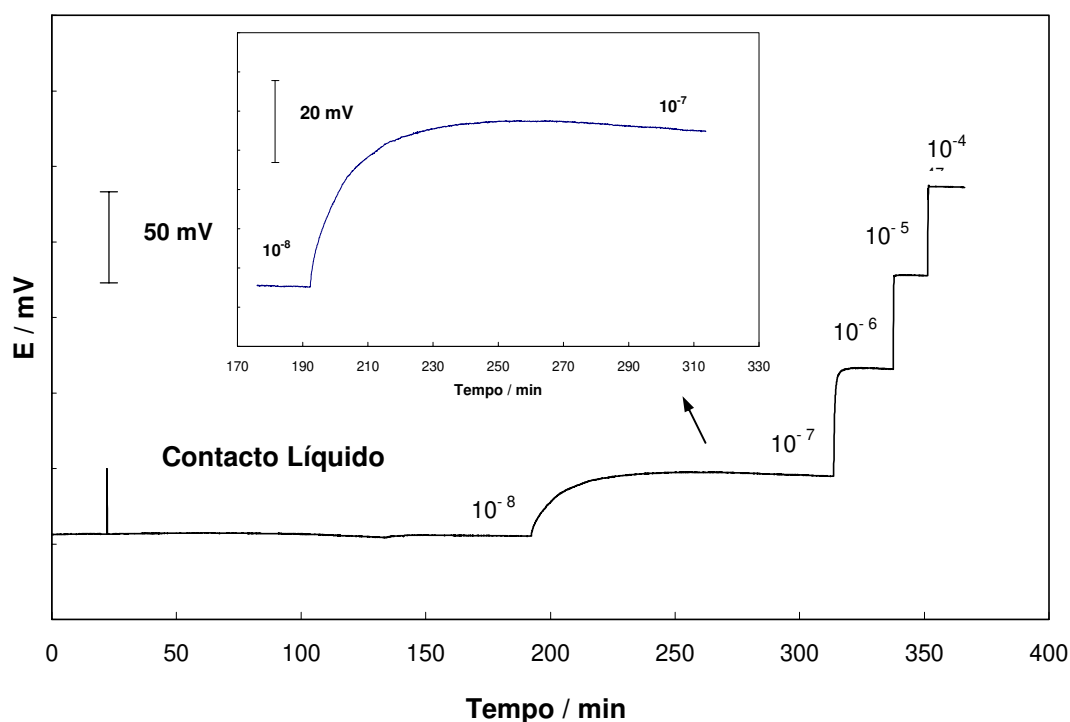


Figura 2.16. Tempo de resposta para o eletrodo íon-seletivo de contato líquido a base de PVC para prata. Em NaNO_3 .

F. Avaliação da interferência analítica do ISE de contato sólido para prata

A seletividade é uma das características mais importantes de um eletrodo íon-seletivo, e pode ser definida pela preferência do eletrodo para o analito de interesse na presença de outros íons chamados de interferentes. A seletividade dos eletrodos é caracterizada e medida pelo coeficiente de seletividade potenciométrica representado pelo seguinte símbolo ($K_{I,J}^{POT}$), e pode ser calculado por diferentes métodos como explicado na Introdução (Item II.1.5).

Aqui, o método das soluções separadas com algumas modificações experimentais como proposto por Baker *et al.* [56] foi utilizado. Estas modificações experimentais demonstraram que inclinações nernstianas para os íons interferentes podiam ser encontradas, assim como coeficientes de seletividade potenciométrica mais exatos.

Neste método a membrana é condicionada numa solução de alta concentração de um íon interferente altamente discriminado como explicado na Parte Experimental (Item II.3.8). Neste caso, os eletrodos foram condicionados numa solução de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ e em seguida curvas de calibração para todos os íons interferentes foram registradas consecutivamente trocando a solução de medida. No final do experimento uma curva de calibração para o íon principal foi obtido.

Como observado na Figura 2.17, um grande salto de potencial para íons prata foi observado, indicando claramente a alta preferência do eletrodo pelo íon prata em relação aos outros íons testados. Após a exposição do eletrodo a íons prata pela primeira vez, o potencial foi monitorado por mais de 10 h consecutivas e nenhuma mudança foi observada. Se íons prata atingissem o lado interno da membrana e influenciassem de alguma forma no potencial, uma variação no potencial deveria ser observada. No entanto, no presente caso, o potencial foi estável indicando que as propriedades redox do POT são as responsáveis pelo potencial na interface membrana/contato sólido.

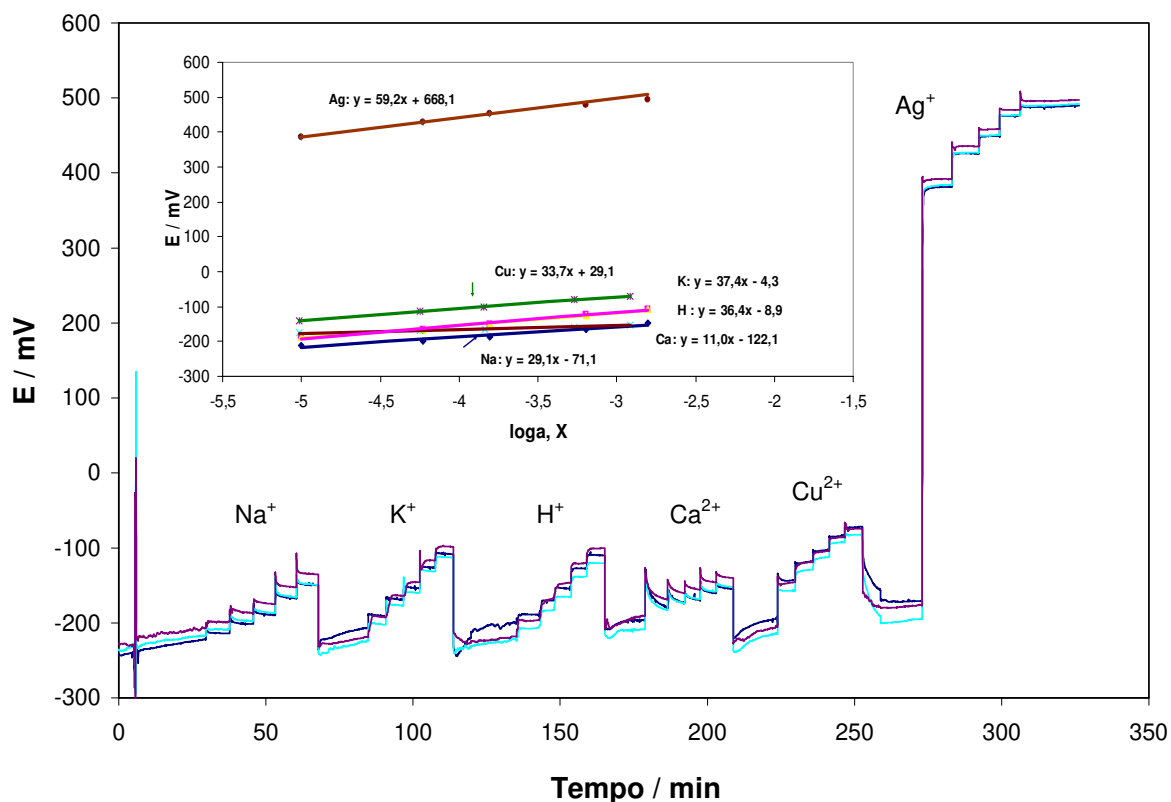


Figura 2.17. Resposta do eletrodo íon-seletivo para prata no estudo de seletividade para 3 diferentes eletrodos.

As inclinações e os coeficientes de seletividade potenciométricos são listados na Tabela 2.2. Aqui é possível observar que inclinações sub-nernstianas para íons interferentes para uma faixa de concentração entre $1,0 \cdot 10^{-5}$ e $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foram obtidas, e isto, pode ser devido ao baixo valor do coeficiente de difusão dos íons no copolímero utilizado, uma vez que resultados semelhantes foram observados quando o mesmo copolímero (MMA-DMA) em eletrodos de contato líquido foi empregado [59].

Por outro lado, os coeficientes de seletividade potenciométrica calculados sugerem uma grande seletividade para íons prata, sendo estes melhores que os obtidos com os eletrodos íon-seletivos de contato líquido

com o mesmo ionóforo (Ver Tabela 3 no Apêndice). Esta melhora pode ser devida ao fato de que no ISE de contato sólido não ocorre lixiviação do íon primário através da membrana, a qual é responsável pelos desvios nos coeficientes de seletividade potenciométrica.

Tabela 2.2. Coeficientes de seletividade potenciométrica do ISE de contato sólido para íon prata.

Íon J^{z+}	Inclinação (mV década ⁻¹) ^a	$K_{Ag,J}^{pot}$
Na ⁺	29±1	2,0 10 ⁻¹¹
K ⁺	37±1	6,3 10 ⁻¹¹
H ⁺	36±1	6,3 10 ⁻¹¹
Ca ²⁺	11±1	5,0 10 ⁻¹³
Cu ²⁺	34±1	7,9 10 ⁻¹²

^a Desvio padrão para 3 diferentes eletrodos.

