



**Universidade Estadual de Campinas  
Instituto de Química**

**Estudo Polarográfico de Fe(III) e Cu(II) em Diversas  
Matrizes Utilizando  
Eletrólito de Suporte à Base de Citrato e EDTA**

**Dissertação de Mestrado**

**Autora: Melissa Sitton**

**Orientador: Prof. Dr. Luiz Manoel Aleixo**

***Dedico este trabalho à minha amiga Liana, meu irmão Renato e à minha mãe Gecy; pessoas que estiveram comigo nestes últimos anos, incondicionalmente.***

**“... a confiança profunda na inteligibilidade da arquitetura do mundo e a vontade de compreender, nem que seja uma parcela minúscula da inteligência a se desvendar no mundo, devia animar Kepler e Newton para que pudessem explicar os mecanismos da mecânica celeste, por um trabalho solitário de muitos anos. Aquele que só conhece a pesquisa científica por seus efeitos práticos vê depressa demais e incompletamente a mentalidade de homens que, rodeados de contemporâneos céticos, indicaram caminhos aos indivíduos que pensavam como eles. Ora, eles estão dispersos no tempo e no espaço. Aquele que devotou sua vida com idênticas finalidades é o único a possuir uma imaginação compreensiva destes homens, daquilo que os anima, insufla-lhes a força de conservar seu ideal, apesar de inúmeros malogros. “**

**ALBERT EINSTEIN**

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar aos órgãos que concederam apoio financeiro para que esta pesquisa fosse desenvolvida: CNPq e FAPESP.

Ao Instituto de Química da Unicamp, aos professores e funcionários que também deram suporte a este trabalho durante toda a sua execução.

Aos colegas e professores do laboratório de pesquisa, em especial à técnica Luciane Grandin, cuja participação neste projeto foi de extrema relevância .

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Suzanne Rath, à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Vitorino Rossi e ao Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto pelas sugestões enriquecedoras dadas com relação à elaboração desta dissertação. Agradeço ao Prof. Dr. José Salvador Barone, pela amizade e pela contribuição dada ao trabalho.

Agradeço ao apoio de todos os amigos, em especial às minhas queridas amigas Marta, Adriana e Clarissa.

Em especial agradeço ao Prof. Dr. Luiz Manoel Aleixo, mais que um orientador, tornou-se um amigo especial por quem possuo grande admiração e respeito.

# **Estudo Polarográfico de Fe(III) e Cu(II) em Diversas Matrizes Utilizando Eletrólito de Suporte à Base de Citrato e EDTA**

## **RESUMO**

**Autora: Melissa Sitton**

**Orientador: Prof.Dr. Luiz Manoel Aleixo**

*Palavras-chave:* ferro, cobre, citrato, EDTA, latão, fármacos, polarografia de pulso diferencial

A determinação polarográfica do Fe(III) na presença de diferentes espécies, inclusive o Cu(II), apresenta uma característica: a sobreposição do potencial de pico do Fe(III) com os potenciais de pico de outras espécies. Esta interferência pode ser eliminada através da adição de agentes complexantes. Assim, o uso de eletrólitos de suporte à base de citrato, por exemplo, pode promover o deslocamento destes potenciais; no entanto, a interferência devido ao Cu(II), somente é eliminada com a adição de EDTA, o que viabiliza a determinação simultânea destas duas espécies. As melhores condições para o estudo de Fe(III) na presença de Cu(II) foram obtidas usando-se o eletrólito de suporte citrato  $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ , EDTA  $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ ,  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol.L}^{-1}$ , pH 5,0.

Matrizes que possuem ferro e cobre concomitantemente, como o latão e alguns complexos vitamínicos, foram utilizadas na aplicação deste eletrólito de suporte. A polarografia de pulso diferencial foi a técnica analítica utilizada na determinação destes íons metálicos. Os potenciais de pico observados para o Fe(III) e para o Cu(II) foram, respectivamente, ao redor de  $-50 \text{ mV}$  e  $-300 \text{ mV}$  vs. Ag/AgCl (KCl saturado).

Através do método de adição de padrão foi realizada a quantificação de ferro e cobre das amostras estudadas; em alguns fármacos foi possível realizar-se a determinação simultânea das duas espécies. A validação do método analítico pelo teste de recuperação apresentou valores que expressaram a aplicabilidade do método nestas análises.

**Polarographic study of Fe(III) and Cu(II) in several matrices  
using a supporting electrolyte based on citrate-EDTA**

**ABSTRACT**

**Autora: Melissa Sitton**

**Orientador: Prof.Dr. Luiz Manoel Aleixo**

***Key-words:* iron, copper, citrate, EDTA, brass, drugs, diferencial pulse polarography**

The polarographic determination of Fe(III) in the presence of different species, including Cu(II), shows a characteristic: the overlapping of the peak potential of the Fe(III) with the peak potentials of the other species. This interference can be eliminated through the addition of complexing agents like citrate, which cause the displacing of these potentials; however, the interference related to the Cu(II) can only be eliminated with the addition of EDTA, which make possible the determination of both species. The best conditions for the study of Fe(III) in the presence of Cu(II) were obtained through the supporting electrolyte citrate  $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ , EDTA  $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ ,  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol.L}^{-1}$ , pH 5,0.

Matrices that have both iron and copper, as brass and some classes of vitamin and mineral salts, were used in the application of this supporting electrolyte. The differential pulse polarography was the analytical technique used in the determination of these metallic ions. The peak potentials observed for the Fe(III) and for the Cu(II) were, respectively, around  $-50 \text{ mV}$  and  $-300 \text{ mV}$  vs. Ag/AgCl (saturated KCl).

Through the standard addition method was carried out the quantitative determination of the samples of iron and copper studied; in some medicine tablets were possible to realize the simultaneous determination of both species. The validation of the analytical method by the recuperation test showed values that express the applicability of the method in these analysis.

# CURRÍCULO

**Melissa Sitton**

Brasileira, 28 anos, solteira  
Rua Barão de Mauá, 700  
13276-080, Valinhos, SP  
19-3871-3250  
melsitton@yahoo.com.br

## Formação Acadêmica

- Mestre em Química Analítica, Unicamp (2001).  
Bolsa Concedida: CNPq
- Bacharel em Química, Unicamp (1999).
- Licenciada em Química, Unicamp(1996).

## Cursos

- Espectroscopia - Análise de espectros de UV, RMN, UV e IV- Unicamp-2000
- Cromatografia Gasosa e HPLC - Unicamp-1999
- Quimiometria - Unicamp - 1999
- Química Medicinal - Unicamp -1999

## Informações complementares

- Iniciação Científica em Eletroquímica, Bolsas SAE/Unicamp e CNPq(1995 – 1996)
- Monitora do curso de Química Geral voltado às Engenharias da Unicamp (1995,1996 e 1997)
- Participação no evento “Seu Colégio na Unicamp”(1995, 1996 e 1997)
- Participação em Congressos Científicos com apresentação de trabalhos:  
Congresso de Iniciação Científica da Unicamp (1996)  
Reunião da Sociedade Brasileira de Química, SBQ, (1996 e 2000)  
Encontro de Química Analítica, ENQA, (2001)
- Publicação de artigo científico :  
Aleixo, L.; Sitton, M.; Ribeiro, F.A.L.; "Estudo polarográfico sobre a determinação de Fe(III) utilizando-se a técnica da polarografia de pulso diferencial", *Química Nova*, **2001**, 26(6), 790-794.
- Co-orientadora de alunos de iniciação científica

# ÍNDICE

<b>Índice de Figuras</b> .....	xii
<b>Índice de Tabelas</b> .....	xvi
<b>Introdução</b> .....	1
1-Objetivos.....	2
2-O uso de agentes complexantes na resolução de interferências polarográficas.....	4
2.1- Equilíbrio Químico e Complexos Metálicos.....	4
2.2 -Efeitos de agentes complexantes na polarografia.....	6
2.3 - EDTA e Citrato.....	9
2.4 - Efeitos de complexantes sobre a análise polarográfica de ferro e cobre.....	12
3-Considerações gerais sobre Ferro e Cobre.....	14
3.1- Métodos químicos de análise de Ferro e Cobre.....	15
4- Polarografia.....	20
4.1- Polarografia de Pulso Diferencial.....	23
4.2 - Determinações Polarográficas de Ferro e Cobre.....	26
<b>Parte experimental</b> .....	29
1- Aparelhagem.....	30
2- Reagentes.....	31
2.1- Soluções padrões e eletrólito de suporte.....	31
3- Abertura de amostras.....	32
3.1 - Abertura da amostra de latão.....	32
3.2 - Abertura das amostras de fármacos.....	32
4- Análise Quantitativa das Amostras.....	34
4.1 - Procedimento de Análise Quantitativa.....	35
5- Validação do Método.....	37

<b>Resultados e discussão</b> .....	39
1-Desenvolvimento do eletrólito de suporte.....	40
1.1- Efeito do EDTA sobre o comportamento polarográfico do Fe(III) e do Cu(II).....	41
1.2 - Efeito da força iônica sobre o comportamento polarográfico do Fe(III) e do Cu(II).....	44
1.3 - Efeito do pH sobre o comportamento polarográfico do Fe(III) e do Cu(II)....	46
1.4 - Efeito da concentração de citrato, EDTA e KNO <sub>3</sub> sobre o comportamento polarográfico do Fe(III) e do Cu(II).....	49
1.5-Curvas de calibração para o Fe(III) e Cu(II).....	51
2-Determinação Polarográfica de Fe(III) em Latão.....	52
3- Determinação Polarográfica de Fe <sub>total</sub> e Cu(II) em Comprimidos.....	55
3.1- Análise polarográfica dos comprimidos 1 e 2.....	56
3.2- Análise polarográfica dos comprimidos 3 e 4.....	62
3.3 - Análise dos resultados obtidos para a análise polarográfica de Fe <sub>total</sub> e Cu(II) em comprimidos.....	70
 <b>Conclusão</b> .....	 72
 <b>Bibliografia</b> .....	 75

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Polarogramas para uma solução de $\text{Cd}^{2+}$ $5.10^{-4}\text{mol.L}^{-1}$ em HCl $1,0\text{mol.L}^{-1}$ (A) e para uma solução de HCl $1,0\text{mol.L}^{-1}$ (B).....	22
<b>Figura 2</b> - Comparação entre as curvas obtidas pela polarografia clássica (a) e polarografia de corrente amostrada (b) para uma solução de $\text{Cu}^{2+}$ $10^{-4}\text{mol.L}^{-1}$ em $\text{NaNO}_3$ $1\text{mol.L}^{-1}$ .....	23
<b>Figura 3-</b> Polarogramas para (a) polarografia de pulso diferencial e (b) polarografia clássica. Solução de cloranofenicol $1,3.10^{-5}\text{mol.L}^{-1}$ em tampão acetato $0,1\text{mol.L}^{-1}$ . Amplitude de pulso, $-50\text{mV}$ .....	24
<b>Figura 4</b> - Sinal de excitação para a polarografia de pulso diferencial e para a polarografia de onda quadrada.....	25
<b>Figura 5</b> - Parâmetros da Polarografia de Pulso Diferencial.....	30
<b>Figura 6</b> - Curva típica de adição de padrão.....	35
<b>Figura 7-</b> Polarogramas referentes à ação complexante do EDTA sobre a separação dos íons $\text{Cu(II)}$ e $\text{Fe(III)}$ .....	42
<b>Figura 8-</b> Efeito da adição de $\text{KNO}_3$ ao eletrólito de suporte citrato $0,1\text{mol.L}^{-1}$ , EDTA $0,1\text{mol.L}^{-1}$ , pH 6,0.....	45
<b>Figura 9</b> - Polarogramas referentes ao efeito do pH sobre o comportamento polarográfico do $\text{Fe (III)}$ em presença de $\text{Cu (II)}$ .....	48
<b>Figura 10-</b> Polarogramas referentes à determinação de ferro em latão. 0,21% de ferro em latão .....	53

<b>Figura 11-</b> Curva de adição de padrão para a determinação polarográfica de ferro em latão. 0,21% de ferro na liga metálica.....	54
<b>Figura 12-</b> Determinação de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ para o comprimido 1a .....	57
<b>Figura 13-</b> Curva de adição de padrão para a determinação polarográfica de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ para o comprimido 1a.....	58
<b>Figura 14-</b> Curva de adição de padrão para a determinação polarográfica de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ para o comprimido 2.....	61
<b>Figura 15-</b> Curvas polarográficas para solução de $Cu(II)$ $0,009726mol.L^{-1}$ utilizando amplitude de pulso de (a) $-50mV$ e (b) $-25mV$ .....	63
<b>Figura 16-</b> Determinação de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ para o comprimido 3.....	64
<b>Figura 17-</b> Ampliação na região de $Cu(II)$ .....	65
<b>Figura 18-</b> Curva de adição de padrão para a determinação polarográfica de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ para o comprimido 3.....	66
<b>Figura 19-</b> Determinação de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ para o comprimido 4.....	67
<b>Figura 20-</b> Curva de adição de padrão para a determinação polarográfica de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ para o comprimido 4.....	68

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1 - Efeito de agentes complexantes sobre o potencial de meia-onda, em V, na técnica polarográfica.....</b>	<b>9</b>
<b>Tabela 2 - Constantes de formação para complexos de EDTA .....</b>	<b>11</b>
<b>Tabela 3 - Constantes de formação para complexos de citrato.....</b>	<b>11</b>
<b>Tabela 4 - Variação do <math>\Delta E_p</math> para os íons Fe(III) e Cu(II) com a adição de EDTA....</b>	<b>43</b>
<b>Tabela 5- Variação do <math>E_p</math> do Fe (III) e do <math>E_p</math> do Cu (II) em função do pH.....</b>	<b>47</b>
<b>Tabela 6- Valor de <math>\Delta E_p</math> em função da concentração de citrato, EDTA e <math>KNO_3</math>.....</b>	<b>50</b>
<b>Tabela 7- Determinação de Fe(III) em latão pelo método de adição de padrão .....</b>	<b>53</b>
<b>Tabela 8- Determinação de Fe(III) em Latão (Det.).....</b>	<b>54</b>
<b>Tabela 9-Teste de Recuperação para o método de adição de padrão na determinação polarográfica de Fe(III) em latão.....</b>	<b>54</b>
<b>Tabela 10- Determinação polarográfica de Fe(III) e Cu(II) para o comprimido 1a pelo método de adição de padrão.....</b>	<b>58</b>
<b>Tabela 11- Determinação polarográfica de <math>Fe_{total}</math> e Cu(II) para o comprimido 1a pelo método de adição de padrão (Det.). Valores obtidos por comprimido.....</b>	<b>58</b>
<b>Tabela 12- Determinação polarográfica de <math>Fe_{total}</math> e Cu(II) para o comprimido 1b pelo método de adição de padrão (Det.). Valores obtidos por comprimido.....</b>	<b>59</b>

<b>Tabela 13-</b> Determinação polarográfica de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ em comprimidos (1a e 1b) utilizando polarografia de pulso diferencial.....	59
<b>Tabela 14-</b> Teste de Recuperação para o método de adição de padrão na determinação polarográfica de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ para o comprimido 1a.....	60
<b>Tabela 15-</b> Teste de Recuperação para o método de adição de padrão na determinação polarográfica de $Cu(II)$ e $Fe_{total}$ para o comprimido 1b.....	60
<b>Tabela 16-</b> Determinação polarográfica de $Fe(III)$ e $Cu(II)$ para o comprimido 2 pelo método de adição de padrão (Det. 1).....	61
<b>Tabela 17-</b> Determinação polarográfica de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ para o comprimido 2 pelo método de adição de padrão (Det.). Valores obtidos por comprimido.....	61
<b>Tabela 18-</b> Determinação polarográfica de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ para o comprimido 2 utilizando polarografia de pulso diferencial. Valores obtidos por comprimido.....	62
<b>Tabela 19-</b> Teste de Recuperação para o método de adição de padrão na determinação polarográfica de $Cu(II)$ e $Fe_{total}$ para o comprimido 2.....	62
<b>Tabela 20-</b> Determinação polarográfica de $Fe(III)$ e $Cu(II)$ para o comprimido 3 pelo método de adição de padrão.....	65
<b>Tabela 21-</b> Determinação polarográfica de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ para o comprimido 3 pelo método de adição de padrão (Det.). Valores obtidos por comprimido.....	66
<b>Tabela 22-</b> Determinação polarográfica de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ para o comprimido 3 utilizando polarografia de pulso diferencial. Valores obtidos por comprimido.....	66

<b>Tabela 23 - Determinação polarográfica de Fe(III) e Cu(II) para o comprimido 4 pelo método de adição de padrão.....</b>	<b>67</b>
<b>Tabela 24- Determinação polarográfica de Fe<sub>total</sub> e Cu(II) para o comprimido 4 pelo método de adição de padrão. (Det.). Valores obtidos por comprimido.....</b>	<b>68</b>
<b>Tabela 25- Determinação polarográfica de Fe<sub>total</sub> e Cu(II) para o comprimido 4 utilizando polarografia de pulso diferencial. Valores obtidos por comprimido.....</b>	<b>68</b>
<b>Tabela 26- Teste de Recuperação para o método de adição de padrão na determinação polarográfica de Fe<sub>total</sub> e Cu(II) para o comprimido 3.....</b>	<b>69</b>
<b>Tabela 27- Teste de Recuperação para o método de adição de padrão na determinação polarográfica de Fe<sub>total</sub> e Cu(II) para o comprimido 4.....</b>	<b>69</b>
<b>Tabela 28- Faixa de desvio permitida para os derivados de ferro e cobre que compõe os comprimidos analisados polarograficamente.....</b>	<b>70</b>
<b>Tabela 29- Comparação entre os valores declarados no rótulo e os valores obtidos pelo método polarográfico para as determinações de Fe<sub>total</sub> e Cu(II) em comprimidos.....</b>	<b>71</b>

# ***INTRODUÇÃO***

## 1– Introdução e Objetivos

A eliminação de interferências que ocorrem em análises químicas é um segmento amplo, ligado às diferentes áreas dentro desta ciência. O desenvolvimento de métodos que minimizem ou cancelem a influência de um determinado comportamento de uma espécie sobre outra não está restrito somente à química, trata-se de um estudo vasto, que abrange diferentes ciências.

As interferências são verificadas dentro das diferentes técnicas analíticas devido a possibilidade de uma substância apresentar um comportamento físico ou químico semelhante ao comportamento do analito. Quando o interferente e o analito coexistem é necessário o desenvolvimento de técnicas de análise que aumentem a seletividade de identificação, possibilitando a quantificação e qualificação do analito de interesse.

Nas técnicas polarográficas uma substância pode ser estudada em função de sua corrente de difusão e também através de seu potencial de meia-onda, que depende do eletrodo de referência utilizado e do meio em que são realizadas as medidas. As interferências verificadas nestas técnicas ocorrem quando uma espécie eletroativa apresenta potencial de meia-onda próximo ao da substância analisada. Eletrólitos de suporte à base de agentes complexantes promovem o deslocamento do potencial de meia-onda do analito a ser analisado ou do interferente devido a formação de um complexo iônico que possui potencial de meia-onda diferente do potencial de meia-onda do íon não-complexado. Este comportamento possibilita o estudo da espécie a ser analisada na presença do interferente [1].

O ferro e o cobre quando determinados polarograficamente sofrem interferência mútua pois apresentam sobreposição dos potenciais de meia-onda,  $E_{1/2}$ , ou potenciais de pico,  $E_p$ , dependendo da técnica utilizada. Uma das maneiras de viabilizar a determinação polarográfica de Fe(III) na presença de Cu(II) é através de separação química, onde o Fe(III) é separado do Cu(II) através de sua precipitação com  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Contudo, neste procedimento, pode ocorrer coprecipitação de cobre levando a resultados quantitativos errôneos [2,3].

A busca de métodos que possam ser aplicados sobre a amostra, sem que esta seja submetida a um número significativo de etapas de abertura, é uma tendência dentro desta área de estudo pois assegura a exatidão da quantificação do analito além de minimizar possíveis contaminações da amostra. Técnicas que permitam o estudo do analito na presença do interferente são, portanto, mais rápidas e exatas.

O desenvolvimento de eletrólitos de suporte à base de EDTA, que atua como agente complexante sobre os íons Fe(III) e Cu(II), permite a determinação polarográfica de Fe(III) na presença de Cu(II). Um eletrólito de suporte à base de EDTA e acetato com pH entre 6 e 7 elimina a interferência que ocorre entre estas espécies, no entanto o método analítico apresenta baixo limite de detecção para o Fe(III),  $10^{-4}\text{mol.L}^{-1}$ , devido o uso da polarografia clássica (DC) nesta determinação [4].

O emprego da polarografia de pulso diferencial nestas determinações pode melhorar o limite de detecção por ser uma técnica mais sensível que a polarografia DC além de apresentar melhor resolução uma vez que consegue diferenciar espécies eletroativas com valores de potenciais de meia-onda mais próximos entre si ( $\Delta E_{1/2} \approx 50\text{mV}$ ) em relação à polarografia DC ( $\Delta E_{1/2} \approx 200\text{mV}$ ) [5].

Um eletrólito à base de EDTA e citrato, pH 6, é utilizado na determinação de Fe(III) na presença de Cu(II) utilizando a polarografia de pulso diferencial. No entanto o método apresenta limite de determinação, para o Fe(III), em torno de  $5 \cdot 10^{-4}\text{mol.L}^{-1}$  [6].

O objetivo deste trabalho é analisar um eletrólito de suporte que promova o deslocamento dos potenciais de meia-onda do Fe(III) e do Cu(II) através da adição de agentes complexantes e do controle do pH [7]. O estudo é realizado utilizando a técnica de polarografia de pulso diferencial com o objetivo de se desenvolver um método de análise que possua limites de detecção e determinação inferiores aos dos métodos polarográficos de análise de Fe(III) na presença de Cu(II) já desenvolvidos.

