

"Este exemplar corresponde a redação final da Tese defendida por Renato Cesar Pereira e Aprovado pela Comissão Julgadora."
Campinas, 10 de Janeiro de 1988.

Graciliano de Oliveira Neto

Graciliano de Oliveira Neto

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

Orientador: Prof. Dr. Graciliano de Oliveira Neto

"CONSTRUÇÃO, AVALIAÇÃO E APLICAÇÃO ANALÍTICA DE
ELETRODOS SELETIVOS SENSÍVEIS A SALICILATO"

- Renato Cesar Pereira -

Tese de Mestrado

Campinas - 1987

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

"Os povos sem ciência e sem tecnologia são destinados a cortar lenha e carregar água para os mais adiantados."

E. Rutherford

Dedico:

*Aos meus pais, Eugênio e Eunice,
por tudo que fizeram e representam
e aos meus irmãos, Lígia, Paula,
Fernando e Cesar, pelo estímulo e
apoio ao longo desta caminhada.*

*À Rose Meire, pelo incentivo, apoio
e compreensão em todos os momentos.*

*Ao Prof. Dr. Graciliano de Oliveira Neto,
orientador e amigo, dedicado e prestimoso,
minha profunda gratidão.*

AGRADECIMENTOS

Aos Profs. Drs. Osvaldo E.S. Godinho, Luiz Manoel Aleixo e Wilson F. Jardim pelo apoio e amizade.

A Profa. Dra. Inés Joekes, pelas sugestões apresentadas.

A Profa. Dra. Maria Ines Rocha Miritello Santoro e a sua orientada Maria Palmira Daflon Gremião da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, pelas sugestões e troca de informações.

A colega Sílvia Helena Pires Serrano do IQ-USP, por sua colaboração.

Ao Instituto de Química da UNICAMP, pela oportunidade concedida.

Ao CNPq e a CAPES, pelo apoio financeiro, sem o qual seria impossível a realização deste trabalho.

A FAPESP, pelo auxílio recebido.

A toda a turma do laboratório: Marquinho, Jarbas, Bil, Tuca, Luca, Jorge, Ivo, Márcia e Valdinete, pela amizade, força e lealdade.

Ao Paulo Sérgio de Souza, pelos ensinamentos do redator de texto.

Aos colegas e funcionários do Instituto de Química da UNICAMP, pelo auxílio e cooperação.

Aos membros da Comissão Examinadora deste trabalho, de quem aguardo críticas e sugestões.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	<i>página</i>
RESUMO.....	1
SUMMARY.....	11
CAPÍTULO I: APRESENTAÇÃO E OBJETIVOS.....	01
CAPÍTULO II: POTENCIOMETRIA COM ELETRODOS ION-SELETIVOS	
1. Generalidades.....	03
2. Terminologia.....	04
3. Histórico.....	08
4. Potenciais de Junção Líquida.....	10
5. Classificação dos Eletrodos Ion-Seletivos.....	12
5.1 Eletrodos de Vidro.....	13
5.2 Eletrodos Baseados em Sais Inorgânicos.....	15
5.3 Eletrodos Baseados em Trocadores Iônicos e Suportes Neutros.....	17
5.4 Eletrodos Sensores de Gases.....	19
5.5 Miscelânea.....	19
6. Células Eletroquímicas e Eletrodos de Referência.....	22
7. Atividade e Coeficiente de Atividade.....	26
8. Seletividade e Coeficiente de Seletividade.....	29
9. Técnicas Analíticas e Aplicações.....	33
9.1 Método Direto.....	34
9.2 Adição de Padrão.....	35
9.3 Método de Gran.....	36
9.4 Titulação Potenciométrica.....	38

CAPÍTULO III: DETERMINAÇÃO DE SALICILATO

1. Introdução.....	40
2. Métodos Existentes.....	41
3. Eletrodos Seletivos Sensíveis a Salicilato.....	41

CAPÍTULO IV: ELETRODOS DE MEMBRANA DE PVC SENSÍVEIS A SALICILATO

1. Preparação do Trocador Iônico.....	45
2. Construção dos Eletrodos.....	45
2.1 Propriedades da Membrana.....	49
2.2 Propriedades dos Solventes.....	49
2.3 Sistema de Referência Interna nos Eletrodos.....	50
3. Avaliação dos Eletrodos.....	50
3.1 Estudo da Influência do pH na Resposta do Eletrodo.....	50
3.2 Procedimento Analítico.....	51
4. Discussão dos Resultados.....	53