G. Desempenho do ISE de contato sólido para íon prata

O desempenho da resposta do eletrodo em função do tempo pode ser observado na Figura 2.18, para todas as concentrações analisadas. O eletrodo desenvolvido para íon prata apresentou uma excelente resposta nernstiana com uma sensibilidade de 59,4 mV por década de concentração (Figura 2.19) e um limite de detecção de 2,0 nmol L⁻¹, o qual foi mais baixo que o obtido com o eletrodo de contato líquido utilizando o mesmo ionóforo (ver Apêndice).

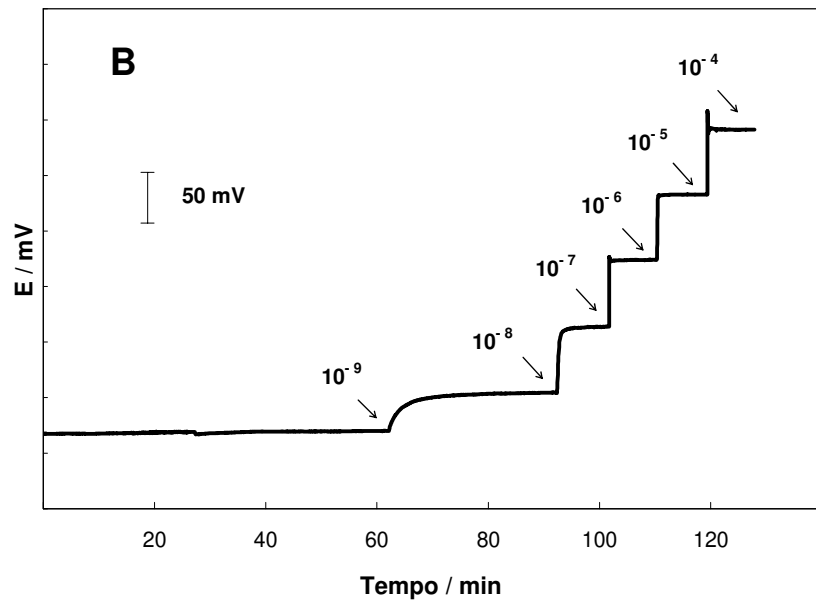


Figura 2.18. Resposta do eletrodo íon-seletivo de contato sólido para íon prata em função do tempo.

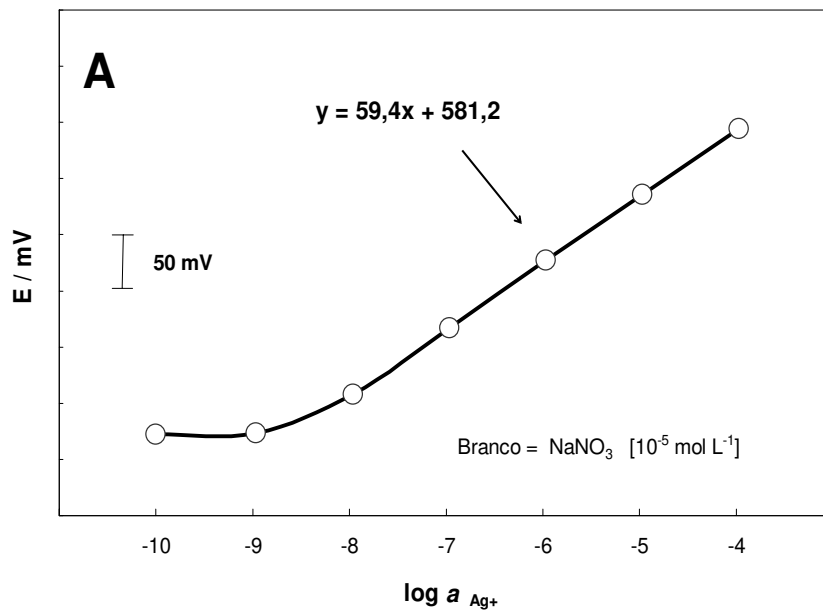


Figura 2.19. Curva analítica obtida com o eletrodo íon-seletivo de contato sólido para prata, medidas realizadas em NaNO₃ 1,0 10⁻⁵ mol L⁻¹.

Para verificar a reprodutibilidade na construção do eletrodo uma batelada de três eletrodos foi construída e os valores de intercepto (coeficiente linear) deles apresentaram uma estimativa de desvio padrão de 2,5 mV, indicando uma excelente reprodutibilidade do eletrodo.

Da mesma forma, nenhuma perda considerável na inclinação foi observada após o uso contínuo durante um período maior que 2 meses, observando-se apenas um pequeno aumento no limite de detecção do eletrodo em meia ordem de grandeza, indicando boa estabilidade ao longo do tempo.

Estes bons resultados obtidos com o eletrodo íon-seletivo de contato sólido para íon prata desenvolvido, motivou a testar sistemas semelhantes contendo outros ionóforos visando o desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos com baixo limite de detecção para outros íons com uma única matriz. Para tal, ISEs de contato sólido para íons cálcio, chumbo e iodeto também foram desenvolvidos.

II.4.2.2. Desempenho do ISE de contato sólido para íon cálcio

O eletrodo íon-seletivo de contato sólido para cálcio desenvolvido, seguindo o protocolo de condicionamento descrito na Parte Experimental, sob as condições otimizadas apresentou um bom limite de detecção de 4,0 nmol L⁻¹ e uma excelente resposta nernstiana de 29,8 mV por década de concentração de acordo com a Figura 2.20.

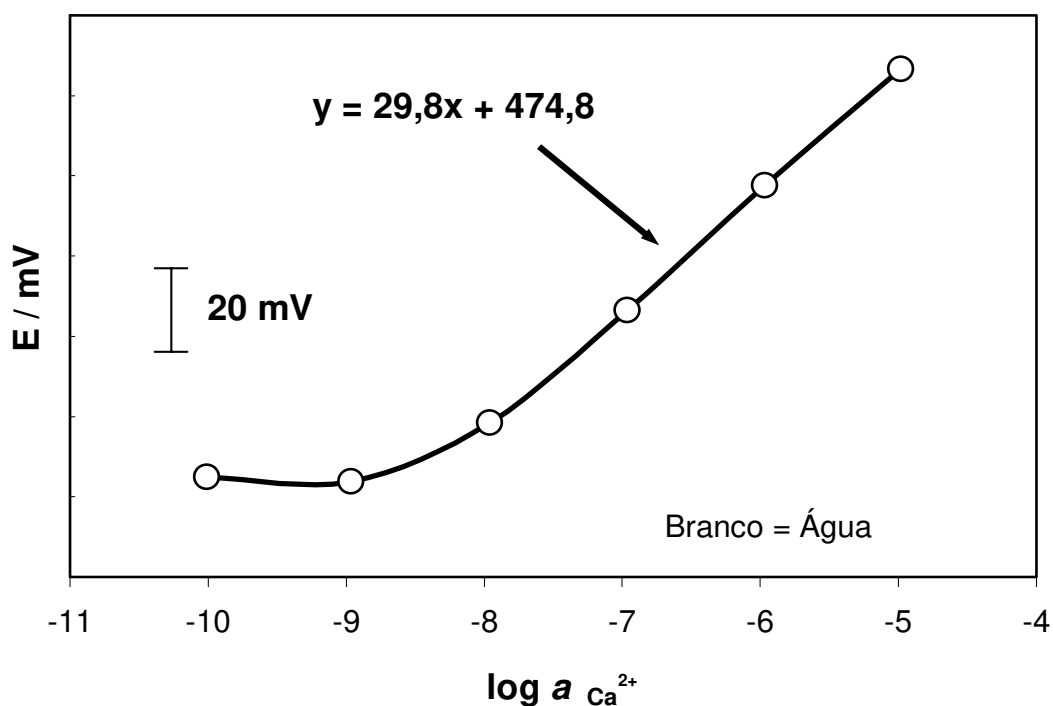


Figura 2.20. Curva analítica obtida com o eletrodo íon-seletivo de contato sólido para cálcio.

Este eletrodo apresentou um limite de detecção semelhante ao eletrodo de contato sólido para cálcio reportado por Michaslka *et al.* [67], o qual usou complexante *Tiron* em polipirrol como componente redox. No entanto, o eletrodo desenvolvido neste trabalho foi superior em termos de estabilidade e tempo de vida, pois o eletrodo aqui apresentado mostrou um tempo de vida de mais de dois meses, que foi superior ao de Michaslka *et al.* que teve um tempo de vida de uma semana.

II.4.2.3. Desempenho do ISE de contato sólido para íon chumbo

Da mesma forma que para o íon cálcio, o eletrodo íon-seletivo de contato sólido para chumbo também foi desenvolvido, seguindo o protocolo de condicionamento indicado na Parte Experimental.