Com o propósito de aplicação do eletrólito estudado, escolheu-se matrizes reais, constituídas por ferro e cobre simultaneamente, como uma liga metálica à base de cobre, o latão, e algumas classes de fármacos que contém ferro e cobre.

## **2 -O uso de agentes complexantes na resolução de interferências polarográficas**

Na técnica polarográfica o potencial de meia-onda de espécies eletroativas é deslocado através da formação de complexos. Esta característica permite o uso de agentes complexantes na resolução de interferências. O estudo da influência dos agentes complexantes sobre as espécies eletroativas está relacionado com os equilíbrios químicos que ocorrem na solução, influenciando a resposta do eletrodo de trabalho. As constantes matemáticas associadas a estes equilíbrios estão relacionadas ao deslocamento do potencial de meia-onda e é importante verificar as relações que existem entre ambos.

### **2.1- Equilíbrio Químico e Complexos Metálicos**

Quando a razão entre as concentrações dos reagentes e dos produtos em uma reação química permanece constante diz-se que esta reação atingiu o estado de equilíbrio químico. As expressões de constante de equilíbrio são equações algébricas que descrevem as relações entre as concentrações dos reagentes e dos produtos no equilíbrio químico. Estas relações permitem que sejam realizadas análises quantitativas e qualitativas do analito, sendo, portanto, relevantes no estudo analítico [8].

Um complexo iônico é uma espécie química cujo átomo metálico ou cátion está covalentemente ligado a um ou mais grupos de coordenação. Normalmente o átomo metálico ou cátion é denominado átomo central enquanto que o termo ligante é usado para designar o grupo de coordenação. Uma condição para um complexo iônico ser formado por um ou mais ligantes e um átomo central é que cada ligante possua, no mínimo, um par de elétrons não-compartilhados e que o átomo central,

necessariamente, interaja com estes elétrons. Desta maneira os pares de elétrons, do ligante, compartilhados com o átomo central são responsáveis pela formação da ligação covalente. Este comportamento pode ser representado pelo equilíbrio químico:



Onde M é o átomo central e :L é o ligante com um par de elétrons não-compartilhados. Qualquer uma das três espécies pode possuir carga elétrica [9].

A constante de equilíbrio, também denominada constante de formação, associada à equação química mencionada é dada por:

$$K_f = [M:L]/[M][:L] \quad (2)$$

O equilíbrio associado à dissociação do complexo pode ser representado por:



Da mesma forma pode-se obter a constante de dissociação do equilíbrio, dada por:

$$K_d = [M][:L]/[M:L] \quad (4)$$

Equilíbrios químicos que envolvem processos de oxidação ou redução permitem a associação da constante de equilíbrio à equação de Nernst permitindo a determinação dos diferentes parâmetros envolvidos nesta equação:

$$E = E^0 - (RT/nF)\ln K_f \quad (5)$$

Onde n é o número de elétrons envolvidos no processo de oxidação ou redução, E é o potencial observado e  $E^0$  é o potencial padrão relativo ao processo.

Técnicas eletroquímicas de análise baseiam-se na medida de propriedades elétricas da solução estudada. As medidas são específicas para um estado de oxidação da espécie eletroativa o que permite quantificar a concentração de diferentes estados de oxidação de um analito presente em uma amostra.

## 2.2 - Efeitos de agentes complexantes na polarografia

Na polarografia há quatro possibilidades que podem ser consideradas relativas a oxidação ou redução do íon metálico no eletrodo de mercúrio: 1) a redução do íon metálico ao estado metálico com formação de amálgama na superfície do eletrodo de mercúrio quando a espécie formada é solúvel no mercúrio, 2) redução do íon ao estado metálico, mas o metal é insolúvel no mercúrio e somente se deposita na superfície do eletrodo de mercúrio, 3) redução ou oxidação de um estado de oxidação solúvel para outro, 4) Combinação do caso 3 com o caso 1 ou 2, onde o polarograma consiste em duas ou mais ondas [1]. Neste trabalho interessarão em particular os casos 1 e 3.

A redução de íons metálicos com formação de amálgama pode ser representado por:



Onde M(Hg) simboliza a amálgama formada na superfície da gota de mercúrio.

A redução ou oxidação de íons metálicos de um estado de oxidação para outro pode ser representado por:



Em ambos os casos, quando o processo é eletroquimicamente reversível, o sistema está em equilíbrio ao longo de todo o processo. Nestas circunstâncias a curva corrente vs. potencial pode ser definida em termos da equação de Nernst e de Ilkovic que relaciona corrente e concentração [5,9]:

$$E = E_{1/2} - (RT/nF) \ln i/(i_d - i) \quad (8)$$

$$I_d = 607nD^{1/2}m^{2/3}t^{1/6}C \quad (9)$$

Onde E é o potencial em qualquer ponto do registro polarográfico,  $E_{1/2}$  é o potencial de meia-onda do íon metálico, i é a corrente em um ponto qualquer da eletrólise,  $i_d$  é a corrente de difusão, que é diretamente proporcional a concentração do analito (C). n é o número de elétrons envolvidos no processo de redução ou oxidação da espécie eletroativa, D é o coeficiente de difusão da espécie eletroativa

em  $\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$ ,  $m$  é o fluxo de mercúrio em  $\text{mg}.\text{s}^{-1}$ ,  $t$  é o tempo de vida da gota em segundos.

O método polarográfico pode ser aplicado ao estudo de complexos de íons metálicos devido ao fato do potencial de meia-onda dos íons metálicos serem alterados com a formação de complexos (normalmente para valores mais negativos). A medida desta mudança em função da concentração do agente complexante permite a determinação da constante de dissociação e da estequiometria do complexo. Informações quantitativas podem ser obtidas quando a redução ou oxidação do complexo do íon metálico ocorre reversivelmente no eletrodo gotejante.

### Redução para o estado metálico

A redução para o estado metálico de um complexo iônico de um metal que é solúvel em mercúrio, gera amálgama no eletrodo de trabalho e pode ser representado por:



Onde  $\text{M(Hg)}$  representa a amálgama formada na superfície do eletrodo gotejante e  $\text{X}^{-b}$  trata-se do agente complexante.

A relação entre a diferença do potencial de meia onda do complexo metálico,  $E_{1/2c}$ , e o potencial de meia onda do íon metálico,  $E_{1/2M}$ , é a seguinte:

$$E_{1/2c} - E_{1/2M} = (RT/nF)\log K_d - p(0,0591/n)\log C_L \quad (11)$$

Dessa forma, a variação do potencial de meia onda obtido com a adição do agente complexante é dado por:

$$\Delta E_{1/2} = (RT/nF)\log K_d - p(0,0591/n)\log C_L \quad (12)$$

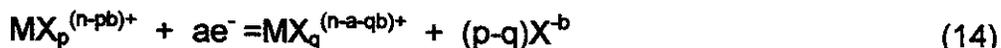
Onde  $K_d$  é a constante de dissociação associada ao complexo e  $C_L$  é a concentração do agente complexante.

Em vez de empregar-se  $K_d$ , o termo  $(RT/nF)\log K_d$  pode ser substituído por  $E_c^0 - E_M^0$  que são, respectivamente, os potenciais padrão para a equação associada ao complexo metálico e para a equação associada ao íon metálico:

$$\Delta E_{1/2} = E_c^0 - E_M^0 - p(RT/nF)\log C_L \quad (13)$$

Redução ou oxidação de um estado de oxidação solúvel para outro

Existem vários casos onde complexos de um íon metálico são reduzidos ou oxidados no eletrodo de mercúrio gotejante. A equação abaixo representa este sistema:



A relação entre a diferença do potencial de meia onda do complexo metálico,  $E_{1/2c}$ , e o potencial de meia onda do íon metálico,  $E_{1/2M}$ , é a seguinte:

$$E_{1/2c} - E_{1/2M} = (RT/nF)\log(K_{ox}/K_{red}) - (p-q/a)(RT/nF)\log C_L \quad (15)$$

Onde  $K_{ox}$  e  $K_{red}$  são as constantes de dissociação associadas aos complexos iônicos nos estados de oxidação e de redução, respectivamente.

Portanto a variação do potencial de meia-onda obtida com a adição de complexo neste caso é dada por:

$$\Delta E_{1/2} = (RT/nF)\log(K_{ox}/K_{red}) - (p-q/a)(RT/nF)\log C_L \quad (16)$$

Neste caso pode-se observar que a variação do potencial de meia-onda depende da razão das constantes de dissociação do complexo do íon metálico nas suas formas oxidada e reduzida,  $(K_{ox}/K_{red})$ , além de depender da concentração do agente complexante. Normalmente, se a forma oxidada da espécie metálica formar complexos mais estáveis com o agente complexante, o valor de  $\log K_{ox}$  é mais negativo que o valor de  $\log K_{red}$  e o  $E_{1/2}$  é deslocado para valores mais negativos (catódicos). Se a forma reduzida produz complexos mais estáveis, o valor de  $\log K_{red}$  é mais negativo que o valor de  $\log K_{ox}$  e o potencial de meia-onda é deslocado para valores mais positivos (anódicos).

A Tabela 1 permite verificar claramente a influência de complexantes sobre o potencial de meia-onda de íons metálicos que normalmente se desloca para valores mais negativos.

**Tabela 1:** Efeito de agentes complexantes sobre o potencial de meia-onda, em V, na técnica polarográfica[9].

Íon	Meio não-complexante	1 mol.L <sup>-1</sup> de KCN	1 mol.L <sup>-1</sup> de KCl	1 mol.L <sup>-1</sup> NH <sub>3</sub> e 1 mol.L <sup>-1</sup> de NH <sub>4</sub> Cl
Cd <sup>2+</sup>	-0,59	-1,18	-0,64	-0,81
Zn <sup>2+</sup>	-1,00	NR*	-1,00	-1,35
Pb <sup>2+</sup>	-0,40	-0,72	-0,44	-0,67
Ni <sup>2+</sup>	-	-1,36	-1,20	-1,10
Co <sup>2+</sup>	-	-1,45	-1,20	-1,29
Cu <sup>2+</sup>	+0,02	NR*	+0,04	-0,24

\* nenhuma redução ocorre no eletrólito de suporte

No uso de agentes complexantes em determinações polarográficas é indicado o uso de espécies que formem complexos bastante estáveis com o íon metálico uma vez que amostras reais de composição desconhecida podem apresentar agentes complexantes em sua composição.

O controle do pH é um fator relevante uma vez que a estabilidade de um complexo iônico formado entre um íon metálico e um ácido fraco depende, em geral, do pH do meio, e este fator tem uma influência pronunciada sobre as características polarográficas do complexo [10].

### 2.3 –EDTA e Citrato

O ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), é um dos mais importantes membros do grupo de ácidos aminopolicarboxílicos.

O EDTA é um ácido tetraprótico (H<sub>4</sub>Y). Sua forma iônica, representada por Y<sup>4-</sup>, é bastante estável e forma complexos com diversos metais. Este íon, como ligante, possui seis grupos funcionais: quatro grupos carboxílicos e dois grupos amina, que podem ocupar quatro, cinco ou seis posições de coordenação em torno

do átomo central. A estrutura do EDTA permite a formação de quelatos estáveis com várias espécies metálicas .

A reação geral de formação de um complexo metal-EDTA é representada por:



Onde  $M^{n+}$  representa um cátion metálico hidratado de carga  $n+$ .

O EDTA possui caráter ácido e tem quatro passos de ionização referentes aos quatro prótons que possui. Devido a esta característica, a fração de EDTA e as frações das quatro formas de dissociação ( $H_3Y^-$ ,  $H_2Y^{2-}$ ,  $HY^{3-}$  e  $Y^{4-}$ ) dependem do pH do meio. Por exemplo, em pH 5,0 a fração molar de  $H_2Y^{2-}$  é de 0,931,  $HY^{3-}$  0,065 e  $H_3Y^-$  0,004 enquanto que em pH 1,0 as frações são distribuídas em 0,907 de  $H_4Y$ , 0,091 de  $H_3Y^-$  e 0,002 de  $H_2Y^{2-}$  [11,12].

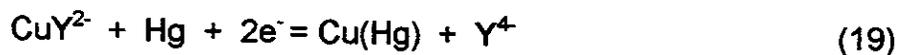
A influência do pH sobre sistema Fe-EDTA foi estudado polarograficamente variando-se o pH de 1 a 11. A redução reversível do complexo de Fe(III) para o complexo de Fe(II) é obtida até o pH 9,0. Em soluções mais alcalinas o processo é irreversível. O potencial de meia-onda do sistema é constante e igual a -0,13V vs. E.C.S. na faixa de pH 3,5-6,5. Fora desta faixa o potencial de meia-onda depende do pH [10].

O estudo polarográfico de complexos de Cu-EDTA e Fe-EDTA permite determinar as constantes de estabilidade destes complexos e também determinar o processo eletroquímico que ocorre no eletrodo de mercúrio [13-15].

Para o Fe(III) o processo envolve um elétron e é descrito como:



Para o complexo de cobre o processo envolve dois elétrons e pode ser descrito como:



As constantes de formação para os complexos de EDTA que possuem o ferro e o cobre como átomos centrais podem ser verificadas na Tabela 2.

**Tabela 2:** Constantes de formação para complexos de EDTA obtidos a 20° C. Força iônica 0,1 [12].

cátion	kc
Fe(II)	$2,1 \cdot 10^{14}$
Cu(II)	$6,3 \cdot 10^{18}$
Fe(III)	$1,3 \cdot 10^{25}$

O ácido cítrico é um ácido tetraprótico, no entanto o grupo OH é ativo somente em pHs altos. Este ácido, como o EDTA possui caráter ácido-base [16].

A determinação polarográfica de citrato utilizando a técnica de polarografia de pulso diferencial pode ser realizada complexando-o com Fe(III) [17].

Estudos sobre os complexos de citrato com Fe(II) e Fe(III) permitem verificar a influência do pH sobre o potencial de meia-onda do complexo Fe-citrato formado. Com o aumento de pH o valor do potencial de meia-onda é alterado para valores mais negativos [15].

A Tabela 3 permite verificar os valores das constantes de formação para os complexos de citrato que possuem Fe(II), Fe(III) e Cu(II) como átomos centrais.

**Tabela 3:** Constantes de formação para complexos de citrato obtidos a 20° C. Força iônica 0,1- Fe(II) e Fe(III) e 0,5-Cu(II) [18,19].

cátion	kc
Fe(II)	$2,5 \cdot 10^4$
Cu(II)	$1,6 \cdot 10^{14}$
Fe(III)	$2,5 \cdot 10^{11}$

A partir dos valores das constantes de formação para os complexos de citrato e de EDTA que possuem Fe(III) e Cu(II) como átomos centrais pode-se concluir que os complexos de EDTA possuem uma estabilidade maior quando comparados com os complexos de citrato.

## 2.4 – Efeitos de complexantes sobre a análise polarográfica de ferro e cobre

Devido o potencial padrão referente à redução de Fe(III) para Fe(II), +0,51V vs. E.C.S., possuir um valor um pouco mais positivo que o potencial de dissolução anódica do mercúrio, +0,4V, a corrente de difusão devido a este processo de redução inicia-se no potencial relacionado à corrente anódica devido a oxidação do mercúrio. Já o sinal referente à redução de Fe(II) para ferro metálico tem potencial de meia-onda entre -1,3V e -1,5V vs E.C.S., dependendo do eletrólito de suporte utilizado [1].

A corrente de difusão relacionada ao Fe(III) pode ser aplicada na determinação deste íon, no entanto outras substâncias podem produzir corrente de difusão limite similar a corrente de difusão relacionada ao Fe(III); esta possibilidade limita a aplicação da técnica polarográfica aos casos onde estas substâncias estão ausentes [20].

Uma condição para se obter uma curva polarográfica de potencial de meia-onda característico do processo Fe(III)-Fe(II), é através de eletrólitos de suporte que formem complexos de Fe(III) mais estáveis que os complexos formados com o Fe(II), Hg(II) ou Hg(I). Assim o potencial do sistema Fe(III)-Fe(II) é deslocado consideravelmente quando comparado ao potencial do sistema relativo à oxidação do mercúrio.

Eletrólitos de suporte à base de citrato, tartarato ou oxalato são utilizados na determinação de pequenas quantidades de Fe(III) em presença de grandes quantidades de Fe(II) e vice-versa. Nos três meios, em pH em torno de 6, a redução do complexo de Fe(III) para o complexo de Fe(II) apresenta curvas polarográficas nítidas. Além desta característica, o comportamento dos complexos de Fe(II) e Fe(III) em pH em torno de 7 é eletroquimicamente reversível e, de acordo com esta condição, o potencial de meia-onda anódico para o complexo de Fe(II) é igual ao potencial catódico para o complexo de Fe(III).

Em soluções de citrato  $0,5\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $0,005\%$  de gelatina, o potencial de meia-onda relativo a redução do Fe(III) para o Fe(II) apresenta comportamento linear entre pH 4 e 12, que pode ser descrito pela equação [1]:

$$E_{1/2} = 0,426 - 0,108\text{pH} \quad (20)$$

No entanto, o emprego de eletrólitos que são constituídos somente por citrato é inadequado em estudos que envolvem a redução do ferro na presença de cobre devido a sobreposição que ocorre entre os potenciais de meia-onda, ou potenciais de pico, das duas espécies neste meio como pode ser verificado através da técnica de polarografia de pulso diferencial:



Para a determinação de ferro em presença de cobre, verificou-se que o EDTA pode ser utilizado na composição do eletrólito de suporte pois desloca significativamente o potencial de redução do cobre para valores de potencial mais negativos. As concentrações de citrato, EDTA e o pH devem ser cuidadosamente controlados pois os potenciais de meia-onda do ferro, do cobre, e de outros possíveis interferentes são sensíveis às variações destes parâmetros [1,4].

Um eletrólito de suporte empregado por Bond e Pfund na determinação da concentração de ferro total em presença de cobre possui composição  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  de citrato de sódio e  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  de EDTA em pH 6,0 ajustado com amônia. O eletrólito elimina a interferência entre os potenciais de meia-onda do ferro e do cobre e permite a determinação de ferro total utilizando a polarografia de pulso diferencial [6].

Um eletrólito de suporte à base de acetato de sódio  $2,0\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e EDTA  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  com pH ajustado em torno de 6 e 7, também pode ser empregado na determinação de ferro na presença de grandes quantidades de cobre como, por exemplo, na determinação de ferro em latão [4].

### 3 - Considerações gerais sobre Ferro e Cobre

O ferro é um dos maiores constituintes da litosfera e está concentrado principalmente em rochas magmáticas. A abundância global de ferro é calculada em torno de 45%. A geoquímica do ferro é muito complexa no ambiente terrestre e sua compreensão depende das condições físico-químicas que estão diretamente relacionadas com as mudanças do estado de valência desta espécie metálica. Este metal é maleável e sofre corrosão na presença do ar [21].

A produção de aço é uma das maiores aplicações do ferro. Alguns metais de transição quando adicionados ao aço conferem propriedades melhores ao material como a resistência à corrosão (adição de cromo e níquel). O ferro, no estado ferroso, também é bastante utilizado na produção de fármacos [22].

O cobre, na crosta terrestre, é mais abundante em rochas intermediárias. Possui uma grande habilidade em interagir quimicamente com componentes minerais e orgânicos do solo. As formas de cobre encontradas no solo são de grande importância agrônômica e o teor de cobre total de uma amostra de solo é uma informação relevante para estudos geoquímicos. O cobre é encontrado ocasionalmente na forma elementar, mais usualmente é encontrado na forma de sulfeto, cloretos básicos e carbonatos.

O cobre é produzido em largas quantidades (6 milhões de toneladas por ano). É o terceiro metal mais produzido depois do alumínio (9 toneladas por ano) e do ferro (600 milhões de toneladas por ano). Trata-se de um excelente condutor de calor e eletricidade, e também é bastante resistente à corrosão. Devido a estas características é largamente usado como condutor elétrico. O cobre é maleável e mais duro que o ferro e possui estabilidade ao ar. Este metal é utilizado puro e por ser miscível em outros metais é usado na composição de diversas ligas. Junto com o zinco compõe o latão, com o estanho produz o bronze e moedas são produzidas à base de cobre com pequenas quantidades de estanho e zinco. O cobre puro é obtido por eletrólise de solução de sulfato de cobre. Na agricultura é utilizado como fungicida.

O ferro e o cobre são espécies envolvidas em processos bioquímicos e a carência desses minerais gera a necessidade de administração de medicamentos que contém estas substâncias. A quantidade de ferro e cobre que deve ser administrada diariamente varia de acordo com a faixa etária e também com o sexo do indivíduo, para o caso do ferro. Em média, um adulto deve ingerir diariamente 13,5 mg de ferro e entre 1,5 e 3,0 mg de cobre [23].

Em termos bioquímicos, o cobre é considerado um oligoelemento ( mineral em baixa concentração). Esta espécie é indispensável para a ação de certas enzimas, está relacionado a mecanismos que envolvem o ferro e também está presente na ceruplasmina (proteína carreadora de cobre), desempenha função de armazenamento e liberação do ferro para formação da hemoglobina. O excesso de cobre raramente é observado, no entanto acarreta sintomas como náuseas, vômitos, cirrose hepática e sua falta pode provocar anemia, anomalias no sistema nervoso central, hipotermia e despigmentação capilar.

Denominado também oligoelemento, o ferro é o componente essencial de várias enzimas, possui importância vital para o transporte e utilização do oxigênio (hemoglobina e mioglobina) e é um fator antianêmico. A diminuição na sua concentração leva a alterações de memória e raciocínio, fadiga e cefaléia; o excesso leva ao paladar metálico, cefaléia, hipotensão e aumento da susceptibilidade a infecções [24].