CAPÍTULO V: ELETRODO SELETIVO SENSÍVEL A SALICILATO

COM SUPORTE VIDRO CONDUTOR

1. Introdução.....	55
2. Preparação, Construção e Características do Eletrodo.....	56
3. Avaliação do Eletrodo.....	58
3.1 Resultados e Discussão.....	58
3.1.1 Propriedades da Membrana e do Vidro Condutor.....	58
3.1.2 Célula Eletroquímica.....	59
3.1.3 Influência de Ions Hidrogênio na Resposta do Eletrodo.....	60
3.1.4 Curva de Calibração.....	60
3.1.5 Seletividade do Eletrodo.....	63

CAPÍTULO VI: APLICAÇÃO ANALÍTICA

1. Método Potenciométrico..... 67
2. Método Oficial..... 68
3. Resultados e discussão..... 68

CAPÍTULO VII: DISCUSSÃO GERAL..... 70

CAPÍTULO VIII: PARTE EXPERIMENTAL

1. Instrumental Analítico..... 72
2. Padronização de Soluções..... 72
2.1 Padronização de Hidróxido de Sódio..... 72
2.2 Padronização de Ácido Sulfúrico..... 72
3. Reagentes e Soluções..... 73

REFERÊNCIAS 75

TABELAS

	<i>página</i>
1	
Avaliação dos eletrodos seletivos sensíveis a salicilato.....	43
2	
Inclinação e limites de detecção de eletrodos de membrana de PVC construídos.....	52
3	
Coeficientes de seletividade potenciométrico para vários ânions obtidos com o EVC.....	65
4	
Resultados obtidos com o EVC na aplicação analítica em amostras reais de aspirina.....	69

FIGURAS

	<i>página</i>
1	Curva de calibração típica (IUPAC)..... 07
2A	Eletrodo de vidro..... 14
2B	Eletrodo baseado em sal inorgânico..... 16
2C	Eletrodo de membrana líquida..... 21
2D	Eletrodo sensor de gás..... 21
3A	Obtenção e corte das membranas..... 46
3B	Montagem dos eletrodos..... 47
4	Estrutura dos sais de tetraquilamônio..... 53
5	Membrana depositada sobre a superfície do vidro condutor..... 57
6	Ilustração da célula eletroquímica..... 59
7A	Curva de calibração com EVC..... 61
7B	Curva de calibração com EVC..... 62
8	Curva de calibração utilizada para obtenção dos valores do coeficiente de seletividade..... 64

RESUMO

A técnica de construção de eletrodos seletivos desenvolvida por Moody e Thomas, que utiliza membrana de PVC incluindo o material ativo, proporciona uma excelente alternativa ao emprego de "membrana líquida". A eliminação da referência interna, como no caso dos microeletrodos desenvolvidos por Freiser e colaboradores, facilitou e barateou ainda mais a construção desses sensores.

Uma vez que a maioria dos produtos farmacêuticos exibe características ácidas ou básicas, ou formam complexos metálicos, seria natural que os eletrodos ionoseletivos se tornassem ferramentas analíticas importantes no campo da análise de fármacos.

No Brasil, entretanto, esta técnica é pouco divulgada e a Farmacopéia Brasileira carece de procedimentos padronizados rápidos, que utilizem eletrodos seletivos.

Tendo em vista estas considerações, desenvolveu-se este trabalho que se situa dentro de uma linha de pesquisa ampla, que procura o desenvolvimento e aplicação de sensores seletivos a espécies orgânicas e inorgânicas, de fácil construção e baixo custo. Assim, foram construídos e avaliados eletrodos seletivos sensíveis a salicilato.

SUMMARY

In recent years there have been spectacular developments in ion-selective electrodes and tremendous growth of their application.