O eletrodo sob condições otimizadas apresentou um limite de detecção de $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$ e excelente resposta nernstiana de $30,2 \text{ mV}$ por década de concentração como pode ser observado na Figura 2.21.

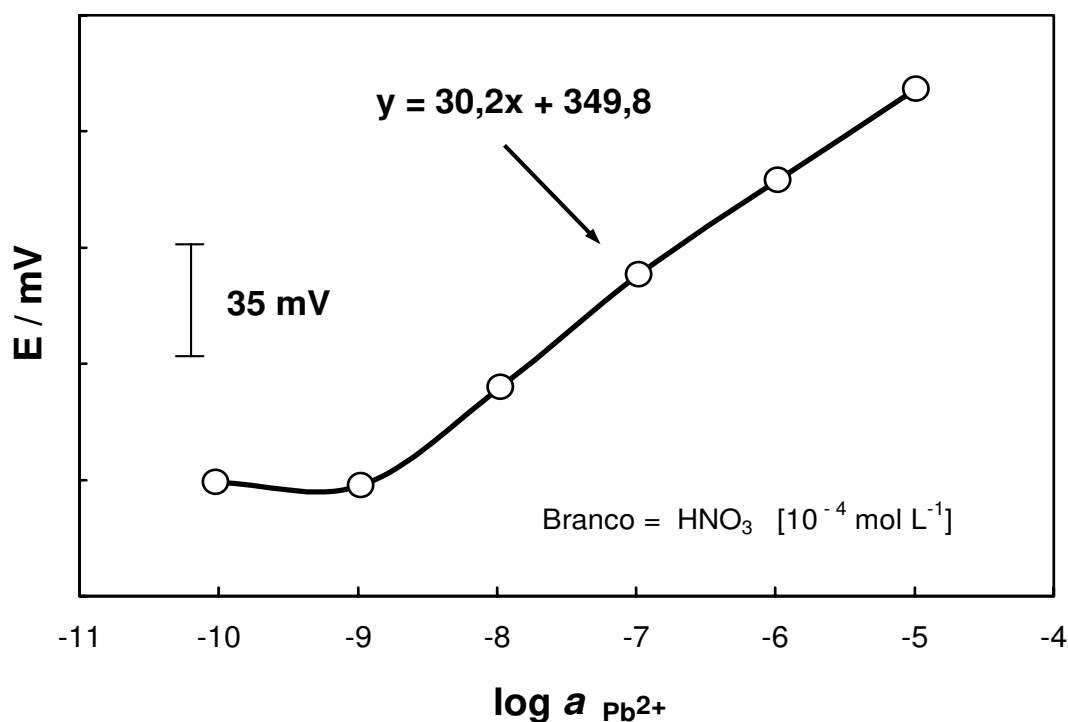


Figura 2.21. Curva analítica obtida com o eletrodo íon-seletivo de contato sólido para o chumbo, medidas realizadas em HNO_3 $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Este eletrodo apresentou limite de detecção semelhante ao eletrodo de contato sólido reportado por Sutter *et al.* [68] quem empregou polipirrol como interface redox entre a membrana e o contato sólido. No entanto, o procedimento de preparo do eletrodo aqui desenvolvido foi mais simples e rápido.

II.4.2.4. Desempenho do ISE de contato sólido para iodeto

Finalmente, o mesmo procedimento também foi aplicado para o desenvolvimento de um eletrodo íon-seletivo de contato sólido para ânion. Assim um ISE para o iodeto foi desenvolvido. O procedimento de condicionamento seguido, foi indicado na Parte Experimental.

O eletrodo de contato sólido para iodeto desenvolvido, sob condições otimizadas apresentou um excelente limite de detecção de 10 nmol L^{-1} , e uma boa resposta nernstiana com uma sensibilidade de 57,8 mV por década de concentração, como mostrado na Figura 2.22.

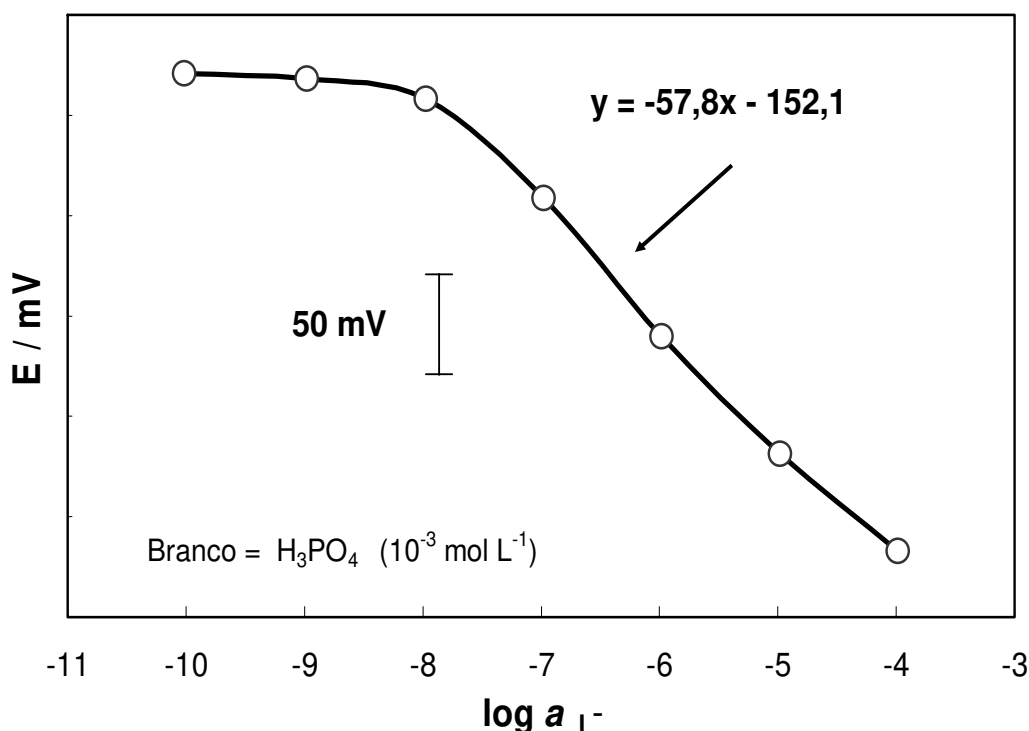


Figura 2.22. Curva analítica obtida com o eletrodo íon-seletivo de contato sólido para iodeto, medidas realizadas em H_3PO_4 $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Embora o limite de detecção deste eletrodo seja um pouco maior ao seu equivalente ISE de contato líquido o qual apresentou um limite de detecção de $2,0 \text{ nmol L}^{-1}$ [69], este eletrodo é o primeiro ISE de contato sólido seletivo para ânions, com o menor limite de detecção reportado até então.

Na Figura 2.23 pode ser observado o efeito do polímero condutor poli(3-octiltiofeno) (POT) na diminuição do desvio do potencial (“drifting”), assim como a ausência de sobrepotenciais na resposta do eletrodo.

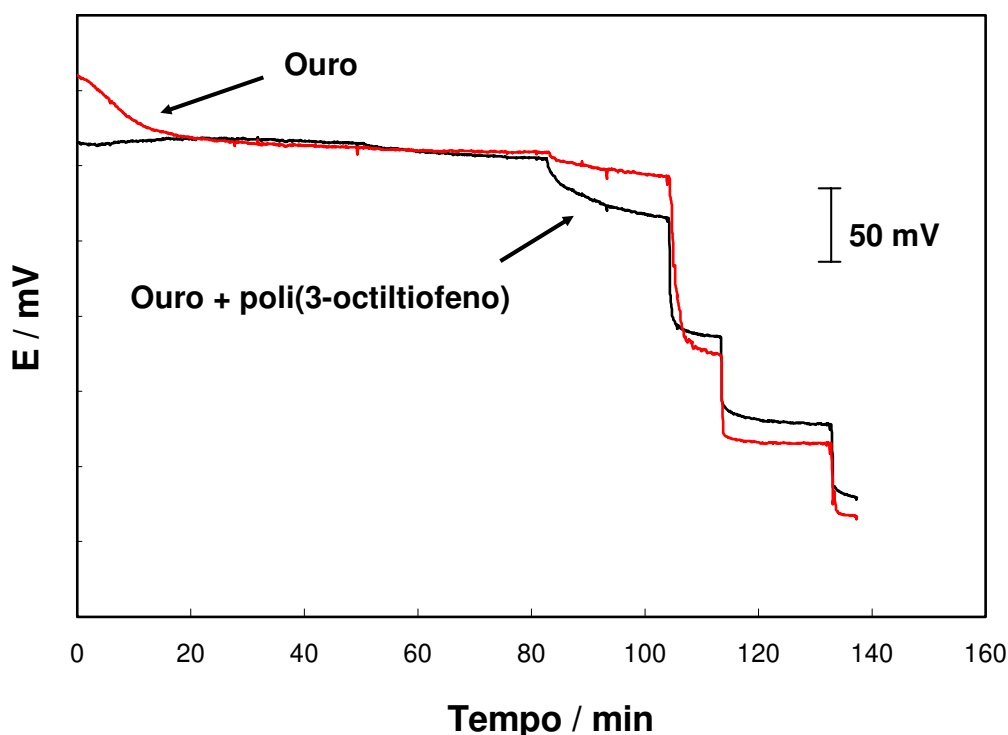


Figura 2.23. Curva de resposta em função do tempo do eletrodo íon-seletivo de contato sólido para iodeto, numa solução de H_3PO_4 $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

O tempo de resposta do eletrodo para iodeto também foi estudado, e o eletrodo sob condições otimizadas, apresentou um tempo de resposta de 20 minutos para uma mudança de concentração de $1,0 \cdot 10^{-8}$ a $1,0 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Este tempo de resposta é relativamente longo, no entanto é menor quando comparado com os eletrodos de contato líquido que registraram tempos de resposta de mais de 1 hora para a mesma mudança de concentração [69].