### **3.1- Métodos químicos de análise de ferro e cobre**

É extenso o número de técnicas analíticas que podem ser utilizadas em determinações qualitativas e quantitativas para o ferro e para o cobre. Na literatura verifica-se que os métodos espectrofotométricos são largamente utilizados na determinação destes metais e são muitos os métodos desenvolvidos para a análise simultânea destas espécies em diferentes amostras como amendoim, vitaminas, águas naturais, dentre outras [25-30]. A cromatografia de alta eficiência também é utilizada na determinação destas espécies em amostras de petróleo [31-32].

Com o desenvolvimento da automação e de softwares, as técnicas tornaram-se bastante diversificadas e constantemente são desenvolvidos novos métodos de análise. A seguir descritos métodos analíticos clássicos para a determinação de ambas as espécies:

## FERRO

### Método Gravimétrico

Precipita-se o Fe(III) com  $\text{NH}_4\text{OH}$  e calcina-se o  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  [33]:



### Métodos Titulométricos

1) *Titulação complexométrica com EDTA:*

Titula-se o Fe(III) em meio ácido com EDTA e indicador Tiron ou ácido sulfosalicílico [34].

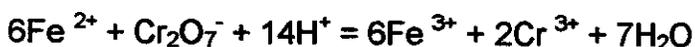
2) *Titulação de óxido-redução com permanganato* (Titulação Permanganométrica) [35]:

Titula-se Fe(II) com  $\text{MnO}_4^-$ :



3) *Titulação de óxido-redução com dicromato de potássio* (Titulação dicromatométrica) [36]:

Titula-se o  $\text{Fe}^{2+}$  com  $\text{Cr}_2\text{O}_7^-$ :



### Métodos Espectroanalíticos

#### *Colorimétrico*

Fe(III) reage com tiocianato de sódio formando complexo  $\text{Fe}(\text{SCN})_n^{3-n}$  de cor vermelha. Absorção do complexo, 480nm. [12].

#### *Espectrofotométrico*

Titulação espectrofotométrica de Fe(III) com EDTA. O ferro forma complexo púrpura com ácido salicílico e absorve em 540nm [38].

### *Espectroscopia de Absorção Atômica*

Chama de ar/acetileno. Determinação de ferro é feita em soluções ácidas. Linhas de frequência em 248,33nm [39,40].

### **Métodos Eletroanalíticos**

#### *Potenciométrico*

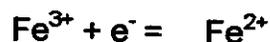
Titulação com EDTA em meio ácido. Potencial medido relativo a mudança de Fe(III) para Fe(II). Uso de eletrodo de platina como indicador e calomelano como referência [41].

#### *Coulométrico*

Titulação coulométrica de oxido-redução usando  $Ti^{3+}$  como titulante. Reação gerada no ânodo [42]:



Reação gerada no catodo:



## COBRE

### Método Gravimétrico

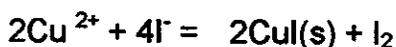
O cobre é precipitado na forma de  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  em meio básico, com KOH.

O precipitado é calcinado entre 700 e 900°C [33] :



### Métodos Titulométricos :

1) Reage-se  $\text{Cu}(\text{II})$  com íons iodeto [36] :



Titula-se o iodo liberado com solução padrão de tiosulfato.

2) Titula-se o  $\text{Cu}(\text{II})$  em pH 5 com EDTA na presença do indicador PAN (piridilazonaftol) [43].

3) O  $\text{Cu}(\text{II})$  é reduzido com sulfato de hidroxilamina e titulado com tiocianato em atmosfera inerte. Sulfato férrico amoniacal é utilizado como indicador. [44]

### Métodos Espectroanalíticos

#### *Colorimétrico*

1) Complexa-se  $\text{Cu}(\text{II})$  com EDTA obtendo-se um complexo de cor azul. Absorção do complexo, entre 700 e 750nm, dependendo do pH da solução [45].

2)  $\text{Cu}(\text{II})$  reage com dietiltiocarbamato. O composto absorve em 440nm. [46].

#### *Espectroscopia de Absorção Atômica*

Chama de ar/acetileno. Linha de frequência em 324,75nm [39,47].

### Métodos Eletroanalíticos

#### *Potenciométrico*

1) Titula-se o  $\text{Cu}(\text{II})$  com EDTA em meio de acetato 0,5mol.L<sup>-1</sup> pH 4,6. O eletrodo de mercúrio é utilizado na determinação complexométrica [41].

2) Titula-se o  $\text{Cu}(\text{II})$  com EDTA e utiliza-se o eletrodo íon-seletivo para  $\text{Cu}(\text{II})$ . A determinação é realizada em meio de acetato 0,5mol.L<sup>-1</sup> pH 4,75 .

3) Titulação de óxido-redução utilizando Ti(III) como titulante. Mudança de cor observada no ponto de equivalência é de amarelo para incolor ou azul-claro.

4) Titula-se o Cu(II) na presença de solução de iodeto de potássio. Utiliza-se o eletrodo de calomelano saturado como eletrodo de referência e eletrodo de platina como indicador. Como padrão titulante utiliza-se solução de tiosulfato de sódio [48].

#### *Coulométrico*

Determinação de Cu(II) realizada em solução ácida de tartarato utilizando eletrodo de mercúrio como catodo [43].

#### *Titulação Amperométrica*

Titula-se o Cu(II) com EDTA. Utiliza-se eletrodo de mercúrio como catodo [49].

## 4- Polarografia

O método polarográfico de análises químicas desenvolvido por Jaroslav Heyrovsky na Universidade Charles, em Praga, ao redor de 1920, é baseado nas curvas potencial vs. corrente obtidas quando soluções de substâncias eletrooxidáveis ou eletroreduzíveis são eletrolizadas em um sistema onde o mercúrio gotejante é o eletrodo de trabalho. Através das curvas obtidas por esta técnica é possível identificar e determinar a concentração de diversas substâncias presentes em solução para análise, muitas vezes simultaneamente. A polarografia é considerada uma técnica rápida e sensível, aplicada em análises químicas de diferentes campos: inorgânico, orgânico, geoquímico, bioquímico, médico e farmacêutico. Trata-se de um dos métodos mais versáteis para análise de traços [1,5].

As vantagens no uso do eletrodo de mercúrio frente a outros eletrodos utilizados em voltametria podem ser resumidos : 1) A superfície do microeletrodo se renova a cada nova gota formada não havendo acúmulo de materiais eletrodepositados ou adsorvidos em sua superfície; 2) numerosos metais são solúveis em mercúrio, sendo, por isso, reduzidos reversivelmente, com reprodutibilidade, sobre a superfície da gota de mercúrio; 3) A queda de cada gota promove uma leve agitação da solução ao redor do capilar de modo que a solução, em contato com as gotas que se renovam, tem composição praticamente constante. Quando emprega-se microeletrodos sólidos se estabelece um gradiente de concentração que aumenta gradativamente em direção ao seio da solução, à medida que o tempo aumenta, e a corrente, com o tempo, sofre um decréscimo; 4) O eletrodo de mercúrio gotejante (EGM), embora frágil, sofre menor desgaste com o uso e é menos sensível às perturbações mecânicas [50].

Uma séria limitação relativa ao uso do eletrodo de mercúrio é devido a facilidade com que o mercúrio se oxida. Esta característica limita o uso do mercúrio como ânodo. Em potenciais superiores a +0,4V ocorre formação de Hg(I), que produz um registro polarográfico que mascara o comportamento de outras espécies oxidáveis. Outro aspecto relativo ao eletrododo é a produção de máximo de corrente

que pode ser minimizado com a adição de gelatina, agente surfactante (Triton X-100) ou outra substâncias de alto peso molecular [9].

O método polarográfico é caracterizado pela medida da corrente de difusão, originária a partir do gradiente de concentração do analito, à medida que o potencial varia sobre o sistema. A equação de Ilkovic relaciona a corrente de difusão ( $i_d$ ) com a concentração da espécie eletroativa:

$$i_d = 607nD^{1/2}m^{2/3}t^{1/6}C \quad (23)$$

A corrente faradaica, corrente resultante do processo de transferência de elétrons entre o analito e o eletrodo de mercúrio, não é a única componente relativa a corrente total do sistema. A corrente medida inclui também correntes resultantes de processos que não envolvem transferência de elétrons (processos não-faradaicos), de reações redox de outras espécies em solução (impurezas eletroativas) e também correntes residuais capacitativas, devidas ao próprio equipamento. Entre os processos não-faradaicos, o mais importante é o carregamento e descarregamento da dupla camada elétrica que se forma na interface eletrodo-solução, que se comporta de modo análogo a um capacitor, gerando a corrente capacitativa.

Visto que a corrente real medida contém outras componentes além da corrente faradaica desenvolveu-se técnicas, como a polarografia de pulso, que minimiza a corrente capacitiva aumentando dessa forma a sensibilidade das técnicas polarográficas.

O potencial de meia onda,  $E_{1/2}$ , é o potencial correspondente à metade do valor da corrente de difusão. Seu valor para uma dada espécie eletroativa em um dado eletrólito de suporte é característico da espécie, independente de sua concentração. Portanto, da mesma forma que a corrente de difusão é o fundamento da polarografia quantitativa, o potencial de meia-onda de uma espécie eletroativa, em um determinado eletrólito de suporte, permite o estudo polarográfico qualitativo.

Na Figura 1 pode-se observar dois polarogramas, A e B, relativos a solução  $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  de  $\text{Cd}^{2+}$  em  $\text{HCl } 1,0 \text{ mol.L}^{-1}$  (curva A) e a curva B refere-se ao ácido na

ausência de cádmio. Nesta figura pode-se observar os diferentes parâmetros relacionados à polarografia.

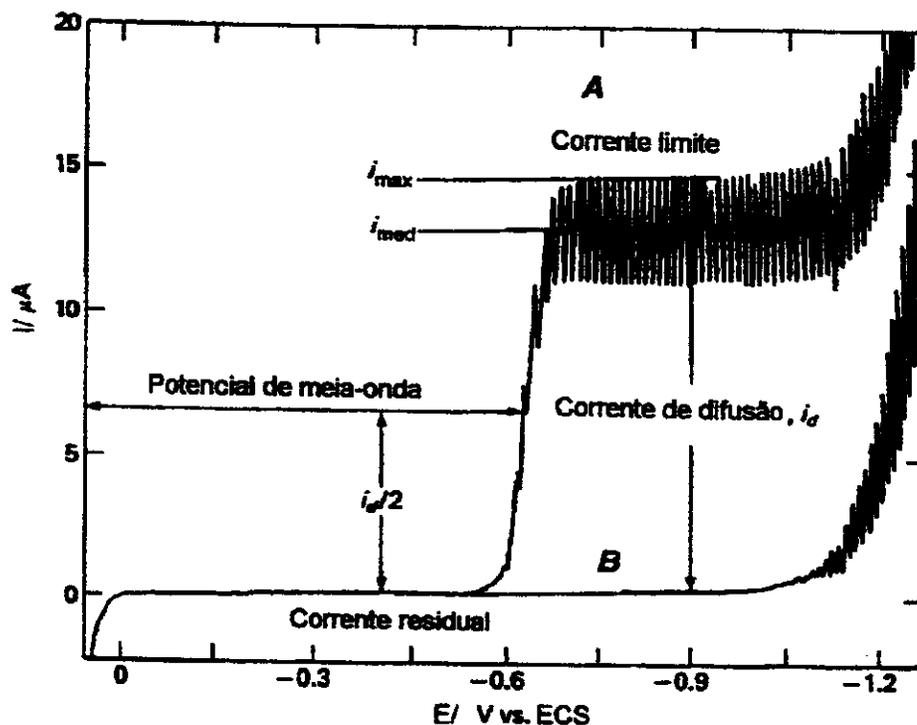


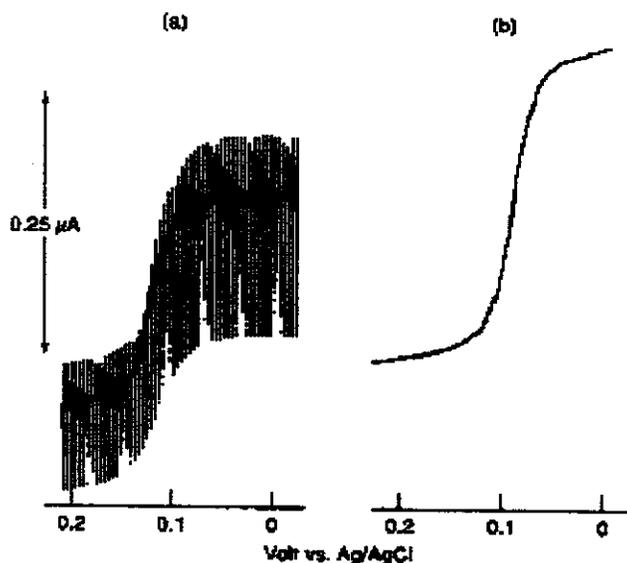
Figura 1: Polarogramas para uma solução de  $\text{Cd}^{2+} 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  em  $\text{HCl } 1,0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (A) e para uma solução de  $\text{HCl } 1,0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (B) [9].

Os polarógrafos, usualmente, são constituídos por três eletrodos: o eletrodo de trabalho (eletrodo de mercúrio gotejante), o eletrodo de referência e o eletrodo auxiliar. O potencial aplicado na célula polarográfica consiste em uma diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, em forma de varredura. Em um sistema de três eletrodos a corrente fluirá entre o eletrodo de trabalho e o auxiliar, minimizando o efeito da resistência da solução (queda ohmica) e assegurando a estabilidade do eletrodo de referência, o que não ocorreria em um sistema de dois eletrodos, pois aqui a corrente fluiria entre o eletrodo de trabalho e o de referência [5].

## 4.1– Polarografia de Pulso Diferencial

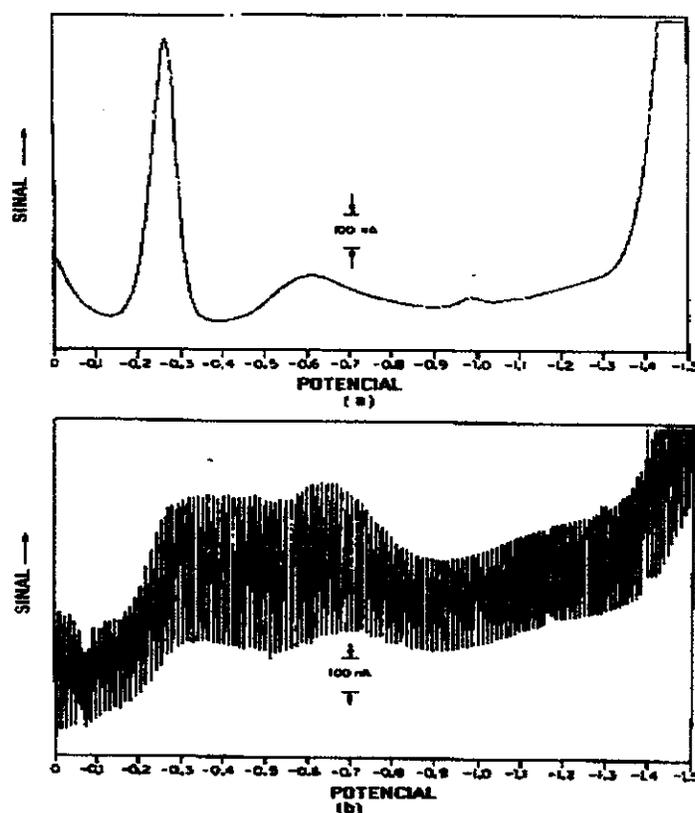
A polarografia de corrente contínua clássica caracteriza-se pela aplicação de um potencial à célula eletrolítica na forma de uma rampa linear que varia lentamente com o tempo (2-5mV/s). A corrente de ordem de microamperes, desenvolvida no eletrodo de trabalho como consequência de um processo de eletrolise da espécie eletroativa em solução, é medida e registrada em função do potencial, continuamente, durante todo o tempo de vida da gota, e atinge um valor limite,  $i_{\text{máx}}$ , que depende da concentração do analito.

Enquanto a polarografia clássica registra a corrente devido o processo de redução ou oxidação de um analito, no eletrodo de mercúrio, durante todo o tempo de vida da gota, a polarografia de corrente amostrada mede somente a corrente perto do fim do tempo de vida da gota. Na Figura 2 é possível observar a diferença entre as curvas obtidas pelas duas técnicas polarográficas. Na curva polarográfica obtida pela técnica de corrente amostrada a corrente foi medida 5ms antes do tempo de fim da gota. Esta alteração na medida de corrente reduz as flutuações da corrente que ocorrem ao longo do tempo de vida da gota [9].



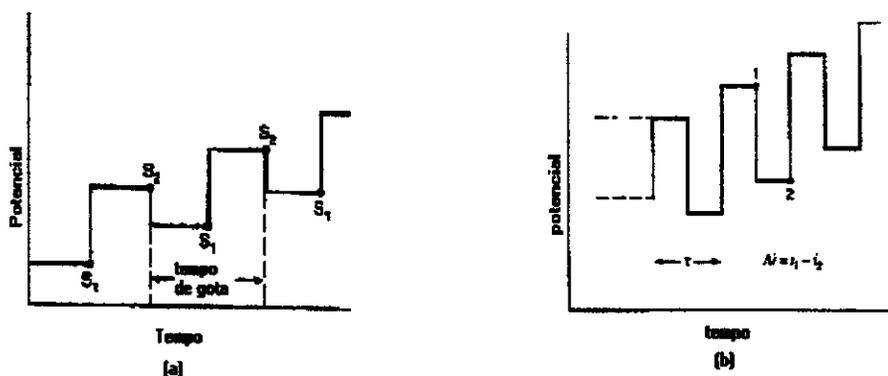
**Figura 2:** Comparação entre as curvas obtidas pela polarografia clássica (a) e polarografia de corrente amostrada (b) para uma solução de  $\text{Cu}^{2+}$   $10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  em  $\text{NaNO}_3$   $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  [9].

Na polarografia de pulso o potencial é aplicado periodicamente durante curtos intervalos de tempo. Na polarografia de pulso diferencial uma rampa de tensão é aplicada sobre o sistema e, perto do tempo de fim da gota, uma pequena amplitude de pulso, ao redor de 50mV, é sobreposta à rampa. O sinal medido, ( $I_{med}$ ), é a medida da corrente antes e durante a aplicação do pulso, nos últimos milissegundos de sua aplicação. O polarograma registra a diferença entre essas duas correntes. Uma das vantagens desta técnica é a minimização da medida da corrente capacitiva e um aumento da corrente faradaica o que ocasiona um aumento significativo da sensibilidade da técnica polarográfica, que passa a ser em torno de  $10^{-8} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Na Figura 3 é possível verificar a diferença entre o registro polarográfico para a técnica de polarografia clássica e para a técnica de polarografia de pulso diferencial.



**Figura 3:** Polarogramas para (a) polarografia de pulso diferencial e (b) polarografia clássica. Solução de cloranofenicol  $1,3 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  em tampão acetato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Amplitude de pulso,  $-50 \text{ mV}$ [5].

A polarografia de pulso diferencial e a polarografia de onda quadrada são as duas mais importantes técnicas de pulso, a primeira é obtida pela sobreposição de pulsos em uma varredura linear enquanto que na segunda é aplicado incrementos sucessivos de potencial em degraus ("staircase"). Na Figura 4 é possível verificar as diferenças entre os sinais obtidos pelas duas técnicas .



**Figura 4:** Sinal de excitação para a polarografia de pulso diferencial onde  $I_{med} = I_{S2} - I_{S1}$  (a), e para a polarografia de onda quadrada, onde  $\tau$  refere-se ao período do pulso (b) [9].

No passado, a polarografia de corrente contínua de varredura linear era usada para a determinação quantitativa de uma extensa variedade de compostos inorgânicos e orgânicos incluindo moléculas de interesse biológico e bioquímico. Atualmente os métodos baseados em pulso têm substituído o método clássico quase que completamente devido sua grande sensibilidade e seletividade. Geralmente, as aplicações quantitativas utilizam curvas de calibração que baseiam-se na altura do pico polarográfico que é proporcional à concentração do analito. Há casos onde o método de adição de padrão é utilizado na quantificação do analito. O eletrólito de suporte, o pH do meio e o uso de padrões são fatores que devem ser cuidadosamente controlados para se obter resultados satisfatórios em análises polarográficas .

## 4.2 – Determinações Polarográficas de Ferro e Cobre

No ano 2000 a prática eletroanalítica comemorou 200 anos. Com a publicação da bateria de Volta, em 1800, foi possível o desenvolvimento de estudos químicos nesta área. O primeiro exemplo de determinação eletroquímica qualitativa ocorreu em 1800, trabalho relacionado à determinação qualitativa de cobre [51]. Nos últimos 200 anos a análise eletroquímica, nas suas diferentes formas, tem sido empregada rotineiramente em laboratórios de todo o mundo.

Ao longo dos anos as técnicas eletroanalíticas evoluíram e em 1922 a polarografia foi desenvolvida. Muitos trabalhos utilizaram-se desta técnica entre as décadas de 30 e 50. No entanto, com o surgimento da espectroscopia de absorção atômica e da cromatografia gasosa, na década de 50, os estudos polarográficos diminuíram e só passaram a ter relevância novamente na década de 70 quando o avanço eletrônico instrumental permitiu a criação de aparelhos simples e não muito caros.

Devido a grande sensibilidade que as técnicas polarográficas possuem, estas técnicas são utilizadas na determinação polarográfica de metais em águas naturais. Uma vez que estas técnicas possuem não só sensibilidade, mas também seletividade, elas permitem a determinação simultânea de vários metais sem que haja necessidade, muitas vezes, de separação química prévia dos analitos. A polarografia de pulso é utilizada na determinação de cobre e outros metais em águas naturais. A amostra a ser analisada necessita ser submetida a um processo de pré-concentração antes de ser analisada. No procedimento, resinas quelantes são utilizadas na pré-concentração de traços de metais em amostras de água do mar [52].