Considerable interest is now focused in sensor membrane electrodes based upon a general application of ion-exchange barrier materials. It is useful to confine the ion-exchanger within a matrix of more favorable mechanical and physical characteristics such as poly(vinyl chloride) (PVC).

Since the vast majority of pharmaceutical compounds exhibit either acidic or basic characteristics, or can form metal complexes, it is apparent that ion-selective electrodes have become important analytical tools in the field of pharmaceutical analysis. However, in the Brazilian chemical laboratories the wide range of applicability of such electrodes is not so popular.

With these considerations in mind a investigation has been undertaken to study the preparation and assessment for salicylate-ion response and selectivity of a PVC membrane incorporating, as ion-exchanger, Aliquat 3365 (tricaprylmethylammonium chloride) dissolved in dibutylphthalate.

CAPÍTULO I

APRESENTAÇÃO E OBJETIVOS

Uma vez que a maioria dos produtos farmacêuticos exhibe características ácidas ou básicas, ou formam complexos metálicos, seria natural que os eletrodos íon-seletivos se tornassem ferramentas analíticas importantes no campo da análise farmacêutica.

Neste aspecto, quando um eletrodo íon-seletivo mostra-se adequado para a determinação de um composto farmacêutico, procura-se geralmente utilizá-lo na determinação desse composto, em misturas, com ou sem etapa de separação.

No Brasil, entretanto, esta técnica é pouco divulgada, e a Farmacopéia Brasileira carece de procedimentos padronizados rápidos que utilizem eletrodos seletivos.

O ácido salicílico, na forma de seu sal sódico, começou a ser utilizado em medicina para o tratamento do reumatismo a partir de 1894³. Entretanto, o salicilato de sódio apresentava efeitos colaterais indesejáveis, particularmente com relação a distúrbios gástricos. Assim, houve a necessidade de se conseguir um derivado seu, isento destas desvantagens.

Dentre os derivados do ácido salicílico, o mais importante e conhecido é o ácido acetilsalicílico, que resultou da substituição da hidroxila fenólica pelo radical acetila.

A primeira síntese do ácido acetilsalicílico é atribuída a Gerhardt, em 1853, que o obteve pela reação do cloreto de acetila com

ácido salicílico. Em 1897, Hoffman, dos laboratórios da Bayer, preparou este composto que em 1898 foi estudado farmacologicamente por Dreser e clinicamente por Wohlgemuth e Withhauer, documentando suas propriedades antireumáticas, antipiréticas e analgésicas, livre dos efeitos colaterais indesejáveis do ácido salicílico. No ano seguinte, o produto foi lançado no comércio sob o nome patentado de Aspirina⁴. No campo da química farmacêutica, é um dos compostos sintéticos que maior êxito obteve. Seu consumo atual é superior a cem mil toneladas por ano⁵. Existem no país algumas centenas de especialidades farmacêuticas contendo o ácido acetilsalicílico isolado ou associado a outros fármacos⁶⁻⁸.

Altas doses de aspirina para doenças inflamatórias, tais como a artrite reumatóide, requerem controle e cuidadosa monitoração do nível de salicilato no soro sanguíneo, porque os níveis terapêuticos efetivos estão muito perto da dose de intoxicação.

A toxicidade da aspirina é proporcional à quantidade da droga que é ingerida². Graves sintomas podem ser observados quando doses superiores a 300 mg por Kg do peso do indivíduo são ingeridas.

O presente trabalho situa-se dentro de uma linha de pesquisa ampla, que procura o desenvolvimento e aplicação de sensores seletivos a espécies orgânicas e inorgânicas, de fácil construção e baixo custo.

Tendo em vista essas considerações e prosseguindo trabalhos iniciais¹⁻², estudou-se a construção de eletrodos seletivos sensíveis a salicilato, bem como sua aplicação.

CAPÍTULO II

POTENCIOMETRIA COM ELETRODOS ION-SELETIVOS

Como esta tese é a primeira no Instituto de Química a abordar este campo da potenciometria, julgou-se conveniente esclarecer certos termos e parâmetros importantes.