Todos os eletrodos aqui desenvolvidos apresentaram limite de detecção na ordem de nanomolar. Estes limites de detecção atingidos foram

muito menores quando comparados com os ISEs tradicionais, onde limites de detecção na faixa micromolar eram usualmente encontrados.

A grande vantagem de obter ISEs com baixos limites de detecção é a possibilidade de aplicação destes eletrodos em amostras ambientais, como por exemplo, contaminação de águas de rios e lagos por íons metálicos, onde os íons encontram-se em concentrações muito baixas. Assim como também poder determinar a concentração de íons permissíveis em águas de bebida ou alimentos em geral.

A construção de eletrodos íon-seletivo de contato sólido com limite de detecção nanomolar, possibilita o desenvolvimento de microeletrodos com baixo limite de detecção, o qual não era muito simples de ser alcançado com ISEs de contato líquido, desde que a miniaturização era bastante dificultada por estes ISEs precisar de compartimento para a solução interna.

II.5. CONCLUSÕES

Dos resultados apresentados pode-se concluir que é possível construir eletrodos de contato sólido com valores de limites de detecção similares aos seus equivalentes de contato líquido, em níveis de nanomolar.

O eletrodo de contato sólido para o íon prata, utilizando poli(3-octiltiofeno) como camada redox, e MMA-DMA como matriz polimérica, apresentou um excelente limite de detecção e boa resposta nernstiana. Sendo o condicionamento do eletrodo um fator muito importante na obtenção do baixo limite de detecção.

A seletividade também foi verificada, e este demonstrou ser altamente seletivo para íons prata. Os eletrodos desenvolvidos não apresentaram camada de água entre a interface membrana/contato sólido, e o desvio do potencial (“*drift*”) do eletrodo foi reduzida pelo uso de polímero condutor.

Assim também, foi possível a construção de eletrodos íon seletivos para chumbo, cálcio e iodeto com limite de detecção na faixa nanomolar, utilizando uma única receita, o qual mostrou ser muito promissor na criação de uma receita universal para preparar outros ISEs de contato sólido com baixo limite de detecção, possibilitando sua produção em massa, de maneira fácil com perspectivas de miniaturização.

Todos os eletrodos de contato sólido desenvolvidos apresentaram tempos de resposta menores a seus equivalentes ISEs de contato líquido. Em relação ao eletrodo de iodeto aqui desenvolvido foi o primeiro reportado na literatura como ISE de contato sólido com baixo limite de detecção.

Certamente, o desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos com baixo limite de detecção traz um novo panorama de aplicação devido a suas

potencialidades, como por exemplo: a determinação de diferentes íons em amostras ambientais, em águas de consumo, e em casos de contaminação ou intoxicação por íons metálicos em seres vivos, entre outros.

Assim também devido aos eletrodos potenciométricos não perturbarem a amostra, microeletrodos potenciométricos poderiam ser apropriados para medir baixas concentrações em volumes de amostra bem pequenos.

II.6. REFERÊNCIAS

1. Schefer, U.; Ammann, D.; Pretsch, E.; Oesch, U.; Simon, W.; *Anal. Chem.* 58 (1986) 2282.
2. Sokalski, T.; Maj-Zuruwska, M.; Hulanicki, A.; *Microchim. Acta* 1 (1991) 285.
3. Ceresa, A.; Sokalski, T.; Pretsch, E.; *J. Electroanal. Chem.* 501 (2001) 70.
4. Ceresa, A.; Radu, A.; Peper, S.; Bakker, E.; Pretsch, E.; *Anal. Chem.* 74 (2002) 4027.
5. Zwickl, T.; Sokalski, T.; Pretsch, E.; *Electroanalysis* 11 (1999) 673.
6. Bakker, E.; Pretsch, E.; *Anal. Chem.* 1 (2002) 420A.
7. Sokalski, T.; Ceresa, A.; Zwickl, T.; Pretsch, E.; *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997) 11347.
8. Qin W.; Zwickl, T.; Pretsch, E.; *Anal. Chem.* 72 (2000) 3236.
9. Bakker, E.; Pretsch, E.; *Trends Anal. Chem.* 20 (2001) 11.
10. Ion, A. C.; Bakker, E.; Pretsch, E.; *Anal. Chim. Acta* 440 (2001) 71.
11. Ceresa, A.; Bakker, E.; Gunther, D.; Hatteridorf, B.; Pretsch, E.; *Anal. Chem.* 73 (2001) 343.
12. Buck, R. P.; Lindner, E.; *Pure Appl. Chem.* 66 (1994) 2527.
13. Mathison, E.; Bakker, E.; *Anal. Chem.* 70 (1998) 303.
14. Zhang, G. H.; Imato, T.; Asano, Y.; Sonoda, T.; Kobayashi, H.; Ishibashi, N.; *Anal. Chem.* 62 (1990) 1644.
15. Shen, H.; Cardwell, T. J.; Cattrall, R. W.; *Analyst* 123 (1998) 2181.
16. Sokalski, T.; Zwickl, T.; Bakker, E.; Pretsch, E.; *Anal. Chem.* 71 (1999) 1204.
17. Gyursányi, R. E.; Pergel, E.; Nagy, R.; Kapui, I.; Lan, B.; Tóth, K.; Bitter, I.; Lindner, E.; *Anal. Chem.* 73 (2001) 2104.
18. Bakker, E.; Meyerhoff, M. E.; *Anal. Chim. Acta* 416 (2000) 121.
19. Bakker, E.; Meruva, R. K.; Pretsch, E.; Meyerhoff, M. E.; *Anal. Chem.* 66 (1994) 3021.
20. Nägele, M.; Bakker, E.; Pretsch, E.; *Anal. Chem.* 71 (1999) 1041.
21. Vigassy, T.; Gyursányi, R. E.; Pretsch, E.; *Electroanalysis* 15 (2003) 375.
22. Schneider, B.; Zwickl, T.; Federer, B.; Pretsch, E.; Lindner, E.; *Anal. Chem.* 68 (1996) 4342.

23. Pendley, B. D.; Gyursányi, R. E.; Buck, R. P.; Lindner, E.; *Anal. Chem.* **73** (2001) 4599.
24. Marcus, Y.; “*Ion Properties*”, Marcel Dekker, New York, 1997.
25. Qin, Y.; Peper, S.; Radu, A.; Ceresa, A.; Bakker, E.; *Anal. Chem.* **75** (2003) 3038.
26. Sokalski, T.; Ceresa, A.; Fibbioli, M.; Zwickl, T.; Bakker, E.; Pretsch, E.; *Anal. Chem.* **71** (1999) 1210.
27. Bedlechowicz, I.; Maj-Zurawaska, M.; Sokalski, T.; Hulanicki, A.; *J. Electroanal. Chem.* **537** (2002) 111.
28. Peper, S.; Ceresa, A.; Bakker, E.; Pretsch, E.; *Anal. Chem.* **73** (2001) 3768.
29. Vigassy, T.; Gyurcsányi, R. E.; Pretsch, E.; *Electroanalysis* **15** (2003) 1270.
30. Püntener, M.; Vigassy, T.; Baier, E.; Ceresa, A.; Pretsch, E.; *Anal. Chim. Acta* **523** (2004) 53.
31. Kamata, S.; Bhale, A.; Fukunaga, Y.; Murata, H.; *Anal. Chem.* **60** (1988) 2464.
32. Szigeti, Z.; Bitter, I.; Tóth, K.; Latkoczy, C.; Fliegel, D. J.; Günther, D.; Pretsch, E.; *Anal. Chim. Acta* **532** (2005) 129.
33. Malon, A.; Radu, A.; Qin, W.; Qin, Y.; Ceresa, A.; Maj-Zurawska, M.; Bakker, E.; Pretsch, E.; *Anal. Chem.* **75** (2003) 3865.
34. Fibbioli, M.; Morf, W. E.; Badertscher, M.; Rooij, N. F.; Pretsch, E.; *Electroanalysis* **12** (2000) 1286.
35. Cattrall, R. W.; Tribuzio, S.; Freiser, H.; *Anal. Chem.* **46** (1974) 2223.
36. Schnierle, P.; Kappes, T.; Hauser, P. C.; *Anal. Chem.* **70** (1998) 3585.
37. Dimitrakopolus, T.; Farrell, J. R.; Iles, P. J.; *Electroanalysis* **8** (1996) 391.
38. Cattrall, R. W.; Drew, D. W.; Hamilton, I. C.; *Anal. Chim. Acta* **76** (1975) 269.
39. Hauser, P. C.; Chiang, D. W. L.; Wright, G. A.; *Anal. Chim. Acta* **302** (1995) 241.
40. Liu, D.; Meruva, R. K.; Brown, R. B.; Meyerhoff, M. E.; *Anal. Chim. Acta* **321** (1996) 173.
41. Fibbioli, M.; Bandyopadhyay, K.; Liu, S. G.; Echegoyen, L.; Enger, O.; Diederich, F.; Buhlmann, P.; Pretsch, E.; *Chem. Commun.* (2000) 339.
42. Fibbioli, M.; Bandyopadhyay, K.; Liu, S. G.; Echegoyen, L.; Enger, O.; Diederich, F.; Gingery, D.; Buhlmann, P.; Persson, H.; Suter, U. W.; Pretsch, E.; *Chem. Mater.* **14** (2002) 1721.