A determinação de cobre em amostras aquosas é realizada utilizando-se uma técnica polarográfica desenvolvida para análise de compostos orgânicos em fármacos e urina. A técnica baseia-se no uso de um sistema FIA acoplado ao eletrodo de mercúrio gotejante e apresenta sensibilidade comparável à técnica de voltametria de redissolução anódica. [53].

Cobre em água do mar também é determinado utilizando-se a técnica de polarografia de pulso diferencial. O cobre a ser analisado sofre pré-concentração e posteriormente o material é destruído em meio ácido; os íons cobre gerados neste processo são analisados no eletrólito de suporte tiocianato de potássio  $0,2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  [54].

A determinação de ferro(III) e cobre(II) em amostras biológicas como fígado bovino e tecido proveniente de ostras e amostras de águas de rio, é realizada utilizando a polarografia de pulso diferencial. As amostras são previamente submetidas a um tratamento para decomposição da matéria orgânica e em seguida é realizada a determinação polarográfica [55].

Cobre, chumbo e zinco em vinho são analisados empregando-se a técnica de polarografia de pulso diferencial. A amostra de vinho é previamente aberta e a solução a ser analisada deve ter pH ajustado a 3,1 [56]. A mesma técnica é aplicada na determinação de cobre juntamente com chumbo, cádmio e zinco em ligas não ferrosas utilizando eletrólito de suporte à base de ácido fosfórico [57].

A polarografia de pulso diferencial é utilizada na determinação de Fe(III) em cimento Portland. A determinação polarográfica é realizada na presença do agente complexante PDTA (ácido propilendiamino tetraacético) [58]. A mesma técnica é utilizada na determinação de traços de Fe(III) em pastilhas de KOH [59]. Fe(III) e outros metais são determinados na presença de U(VI) polarograficamente. É utilizado eletrodo de calomelano saturado como eletrodo de referência e a composição do eletrólito de suporte é  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  em 0,01% de Triton® X100 [60].

A polarografia de corrente amostrada é utilizada na determinação de Fe(II) e Fe(III) em hulha originária de material vegetal carbonizado. É utilizado como eletrólito de suporte a solução de citrato  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . A concentração de ferro total destas amostras é determinada através da polarografia de pulso diferencial [61].

A polarografia de corrente direta é utilizada nas determinações polarográficas de complexos de Fe(II) e Fe(III) com EDTA. O estudo é desenvolvido em eletrólito de suporte  $\text{KNO}_3$   $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , EDTA  $0,01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 4,0 ajustado com solução acetato de sódio/ácido acético  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . [62]. A mesma técnica é utilizada na

determinação de Fe(III), Fe(II) e ferro total em rochas. A determinação é realizada em meio de oxalato  $0,5\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  [63].

Impurezas metálicas em lâminas de zinco eletrolítico, como traços de ferro, são determinadas utilizando-se a técnica de polarografia de pulso diferencial ou polarografia de corrente amostrada. Devido a presença de cobre nestas amostras, que trata-se de um interferente na determinação polarográfica do ferro, trabalhou-se em eletrólito de suporte citrato de sódio  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; EDTA  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e pH 6,0 ajustado com amônia. Através da técnica polarográfica foi possível a determinação da concentração de Fe(II), Fe(III) e ferro total nesta matriz [6].

Traços de Fe(III) e Fe(II) são determinados simultaneamente em proteínas por polarografia de pulso diferencial, usando eletrólito de suporte à base de taratarato de amônia com obtenção de picos bem definidos [64]. Empregando-se a mesma técnica é possível determinar-se Fe(III) em sucos de frutas, águas, vinhos, através da formação de complexo de Fe(II)-DCDT(5,5-dimetilciclohexano-1,2,3-trione 1,2-dioxima 3-tiosemicarbazona) com boa reprodutibilidade nos resultados e com limite de detecção próximo a  $10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  [65].

A concentração de Fe(III) em plasma e soro sangüíneos e em fármacos pode ser determinada através da polarografia de pulso diferencial. O eletrólito de suporte utilizado nesta análise foi NaOH  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e trietanolamina (TEA)  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  [66]. A determinação polarográfica de ferro em ferritina ( casca proteica que circunda partículas microcristalinas de fosfato óxido de Fe(III) ) baseia-se no estudo em meio de TEA  $0,01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , NaOH  $0,4\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $\text{KBrO}_3$   $0,01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . A alta concentração de ferritina no soro sangüíneo é associada a tumores malignos. A dificuldade nesta determinação era relativa a digestão ácida que esta substância tinha que sofrer antes de ser analisada, o que prejudicava a análise por outras técnicas. A polarografia de corrente catalítica permite a determinação direta de ferro [67].

## ***PARTE EXPERIMENTAL***

## 1- Aparelhagem

As medidas polarográficas foram realizadas em um Polarógrafo Radiometer Copenhagen Modelo POL 150 acoplado a um *Stand* Polarográfico Radiometer Copenhagen Modelo MDE 150 constituído por três eletrodos: o eletrodo gotejante de mercúrio (EGM) sendo o eletrodo de trabalho; Ag/AgCl, KCl saturado, o eletrodo de referência e um fio de platina como eletrodo auxiliar. O polarógrafo é acoplado a um microcomputador PC com sistema operacional Windows 95® e utilizou-se o programa Trace Master versão X9737-2.03 para a realização das medidas.

A técnica utilizada foi a polarografia de pulso diferencial (Figura 5). Os polarogramas foram obtidos numa faixa de potencial entre 75 mV a -250 mV para o ferro, entre - 200 mV a - 425 mV para o cobre e entre 0mV e -525mV para a determinação simultânea de Fe(III) e Cu(II). Foi utilizada duração do pulso 40 ms. [7], velocidade de varredura 5mV/s, corrente mínima 10nA e corrente máxima 1mA, amplitude de pulso -50mV para o processo eletroquímico do Cu(II) que envolve dois elétrons e -25mV para o Fe(III), cujo processo eletroquímico envolve um elétron[7].

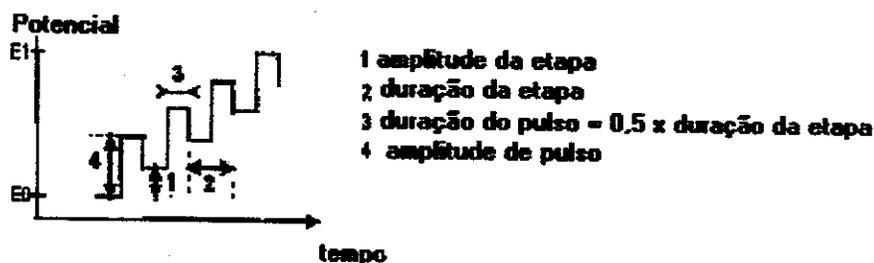


Figura 5 : Parâmetros da Polarografia de Pulso Diferencial.

As medidas de pH das soluções utilizadas e a titulação potenciométrica do padrão de ferro foram realizadas em um pH/ion Analyser OP-271. Foi utilizado o eletrodo de vidro combinado e o eletrodo de platina da marca Radelkis.

Nas adições de volumes na cela polarográfica utilizou-se micropipetas de 1-5 mL; 200-1000  $\mu$ L e 5-50  $\mu$ L.

## 2 - Reagentes

Os reagentes utilizados possuíam grau analítico e no preparo de soluções utilizou-se água desionizada.

A vidraria utilizada, inclusive a célula polarográfica e os frascos de plástico utilizados no armazenamento das soluções, eram lavados com água e detergente. Posteriormente eram submetidos à lavagem com água desionizada seguida de lavagem com solução de ácido nítrico  $6,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  para a solubilização de contaminantes como alguns óxidos metálicos. O ácido era removido com água desionizada e finalmente a vidraria era seca com etanol. Este tipo de tratamento da vidraria é necessário para eliminar possíveis contaminações que possam interferir no trabalho analítico.

### 2.1- Soluções padrões e eletrólito de suporte

- Solução padrão de Fe(III)  $0,1083 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ : preparada a partir de sulfato férrico amoniacal, padronizada através de titulação potenciométrica com EDTA (eletrodo de platina) [48].
- Solução padrão de Cu(II)  $0,09726 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ : preparada a partir de sulfato de cobre, padronizada através de titulação potenciométrica com EDTA (eletrodo de platina) [41].
- Eletrólito de suporte citrato  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; EDTA  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 5,0: preparado a partir de ácido cítrico, nitrato de potássio e EDTA dissódico. O pH do eletrólito foi ajustado com amônia concentrada. Solução de NaOH não foi utilizada no ajuste de pH do eletrólito de suporte para evitar a precipitação de hidróxidos metálicos durante a análise polarográfica [67,68]. O pH é um parâmetro que deve ser cuidadosamente controlado nestas análises e portanto o eletrólito é uma solução tampão com o objetivo de não ocorrer flutuações significativas no valor do pH quando é adicionada a solução da amostra a ser analisada. Todas as amostras analisadas foram

abertas em meio ácido e portanto as soluções das amostras possuem pH ácido gerando a necessidade de se trabalhar neste meio.

### **3- Abertura de amostras**

Neste trabalho duas classes diferentes de matrizes foram estudadas: ligas metálicas à base de cobre (latão), e fármacos (complexos vitamínicos/sais minerais). O latão é uma liga metálica à base de cobre que apresenta 0,1% a 0,8% de ferro e 60% a 80% de cobre sendo portanto uma matriz ideal para ser estudada devido a grande diferença entre os teores de ferro e cobre. Também trabalhou-se com comprimidos de sulfato ferroso, e 3 compostos à base de vitaminas e sais minerais. Estes comprimidos apresentam variações significativas na concentração de Cu(II) e Fe(III) nas suas formulações permitindo a determinação polarográfica dos íons individualmente e simultaneamente. A abertura de cada uma dessas amostras, em meio ácido, é descrita a seguir.

#### **3.1 - Abertura da amostra de latão**

Para a análise de latão dissolveram-se 0,55g de latão em ácido nítrico concentrado. A solução foi aquecida até evaporação completa do líquido e restar somente um resíduo sólido. Ao resíduo adicionou-se 5 mL de ácido nítrico e 25 mL de água quente. O resíduo foi totalmente dissolvido nesta etapa. Ajustou-se o volume da solução, em balão volumétrico, para 100 mL [1].

#### **3.2 - Abertura das amostras de fármacos**

Foram escolhidos quatro comprimidos diferentes para o estudo :

**Comprimido 1:** À base de sulfato ferroso, contém 250 mg de  $\text{FeSO}_4$  e 1 mg de  $\text{CuSO}_4$  por comprimido, além de Vitamina C e Vitamina B1.

A abertura desta amostra foi realizada de duas maneiras:

**Comprimido 1a** - Um comprimido de sulfato ferroso (0,5198 g) foi aberto com 5 mL de HCl concentrado, sob aquecimento; nesta etapa o Fe(II) é oxidado a Fe(III) [36]. A solução da amostra permanece nessas condições até entrar em ebulição, quando é interrompido o aquecimento. A solução resultante ainda apresentou um resíduo sólido. Após atingir a temperatura ambiente, é diluída com água desionizada, sem ser filtrada, a 100 mL, em balão volumétrico

**Comprimido 1b** - Dois comprimidos de sulfato ferroso (1,1191 g) foram abertos com 10 mL de HCl concentrado conforme a abertura realizada para o comprimido 1a, no entanto a análise foi realizada sem a presença do resíduo sólido, removido por filtração em papel de filtro .

**Comprimido 2:** Complexo vitamínico que possui em sua composição 11 diferentes vitaminas, 9 diferentes sais minerais, aminoácidos, além de ácido fólico. Possui, conforme especificado no rótulo, 0,5 mg de  $\text{CuSO}_4$  e 20 mg de  $\text{FeSO}_4$  por comprimido.

Dois comprimidos (1,3112 g) foram abertos com 10 mL de HCl concentrado, conforme a abertura do comprimido 1a. A solução da amostra apresentou um resíduo sólido e a análise foi realizada na presença do resíduo.

**Comprimido 3:** Um complexo vitamínico que possui uma associação de 11 diferentes vitaminas, 8 diferentes minerais e 1 aminoácido, apresenta 1 mg de Cu(II) e 10 mg de Fe(II), ambos na forma de sulfato, por comprimido. Os excipientes desta cápsula diferem na composição quando comparados com os comprimidos 1 e 2, e não são dissolvidos em HCl concentrado: obtém-se um material gelatinoso que prejudicava a análise. Neste caso tomou-se somente o revestimento gelatinoso desta cápsula e verificou-se que era dissolvido em  $\text{HNO}_3$  concentrado.

Dois comprimidos (3,2268 g) foram abertos primeiramente com, aproximadamente, 6 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado, sob aquecimento, e depois de verificada a dissolução do revestimento gelatinoso adicionou-se 20 mL de HCl concentrado. Aqueceu-se a mistura até a fervura. Após o resfriamento da solução da amostra, esta foi filtrada

em papel de filtro para remoção de um resíduo gelatinoso que não foi dissolvido em meio ácido. A solução obtida foi diluída com água desionizada, em balão volumétrico de 100 mL.

**Comprimido 4:** Complexo vitamínico que possui em sua composição 11 diferentes vitaminas, 18 sais minerais e ácido fólico. Possui, conforme especificado no rótulo, 2 mg de Cu(II) na forma de  $\text{CuSO}_4$  e 4 mg de Fe(II) na forma de fumarato ferroso, por comprimido.

Um comprimido (2,8717 g) foi aberto com 20 mL de HCl concentrado, conforme a abertura do comprimido<sup>1</sup>. Um resíduo sólido não foi dissolvido pelo HCl e foi removido por filtração em papel de filtro. A solução obtida foi diluída em balão volumétrico de 250 mL.

Em todos os procedimentos de abertura dos comprimidos não foi realizada a adição dos ácidos diretamente sobre as amostras. Primeiramente os comprimidos eram macerados - com exceção do comprimido 3 - e a todos, antes da adição de ácido, era adicionado aproximadamente 10 mL de água desionizada.

Os comprimidos são compostos por cobre na forma de Cu(II) e por ferro na forma de Fe(II), no entanto, nestas composições, pode haver a presença de traços de Fe(III). A dissolução em meio ácido garante que todo o Fe(II) passe para o estado de oxidação Fe(III). O Fe(III) determinado polarograficamente equivale à concentração de  $\text{Fe}_{\text{total}}$  da amostra: a concentração de Fe(II) que foi oxidado mais a concentração de possíveis traços de Fe(III) que pode existir na amostra.

#### **4- Análise Quantitativa das Amostras**

O método de adição de padrão foi empregado na análise quantitativa das amostras. Este método é preferível nestas análises pois minimiza possíveis problemas associados ao efeito de matriz. Dessa maneira determinou-se a concentração de ferro em latão e as concentrações de ferro e cobre em comprimidos.

No procedimento analítico um volume da solução da amostra é adicionado ao eletrólito e em seguida é obtido um polarograma referente à amostra. Em seguida um pequeno volume de solução padrão, de concentração exatamente conhecida, é adicionado sobre a solução com a amostra e um novo pico é obtido. A adição de padrão é repetida três vezes. Constrói-se a curva corrente (A) vs. concentração ( $\text{mol.L}^{-1}$ ). O valor de intersecção da curva obtida sobre o eixo X corresponde à concentração do analito presente na solução da amostra na célula polarográfica como pode ser verificado na Figura 6 [69,70].

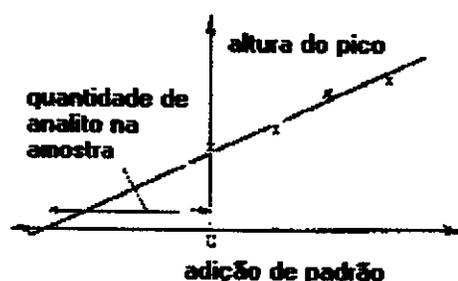


Figura 6: Curva típica de adição de padrão.

A análise quantitativa de uma amostra foi realizada cinco vezes. A avaliação estatística da precisão dos resultados obtidos foi estudada aplicando-se o Teste-t com intervalo de confiança de 95% [71].

#### 4.1 - Procedimento de Análise Quantitativa

Na análise das amostras adicionava-se 10,0 mL do eletrólito de suporte na célula polarográfica desaerando-se por 10 minutos para remoção do oxigênio. O oxigênio dissolvido nas soluções é considerado um interferente pois pode ser reduzido facilmente pelo mercúrio quando aplicada a variação de potencial sobre o eletrodo de trabalho e o sinal polarográfico referente a esta redução ocorre na faixa de potencial do sinal polarográfico do Fe(III) [12]. Nitrogênio gasoso é utilizado para a remoção do  $\text{O}_2$  da solução. Após a desaeração obtinha-se um polarograma referente ao eletrólito desaerado (branco). A seguir adicionava-se à célula a

solução da amostra de latão ou a solução da amostra de comprimido e desaerava-se por mais cinco minutos e em seguida obtinha-se o polarograma referente à amostra. A determinação quantitativa era realizada pelo método de adição de padrão. Nas adições de padrão o tempo de desaeração era de três minutos. Após cada período de desaeração era obtido um polarograma.

À cada determinação realizada, a célula e os eletrodos eram lavados com água desionizada, solução de  $\text{HNO}_3$   $6,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e água desionizada, para eliminar traços de íons metálicos para que não interferissem na próxima medida.

Os procedimentos realizados para as determinações polarográficas são descritos a seguir:

**Latão:** Na determinação de  $\text{Fe(III)}$  em latão pelo método de adição de padrão foram adicionados aos 10,0 mL de eletrólito, 1000,0  $\mu\text{L}$  de solução da amostra de concentração  $5,531 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  de latão. As adições de padrão foram realizadas três vezes, adicionando-se 50,0 $\mu\text{L}$  de  $\text{Fe(III)}$   $0,01083 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  para cada registro polarográfico. Os polarogramas foram obtidos no intervalo de potencial entre 45 mV e -155 mV.

**Comprimido 1a:** Para a análise de  $\text{Cu(II)}$  foram adicionados 250,0  $\mu\text{L}$  da solução da amostra de concentração  $5,198 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  na célula polarográfica que continha 10,0 mL de eletrólito. Foram realizadas 3 adições de 100,0 $\mu\text{L}$  de padrão  $\text{Cu(II)}$   $9,73\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e o polarograma foi obtido no intervalo entre -200 mV e -425 mV.

Para a determinação de  $\text{Fe(III)}$  foram adicionados 50,0  $\mu\text{L}$  da solução em 10 mL de eletrólito de suporte e realizou-se adições de 100,0  $\mu\text{L}$  de padrão  $0,01083 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Os polarogramas foram obtidos no intervalo entre 75 mV e -225 mV .

**Comprimido 1b:** No estudo do  $\text{Cu(II)}$  adicionou-se à célula 10,0 mL de eletrólito e posteriormente 500,0  $\mu\text{L}$  da solução do comprimido ( $11,191 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e foram realizadas adições de 100,0  $\mu\text{L}$  de padrão  $0,009726 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , o intervalo de medida foi entre -200 mV e -425 mV .

Para a determinação de Fe(III) adicionou-se 50,0  $\mu\text{L}$  de solução da amostra em 10,0 mL de eletrólito e as adições foram de 100,0  $\mu\text{L}$  de padrão 0,01083 mol.L<sup>-1</sup>. As medidas foram efetuadas entre 75 mV e -250 mV.

**Comprimido 2:** A determinação de Cu(II) foi realizada adicionando-se à célula que continha 10,0 mL de eletrólito, 1500,0  $\mu\text{L}$  da solução da amostra de concentração 13,112 g.L<sup>-1</sup> e realizou-se adições de 30,0  $\mu\text{L}$  de padrão 0,009726 mol.L<sup>-1</sup>. Os polarogramas foram obtidos no intervalo entre -200 mV e -450 mV.

A determinação de Fe(III) foi realizada adicionando-se à célula 10,0 mL de eletrólito e após a desaeração, 100,0  $\mu\text{L}$  da solução da amostra e realizou-se adições de 50,0  $\mu\text{L}$  de padrão 0,01083 mol.L<sup>-1</sup>. Os polarogramas foram obtidos no intervalo entre 20 mV e -225 mV.

**Comprimido 3:** Adicionou-se à célula 10,0 mL de eletrólito e posteriormente 1, mL da solução da amostra de concentração 32,268 g.L<sup>-1</sup> a ser analisada. Foram realizadas adições de 30,0  $\mu\text{L}$  de padrão 0,1083 mol.L<sup>-1</sup> de Fe(III) e 30,0  $\mu\text{L}$  de padrão 0,009726 mol.L<sup>-1</sup> de Cu(II) à célula polarográfica. O polarograma foi obtido no intervalo entre 60 mV e -525 mV.

**Comprimido 4:** Adicionou-se à célula 10,0 mL de eletrólito e posteriormente 1,0 mL da solução da amostra de concentração 11,487 g.L<sup>-1</sup> a ser analisada. Foram realizadas adições de 40,0  $\mu\text{L}$  de padrão 0,01083 mol.L<sup>-1</sup> de Fe(III) e 15,0  $\mu\text{L}$  de padrão 0,009726 mol.L<sup>-1</sup> de Cu(II) à célula polarográfica. O polarograma foi obtido no intervalo entre 0 mV e -475 mV.

## 5- Validação do Método

A validação do método de adição de padrão empregado na análise quantitativa das matrizes que continham ferro e cobre foi verificada pelo teste de recuperação [72]. A validação por absorção atômica foi utilizada somente na

análise de latão. As medidas de absorção atômica foram realizadas no espectrofotômetro da marca Varian Tectron modelo AA5.