11.1

GENERALIDADES

Desde o final do século XIX, quando a determinação da atividade de íons metálicos e hidrogênio era feita por medidas de potencial em células galvânicas, os métodos potenciométricos vêm sendo utilizados em muitos ramos da química de soluções.

Até 1960 a maioria dos íons determinados potenciometricamente eram detectados ou por eletrodos inertes, como nos sistemas redox, ou por eletrodos de 1a., 2a. ou 3a. classe¹², dependendo do número de fases separadas e em contato com a solução que está em equilíbrio. A maior exceção a esses tipos de eletrodos foi a determinação de íons hidrogênio por eletrodos de membrana de vidro¹³.

No início dos anos 60, surge na Hungria¹⁴, o primeiro eletrodo de membrana não vítrea. A partir de então, foram desenvolvidos eletrodos altamente seletivos, feitos de materiais cristalinos e capazes de medir espécies iônicas inorgânicas.

A partir do final da década de 60, com a introdução dos eletrodos de membrana líquida baseados em trocadores iônicos, surgiu uma grande variedade de eletrodos seletivos sensíveis a aproximadamente vinte espécies iônicas.

Uma abordagem compreensiva do desenvolvimento e aplicações de eletrodos é apresentada, atualmente, em vários artigos de revisão^{15,16} e em livros¹⁷⁻¹⁹.

11.2

TERMINOLOGIA²⁰

Eletrodos ion-seletivos --- podem ser definidos como sensores eletroquímicos que respondem a atividades iônicas, de acordo com a Equação de Nernst: $E = E^0 \pm RT/zF \ln a_x$. Onde:

E^0 é o potencial padrão da célula;

a_x , a atividade do íon x que se quer analisar;

z , o número de cargas sobre x;

O sinal na equação é positivo quando x é um cátion e negativo quando um ânion.

R , a constante dos gases;

T , a temperatura absoluta e

F , a constante de Faraday.

Deve-se salientar que tornou-se comum referir-se à resposta de um eletrodo como nernstiana, sempre que o potencial do eletrodo seja proporcional ao logaritmo da atividade do íon em questão ($\ln a_x$), mesmo quando o valor da constante de proporcionalidade não seja exatamente $2,303 RT/zF$. Para $z=1$, $2,303 RT/zF$ é igual a 59,0 mV a 25°C, mas va-

lores abaixo (até 55,0 mV) são frequentemente referidos como nernstianos, embora isto estritamente seja incorreto. O termo **subnernstiano** é usado para descrever respostas de eletrodos quando o potencial é proporcional ao $\ln a_x$ mas a constante de proporcionalidade é menor do que 55,0 mV.

Os termos "eletrodo íon-específico" ou "eletrodo específico a íon", são incorretos, uma vez que eles implicam no fato de o eletrodo responder somente a um íon, o que nunca é verdade.

Outros termos, tal como "eletrodo de membrana íon-seletivo", não dão nenhuma informação adicional, visto que todo eletrodo íon-seletivo tem membrana.

Íon primário - íon para o qual o eletrodo foi construído; por exemplo, o íon sódio é o íon primário monitorado por um eletrodo de sódio. Isto necessariamente não implica que o eletrodo seja mais sensível ao íon primário, uma vez que quase todos eletrodos de sódio respondem a hidrogênio e íons prata mais fortemente do que a íons sódio.

Determinando - espécie a ser determinada numa análise. Nos métodos potenciométricos diretos o determinando é quase sempre o íon primário, mas isto não se aplica, necessariamente, aos métodos indiretos, tais como os que envolvem titulações potenciométricas.

Tempo de resposta - é definido como o tempo em que o eletrodo leva, quando ocorre uma mudança instantânea na atividade do determinando, para variar em 1 mV a partir do potencial final de equilíbrio. Esse tempo de resposta depende das condições experimentais; para um dado

valor ser útil é essencial conhecer as atividades inicial e final do determinando, velocidade de agitação e a maneira pela qual a atividade foi alterada.

Interferente - é definido como qualquer espécie, que não o íon primário, para a qual o eletrodo responde. A presença de concentração significativa de interferente tem como consequência uma concentração aparentemente alta do íon primário.