43. Sutter, J.; Radu, A.; Peper, S.; Bakker, E.; Pretsch, E.; *Anal. Chim. Acta* 523 (2004) 53.
44. Fibbioli, M.; Morf, W. E.; Badertscher, M.; Rooij, N. F.; Pretsch, E.; *Electroanalysis* 12 (2000) 1286.
45. Yun, S. Y.; Hong, Y. K.; Oh, B. K.; Cha, G. S.; Nam, H.; Lee, S. B.; Jin, J. I.; *Anal. Chem.* 69 (1997) 868.
46. Reinhoudt, D. N.; Engbersen, J. F. J.; Brzoska, A.; Van der Vlekkert, H. H.; Honing, G. W. N.; Holterman, H. A. J.; Verkerk, U. H.; *Anal. Chem.* 66 (1994) 3618.
47. Moody, G. J.; Saad, B.; Thomas, J. D. R.; *Analyst* 112 (1987) 1143.
48. Cha, G. S.; Liu, D.; Meyerhoff, M. E.; Cantor, H. C.; Midgley, A. R.; Goldberg, H. D.; Brown, R. B.; *Anal. Chem.* 63 (1991) 1666.
49. Michalska, A.; Konopka, A.; Maj-Zurawaska, M.; *Anal. Chem.* 75 (2003) 141.
50. Michalska, A.; Dumanska, J.; Maksymiuk, K.; *Anal. Chem.* 75 (2003) 4964.
51. Michalska, A.; Appaih-Kusi, C.; Heng, L. Y.; Walkiewizs, S.; Hall, E. A. H.; *Anal. Chem.* 76 (2004) 2031.
52. Lindner, E.; Gyurcsanyi, R. E.; Buck, R. P.; *Electroanalysis* 11 (1999) 695.
53. Buck, R. P.; Lindner, E.; *Pure Appl. Chem.* 66 (1995) 2527.
54. Gadzekpo, V. P. Y.; Christian, G. D.; *Anal. Chim. Acta* 164 (1984) 279.
55. Umezawa, Y.; Umezawa, K.; Sato, H.; *Pure Appl. Chem.* 67 (1995) 507.
56. Bakker, E.; *Anal. Chem.* 69 (1997) 1061.
57. Bakker, E.; *Sens. Actuators B* 35 (1996) 20.
58. Zinn, A. A.; Zheng, Z.; Knobler, C. B.; Hawthorne, M. F.; *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 70.
59. Qin, Y.; Peper, S.; Bakker, E.; *Electroanalysis* 14 (2002) 1375.
60. Heng, L. Y.; Hall, E. A. H.; *Anal. Chim. Acta.* 403 (2000) 77.
61. Moody, G. J., Oke, R., Thomas, R. B.; *Analyst*, 95 (1970) 910.
62. Torres, K. Y.; Garcia, C. A. B.; Fernandes, J. C. B.; Neto, G. O.; Kubota, L.T.; *Talanta* 53 (2001) 807.
63. Bakker, E.; Buhlmann, P.; Pretsch, E.; *Chem. Rev.* 97 (1997) 3083.
64. Heng, L. Y.; Toth, K.; Hall, E. A. H.; *Talanta* 63 (2004) 73.
65. Radu, A.; Meir, A. J.; Bakker, E.; *Anal. Chem.* 76 (2004) 6402.
66. Mi, Y., Mathison, S., Goines, R., Longue, A., Bakker, E.; *Anal. Chim. Acta* 397 (1999) 103.

-
67. Konopka, A., Sokalski, T., Michalska, A., Lewenstam, A., Maj-Zurawaska, M.; *Anal. Chem.* 76 (2004) 6410.
 68. Sutter, J., Lindner, E., Gyurcsányi, E., Pretsch, E.; *Anal. Bioanal. Chem.* 380 (2004) 7.
 69. Malon, A.; Radu, A.; Qin, W.; Qin, Y.; Ceresa, A.; Maj-Zurawska, M.; Bakker, E.; Pretsch, E.; *Anal. Chem.* 75 (2003) 3865.

**PROPOSTAS PARA TRABALHOS
FUTUROS**

CAPÍTULO III



III. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Como propostas para trabalhos futuros sugere-se:

- Em vista que os eletrodos desenvolvidos foram realizados com o uso de um só recipiente, isto faz promissor o desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos com baixo limite de detecção para outros analitos.
- Desenvolver eletrodos íon-seletivos tubulares com baixo limite de detecção para seu acoplamento no sistema de injeção em fluxo contínuo.
- Desenvolver microeletrodos íon-seletivos de contato sólido para os íons aqui propostos, com objetivo de serem realizadas medidas em vivo ou em meios de difícil acesso devido ao tamanho do eletrodo.
- Aplicar os eletrodos íon-seletivos para análises dos diferentes íons em amostras, com objetivo de diminuir os níveis de ação existentes das agências reguladoras.

**DESENVOLVIMENTO DE UM
ELETRODO DE CONTATO LÍQUIDO
COM BAIXO LIMITE DE DETECÇÃO
PARA ÍON PRATA**

APÊNDICE



Desenvolvimento de um eletrodo de contato líquido com baixo limite de detecção para íon prata

A.1. Objetivo

Desenvolver um eletrodo íon seletivo de contato líquido com baixo limite de detecção para íon prata, verificando a influência da solução de preenchimento interna no limite de detecção, além de calcular a seletividade do eletrodo, e compará-lo com seu análogo ISE de contato sólido.

A.2. Parte Experimental

A.2.1. Reagentes

O *o*-xilileno-*bis*(*N,N*-diisobutilditiocarbamato) (ionóforo (I) cobre (II)), *O-O'*-*bis*[(2-metiltio)-etil] *ter*-butil-calix[4]areno (ionóforo de prata (IV)), o tetrakis[3,5-*bis*(trifluorometil)fenil] borato de sódio (NaTFPB), o *bis*(2-etilhexil)sebacate (DOS), cloreto de polivinila (PVC), tetrahidrofurano (THF) e a resina trocadora de cátions Dowex monoesfera (C-350 na forma sódica) foram obtidos da Fluka (Buchs, Suíça). Os sais de NaNO₃, CuSO₄, KCl, Ca(NO₃)₂ e AgNO₃ foram obtidos da Sigma-Aldrich (Millwaukee, USA). Água deionizada (18,2 MΩ cm) foi utilizada para o preparo das soluções.

A.2.2. Membrana

As membranas foram preparadas dissolvendo 9,86 mmol kg⁻¹ (0,51%) de ionóforo (I) cobre (II) (nome comercial da Fluka), 5,08 mmol kg⁻¹

(0,47%) de NaTFPB, 33,2% de PVC e 65,82% de DOS. Os componentes numa massa total de 240 mg foram dissolvidos em 2,5 mL de THF com uso de agitador automático. Após isto, a solução foi colocada em um anel de vidro (28 mm de diâmetro interno) suportado sobre uma placa de vidro lisa. A solução para a obtenção da membrana sensora foi deixada no ambiente para evaporação do solvente por 12 h, permitindo a formação de uma membrana transparente de aproximadamente 200 μm de espessura. Esta membrana foi denominada como ISE-A.

Uma outra membrana foi preparada contendo 12,74 mmol kg^{-1} (1,01%) de ionóforo de prata (IV), 4,77 mmol kg^{-1} (0,44%) de NaTFPB, 32,63% de PVC e 65,91% de DOS, a membrana preparada obtida seguindo este procedimento, foi denominada como ISE-B.