O teste de recuperação foi realizado adicionando-se uma quantidade conhecida de Fe(III), oriunda da solução padrão deste íon, à amostra de latão previamente analisada. Em seguida, a determinação de Fe(III) total é feita pelo método de adição de padrão. Da concentração assim obtida foi subtraída a concentração da amostra e verificada a recuperação da concentração de Fe(III) adicionada em termos de porcentagem. O mesmo procedimento foi efetuado para as soluções de comprimido analisadas onde adicionou-se uma concentração conhecida de Cu(II) e Fe(III) proveniente das soluções padrões dessas espécies.

## ***RESULTADOS E DISCUSSÃO***

## 1- Estudo da Composição do eletrólito de suporte

A composição de um eletrólito de suporte que permita a determinação de Fe(III) na presença de Cu(II) baseou-se no estudo do eletrólito sugerido por Bond e Pfund, citrato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , EDTA  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 6,0, que permite a determinação de Fe(III) na presença de Cu(II) utilizando a técnica de polarografia de pulso diferencial [6]. Neste meio o limite de determinação para o Fe(III) é em torno de  $5\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , o que permite o uso deste eletrólito na determinação polarográfica de Fe(III) em concentrações superiores a  $5\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Isto ocorre devido a baixa resolução da curva polarográfica referente ao Fe(III) gerada nestas condições. Na presença de altas concentrações de cobre aumenta a imprecisão do sinal relativo à redução do Fe(III) impossibilitando a análise polarográfica deste metal nestas condições.

Partindo-se do eletrólito sugerido por Bond foram estudados diversos parâmetros para verificar-se mais detalhadamente os seus efeitos sobre a separação dos picos polarográficos do Fe(III) e do Cu(II). Inicialmente constatou-se que neste eletrólito o sinal polarográfico referente ao Fe(III) sofre sobreposição da corrente anódica devido a oxidação do mercúrio e este fator tem influencia pronunciada sobre o comportamento polarográfico do Fe(III). Verificou-se que a diminuição do pH do eletrólito desenvolvido por Bond associada a adição de  $\text{KNO}_3$  como ajustador de força iônica otimizaram as condições para a determinação polarográfica destes dois íons metálicos. Neste meio a onda polarográfica referente ao Fe(III) é bem definida e a separação entre os potenciais de pico do Fe(III) e do Cu(II) devido a ação complexante do EDTA permite a determinação simultânea destas espécies.

A composição do eletrólito de suporte sugerido por Aleixo *et al.* a partir destes estudos é citrato  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; EDTA  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  (pH=5,0) [7]. Neste meio o limite de determinação para o Fe(III) é em torno de  $2,0\cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , detectabilidade superior ao do eletrólito desenvolvido por Bond. O estudo das propriedades que justificam o uso deste eletrólito são verificadas nos tópicos seguintes.

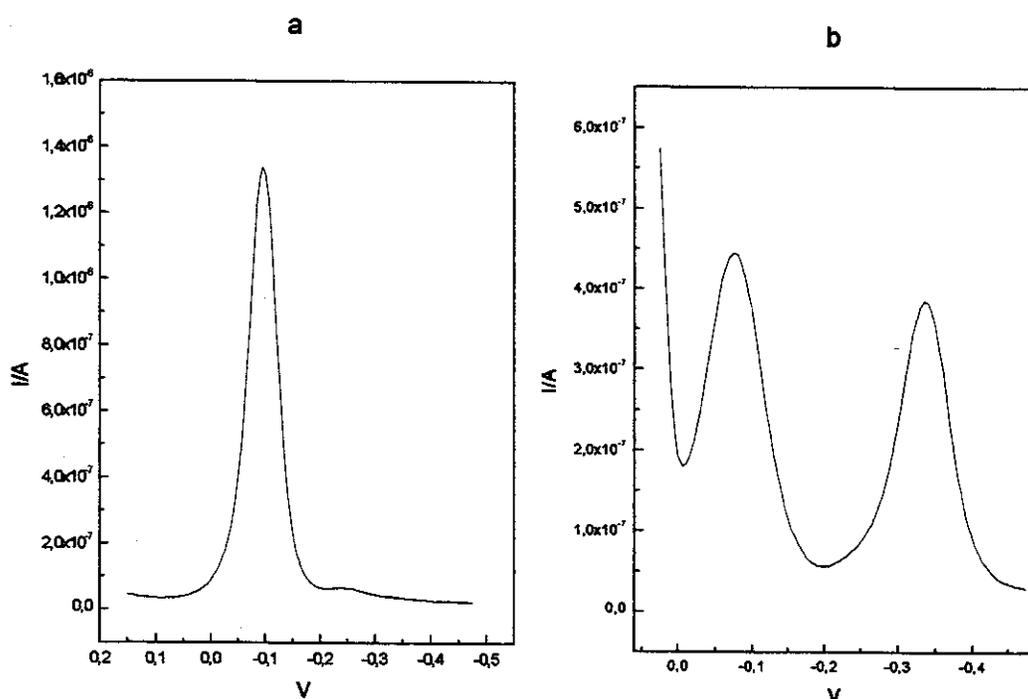
## 1.1- Efeito do EDTA sobre o comportamento polarográfico do Fe(III) e do Cu(II)

No estudo polarográfico de Fe(III) na presença de Cu(II) o potencial de pico do Fe(III) é sobreposto pelo potencial de pico do Cu(II). Esta característica levou ao estudo de diferentes composições de eletrólitos de suporte à base de agentes complexantes que promovessem o deslocamento dos potenciais de pico destas espécies eletroativas permitindo, assim, seu estudo polarográfico. O uso de EDTA como agente complexante nestas determinações data de 1949, trabalho desenvolvido por Souchay e Faucherre baseado no uso do eletrólito de suporte contendo EDTA  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , acetato de sódio  $2,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , com pH ao redor de 6 e 7 para determinar pequenas quantidades de ferro na presença de grandes quantidades de cobre, como no latão [4]. Outro exemplo do emprego de EDTA nestas análises é verificado no trabalho desenvolvido por Bond e Pfund que usaram um eletrólito de suporte à base de citrato e EDTA para evitar interferências na determinação de ferro em banhos de zinco [6].

O eletrólito recomendado por Aleixo à base de citrato e EDTA, citrato  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; EDTA  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , (pH=5,0), promove o deslocamento dos potenciais de pico do Fe(III) e do Cu(II) [7]. Neste meio pode-se verificar a influência de ambos agentes complexantes sobre o comportamento polarográfico do Fe(III) e do Cu(II). Para se verificar esta influência comparou-se as curvas polarográficas do Fe(III) e do Cu(II) obtidas na presença somente de citrato e na presença de citrato e EDTA.

O uso de citrato, na ausência de EDTA, como agente complexante nas determinações de Fe(III) na presença de Cu(II), não elimina a interferência que existe entre estas duas espécies. Na Figura 7(a) pode-se verificar o comportamento polarográfico do Fe(III) em presença do Cu(II) no eletrólito de suporte citrato  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 5,0. Neste meio os potenciais de pico de ambas as espécies coincidem,  $-100 \text{ mV}$ , e portanto não é possível eliminar a interferência que existe entre ambas as espécies.

O eletrólito de suporte à base de citrato e EDTA permite o estudo polarográfico de Fe(III) na presença de Cu(II). O EDTA é um forte agente complexante e produz complexos de ferro e cobre mais estáveis que os complexos de citrato [12,18]. O eletrólito citrato  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; EDTA  $0,050 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{pH}=5,0$  promove o deslocamento significativo do potencial de pico do Cu(II), permitindo a análise polarográfica destas espécies, uma na presença da outra, sem a necessidade de remoção prévia do interferente, conforme pode ser verificado na Figura 7(b).



**Figura 7:** Polarogramas referentes à ação complexante do EDTA sobre a separação dos íons Cu(II) e Fe(III). Solução de Fe(III)  $0,01083 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e de Cu(II)  $0,009726 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  em 10,0 mL de eletrólito. (a) Eletrólito citrato  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{pH} 5,0$ .  $E_p \text{ Fe(III)} = E_p \text{ Cu(II)} = -100 \text{ mV}$ . (b) Eletrólito citrato  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; EDTA  $0,050 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{pH} 5,0$ .  $E_p \text{ Fe(III)} = -75 \text{ mV}$ ,  $E_p \text{ Cu(II)} = -335 \text{ mV}$ .

Comparando-se os resultados obtidos para o eletrólito de suporte à base de EDTA e citrato com o eletrólito de suporte à base de citrato verifica-se que o potencial de pico do Fe(III) sofre menor deslocamento quando comparado com o deslocamento do potencial de pico do Cu(II). O potencial de pico do ferro deslocou-se de uma região mais negativa, (-100 mV), para uma região menos negativa, (-75 mV), com a adição de EDTA enquanto que o potencial de pico do cobre deslocou-se consideravelmente para a região catódica (mais negativa), com a adição de EDTA. Verifica-se, também, a ação do EDTA sobre o mercúrio: na Figura 7a não observa-se sinal relativo ao mercúrio a partir de 200mV enquanto que na Figura 7b, na presença de EDTA, pode-se verificar a presença da corrente anódica relativa ao complexo deste metal com EDTA, em torno de 50mV. Os resultados referentes ao deslocamento dos potenciais de pico do Fe(III) e Cu(II) podem ser verificados na Tabela 4.

**Tabela 4:** Variação do  $\Delta E_p$  para os íons Fe(III) e Cu(II) com a adição de EDTA.

Elemento	$\Delta E_p$
Fe(III)	25
Cu(II)	-235

Isso é explicado em função dos processos que ocorrem no eletrodo de mercúrio para os complexos de Fe(III)-EDTA e Cu(II)-EDTA. Assim, no caso do ferro, necessita-se considerar as formas Fe(III)-EDTA e Fe(II)-EDTA. O EDTA forma complexos com essas duas espécies devido a redução que ocorre no eletrodo, de um estado de oxidação solúvel para outro:



O valor do deslocamento do potencial de pico gerado pela adição de EDTA,  $\Delta E_p$ , dependerá principalmente da razão das constantes de dissociação dos complexos de Fe(III)-EDTA e Fe(II)-EDTA,  $K_{ox}/K_{red}$ , de acordo com a Equação 16:

$$\Delta E_p = (0,0591) \log(K_{ox}/K_{red})$$

No caso do cobre, a forma em solução é somente Cu(II), que se reduz a Cu<sup>0</sup> no eletrodo de mercúrio formando a amálgama Cu(Hg):



Nesse caso o deslocamento do potencial do Cu(II) devido a sua redução dependerá da constante de dissociação relativa a este processo de redução,  $K_d$ , de acordo com a Equação 12:

$$\Delta E_p = (0,0296)\log K_d - (0,0296)\log C_{\text{EDTA}}$$

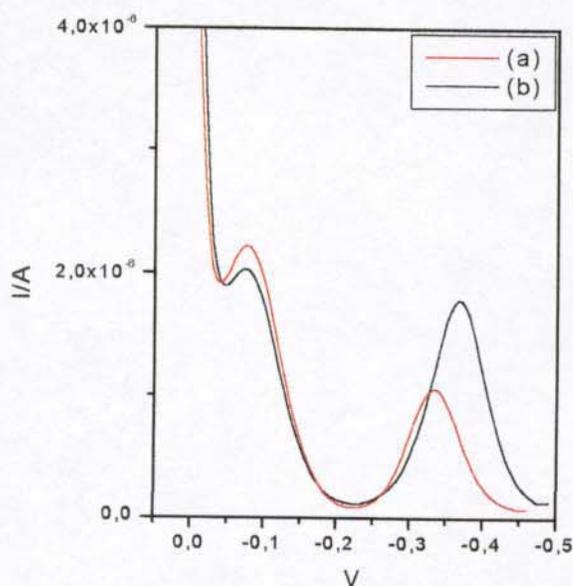
Portanto, em função das constantes relativas aos processos que ocorrem no eletrodo, o  $\Delta E_p$  deve ser menor no caso do Fe(III), que praticamente não se desloca, e maior no caso do Cu(II), que sofre um deslocamento significativo, como pode ser verificado na Tabela 4.

## 1.2 - Efeito da força iônica sobre o comportamento polarográfico do Fe(III) e do Cu(II).

Para se justificar o emprego de KNO<sub>3</sub> no eletrólito de suporte desenvolvido por Aleixo *et al.* [7], verificou-se a influência da força iônica sobre as respostas polarográficas do Fe(III) e Cu(II) adicionando-se KNO<sub>3</sub> (0,50 mol·L<sup>-1</sup>) ao eletrólito desenvolvido por Bond. O emprego de KNO<sub>3</sub> como ajustador de força iônica é verificado no trabalho desenvolvido por Visalakshi e colaboradores que empregaram um eletrólito de suporte ácido acético/acetato 0,1 mol·L<sup>-1</sup>, KNO<sub>3</sub> 0,1 mol·L<sup>-1</sup>, EDTA 0,1 mol·L<sup>-1</sup> (pH 4,0); onde os complexos de Fe (II) e Fe (III) foram estudados [62].

Para comparar-se o efeito do KNO<sub>3</sub> no eletrólito desenvolvido por Bond, foram obtidos os polarogramas para o Fe(III) e Cu(II) na presença e na ausência de KNO<sub>3</sub>. Pôde-se observar que o potencial de pico do Cu(II), foi alterado de -335 mV (eletrólito sem KNO<sub>3</sub>) para -370 mV (eletrólito com KNO<sub>3</sub>), enquanto que o

potencial de pico do Fe(III) praticamente não sofreu nenhuma alteração de valor como pode ser verificado na Figura 8(b).



**Figura 8:** Efeito da adição de  $\text{KNO}_3$  sobre o eletrólito de suporte citrato  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , EDTA  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 6,0. Solução de Fe(III)  $0,01083\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e solução de Cu (II)  $0,009726\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . (a) Eletrólito citrato  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , EDTA  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 6,0.  $E_p_{\text{Fe(III)}} = -80\text{mV}$ ,  $E_p_{\text{Cu(II)}} = -335\text{mV}$ . (b) Eletrólito citrato  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , EDTA  $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{KNO}_3$   $0,50\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 6,0.  $E_p_{\text{Fe(III)}} = -75\text{mV}$ ,  $E_p_{\text{Cu(II)}} = -370\text{mV}$ .

Como o coeficiente de difusão de um eletrólito é dependente da força iônica do meio, pode-se observar diferenças nas características dos polarogramas acima, na ausência e na presença de  $\text{KNO}_3$ . O coeficiente de difusão de moléculas neutras diminui continuamente com o aumento da concentração. Depois de uma diminuição inicial, o coeficiente de difusão dos eletrólitos freqüentemente aumenta com o aumento da força iônica; conseqüentemente a corrente de difusão aumenta uma vez que é diretamente proporcional ao coeficiente de difusão, de acordo com a equação de Ilkovic [1].

Como o objetivo deste estudo é trabalhar em um meio que possa gerar uma maior separação entre os potenciais de pico do Fe(III) e do Cu(II) verifica-se que a introdução de  $\text{KNO}_3$  ao eletrólito de suporte é relevante pois promove o

deslocamento do potencial de pico do cobre para regiões mais negativas. Esta característica justifica o emprego do  $\text{KNO}_3$  no eletrólito desenvolvido.

### **1.3 - Efeito do pH sobre o comportamento polarográfico do Fe(III) e Cu(II)**

O sinal polarográfico obtido para o Fe(III) no eletrólito de suporte desenvolvido por Bond, citrato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , EDTA  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 6,0, sofre influência da corrente anódica relativa a oxidação do mercúrio como pôde ser verificado na Figura 8. Esta característica é devido ao pH do eletrólito de suporte empregado na análise ser igual a 6,0.

Com o objetivo de se diminuir o limite de determinação do Fe(III) e maximizar a separação entre os potenciais de pico do Fe(III) e Cu(II), foi estudado o efeito do pH sobre os potenciais de pico do Fe(III) e Cu(II) no eletrólito de suporte citrato  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; EDTA  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

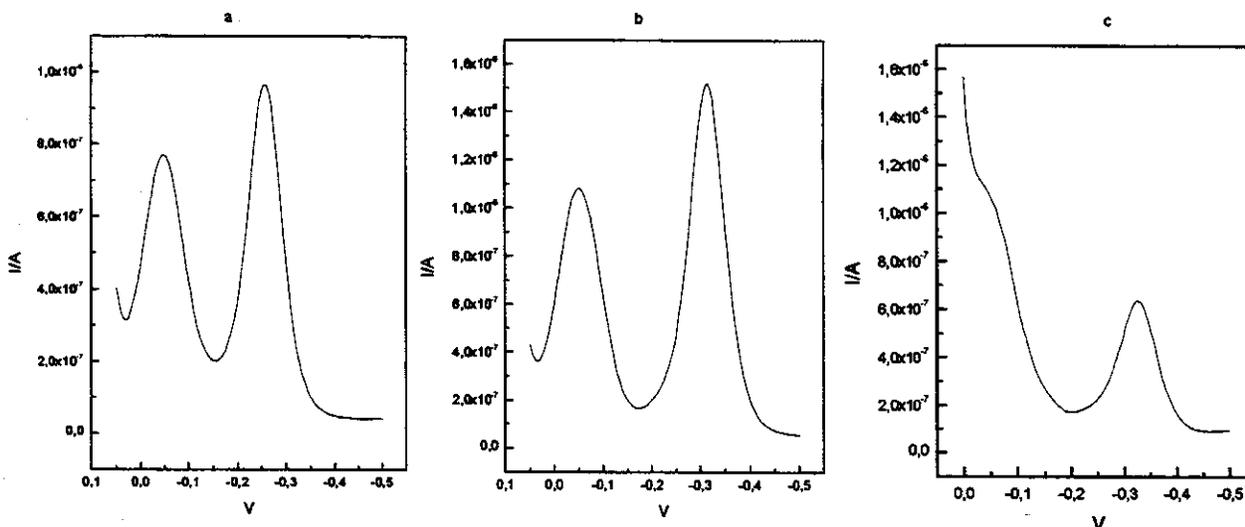
Variou-se o pH dentro do intervalo de 3,8 a 5,4 e determinou-se os valores de variação de potencial ( $\Delta E_p$ ) entre o Cu (II) e o Fe (III), em duplicata ( $\Delta E_{p1}$  e  $\Delta E_{p2}$ ), obtendo-se a média das observações,  $(\Delta E_{p1} + \Delta E_{p2})/2$ , como pode ser observado na Tabela 5. Este estudo foi realizado utilizando ácido cítrico no eletrólito de suporte e empregando amônia concentrada para ajustar o pH.

**Tabela 5:** Variação do  $E_p$  do Fe (III) e do  $E_p$  do Cu (II),  $\Delta E_p$ , em função do pH. Valores de  $E_p$  obtidos para o eletrólito de suporte citrato  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e EDTA  $0,050 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  (pH ajustado com amônia concentrada ).

pH	$\Delta E_{p1}$ (mV)	$\Delta E_{p2}$ (mV)	$(\Delta E_{p1} + \Delta E_{p2})/2$
3,8	195	170	183
4,0	205	215	210
4,2	215	205	210
4,4	230	225	228
4,5	235	225	230
4,6	245	225	235
4,7	245	235	240
4,8	250	240	245
4,9	255	245	250
5,0	255	250	253
5,1	255	260	258
5,2	265	265	265
5,3	275	265	270
5,4	280	270	275

A variação do pH do eletrólito de suporte citrato  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; EDTA  $0,050 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  permitiu verificar que este parâmetro não tem influencia sobre a variação do potencial de pico do Fe(III) como pode ser verificado na Figura 9. Este comportamento era esperado uma vez que o potencial de pico do complexo de Fe(III) não varia entre pH 3,5 e 6,5 [10]. No entanto o pH está relacionado à definição do sinal polarográfico do Fe(III) gerado no processo de redução deste íon no eletrodo de trabalho. Verificou-se que para o intervalo de pH entre 3,8 e 5,1 as curvas polarográficas para o Fe(III) são bem definidas.

O efeito do pH sobre o potencial de pico do Cu(II) é bastante pronunciado como pode ser verificado na Figura 9. Pôde-se verificar uma variação de 80mV no valor do potencial de pico do Cu(II) quando o pH da solução é variado entre 3,8 e 5,4. Pode-se observar que quanto mais alto o pH maior o deslocamento do  $E_p$  do Cu(II) para regiões mais negativas de potencial.



**Figura 9** : Polarogramas referentes ao efeito de pH sobre o comportamento polarográfico do Fe (III) em presença de Cu (II). 200,0  $\mu\text{L}$  de solução Fe(III)  $0,01083 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e 10,0  $\mu\text{L}$  de solução Cu(II)  $0,09726 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . (a)pH 3,8,  $E_{p\text{Fe(III)}} = -50 \text{ mV}$ ,  $E_{p\text{Cu(II)}} = -245 \text{ mV}$ . (b) pH 5,0,  $E_{p\text{Fe(III)}} = -55 \text{ mV}$ ,  $E_{p\text{Cu(II)}} = -310 \text{ mV}$  (pH ótimo). (c) pH 5,4,  $E_{p\text{Fe(III)}} = -55 \text{ mV}$ ,  $E_{p\text{Cu(II)}} = -325 \text{ mV}$ .

Analisando-se a figura 9 pode-se observar que em pHs mais altos a corrente relativa a redução do Cu(II) diminui. Este comportamento possivelmente ocorre devido a formação de hidroxí-complexos com o Cu(II) que não respondem eletroquimicamente no potencial aplicado.

A partir dos valores de  $\Delta E_p$  médio e dos polarogramas obtidos pôde-se verificar que a melhor região de pH para o eletrólito de suporte foi entre 4,9 e 5,1. Nesta região a separação entre os picos de Fe (III) e Cu (II) é bem definida . Em valores de pH inferiores a 4,9 os picos tendem a aproximar-se e a ocorrer sobreposições

entre eles, em pHs superiores a 5,1 o pico de Fe (III) tende a ser sobreposto pela corrente anódica devido a oxidação do mercúrio. Estas condições permitiram obter-se um limite de detecção em torno de  $5,6 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  e limite de determinação em torno de  $2,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para o Fe(III) na presença de Cu(II), limites inferiores aos obtidos por outros métodos polarográficos.