Coefficiente de seletividade - o coeficiente de seletividade potenciométrico ($K_{A,B}^{POT}$) é uma medida da seletividade de um eletrodo para o íon primário A, geralmente o determinando, na presença do interferente B.

Quanto menor o valor de $K_{A,B}^{POT}$ mais seletivo será o eletrodo para A na presença de B.

O coeficiente de seletividade tem sido chamado também de **constante de seletividade** e **fator de seletividade**. O primeiro termo é inadequado, pois coeficientes de seletividade não são nem mesmo aproximadamente constantes para todas as condições experimentais e relações de A para B. O último termo, embora sendo tão exato como coeficiente de seletividade, não tem recebido grande aceitação.

Limite de detecção - menor quantidade do determinando detectada pelo eletrodo.

Gráfico de calibração - para eletrodo íon-seletivo é aceito como a representação de uma diferença de potencial entre o eletrodo íon-seletivo e um eletrodo de referência (na ordenada) com valores positivos

no topo, contra o logaritmo da atividade ou concentração do íon primário na célula medida (na abscissa), com o aumento da atividade ou concentração à direita.

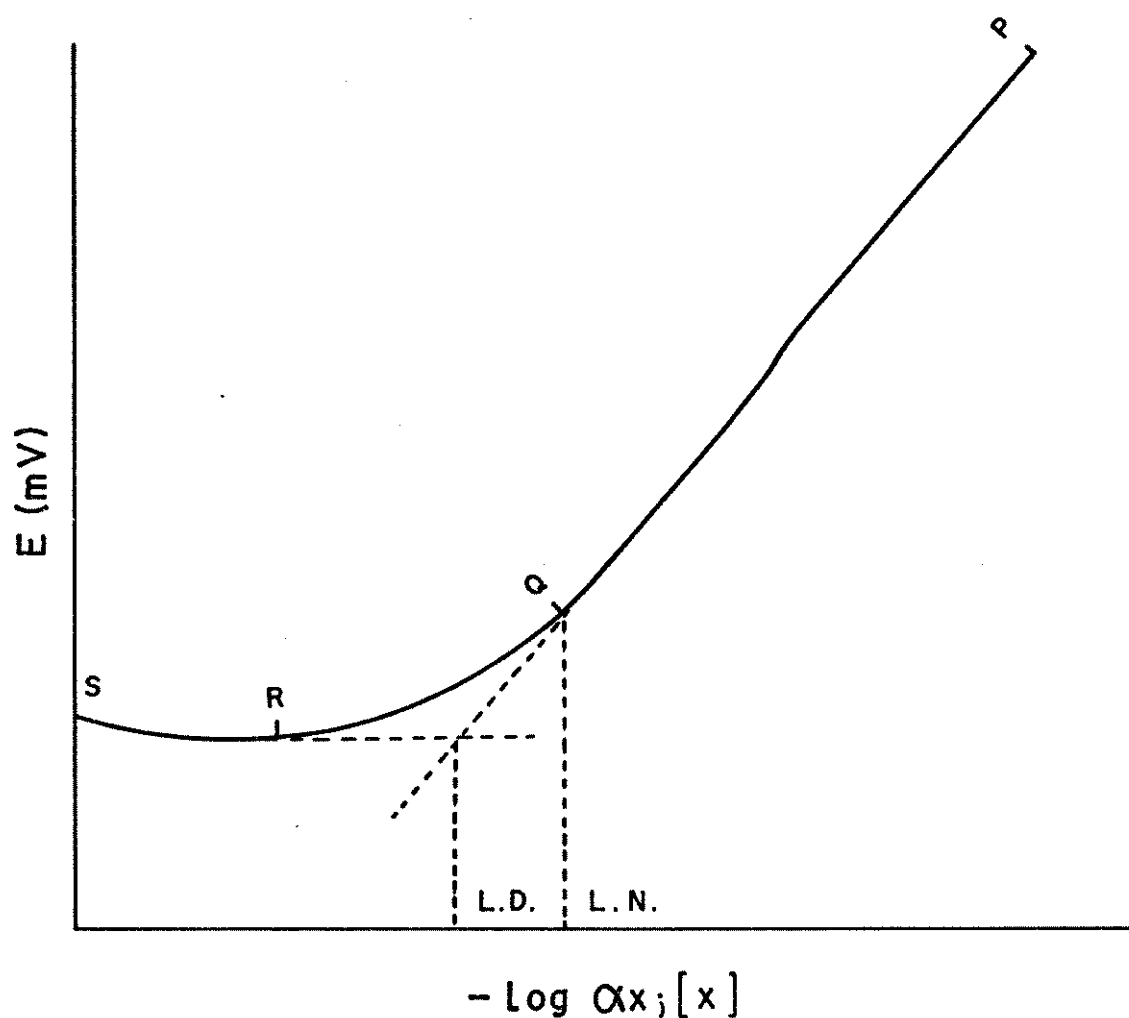


FIGURA 1: Curva de Calibração Típica (IUPAC)

De P a Q - Porção Nernstiana

De Q a R - Interferente e íon Primário

De R a S - Só Interferente

L.N. = Limite Nernstiano

L.D. = Limite de Detecção

As primeiras observações efetuadas por volta de 1906, inicialmente por Cremer²¹, e posteriormente, em estudos mais detalhados, por Haber e Klemensiewicz²², mostraram que um eletrodo de vidro sensível a íon hidrogênio respondia a este íon de acordo com o previsto pela equação de Nernst.

Em 1934, Lengyel e Blum²³ mostraram que um eletrodo feito de vidro contendo Al_2O_3 ou B_2O_3 , dava resposta nernstiana para íons sódio.

Na década de 50 e início da de 60, o grupo de Nicolsky, na Rússia, e de Eisenman, nos Estados Unidos, estudaram as propriedades de muitas famílias de vidros e deduziram teorias sobre a origem do potencial do eletrodo de vidro. Uma ótima revisão sobre o desenvolvimento de composições de vidros sensíveis a íons hidrogênio e outros cátions encontra-se no livro editado por Eisenman²⁴.