A.2.3. Preparação da solução de preenchimento do ISE para prata

Antes de preparar as soluções de preenchimento (SP) do ISE, a resina a ser utilizada deve ser caracterizada, e para isto, é necessário determinar sua capacidade e o grau de seletividade da resina para íons prata.

Para calcular a capacidade da resina trocadora catiônica, esta foi equilibrada com 1,0 mol L^{-1} de HCl sob agitação constante durante 12 h. Posteriormente a resina obtida na forma ácida foi seca, e 0,3 g desta foi titulada com 0,1 mol L^{-1} de NaOH usando o indicador alaranjado de metila.

A seletividade da resina trocadora de cátions ($K_{\text{Ag,Na}} = m_{\text{Ag, resina}} m_{\text{Na, aq}} / m_{\text{Na, resina}} m_{\text{Ag, aq}}$) foi determinada pelo equilíbrio de 0,1 g da resina seca, na forma sódica, com 50 mL de 1,0 10^{-3} mol L^{-1} de AgNO_3

por 12 h. Após isto, a concentração de íon prata em equilíbrio foi medida utilizando o ISE-B.

Uma vez caracterizada a resina, três diferentes soluções de preenchimento foram preparadas. A solução de preenchimento 1 (SP1) contém: $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 semelhante aos eletrodos íon-seletivos convencionais. A solução de preenchimento 2 (SP2) e a solução de preenchimento 3 (SP3) contém 0,2 g da resina trocadora catiônica na forma sódica equilibrada durante 12 h com 10 mL de uma solução contendo: $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 e $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 para SP2 e $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 e $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 para SP3.

A.2.4. Preparação do eletrodo

Para os ISE-A e ISE-B, um disco de 6,0 mm de diâmetro foi cortado da membrana obtida, e colado num tubo de PVC de 3,0 mm de diâmetro interno com auxílio de uma solução de THF e PVC numa proporção de 1:1. Ambos os eletrodos foram preenchidos com uma solução de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 como indicado na Figura A.1, e deixados em condicionamento em solução de AgNO_3 de concentração igual a $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. O ISE-B foi utilizado como um eletrodo convencional para medir concentrações de íon prata na caracterização da resina.

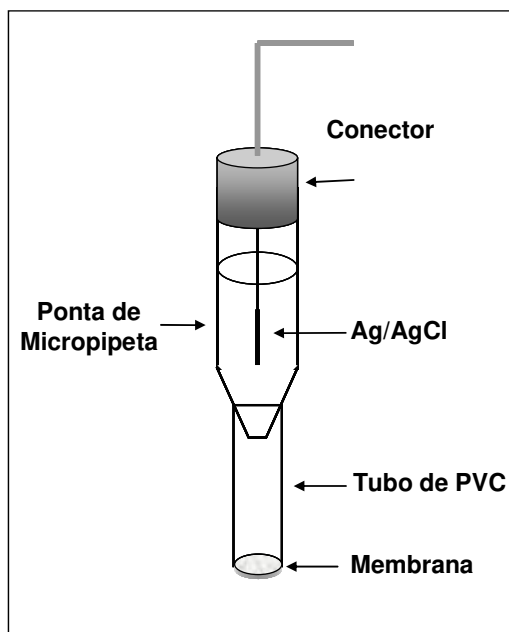


Figura A.1. Desenho do esquema do eletrodo de contato líquido.

Por outro lado, a solução de preenchimento de alta concentração dos eletrodos (ISEs-A) foram trocados por soluções de diferentes composições, resultando em três diferentes eletrodos, os quais foram denominados como ISE-SP1, ISE-SP2 e ISE-SP3. Cada um destes eletrodos foram então condicionados numa solução contendo $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ e $1,0 \cdot 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 como indicado na Figura A.2(B).

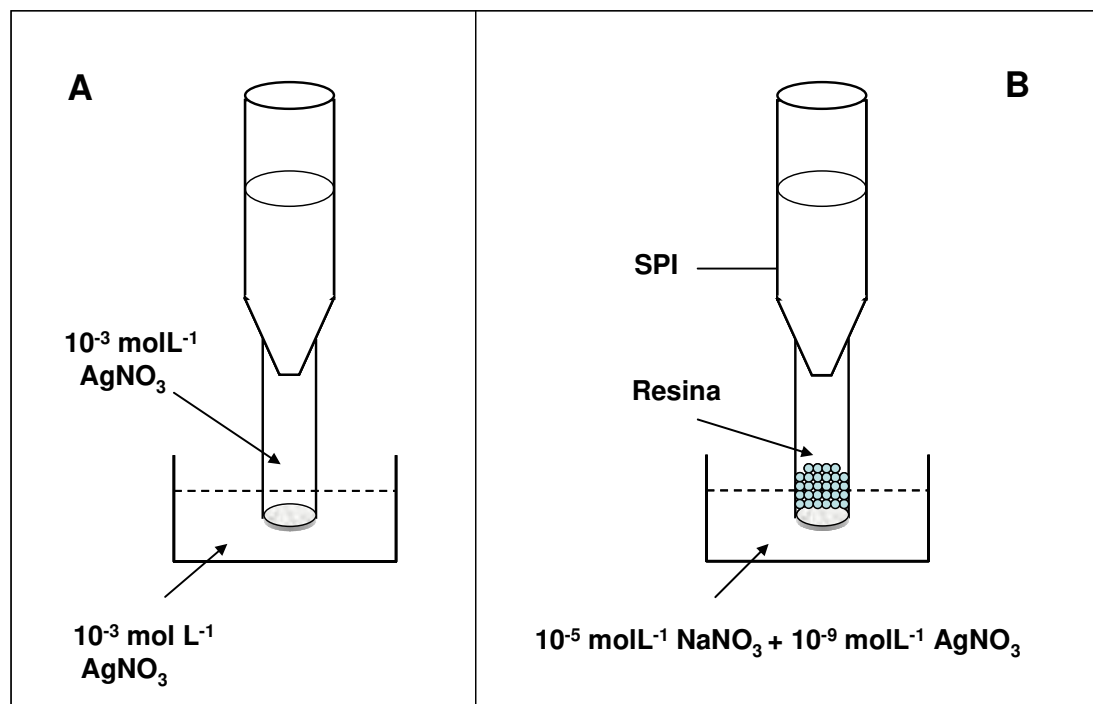


Figure A.2. Disposição do eletrodo para condicionamento da membrana em alta concentração de íon prata (A) e em baixa concentração de íon prata (B).

A.2.5. Aparelhagem

As medidas de diferença de potencial foram monitoradas através de uma placa de aquisição de dados da PCI MIO16XE (National Instruments, Austin, TX, USA) utilizando uma interface de quatro canais de alta impedância (WPI, Sarasota, FL, USA) em temperatura ambiente (22°C). A célula galvânica pode ser representada por $\text{Ag}/\text{AgCl}/3\text{M KCl}/1\text{M LiOAc}/\text{solução amostra}/\text{membrana ISE}/\text{solução de preenchimento AgCl}/\text{Ag}$ com eletrodo de referência de dupla junção de Ag/AgCl modelo 6.0729.100 da Metrohm (Herisau, Suíça).

A.3. Resultados

A.3.1. Limite de detecção

É entendido que o principal problema na obtenção de baixos limites de detecção é a lixiviação do íon primário da solução de preenchimento do eletrodo através da membrana para interface membrana/solução, devido ao fato de que soluções de alta concentração (da ordem de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) são geralmente usadas. Desta forma soluções de preenchimento mais diluídas vem sendo empregadas, na tentativa de minimizar este efeito.

No entanto, soluções extremamente diluídas provocam comportamentos super-nernstianos originado pelo transporte de íons primário da amostra atravessando a membrana e atingindo a solução de preenchimento do eletrodo. Assim, é importante manter constante a atividade do íon primário na solução de preenchimento do eletrodo. Uma alternativa para conseguir isto é o emprego de tampões complexantes e resinas trocadoras iônicas na solução de preenchimento.

A.3.2. Caracterização da resina

A.3.2.1. Cálculo da capacidade da resina

Para calcular a capacidade da resina (C) o procedimento descrito na Parte Experimental foi realizado. Para isto, três diferentes amostras de resina seca na forma ácida foram medidas. Durante a titulação é importante uma exata observação do ponto final, já que este poderia voltar várias vezes durante a agitação, devido à contínua liberação do íon hidrogênio. Com

objetivo de resolver este problema, a titulação foi realizada num mínimo de 45 minutos. A quantidade de sódio trocada por hidrogênio (durante a titulação), em termos de capacidade foi calculada utilizando-se a equação 1. Os valores obtidos são apresentados na Tabela A.1:

$$C_{\frac{\text{mequiv}}{\text{g}}} = \frac{V_{\text{mL}(\text{NaOH})} \cdot \mu_{\text{molL}^{-1}}}{W_{(\text{g}_{\text{resina}})}} \quad (1)$$

onde:

$\mu_{\text{molL}^{-1}}$ = concentração do titulante (0,1 mol L⁻¹)

$V_{\text{mL}(\text{NaOH})_{\text{usado}}}$ = volume de NaOH

$W_{(\text{g}_{\text{resina}})}$ = massa da resina em gramas

$C_{\frac{\text{mequiv}}{\text{g}}}$ = capacidade da resina (mequiv g⁻¹)

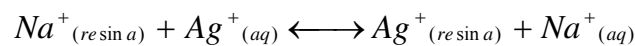
Tabela A.1. Valores calculados da capacidade da resina para três amostras diferentes.