Pode-se concluir que o pH é um fator que possui uma característica pronunciada sobre o comportamento polarográfico do Fe(III) e do Cu(II). O estudo deste parâmetro permitiu justificar a baixa resolução da curva polarográfica do Fe(III) gerada no eletrólito desenvolvido por Bond.

#### **1.4 - Efeito da concentração de citrato, EDTA e $\text{KNO}_3$ sobre o comportamento polarográfico do Fe(III) e do Cu(II)**

A concentração das substâncias que compõe o eletrólito de suporte pode influenciar o comportamento polarográfico de espécies eletroativas [5]. Para se verificar o efeito da concentração de citrato, EDTA e  $\text{KNO}_3$  sobre os potenciais de pico do Fe(III) e do Cu(II) comparou-se as concentrações do eletrólito desenvolvido por Bond, citrato  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , EDTA  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , com as concentrações do eletrólito desenvolvido por Aleixo, citrato  $0,25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; EDTA  $0,050 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , variando-se as concentrações de citrato, EDTA e  $\text{KNO}_3$  em dois níveis, superior e inferior, e mantendo-se constante o pH 5,0 para todas as medidas, obtendo-se assim oito medidas [73]. Os resultados estão apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6:** Valor de  $\Delta E_p$  (diferença entre os potenciais observados para o Fe(III) e o Cu(II) ) em função da concentração de citrato, EDTA e  $\text{KNO}_3$ . pH 5,0 para todas as medidas.

Eletrólito	citrato (mol.L <sup>-1</sup> )	EDTA (mol.L <sup>-1</sup> )	$\text{KNO}_3$ (mol.L <sup>-1</sup> )	$\Delta E_p$ (mV)
1	0,1	0,1	0	225
2	0,1	0,1	0,50	255
3	0,1	0,05	0	220
4	0,1	0,05	0,50	250
5	0,25	0,1	0	235
6	0,25	0,1	0,50	255
7	0,25	0,05	0	225
8	0,25	0,05	0,50	255

A partir dos resultados obtidos pôde-se verificar que na presença de  $\text{KNO}_3$ , as concentrações de EDTA e citrato, não têm influencia significativa sobre os valores de potenciais de pico observados para as duas espécies. Este comportamento é devido as concentrações destas espécies serem altas nos eletrólitos estudados. Em amostras onde a concentração de Cu(II) pode ser superior relativamente ao Fe(III), como em latão, é importante que a concentração do agente complexante seja alta para assegurar que todo o Cu(II) seja complexado.

Trabalhos desenvolvidos anteriormente mostraram que as concentrações ideais de citrato, EDTA e  $\text{KNO}_3$  para a determinação de Fe(III) na presença de Cu(II) são as concentrações referentes ao Eletrólito 8 [7]. Esta conclusão baseou-se no estudo polarográfico do latão por tratar-se de uma amostra que possui uma concentração de cobre bastante superior à concentração de Fe(III). O eletrólito desenvolvido por Bond não mostrou-se adequado para a determinação de Fe(III) em latão enquanto que o Eletrólito 8 permite a determinação polarográfica de Fe(III) nestas condições e por esta razão foi escolhido para as determinações polarográficas de Fe(III) na presença de Cu(II) .

## 1.5-Curvas de calibração para o Fe(III) e Cu(II)

As curvas de calibração corrente de pico,  $I_p$ , em função das concentrações de Cu(II) e de Fe(III) foram determinadas para o eletrólito de suporte citrato  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; EDTA  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 5,0 . As medidas foram realizadas em triplicata.

A curva obtida para o Fe(III) apresentou um comportamento linear na região entre  $1,9\cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $2,4\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  apresentando um coeficiente de correlação 0,997. Através da equação da curva de calibração é possível obter os limites de detecção e de determinação.

A equação da curva obtida para o Fe(III) é dada por:

$$Y(\text{nA})=25,3 + 2,2\cdot 10^6 X(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}) \quad n=13$$

O limite de detecção obtido para a curva foi igual a  $5,6\cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e o limite de determinação obtido foi igual a  $1,9\cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

A curva de calibração para o Cu(II) é linear no intervalo de  $5,3\cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  a  $1,0\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e o coeficiente de correlação da curva é de 0,999.

A equação da curva obtida para o Cu(II) é dada por:

$$Y(\text{nA})= 2,6 - 8,2\cdot 10^6 X(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}) \quad n=17$$

O limite de detecção obtido foi igual a  $1,6\cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e o limite de determinação obtido foi igual a  $5,3\cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Os limites encontrados fornecem a faixa de concentração que pode ser determinada pela técnica polarográfica na quantificação de Fe(III) e Cu(II) no eletrólito de suporte à base de EDTA e citrato.

O limite de detecção para o Fe(III) é inferior ao obtido para o Cu(II) devido a sobreposição que a curva polarográfica do Fe(III) sofre pela corrente anódica devido a oxidação do mercúrio. Esta característica aumenta a imprecisão dos sinais gerados pela redução do Fe(III) em concentrações inferiores a  $5,6\cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

## 2-Determinação Polarográfica de Fe(III) em latão

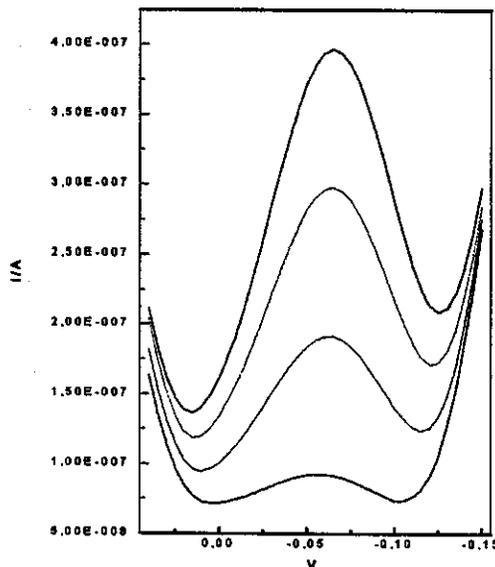
O latão é uma liga metálica à base de cobre e zinco. Este material possui baixa concentração de ferro, entre 0,1% e 0,8%, quando comparada à concentração de cobre, 60% a 80%, e portanto trata-se de uma matriz interessante para a aplicação do eletrólito de suporte na determinação de Fe(III).

A análise de ferro em latão pode ser realizada por métodos colorimétricos através da formação de complexos solúveis em solução aquosa [74]. O método espectrofotométrico também é utilizado nestas análises através da formação de complexos de Fe(III) [75].

No método polarográfico a proporção matriz-eletrólito utilizada foi uma solução em torno de 0,5 % de latão na célula polarográfica. Em concentrações inferiores de latão no eletrólito de suporte, a curva polarográfica referente ao Fe(III) apresentou baixa resolução, enquanto que em concentrações superiores, o cobre, por estar em proporção muito superior ao ferro nesta liga metálica, começava a interferir no sinal do Fe(III) impossibilitando a análise. Devido a esta característica a concentração de Fe(III) da solução da amostra a ser analisada era bastante próxima ao limite de determinação para o método analítico desenvolvido.

Os sinais polarográficos do Fe(III) e Cu(II) obtidos para a solução da amostra de latão analisada apresentou  $\Delta E_p=260$  mV. Este valor concorda com o valor de  $\Delta E_p$  obtido no eletrólito de suporte que continha somente soluções padrões destes metais, aproximadamente 250 mV, mostrando a eficiência da separação dos sinais polarográficos do Fe(III) e do Cu(II), em uma matriz real, pelo eletrólito sugerido.

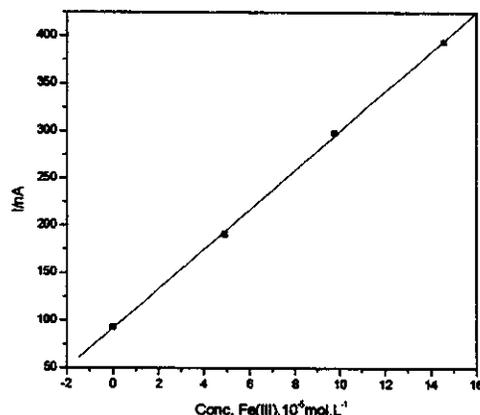
Na Figura 10 pode-se verificar os polarogramas obtidos para a determinação de Fe(III) pelo método de adição de padrão.



**Figura 10:** Polarogramas referentes à determinação de ferro em latão, 0,21 % de ferro em latão (Tabela 7). Condições experimentais: amplitude de pulso -25 mV, duração do pulso 40 ms, velocidade de varredura 5mV/s, corrente mínima 10nA e corrente máxima 1 mA, potencial inicial 45 mV e potencial final -155 mV.  $E_{P_{Fe(III)}} = -65$  mV

**Tabela 7:** Determinação de Fe(III) em latão pelo método de adição de padrão (Det.1). Dados referentes à Figura 10.

$[Fe(III)] \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$	$i_p(\text{nA})$
0	93
4,90	191
9,76	298
14,6	394
% de Fe(III) na liga	0,21



**Figura 11:** Curva de adição de padrão para a determinação polarográfica de ferro em latão. 0,21% de ferro na liga metálica – dados referentes à Tabela 7 e à Figura 10.

**Tabela 8:** Determinação de Fe(III) em latão (Det.) n=5.

	Det.1	Det.2	Det.3	Det.4	Det.5
% de Fe(III) na liga	0,21	0,22	0,21	0,21	0,21
R*	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999

\* coeficiente de regressão linear obtido para a curva de adição de padrão

Pelos valores obtidos a porcentagem de Fe(III) na liga é de  $0,21 \pm 0,01$  % ;  $n = 5$  e 95% de intervalo de confiança. Pelo método espectrofotométrico (absorção atômica) a concentração de Fe(III) é de 0,21% que concorda plenamente com o resultado obtido polarograficamente.

**Tabela 9 :** Teste de Recuperação para o método de adição de padrão na determinação polarográfica de Fe(III) em latão.

$\mu\text{g Fe(III) adicionado}$	$\mu\text{g Fe(III) recuperado}$	% de Recuperação
1,5	1,5	100
3,0	3,1	103
4,5	4,4	98
6,0	5,8	97

O teste de recuperação apresentou recuperação em torno de 99,5 % o que assegura o uso desta metodologia nesta determinação.

### 3- Determinação Polarográfica de Fe<sub>total</sub> e Cu(II) em comprimidos

Técnicas polarográficas modernas, como a polarografia de pulso diferencial, podem ser utilizadas na determinação de substâncias com atividade farmacológica que apresentam eletroatividade como por exemplo, antibióticos, com limite de detecção entre  $10^{-7}$  e  $10^{-8}$  mol.L<sup>-1</sup>. A maioria destas substâncias pode ser determinada rapidamente com um procedimento mínimo de abertura da amostra a ser estudada [76].

As vantagens no uso de métodos eletroanalíticos em análises de produtos farmacêuticos estão relacionadas à alta seletividade e sensibilidade dos métodos, à viabilidade de determinação simultânea dos analitos além do baixo custo destas técnicas. As desvantagens estão relacionadas às possíveis interferências que podem ocorrer na análise, ao tempo de duração da análise além da manutenção dos equipamentos.

Uma área de interesse da indústria farmacêutica é a análise de metais pesados como Zn, Cd, Pb, Cu, Ni, Co. Técnicas voltamétricas e polarográficas permitem a realização destas determinações. A alta sensibilidade destas técnicas permite o uso de miligramas de amostra a ser analisada.

A determinação de Fe(III) em formulações vitamínicas pode ser realizada através de medidas potenciométricas com eletrodo íon seletivo para a determinação de Fe(III). Técnicas espectrofotométricas são amplamente utilizadas no estudo de metais como Cu(II) e Fe(III) em fármacos [77,78]. O sistema FIA acoplado a um espectrofotômetro permite a determinação de ferro e cobre em complexos multivitamínicos [25].

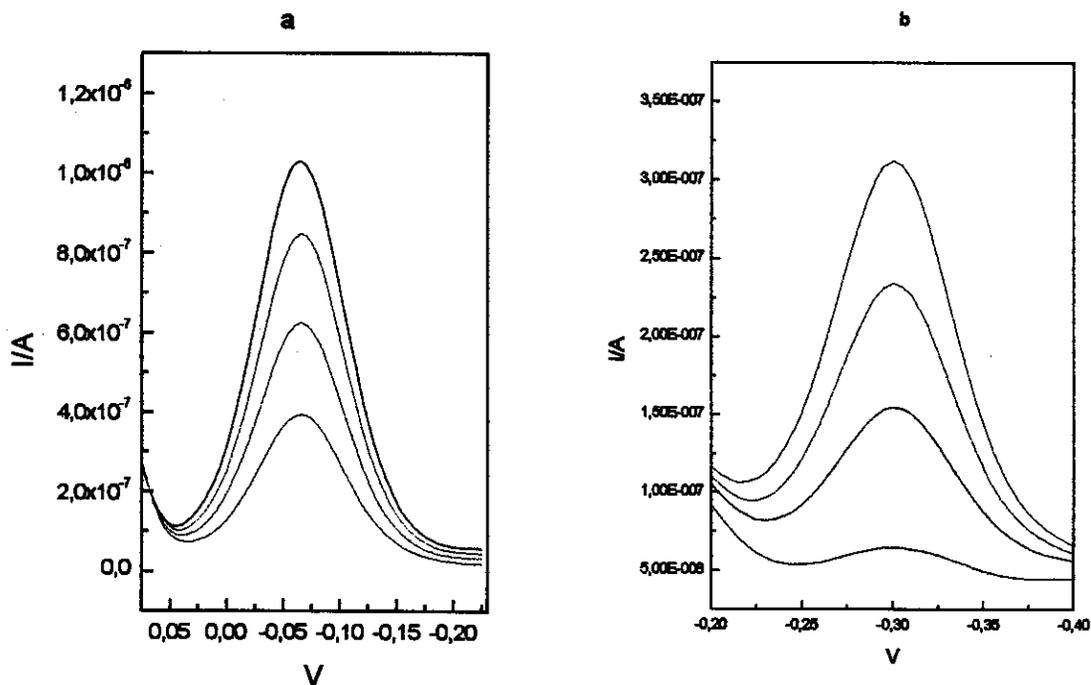
Amostras de fármacos que contém ferro e cobre, como compostos à base de sulfato ferroso e complexos vitamínicos, mostraram-se interessantes para a aplicação do método polarográfico de análise de Fe(III) na presença de Cu(II). Devido as diferentes concentrações destas espécies nestas amostras realizou-se a determinação em quatro diferentes tipos de comprimidos.

### 3.1- Análise polarográfica dos comprimidos 1 e 2

O comprimido 1 trata-se de uma amostra à base de sulfato ferroso e que também contém sulfato de cobre. O processo de abertura deste comprimido em meio ácido gerou uma solução que continha um resíduo sólido. Para comparar-se os efeitos do resíduo sobre a determinação polarográfica realizou-se a análise de duas soluções provenientes deste comprimido: solução do comprimido com o resíduo (solução do comprimido 1a) e solução do comprimido sem o resíduo removido por filtração em papel de filtro (solução do comprimido 1b). Este estudo foi realizado com o objetivo de se verificar a possibilidade da determinação de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  nestas amostras sem a necessidade da filtração o que resulta em uma análise mais rápida.

O comprimido 2 é uma matriz importante para este estudo devido ao meio em que se encontram as duas espécies metálicas; trata-se de um meio complexo devido a presença de outras espécies metálicas (sais minerais) e orgânicas (vitaminas e aminoácidos). Contudo esta matriz não gerou interferências na determinação de ambos os íons metálicos sendo possível a determinação individual de ambos.

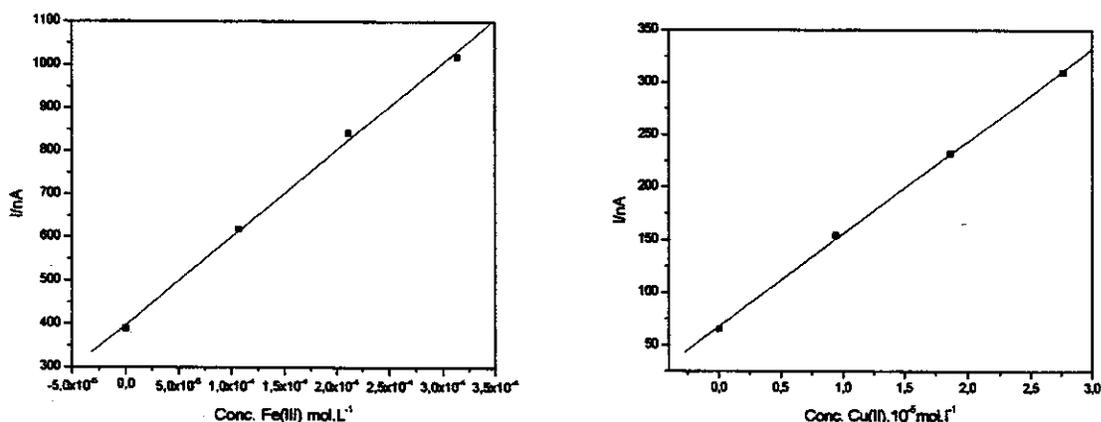
Os comprimidos 1 e 2 possuem concentrações de ferro e cobre que não permite a separabilidade dos picos polarográficos destas espécies e por isso as determinações foram realizadas separadamente. Todas as amostras analisadas apresentaram o mesmo comportamento polarográfico e na Figura 12 estão apresentadas as curvas obtidas para a solução obtida a partir da abertura do comprimido 1a.

Análise do comprimido 1

**Figura 12:** Determinação de Fe<sub>total</sub> e Cu(II) para o comprimido 1a . 96,1mg de Fe<sub>total</sub> e 301,5 µg de Cu(II) por comprimido (Tabela 10). Condições experimentais: (a) Amplitude de pulso de -25 mV , duração do pulso 40 ms, velocidade de varredura 5mV/s, corrente mínima 10nA e corrente máxima 1mA, potencial inicial 75mV e potencial final -225 mV,  $E_{p_{Fe(II)}} = -65$  mV. (b) Amplitude de pulso de -50 mV , duração do pulso 40 ms, velocidade de varredura 5 mV/s, corrente mínima 10nA e corrente máxima 1mA, potencial inicial -200 mV e potencial final -425 mV.  $E_{p_{Cu(II)}} = -300$  mV.

**Tabela 10:** Determinação polarográfica de Fe(III) e Cu(II) para o comprimido 1a pelo método de adição de padrão. Dados referentes à Figura 12.

[Fe(III)]·10 <sup>-4</sup> mol.L <sup>-1</sup>	Ip(nA)	[Cu(II)]·10 <sup>-6</sup> mol.L <sup>-1</sup>	Ip(nA)
0	390	0	65
1,07	619	9,40	154
2,11	842	18,61	232
3,14	1029	27,65	310
mgFe(III)	96,1	µgCu(II)	301,5



**Figura 13:** Curva de adição de padrão para a determinação polarográfica de Fe<sub>total</sub> e Cu(II) para o comprimido 1a— dados referentes à Tabela 10 e à Figura 12.

**Tabela 11:** Determinação polarográfica de Fe<sub>total</sub> e Cu(II) para o comprimido 1a. Valores obtidos por comprimido. n=5

	Det. 1	Det. 2	Det. 3	Det. 4	Det. 5
mgFe(III)	96,1	94,6	98,8	95,1	98,8
R*	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999
µgCu(II)	301,5	301,5	322,3	343,1	317,1
R*	0,999	0,999	0,999	0,998	0,999

\*coeficiente de regressão linear obtido para a curva de adição de padrão

**Tabela 12:** Determinação polarográfica de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  para o comprimido 1b. Valores obtidos por comprimido. n=5

	Det.1	Det.2	Det.3	Det.4	Det.5
mgFe(III)	104,6	102,4	107,4	96,8	106,3
R*	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999
$\mu gCu(II)$	352,5	346,9	369,3	369,3	363,7
R*	0,999	0,998	0,998	0,999	0,999

\* coeficiente de regressão linear obtido para a curva de adição de padrão

Os resultados obtidos na determinação de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  para os comprimidos 1a e 1b foram comparados com os valores indicados no rótulo da embalagem do comprimido estudado (valor declarado). Desta maneira pôde ser obtido a diferença entre a determinação polarográfica e o valor declarado através da razão entre a concentração determinada pela técnica polarográfica e a concentração obtida a partir do valor indicado no rótulo como que pode ser verificado na Tabela 13.

**Tabela 13:** Determinação polarográfica de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  em comprimidos (1a e 1b) utilizando polarografia de pulso diferencial.

Amostra	Comprimido 1a (com resíduo)	Comprimido 1b (sem resíduo)
Valor Declarado -mgFe(II)	85,4	93,4
mg de Fe*	96,6±2,6	102,0±5,2
Diferença (%)	13	9
Valor Declarado- $\mu gCu(II)$	369,5	425,2
$\mu g$ de $Cu(II)$ *	317,1±20,7	358,1±11,2
Diferença (%)	14	16

\* método polarográfico, n=5; intervalo de confiança, 95%

Pôde-se concluir através dos dados obtidos que as determinações quantitativas podem ser realizadas na presença do resíduo analisando-se os

resultados obtidos. Portanto não há a necessidade de filtragem, eliminando, dessa forma, uma das etapas de abertura da amostra.

O teste de recuperação permite que seja verificada a exatidão de um método aplicado em uma determinada matriz. Os resultados obtidos para as determinações de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  em comprimidos pelo método polarográfico não foram comparados com outros métodos analíticos.

Os resultados obtidos para o teste de recuperação realizado para a análise dos comprimidos 1a e 1b estão apresentados nas Tabelas 14 e 15.