As primeiras tentativas de construção de eletrodos íon-seletivos, com outros materiais que não o vidro, foram realizadas por Tendam²⁵ e por Kolthoff e Sanders²⁶. Estes últimos prepararam eletrodos seletivos a haletos a partir de grânulos de haleto de prata, de qualidade superior aos eletrodos de 2a. classe, sensíveis a sistemas redox, mas de desempenho pobre.

Pungor e colaboradores²⁷ produziram um eletrodo de membrana incorporando iodeto de prata em parafina e demonstraram a seletividade do eletrodo para íons iodeto em presença de íons cloreto. Seguindo esta linha, Pungor desenvolveu uma variedade de eletrodos de boa seletividade e com resposta nernstiana. Tais eletrodos tinham membranas he-

terogêneas, consistindo em material ativo disperso ou contido numa matriz inerte de borracha de silicone. Estes eletrodos foram, na verdade, os primeiros eletrodos íon-seletivos (sem ser de vidro) desenvolvidos que davam respostas termodinamicamente reversíveis a um íon primário.

Os eletrodos íon-seletivos de prata e haletos começaram a ser comercializados na Hungria em 1965.

Em 1966, Frant e Ross²⁸ anunciaram um eletrodo altamente seletivo para medida de íons fluoreto. A membrana deste eletrodo consistia em um cristal de fluoreto de lantânio dopado com fluoreto de európio.

A partir daí muitos eletrodos baseados em sais inorgânicos foram desenvolvidos para medir íons cobre, chumbo e cádmio.

Em 1967, Ross²⁹ anunciou o primeiro eletrodo de membrana líquida; este eletrodo é usado para medir a atividade de íons cálcio e têm como material ativo um éster do ácido fosfórico. Este fato suscitou grande interesse no campo da pesquisa biomédica, pois este eletrodo permitiu a medida da atividade do íon cálcio diretamente no soro sanguíneo.

O trabalho de Stefanac e Simon³⁰ sobre a seletividade para íons alcalinos, de membranas contendo antibióticos eletricamente neutros, levou ao desenvolvimento do eletrodo seletivo a potássio, baseado no antibiótico valinomicina. Este eletrodo mostra uma seletividade muito maior para íons potássio em presença de íons sódio, do que o eletrodo de vidro seletivo para potássio.