Amostra	$W_{(\text{g}_{\text{resina}})}$	$V_{\text{mL}(\text{NaOH})_{\text{usado}}}$	$(C)_{\frac{\text{mequiv}}{\text{g}}}$
1	0,3019	14,3	4,74
2	0,2812	13,0	4,62
3	0,2553	11,8	4,62
		Média	4,66 (± 0,07)

A.3.2.2. Cálculo da seletividade da resina

Para calcular a seletividade da resina para íons prata, a resina na forma sódica foi equilibrada com 50 mL de solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ AgNO}_3$ durante 12 h e a atividade do íon prata na solução após o equilíbrio foi determinada utilizando o ISE-B (Figura A.3).

No equilíbrio ocorre a seguinte reação:



e a $K_{troca-iônica} = K_{Ag,Na}$ é calculado de acordo com a seguinte equação:

$$K_{Ag,Na} = \frac{n_{\text{Ag}^+,resina} n_{\text{Na}^+,aq}}{n_{\text{Na}^+,resina} n_{\text{Ag}^+,aq}} \quad (2)$$

onde,

$$n_{\text{Ag}^+,aq} = \text{mols medidos de Ag}^+ = (\text{atividade medida com o ISE-B} \times 0,05 \text{ L})$$

$$n_{\text{Ag}^+,resina} = (\text{mols iniciais de Ag}^+ - \text{mols medidos de Ag}^+)$$

$$n_{\text{Na}^+,aq} = \text{mol}_{\text{Ag}^+,resina}$$

$$n_{\text{Na}^+,resina} = [C \times m_{resina} - (\text{mols iniciais de Ag}^+ - \text{mols medidos de Ag}^+)]$$

logo, substituindo na equação (2) e considerando:

m_{resina} = massa da resina seca

$$n_{inicial,Ag^+} = (1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ AgNO}_3) (0,05 \text{ L}) = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol AgNO}_3$$

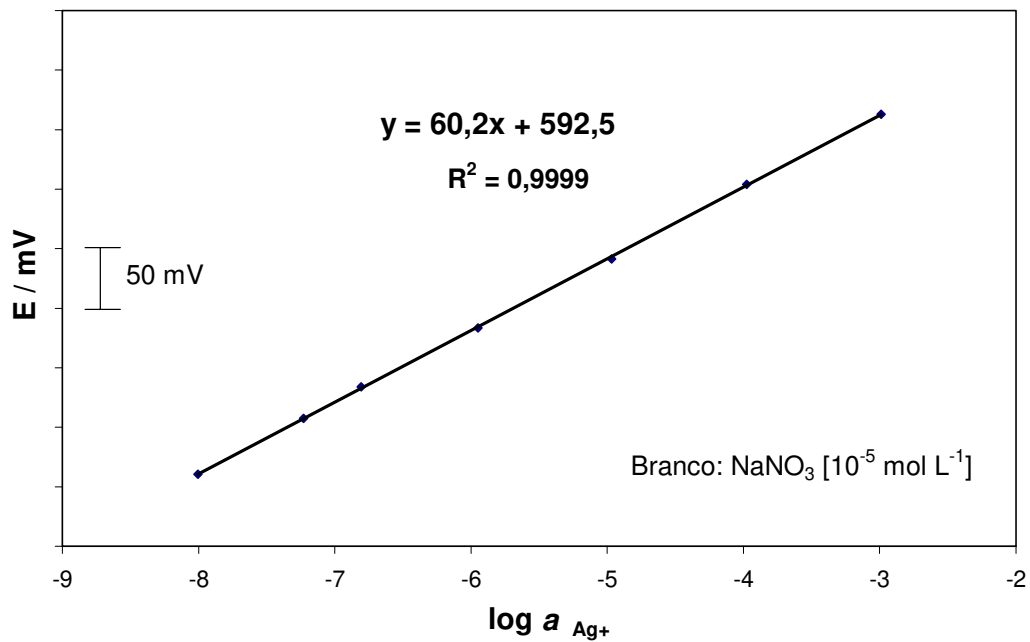


Figura A.3. Curva de calibração do ISE-B, utilizado para medir a concentração do íon prata na resina.

Os valores medidos e calculados são apresentados na Tabela A.2, onde o valor de $K_{\text{Ag},\text{Na}}$ foi calculado em triplicata, este valor de coeficiente de seletividade foi de 1,75 ($\pm 0,03$).

Tabela A.2. Valores medidos e calculados utilizando a equação 2, com objetivo de obter a seletividade da resina.

Amostra	$n_{\text{inicial, Ag}^+}$	$a_{\text{Ag}^+, \text{medida}}$	$n_{\text{Ag}^+, \text{aq}}$	$n_{\text{Ag}^+, \text{resina}}$	$m_{\text{resina}} \text{ (g)}$	$C_{\text{mequiv/g}}$	$n_{\text{Na}^+, \text{resina}}$	$K_{\text{Ag, Na}}$
1	$5,0 \cdot 10^{-5}$	$6,018 \cdot 10^{-5}$	$3,009 \cdot 10^{-6}$	$4,699 \cdot 10^{-5}$	0,0977	4,55	$4,083 \cdot 10^{-4}$	1,79
2	$5,0 \cdot 10^{-5}$	$6,089 \cdot 10^{-5}$	$3,044 \cdot 10^{-6}$	$4,696 \cdot 10^{-5}$	0,1002	4,67	$4,198 \cdot 10^{-4}$	1,73
3	$5,0 \cdot 10^{-5}$	$5,889 \cdot 10^{-5}$	$2,945 \cdot 10^{-6}$	$4,705 \cdot 10^{-5}$	0,1026	4,78	$4,314 \cdot 10^{-4}$	1,74
							Média	1,75 ($\pm 0,03$)

A.3.3. Otimização da solução de preenchimento do ISE

A concentração calculada dos íons prata para cada solução de preenchimento (SP1, SP2 e SP3), considerando a seletividade da resina ($K_{Ag,Na} = 1,75$) e a capacidade ($4,66 \cdot 10^{-3} \text{ mequiv g}^{-1}$) foram $1,0 \cdot 10^{-3}$, $1,19 \cdot 10^{-7}$ e $6,64 \cdot 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

As curvas de calibração obtidas com cada um dos eletrodos denominados ISE-SP1, ISE-SP2 e ISE-SP3 podem ser observados na Figura A.4.

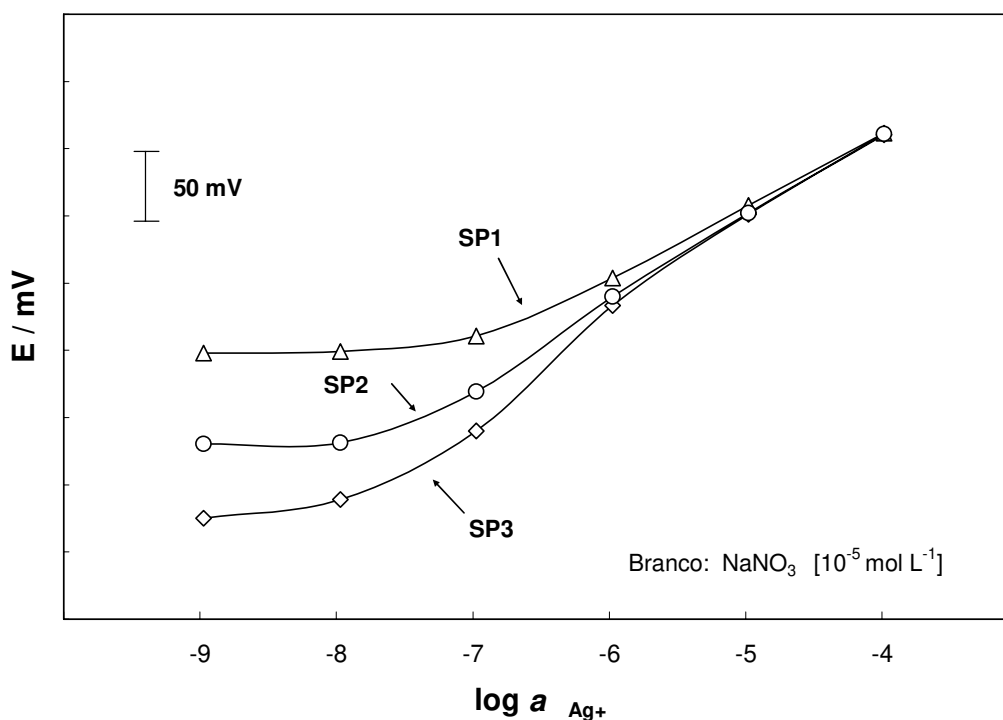


Figura A.4. Respostas obtidas com ISE-A para as três diferentes soluções de preenchimento: SP1 = $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 , SP2 = $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 e $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 , SP3 = $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 e $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 .