**Tabela 14:** Teste de Recuperação para o método de adição de padrão na determinação polarográfica de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  para o comprimido 1a.

$\mu gFe(III)$ adicionado	$\mu gFe(III)$ recuperado	% de Recuperação	$\mu gCu(II)$ adicionado	$\mu gCu(II)$ recuperado	% de Recuperação
12	11,5	96	0,20	0,21	105
24	23	96	0,40	0,42	105
36	38	106	0,60	0,59	98
48	50	104	0,80	0,77	96

**Tabela 15:** Teste de Recuperação para o método de adição de padrão na determinação polarográfica de  $Cu(II)$  e  $Fe_{total}$  para o comprimido 1b.

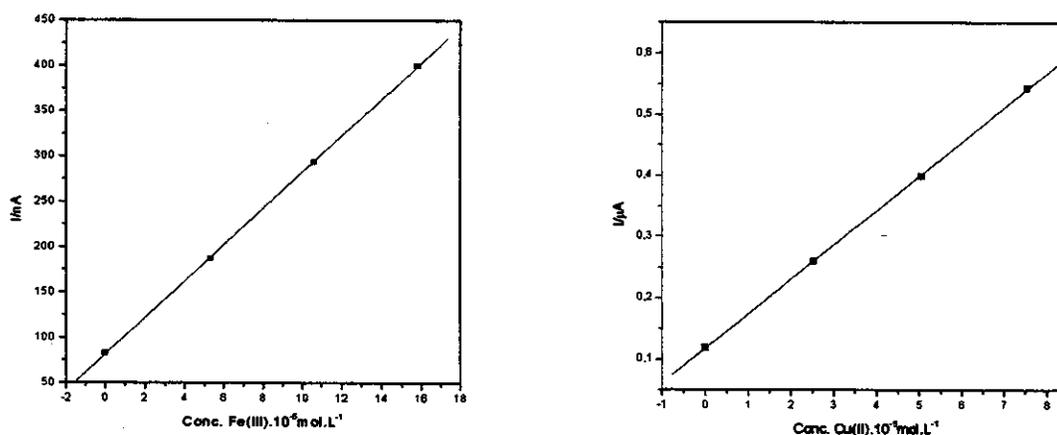
$\mu gFe(III)$ adicionado	$\mu gFe(III)$ recuperado	% de Recuperação	$\mu gCu(II)$ adicionado	$\mu gCu(II)$ recuperado	% de Recuperação
13	12,5	96	1,8	1,8	100
26	28	104	3,6	3,7	103
39	37	95	5,4	5,2	96
52	49	95	7,2	6,9	96

### Análise do comprimido 2

O método desenvolvido foi aplicado na determinação de ferro e cobre em uma amostra de comprimido (comprimido 2) que contém diferentes sais minerais e vitaminas. Os resultados podem ser verificados nas Tabelas 16 a 18.

**Tabela 16:** Determinação polarográfica de Fe(III) e Cu(II) para o comprimido 2 pelo método de adição de padrão (Det.1).

[Fe(III)].10 <sup>-5</sup> mol.L <sup>-1</sup>	Ip(nA)	[Cu(II)].10 <sup>-5</sup> mol.L <sup>-1</sup>	Ip(μA)
0	98	0	0,101
5,33	208	2,53	0,237
1,06	332	5,05	0,389
1,59	445	7,55	0,528
mg de Fe(III)	8,06	μg de Cu(II)	177,0



**Figura 14:** Curva de adição de padrão para a determinação polarográfica de Fe<sub>total</sub> e Cu(II) para o comprimido 2— dados referentes à Tabela 16.

**Tabela 17:** Determinação polarográfica de Fe<sub>total</sub> e Cu(II) para o comprimido 2. Valores obtidos por comprimido. n=5

	Det.1	Det.2	Det.3	Det.4	Det.5
mg de Fe(III)	8,06	8,98	8,26	8,46	7,67
R*	0,994	0,999	0,999	0,999	0,999
μg de Cu(II)	177,0	190,1	209,7	222,9	209,7
R*	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999

\* coeficiente de regressão linear obtido para a curva de adição de padrão

**Tabela 18:** Determinação polarográfica de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  para o comprimido 2 utilizando polarografia de pulso diferencial. Valores obtidos por comprimido.

	mg na amostra	Valor Declarado	Diferença(%)
mgFe(III)	8,26±0,59	7,34	13
µg Cu(II)	203,2±19,6	197	3

Na análise do comprimido 2 não ocorreu nenhuma interferência polarográfica sobre a determinação de  $Fe(III)$  e  $Cu(II)$ . Em vista dos resultados obtidos verifica-se que o método pode ser aplicado em soluções de amostras de comprimidos que contém diversas vitaminas e sais minerais uma vez que os resultados obtidos são bastante satisfatórios. A validação do método desenvolvido pelo teste de recuperação (Tabela 19) apresentou valores que permitem a sua aplicação na análise destes metais em amostras de complexos vitamínicos.

**Tabela 19:** Teste de Recuperação para o método de adição de padrão na determinação polarográfica de  $Cu(II)$  e  $Fe_{total}$  para o comprimido 2.

mgFe(III) adicionado	mgFe(III) recuperado	% de Recuperação	µgCu(II) adicionado	µgCu(II) recuperado	% de Recuperação
2	1,9	95	75	78	104
4	4,2	105	150	157	105
6	6,3	105	225	236	105
8	8,5	106	300	292	97

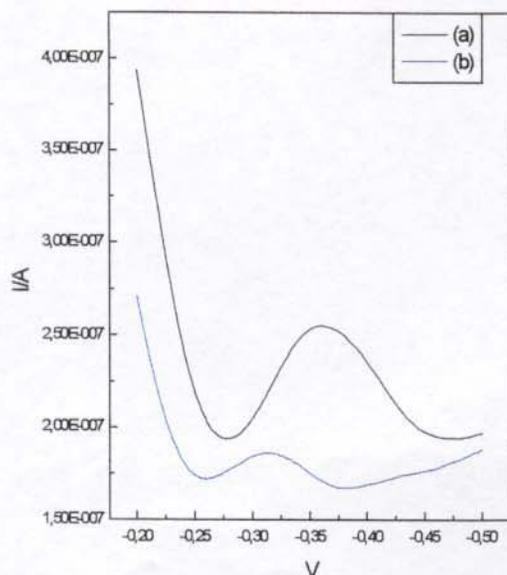
### 3.2- Análise polarográfica dos comprimidos 3 e 4

O desenvolvimento de um eletrólito de suporte que permitisse a determinação polarográfica de  $Fe(III)$  e  $Cu(II)$  com boa separação de potenciais de pico, boa resolução e baixa interferência gerada pelo mercúrio propiciou a determinação destas espécies, individualmente, nos comprimidos 1 e 2. A análise destes íons em amostras que contém estas duas espécies em concentrações que permitem sua

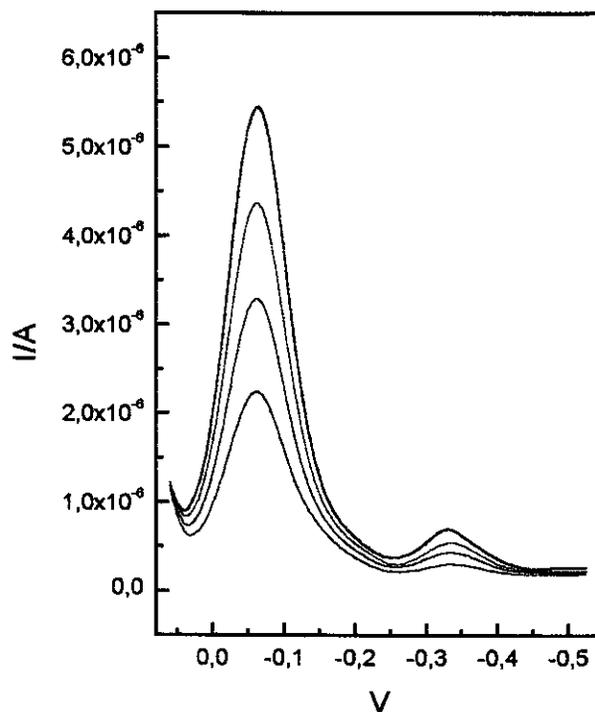
determinação simultânea vem mostrar a aplicabilidade deste método em diferentes condições. A determinação simultânea de ferro e cobre reduz o tempo de análise das duas espécies metálicas praticamente pela metade o que é bastante interessante quando se trata de determinações analíticas.

Os comprimidos 3 e 4, como o comprimido 2, possuem ferro e cobre em um meio onde existem diferentes sais minerais, vitaminas e aminoácidos. No comprimido 3 a concentração de Fe(III) é dez vezes maior que a concentração de cobre enquanto que no comprimido 4 a concentração de ferro é o dobro da concentração de cobre.

Quando determina-se simultaneamente Fe(III) e Cu(II) pela técnica de polarografia de pulso diferencial e a concentração de Fe(III) é superior à concentração de Cu(II) observa-se que é necessário o uso de amplitude de pulso de -50mV para a análise de ambos. O sinal polarográfico obtido para o Cu(II) nestas condições, utilizando amplitude de pulso -25 mV, é bastante impreciso impossibilitando a determinação simultânea. Na Figura 15 pode-se verificar as curvas polarográficas para o Cu(II) quando emprega-se amplitude de pulso de -25 mV e -50 mV.

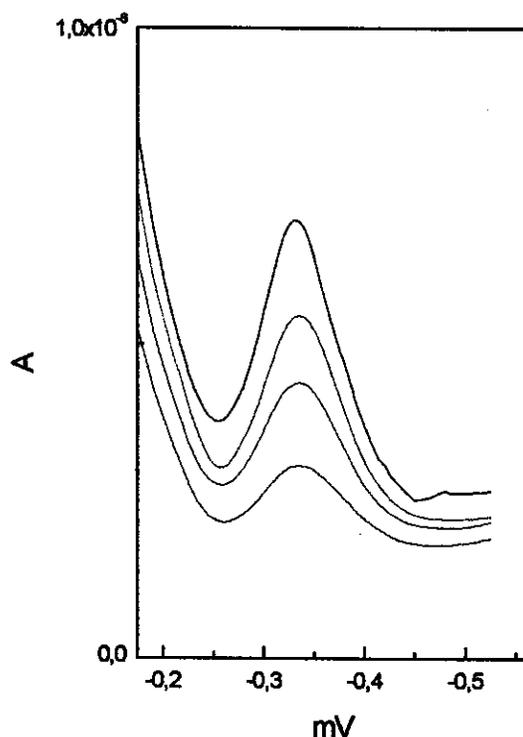


**Figura 15:** Curvas polarográficas para solução de Cu(II)  $0,009726 \text{ mol.L}^{-1}$  utilizando amplitude de pulso de (a) -50 mV e (b) -25 mV.

Análise do comprimido 3

**Figura 16:** Determinação de  $\text{Fe}_{\text{total}}$  e  $\text{Cu(II)}$  para o comprimido 3. 12,6 mg de  $\text{Fe}_{\text{total}}$  e 0,903 mg de  $\text{Cu(II)}$ (Tabela 20). Condições experimentais: amplitude de pulso de  $-50$  mV , duração do pulso 40 ms, velocidade de varredura 5 mV/s, corrente mínima 10nA e corrente máxima 1 mA, potencial inicial 60mV e potencial final  $-525$  mV.  $E_{p_{\text{Fe(III)}}} = -50$  mV,  $E_{p_{\text{Cu(II)}}} = -350$  mV.

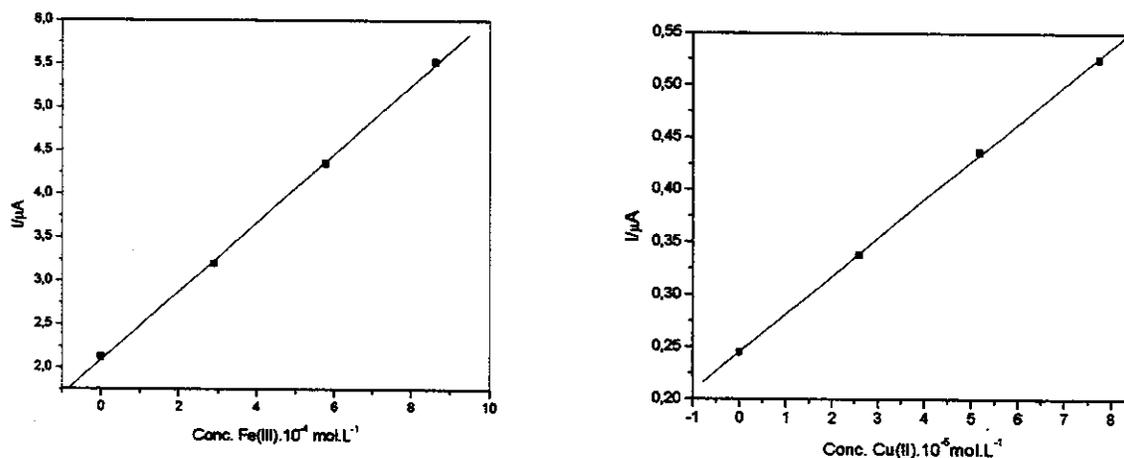
Para uma melhor visualização dos registros polarográficos do Cu(II) realizou-se uma ampliação dos polarogramas obtidos na região de Cu(II), dessa maneira pôde-se confirmar a possibilidade da determinação simultânea (Figura 17).



**Figura 17:** Ampliação na região de Cu(II). Condições experimentais: amplitude de pulso de  $-50$  mV, duração do pulso  $40$  ms, velocidade de varredura  $5$  mV/s, corrente mínima  $10$  nA e corrente máxima  $1$  mA,  $E_{p_{Cu(II)}} = -350$  mV.

**Tabela 20 :** Determinação polarográfica de Fe(III) e Cu(II) para o comprimido 3 pelo método de adição de padrão. Dados referentes à Figura 16.

[Fe(III)]. $10^{-4}$ mol.L $^{-1}$	$I_p(\mu A)$	[Cu(II)]. $10^{-5}$ mol.L $^{-1}$	$I_p(\mu A)$
0	2,120	0	0,245
2,89	3,199	2,60	0,338
5,77	4,347	5,18	0,436
8,63	5,525	7,75	0,525
mg de Fe(III)	12,6	mg de Cu(II)	0,906



**Figura 18:** Curva de adição de padrão para a determinação polarográfica de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  para o comprimido 3— dados referentes à Tabela 20 e à Figura 16.

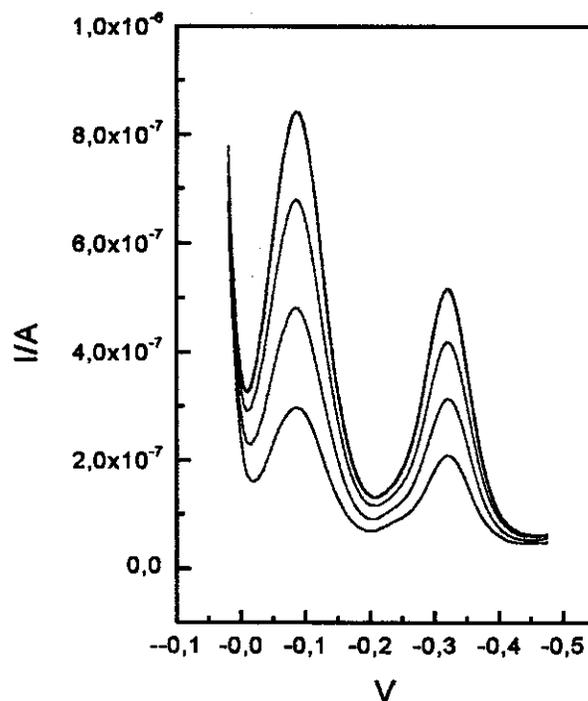
**Tabela 21:** Determinação polarográfica de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  para o comprimido 3 pelo método de adição de padrão (Det.). Valores obtidos por comprimido.  $n=5$

	Det.1	Det.2	Det.3	Det.4	Det.5
mg de $Fe(III)$	12,6	12,1	12,4	13,4	13,2
$R^*$	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999
mg De $Cu(II)$	0,903	0,855	0,934	0,807	0,823
$R^*$	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999

\* coeficiente de regressão linear obtido para a curva de adição de padrão

**Tabela 22:** Determinação polarográfica de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  para o comprimido 3 utilizando polarografia de pulso diferencial. Valores obtidos por comprimido.

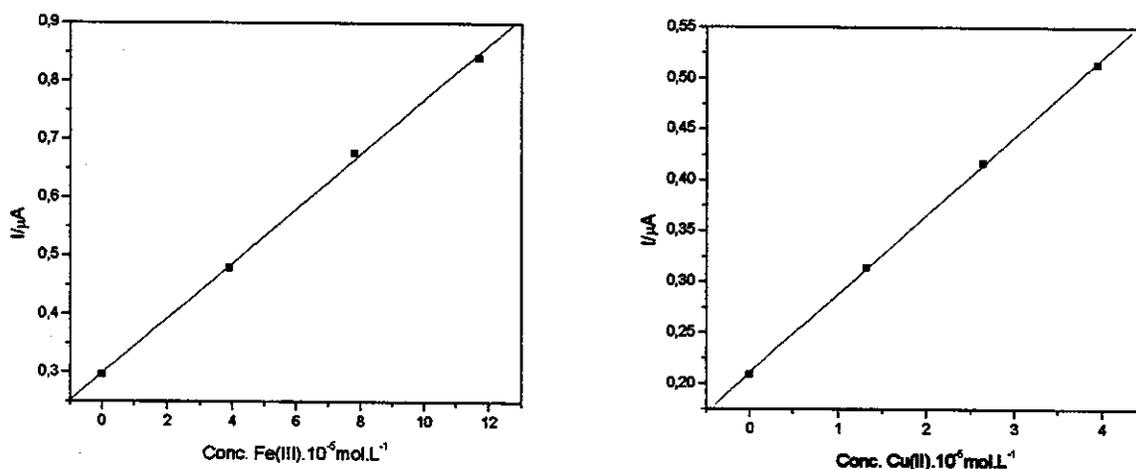
	mg na amostra	Valor Declarado(mg)	Diferença(%)
$Fe(III)$	$12,9 \pm 0,4$	10	29
$Cu(II)$	$0,871 \pm 0,064$	1	13

Análise do Comprimido 4

**Figura 19** : Determinação de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  para o comprimido 4. 3,69 mg de  $Fe_{total}$  e 1,58 mg de  $Cu(II)$  - dados referentes à Tabela 20 (Det. 2). Condições experimentais: amplitude de pulso de  $-50$  mV, duração do pulso 40 ms, velocidade de varredura 5 mV/s, corrente mínima 10 nA e corrente máxima 1 mA, potencial inicial 0 mV e potencial final  $-475$  mV.  $E_{pFe(III)}$   $-90$  mV,  $E_{pCu(II)}$   $-325$  mV.

**Tabela 23** : Determinação polarográfica de  $Fe(III)$  e  $Cu(II)$  para o comprimido 4 pelo método de adição de padrão.

$[Fe(III)].10^{-5}mol.L^{-1}$	$I_p(\mu A)$	$[Cu(II)].10^{-5}mol.L^{-1}$	$I_p(\mu A)$
0	0,297	0	0,209
3,92	0,480	1,32	0,314
7,81	0,677	2,64	0,417
11,68	0,841	3,96	0,514
mg de $Fe(III)$	3,69	mg de $Cu(II)$	1,58



**Figura 20:** Curva de adição de padrão para a determinação polarográfica de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  para o comprimido 4— dados referentes à Tabela 23 e à Figura 19.

**Tabela 24:** Determinação polarográfica de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  para o comprimido 4 pelo método de adição de padrão. (Det.). Valores obtidos por comprimido.  $n=5$

	Det.1	Det.2	Det.3	Det.4	Det.5
mg de Fe(III)	3,69	3,28	3,51	3,43	3,46
R*	0,999	0,998	0,999	0,999	0,999
mg de Cu(II)	1,58	1,50	1,58	1,58	1,70
R*	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999

\* coeficiente de regressão linear obtido para a curva de adição de padrão

**Tabela 25:** Determinação polarográfica de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  para o comprimido 4 utilizando polarografia de pulso diferencial. Valores obtidos por comprimido.

	mg na amostra	Valor declarado	Diferença
Fe(III)	3,47±0,18	4,0	13
Cu(II)	1,59±0,08	2,0	21

Os registros polarográficos para as duas determinações simultâneas de ferro e cobre são bastante nítidos. A separação entre os potenciais de pico do Fe(III) e do Cu(II) observados para estas duas determinações foi de 300 mV para o comprimido 3 e 235 mV para o comprimido 4. Em ambos os casos a separação é satisfatória para a realização da determinação simultânea. A validação do método realizada pelo teste de recuperação apresentou recuperação em torno de 101 % para o Fe(III) e 102 % para o Cu(II) para a análise do comprimido 3 (Tabela 26). Para a análise do comprimido 4 a recuperação apresentou valores em torno de 100 % para o Fe(III) e e 103 % para o Cu(II) (Tabela 27). Estes resultados permitem concluir que o método de adição de padrão está validado para esta análise.

**Tabela 26:** Teste de Recuperação para o método de adição de padrão na determinação polarográfica de  $Fe_{total}$  e Cu(II) para o comprimido 3.

$\mu\text{gFe(III)}$ adicionado	$\mu\text{gFe(III)}$ recuperado	% de Recuperação	$\mu\text{gCu(II)}$ adicionado	$\mu\text{gCu(II)}$ recuperado	% de Recuperação
30	30	100	2	2,1	105
60	63	105	4	4,1	103
90	95	105	6	6,3	105
120	114	95	8	7,7	96

**Tabela 27:** Teste de Recuperação para o método de adição de padrão na determinação polarográfica de  $Fe_{total}$  e Cu(II) para o comprimido 4.