Os resultados observados na Figura A.4, mostram que diferentes soluções de preenchimento originam diferentes comportamentos do eletrodo e como consequência diferentes limites de detecção. O eletrodo denominado ISE-SP1, com alta concentração de íons prata na solução de preenchimento, semelhante aos eletrodos convencionais, mostrou um limite de detecção da ordem de 10^{-7} mol L⁻¹, devido à elevada concentração do eletrólito na solução de preenchimento, permitindo o indesejado transporte de íons primários para amostra.

Por outro lado, o eletrodo denominado como ISE-SP3 mostrou um comportamento super-nernstiano. Isto foi concordante com observações prévias em eletrodos com baixa atividade de íon primário e alta atividade do íon interferente, onde ocorre a troca de uma parte significativa dos íons primários pelos íons interferentes no lado interno da membrana. Um comportamento diferente foi observado com o eletrodo denominado ISE-SP2, onde um comportamento nernstiano é observado com um limite de detecção de $10^{-7,7}$ mol L⁻¹ (Figura A.5). Neste caso foi possível evitar fluxos em ambas as direções pelo emprego de uma resina trocadora de íons na solução de preenchimento, atuando a resina como um tampão que mantém constante a concentração do íon primário na solução de preenchimento.

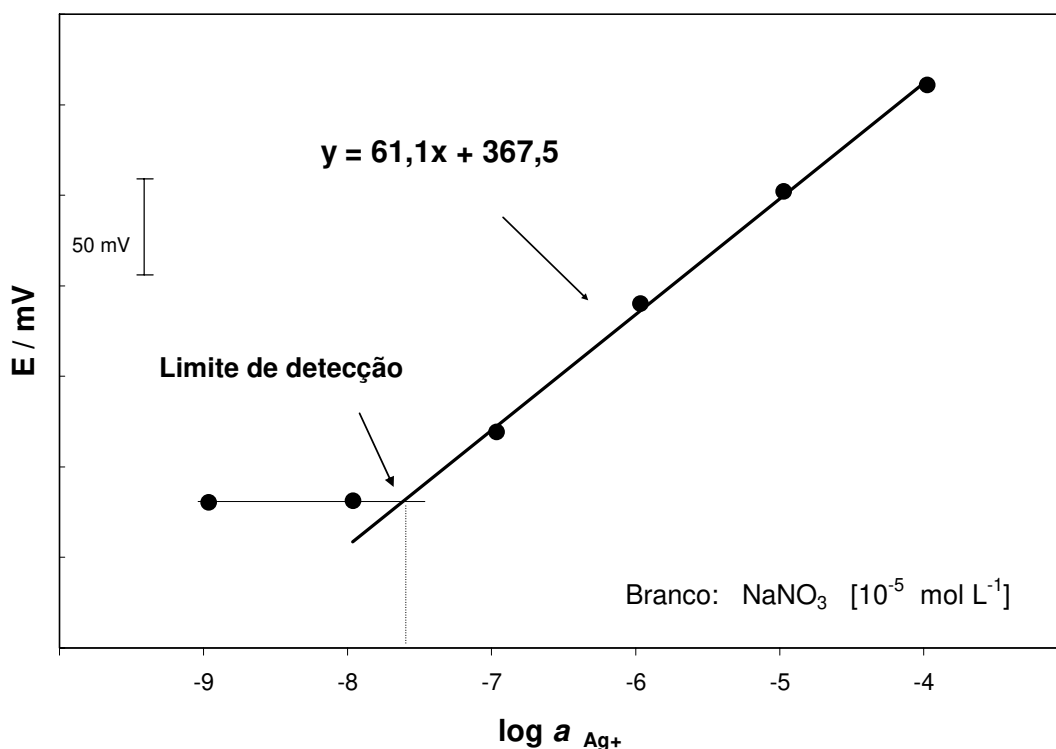


Figura A.5. Curva de calibração e limite de detecção para o ISE-A com solução de preenchimento (SP2).

A.3.4. Avaliação da interferência analítica do eletrodo desenvolvido

O método utilizado aqui para medir a seletividade do eletrodo foi o método das soluções separadas modificado [referência 56 do capítulo II], onde a membrana é condicionada numa solução contendo um íon altamente discriminado. Dessa forma, inclinações nernstianas para os íons interferentes são observadas, e coeficientes de seletividade potenciométrica mais exatos são obtidos.

Assim, as medidas foram realizadas sem expor o eletrodo ao íon primário. Ao invés disso os eletrodos foram condicionados numa solução

$1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 e esta mesma solução foi utilizada como solução de preenchimento dos eletrodos. Em seguida, curvas de calibração foram obtidas para todos os íons interferentes em separado, e no final do experimento uma curva de calibração para o íon primário (prata) foi obtida.

Na Figura A.6 pode se observar uma grande diferença no potencial do eletrodo entre as curvas de calibração correspondentes aos íons interferentes e o correspondente ao íon primário. Esta diferença claramente indica a alta preferência do eletrodo pelo íon prata em relação a outros cátions. Os valores de coeficiente de seletividade foram calculados utilizando a equação de Nicolskii-Eisenman modificada.

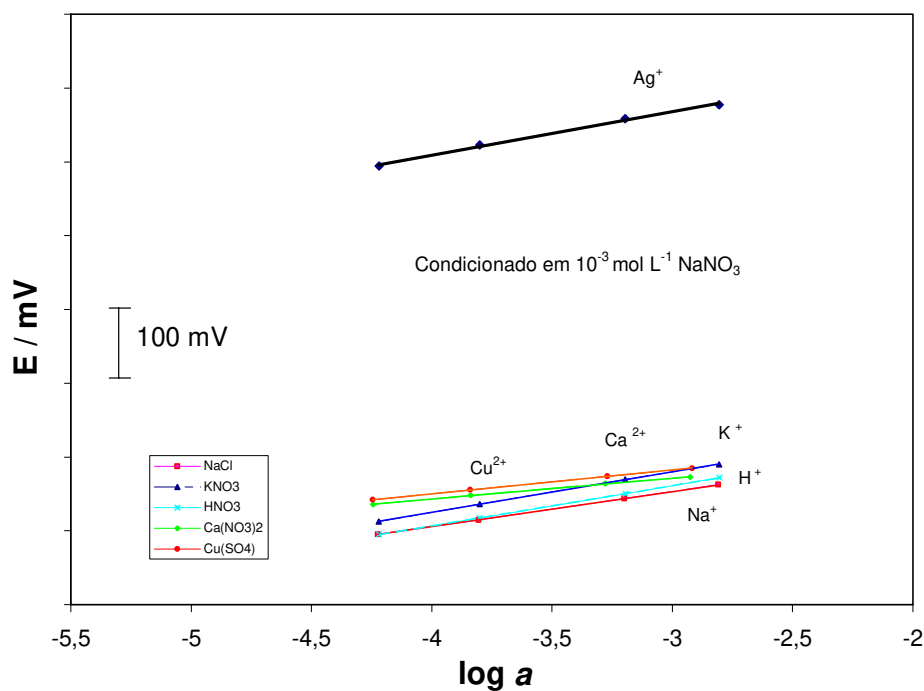


Figura A.6. Seletividade do eletrodo desenvolvido utilizando o método das soluções separadas modificado.

As inclinações obtidas e os coeficientes de seletividade potenciométrica calculados $K_{Ag,J}^{POT}$ são mostrados na Tabela A.3. Verifica-se que as inclinações são nernstianas para os íons interferentes, diferentes dos obtidos quando utilizados métodos tradicionais. Os valores dos coeficientes de seletividade permitem verificar uma alta seletividade do eletrodo.

Tabela A.3. Coeficientes de seletividade potenciométrica calculados para o ISE para íon prata utilizando matriz de PVC-DOS.

Íon J^{z+}	Inclinação(mV década ⁻¹) ^a	$K_{Ag,J}^{pot}$
Na ⁺	51,2 ±0,1	3,2 10 ⁻⁹
K ⁺	56,2±0,4	7,9 10 ⁻⁹
H ⁺	55,5±0,5	3,9 10 ⁻⁹
Ca ²⁺	28,2±0,9	1,6 10 ⁻¹⁰
Cu ²⁺	32,2±0,9	2,5 10 ⁻¹⁰

^aMédia para três diferentes eletrodos.

Dos resultados descritos aqui, pode-se verificar que a composição da solução de preenchimento interna em ISEs de contato líquido é fundamental na conquista de baixos limites de detecção, pois quando otimizados, fenômenos de lixiviação do analito na interface eletrodo/solução podem ser evitados.