$\mu\text{gFe(III)}$ adicionado	$\mu\text{gFe(III)}$ recuperado	% de Recuperação	$\mu\text{gCu(II)}$ adicionado	$\mu\text{gCu(II)}$ recuperado	% de Recuperação
3,5	3,4	97	1,5	1,5	100
7,0	6,8	97	3,0	3,1	103
10,5	10,8	103	4,5	4,7	104
14	14,5	104	6	6,5	105

### 3.3- Análise das concentrações de $Fe_{total}$ e $Cu(II)$ em comprimidos obtidas pelo método polarográfico

As quantidades de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  determinadas polarograficamente diferiam dos valores declarados nos rótulos das embalagens. Esta diferença observada foi comparada com a faixa de desvio permitida para os derivados de ferro e cobre que compõe os comprimidos analisados. Estes valores são listados na farmacopéia americana [79]. Os valores permitidos variam dentro de uma faixa de porcentagem relativa ao valor declarado no rótulo. Como os comprimidos analisados polarograficamente eram à base de  $FeSO_4$ ,  $CuSO_4$  e fumarato ferroso verificou-se a faixa permitida para estas espécies como pode ser verificado na Tabela 28.

**Tabela 28:** Faixa de desvio permitida para os derivados de ferro e cobre que compõe os comprimidos analisados polarograficamente.

componente	$FeSO_4$	$CuSO_4$	fumarato ferroso
Faixa de desvio permitida	86%-89%	98,5%-100,5%	97%-101%

Na Tabela 29 verifica-se a diferença obtida entre o método polarográfico e o valor declarado no rótulo para as análises de  $Fe_{total}$  e  $Cu(II)$  das soluções dos comprimidos 1a, 1b, 2, 3 e 4. A diferença é comparada com os valores listados pela farmacopéia onde verifica-se quais os comprimidos possuem concentrações superiores, inferiores ou dentro dos limites permitidos.

**Tabela 29:** Comparação entre os valores declarados no rótulo e os valores obtidos pelo método polarográfico para as determinações de Fe<sub>total</sub> e Cu(II) em comprimidos. Valores de comparação baseados na farmacopéia americana. (s) concentração superior às permitidas, (i) concentração inferior às permitidas, (p) concentração dentro dos limites permitidos.

Comprimido	Diferença*(Fe)	Diferença*(Cu)
1a	13% (s)	14%(i)
1b	9% (s)	16%(i)
2	13% (s)	3% (l)
3	29% (s)	13%(i)
4	13% (p)	21%(i)

\* obtida entre o método polarográfico e o valor declarado

Pelos resultados obtidos somente a concentração de ferro do comprimido 4 está dentro dos limites de concentração permitidos. A concentração de ferro determinada polarograficamente para os demais comprimidos está acima do permitido. Possivelmente este resultado é devido ao método ser desenvolvido para a análise de ferro total enquanto que os valores da farmacopéia são relativos à concentração de Fe(II). A concentração de cobre determinada pelo método polarográfico é inferior aos valores declarados no rótulo e conseqüentemente a concentração de cobre nos comprimidos são inferiores às verificadas na farmacopéia.

O uso destes comprimidos neste estudo foi devido às concentrações que possuíam de Fe(II) e Cu(II) que permitiam a aplicação do eletrólito de suporte à base de EDTA e citrato na determinação destes metais individualmente e simultaneamente.

## **CONCLUSÃO**

A dificuldade na determinação polarográfica/voltamétrica de ferro está no fato do potencial de pico, deste metal sofrer sobreposição de potenciais de pico de outras espécies inclusive do Cu(II). Esta dificuldade pode ser eliminada com a adição de complexantes que promovem o deslocamento dos potenciais de pico eliminando interferências. O uso de citrato na determinação de ferro vem se mostrando adequado para a determinação deste metal, no entanto não elimina a interferência do Cu(II) sobre este íon. A adição de EDTA, que atua como complexante, vem eliminar a interferência da sobreposição do potencial de pico do Cu(II) sobre o Fe(III). O eletrólito de suporte ácido cítrico  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KNO}_3$   $0,50 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; EDTA  $0,050 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 5, permite a determinação polarográfica de Fe(III) e Cu(II) eliminando a interferência entre estas espécies e permitindo que se obtenha curvas polarográficas bastante nítidas.

Verificou-se que o controle do pH do eletrólito é um fator importante neste estudo uma vez que está associado ao deslocamento do potencial de pico do Cu(II). A corrente anódica devido a oxidação do mercúrio que se sobrepõe ao sinal polarográfico do Fe(III) pode ser controlada em função do pH do meio permitindo que se obtenha curvas polarográficas definidas.

Os limites de determinação encontrados para estas espécies metálicas neste meio foi de  $5,3\cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  para o Cu(II) e  $1,9\cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  para o Fe(III). O limite de determinação obtido para o ferro neste meio é superior aos limites de determinação obtidos para outros métodos polarográficos desenvolvidos para a análise de ferro na presença do cobre.

Este eletrólito foi utilizado na determinação desses íons em amostras reais: determinação de Fe(III) em latão e determinação de Cu(II) e  $\text{Fe}_{\text{total}}$  em fármacos, utilizando a polarografia de pulso diferencial como a técnica de análise. No latão foi analisado somente o Fe(III) e os resultados obtidos concordaram com a determinação realizada pela técnica de absorção atômica além do teste de recuperação apresentar recuperação apreciável permitindo o uso desta metodologia para a determinação desta espécie nesta matriz.

Neste trabalho a abertura das amostras de comprimidos foi realizada em HCl concentrado. Através do estudo realizado no eletrólito de suporte desenvolvido

obteve-se excelente separação dos registros polarográficos de ambas espécies, livre de interferências, permitindo determinar suas concentrações e a validação do método apresentou valores de recuperação que expressam a aplicabilidade do método nestas análises.

Além disso foi possível realizar a determinação simultânea destes íons em duas amostras de comprimido obtendo-se resultados excelentes.

Tendo em vista o estudo realizado pôde-se verificar que o eletrólito permite a determinação de quantidades baixas de Fe(III) em presença do Cu(II) além da determinação destes íons em soluções complexas como as soluções das amostras de comprimidos. Os resultados obtidos para o teste de recuperação para o método analítico desenvolvido permite concluir que o método está válido.

A técnica polarográfica desenvolvida mostrou-se bastante eficaz neste estudo podendo ser amplamente aplicada nas determinações destas espécies tanto no setor de pesquisa como no setor industrial.

Uma aplicabilidade interessante deste eletrólito é na determinação destes íons em amostras de natureza orgânica como vegetais, sangue, tecidos de animais, dentre outras amostras que possam conter estes dois íons simultaneamente. Além disso há a perspectiva de se desenvolver métodos usando-se voltametria de redissolução (principalmente adsortiva) para determinar-se esses metais em matrizes onde suas concentrações forem mais baixas que o limite de determinação obtido para a técnica de polarografia de pulso diferencial.

## ***BIBLIOGRAFIA***

- 1- Kolthoff, I.M.; Lingane, J. J.; *Polarography*, vol. I and vol. II, 2<sup>a</sup> edition, Interscience Publishers, New York, 1965.
- 2- Hohn, H., "Die Polarographische analyse des messings", *Elektrochem.* **1937**, 43, 127-139.
- 3- Mnich, E., "Über die polarographische analyse des messings", *Elektrochem.* **1938**, 44, 132-134.
- 4- Souchay, P.; Faucherre, J.; " Dosage du fer en présence d'un excès de cuivre ou d'autres métaux", *Anal. Chim. Acta* **1949**, 3, 259.
- 5- Bond. A.M.; *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*, Marcel Dekker , INC., New York, 1980.
- 6 - Bond, A. M.; Pfund, B.V.; "Polarographic determination of total iron, iron(II) and iron(III) in zinc plant electrolyte", *Anal. Chim. Acta* **1993**, 277, 145.
- 7- Aleixo, L.; Sitton, M.; Ribeiro, F.A.L.; "Estudo polarográfico sobre a determinação de Fe(III) utilizando-se a técnica da polarografia de pulso diferencial", *Química Nova*, **2001**, 26(6), 790-794.
- 8 - Skoog, D.A.; West, D.M.; Holler, J.F., *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 6<sup>th</sup> edition, Saunders College Publishing, Philadelphia, 1992.
- 9- Skoog, D.A.; Leary, J.J.; *Principles os Instrumental Analysis*, 4<sup>th</sup> edition, Saunders College Publ., Philadelphia ,1992.
- 10- Kolthoff, I.M.; Auerbach, C.; "Studies on the system iron-ethylenediamine tetraacetate", *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 1452.

- 11- Fisher, R.B.; Peters, D.G.; *Chemical Equilibrium*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1970.
- 12- Skoog, D.A.; West, D.M.; Holler, F.J.; *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 6<sup>th</sup> edition, Saunders College Publishing, Philadelphia, 1992.
- 13 - Bril, K; Krumholz, P., " The polarographic reduction of copper ethilenediamine tetraacetate", *J. Phys. Chem.* **1954**, 58(4), 339-344.
- 14 - Srinivasan, K.; Subrahmanya, R.S., "Polarographic and redox potencial studies on copper(I) and copper(II) and their complexes", *J. Eletroanal. Chem.* **1971**, 31(1), 257-263.
- 15 - Hamm, R.E.; Shull, C.M.; Grant, D.M., "Citrate complexes with iron(II) and iron(III)", *J.Am.Chem.Soc.* **1954**, 76(8), 2111-2114.
- 16-Guenther, W.B.; *Chemical Equilibrium*, Plenum Press, New York, 1975.
- 17 - Prasad, R., "Determination of citrate as its iron(III) complex by differential pulse polarography", *Analyst* **1977**, 102(1217), 601-606.
- 18 - Field, T.B.; McCourt, J.L.; McBryde, W.A.E., "Composition and stability of iron and copper citrate complexes in aqueous solution", *Can.J.Chem.* **1974**, 3119-3124.
- 19- Yatsimirskii, K.B.; Vasil'ev, V.P.; *Instability constants of complex compounds*, Consultants Bureau, New York, 1960.
- 20- Lingane, J.J.; "Polarographic investigation of oxalate, citrate and tartrate complexes of ferric and ferrous iron", *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68, 2448.

- 21- Kabata, A.; Pendias, Henryk; *Trace Elements in soils and plants*, CRC Press, Inc., Florida.
- 22 - Parish, R.V., *The metallic elements*, Longman, London, 1977.
- 23-Goodman&Gilman's, *The pharmacological basis of therapeutics*, 9<sup>th</sup> edition, Mc Graw-Hill, New York, 1996.
- 24- Voet, D., Voet, J., *Biochemistry*, 2<sup>nd</sup> Ed., John Wiley & Sons, Inc, London, 1995.
- 25- Sweileh, J.A., "On-line flow injection solid sample introduction digestion and analysis: spectrophotometric and atomic absorption determination of iron, copper and zinc in multi-vitamin tablets", *Microchem. J.* **2000**, 65(1), 85-95.
- 26-Toral, M.I.; Ritchter, P.; Rodriguez, C., "Simultaneous determination of copper and iron by second derivative spectrophotometry using mixtures of ligands", *Talanta* **1997**, 45(1), 147-153.
- 27- Coulomb, B.; Theraulaz, F.; Cerda, V.; Thomaz, O., "Fast and simultaneous complexometric determination of copper(II), iron (II) and mercury(II) in natural waters and effluents using a robust UV-visible spectral deconvolution", *Quimica Analitica* **1999**, 18(3), 255-262.
- 28- Anzano, J.M.; Gonzalez, P., "Determination of iron and copper in peanuts by flame atomic absorption spectrometry using acid digestion", *Microchem. J.* **2000**, 64(2), 141-145.
- 29- Alves, F.L.; Smichowski, P.; Farias, S.; Arruda, M.A.Z., "Direct analysis of Antarctic krill by slurry sampling: determination of copper, iron, manganese and zinc by flame atomic absorption spectrometry", *J. Braz. Chem. Soc.* **2000**, 11(4), 365-370.

- 30-Reddy, V.K.; Reddy, S.M.; Reddy, P.R.; Reddy, T.S., "Simultaneous spectrophotometric determination of copper (II), vanadium(V), and iron (III) using 2-hidroxy-1naphthaldehyde benzoylhydrazone", *J. Anal. Chem.* **2000**, 55(5), 435-439.
- 31- Khuhawar, M.Y.; Lanjwani, S.N., "Simultaneous high performance liquid chromatographic determination of vanadium, nickel, iron and copper in crude petroleum oils using bis(acetylpyvalymethane)ethylenediimine as a complexing reagent", *Talanta* **1996**, 43(5), 767-770.
- 32- Lanjwani, S.N.; Mahar, K.P.; Channer, A.H., "Simultaneous determination of cobalt, copper, iron and vanadium in crude petroleum oils by HPLC", *Chromatographia* **1996**, 43(7-8), 431-432.
- 33- Erdey, L.; *Gravimetric Analysis*, Pergamon Press, Oxford, 1965.
- 34- Schwarzenbach, G; Flaschka, H.; *Complexometric Titrations*, 2<sup>a</sup> edition, Mathen&Co, London, 1969.
- 35 - Wagner, W.; Hull, J.C.; *Inorganic Titrimetrics Analysis*, Marcel Dekker, INC., New York, 1971.
- 36- Baccan,N.; Andrade, J.C.; Godinho, O.E.S.; Barone, J.S.; *Química Analítica Quantitativa Elementar*, 2<sup>a</sup> edição, Ed. Edgard Blucher, São Paulo, 1985.
- 37- Sandell, E.B.; Onishi, H.; *Colorimetric Determination of Traces os Metals*, 4<sup>th</sup> edition, Interscience Pub., New York, 1978.
- 38 - Herdrige, J.B.; *Photometric Tritations*, Pergamon Press, Oxford, 1961.
- 39- Price, W.J.; *Spectrochemical Analysis by Atomic Absortion*, Heyden, London, 1979.

- 40 - Elwell, W.T.; Gidley, J.A.F., *Atomic-Absorption Spectrophotometry*, 2ª edition, Pergamon Press, Oxford, 1967.
- 41 - Serjeant, E.P.; *Potentiometry and Potentiometric Titrations*, Wiley, New York, 1984.
- 42- Miner, G.W.C.; Philips, D.; *Coulometric in Analytical Chemistry*, Pergamon Press, London, 1967.
- 43- Peters, D.G.; Hayes, J.M.; Hieftje, G.M., *Chemical Separations and Measurements*, Saunders Golden Series, Philadelphia, 1974.
- 44- Kolthoff, I.M.; Stenger, V.<sup>a</sup>; *Volumetric Analysis*, Vol.II, 2ª edition, Interscience Publishers, Inc, New York, 1964.
- 45- Pribil, R.; *Analytical Applications of EDTA and Related Compounds*, Pergamon Press, Oxford, 1972.
- 46- Snell, F.D.; Snell, C.T.; Snell, C.A.; *Colorimetric Methods of Analysis*, Vol. II A, D. Van Nostrand Company, Inc, New York, 1959.
- 47- Kirkbright, G.F.; Sargent, M.; *Atomic Absorption and Fluorescence Spectroscopy*, Academic Press, London, 1974.
- 48- Vogel, *Análise Inorgânica Quantitativa*, 4ª edição, Guanabara Dois, Rio de Janeiro, 1981.
- 49- Stock, J.T.; *Amperometric Titrations*, Interscience Publishers, New York, 1965.
- 50- Giolito, I.; *Métodos eletrométricos e eletroanalíticos*, 2ª edição, Multitec, São Paulo, 1980.

51- Bond, A.M.; "200 years of practical electroanalytical chemistry: past, present and future directions illustrated by reference to the on-line, on stream and off-line determination of trace metals in zinc plant electrolyte by voltammetric and potentiometric techniques", *Anal. Chim. Acta* **1999**, 400, 333-379.

52 - Abdullah, M.I.; Royle, L.G., "The determination of copper, lead, cadmium, nickel, zinc and cobalt in natural waters by pulse polarography", *Anal. Chim. Acta* **1972**, 58, 283-288.

53- Ritcher P.; Toral M.I.; Jaque P.; "Flow injection method for preconcentration and polarographic determination of copper in water"; *Electroanalysis* **2000**, 12(5), 390-393.

54-Carrera, M.E.; Momberg, A.; Toral, M.I.; Richter, P.; "Polarographic determination of copper after enrichment by adsorption of the 2,2'-biquinoline complex on activated carbon", *Analytical Letters* **1991**, 24(1), 83-92.

55 - Nagaosa, Y.; Menjyo, T.; Bond, A.M., "Differential-pulse polarographic determination of copper and iron in biological and river-water samples as their *n*-phenylbenzohydroxamic acid complexes by as-stirred solvent extraction with ethyl acetate", *Analyst* **1991**, 116, 257-260.

56 - Paolo, B.; Caselli, M.; Di Fano, A.; Fragale, C.; "Simultaneous Determination of copper, lead and zinc in wine by differential-pulse polarography", *Analyst* **1978**, 103, 868-871.

57 - McDonnell, D.B., "Simultaneous determination of copper, lead, cadmium and zinc in non-ferrous smelter products by differential-pulse polarography", *Analyst* **1981**, 108, 790-793.

- 58- Hernández, L.; Zapardiel, A.; Pérez-López, J.A.; Bermejo, E., "Study of iron and titanium complexes with propylenediaminetetraacetic acid by differential pulse polarography", *Anal. Chim. Acta* **1987**, 198, 239-244.
- 59- Alvarez, J.M.; Garcia, M. J.; Costa, A.; Tuñón, P., "Comportamiento polarografico de las disoluciones alcalinas de Fe(III). Determinacion por polarografia diferencial de impulsos (d.p.p.) de trazas de Fe en lentejas de KOH", *Anales de Quimica* **1988**, 84, 104-108.
- 60- Ismail, M.I., "Application of surface-active substances in polarographic determination of Hg(II), V(V), Fe(III), AS(III), Sb(III), and Ti(IV) in presence of U(VI)", *Bull. Chem.Soc.Jpn.* **1990**, 63, 3653-3657.
- 61- Peramaki, P.; Kumpumaki, M.; Valimaki, I.; Heikkinen, R.; "Preliminary studies of iron speciation ( $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{3+}$ ) in peat samples using polarography", *Analytical Sciences* **2000**, 16(7), 751-756.
- 62- Visalakshi, G.; Narasimham, S.V.; Venkateswarlu, K.S.; "Polarographic determination of iron(II) and iron(III) complexes with EDTA", *Anal. Chim. Acta* **1988**, 212, 335.
- 63- Beyer, E.; Bond, A.M.; McLaughlin, L.W., "Simultaneous polarographic determination of ferrous, ferric, and total iron in standard rocks", *Anal. Chem.* **1975**, 47, 479-482.
- 64 - Kennedy, C.D., "Determination of iron(III)-iron(II) mixtures by differential-pulse polarography in solutions containing ammonium-tartrate and a good buffer", *Analyst* **1990**, 115, 1067-1071.

65 - Diaz, M.E.V.; Sanches, J.C.J.; Mochón, M.C.; Perez, A.G.P., "Differential-pulse polarographic determination of iron in acids, waters, fruit juices and wines", *Analyst* **1994**, 119, 1571-1574.

66- Lakhani, R.; Joshi, A.P.; "Trace determination of Iron (III) by differential pulse polarography", *Indian Journal of Chemistry* **1989**, 28, 86-87.

67- Qiu, J.; Song, J.; Gao, H.; "Direct determination of iron in ferritin using the polarographic catalytic current", *Fresenius J. Anal. Chem.* **1996**, 356, 101-103.

67-Trace Master 5 and Pol 150 Polarographic Analyser, *User's Manual*, Radiometer Copenhagen, 1997-pg 32.

68- Baccan, N.; Aleixo, L.M.; Stein, E.; Godinho, O.E.S.; *Introdução à Semimicroanálise Qualitativa*, 3ª edição, Editora da Unicamp, Campinas, 1990.

69 - Wang, J.; *Stripping Analysis - Principles, Instrumentation and Applications*, VCH Publishers, Deerfield Beach, 1985.

70 - Riley, T.; Watson, A.; *Polarography and other Voltammetric Methods*, John Wiley & Sons, London, 1987.

71 - Miller, J.C.; Miller J.N., *Statistics for Analytical Chemistry*, 3ª edition, Ellis Horwood PTR PrenticeHall, Chichester, 1993.

72 - Leite, F., *Validação em Análise Química*, Editora Átomo, Campinas, 1996.

73 - Neto, B.B.; Scarminio, I.S.; Bruns, R.E., *Planejamento e Otimização de Experimentos*, 2ª edição, Editora da Unicamp, Campinas, 1995.

- 74 - Yun, J.; Choi, H.; "Micellar colorimetric determination of iron, cobalt, nickel and copper using 1-nitroso-2-naphthol" , *Talanta* **2000**, 52(5), 893-902 .
- 75 - Desai, M.J.; Desai, K.K., "Spectrophotometric determination of copper(II) and iron(III)with 2,4-dihydroxy-5-bromo acetophenone thiosemicarbazone", *Asian J. Chem.* **1999**, 11(4), 1313-1316.
- 76 - Ivaska, A.; Lewenstam, A.; Sara, R.; *Contemporary eletroanalytical Chemistry*, Plenum Press, New York, 1988.
- 77 - Teixeira, M.F.S.; Aniceto, C.; Fatibello-Filho, O., "Ion-Selective Electrode for the determination of iron(III) in vitamin formulations", *J.Braz.Chem.Soc.* **1998**, 9(5), 506-510.
- 78- Feng, M.; Yang, Y.L.; He, P.G.; et al., "Spectroscopy studies of copper(II) and iron(II) complexes of adriamycin", *Spectrochim. Acta Part A* **2000**, 53(3), 581-587.
- 79-*The United States Pharmacopeia*, Twenty-first revision, United States Pharmacopeial Convention, Inc, Rockville, 1985.