O primeiro sensor seletivo a gás foi o de gás carbônico, especialmente desenvolvido para medir a pressão parcial de gás carbônico no sangue, descrito por Stow e colaboradores³¹ em 1957.

Uma década depois surgia o eletrodo de amônia, que tem larga aplicação, seguido mais recentemente de sensores para dióxido de enxofre, óxidos de nitrogênio e sulfeto de hidrogênio.

Uma lista bibliográfica dos trabalhos mais importantes do ponto de vista histórico é encontrada no artigo de revisão de Covington³².

11.4 POTENCIAIS DE JUNÇÃO LÍQUIDA

A conexão entre um eletrodo indicador e um eletrodo de referência, ou catodo e anodo em células eletroquímicas, separados, é realizada geralmente por uma junção que permite a passagem de íons mas não permite a mistura das soluções. Existem vários tipos de junções eletrolíticas (vidro poroso, asbestos selados em vidro e ponte de ágar são alguns exemplos). Não existe um tipo único que possa ser usado em todas as situações.

No limite entre duas soluções não semelhantes, ou sólidos, existe sempre uma alta resistência que envolve uma apreciável queda ohmica e sempre se estabelece um potencial de junção. Portanto, a f.e.m. das células galvânicas não depende unicamente da diferença de potencial existente entre seus dois eletrodos pois nelas sempre aparece uma diferença de potencial, positiva ou negativa, ao nível das pontes eletrolíticas que unem duas soluções com concentrações diferentes. Assim, no caso de uma Pilha de Daniell, por exemplo, sua tensão real deve ser indicada:

$$E_{\text{cel}} = E_{\text{Cu}} - E_{\text{Zn}} + E_j \quad (1)$$

O E_j constitui um componente obrigatório no potencial de todas as células nas quais existe uma junção entre soluções de eletrólitos com concentrações diferentes. As únicas células onde esse componente do potencial não aparece são aquelas formadas por dois eletrodos, diferentes, imersos na mesma solução.

Essa diferença de potencial que se estabelece na junção entre duas soluções eletrolíticas, resulta da tendência que os íons nelas existentes têm de se difundirem de uma para a outra com velocidades diferentes. Disso resulta que o valor absoluto do potencial de junção, bem como seu sinal, depende da mobilidade relativa dos íons presentes nas soluções em contato e suas concentrações.

O tipo mais simples é o que aparece na junção de duas soluções de mesma natureza, porém com diferentes concentrações.

Esses casos são fáceis de serem interpretados; nos casos de junções envolvendo eletrólitos constituídos por íons diferentes torna-se difícil, quase impossível, prever qual o sinal que aparecerá em um dos lados.

As pontes eletrolíticas de contato são quase sempre preparadas com cloreto de potássio saturado, porque:

1º) O potencial de junção é sempre menor quando no mecanismo de sua formação não intervém íons hidrogênio ou hidroxila, dotados de maior mobilidade;

2º) Sendo a solução saturada, todo o transporte de cargas se faz no sentido da solução saturada para as soluções mais diluídas;

3º) As velocidades dos íons cloreto e potássio são praticamente iguais, resultando um potencial de junção o mais baixo possível.

Nos casos em que um dos íons do cloreto de potássio apresente incompatibilidade, este deve ser substituído, nas pontes, por outro eletrólito, como cloreto de sódio, nitrato de amônio ou nitrato de potássio. Estes são formados por íons com velocidade de difusão muito próximas, embora, possuam valores de E_j algo maiores.

11.5 CLASSIFICAÇÃO DOS ELETRODOS ION-SELETIVOS

Os eletrodos de membrana baseiam-se nas propriedades das membranas. Chama-se membrana uma fase finita no espaço, que separa duas outras fases, exibindo resistência à permeação de diferentes espécies.

A grande variedade de eletrodos de membrana, disponível no momento, pode ser convenientemente discutida, segundo o esquema de classificação, baseado no tipo de material de que é constituída a membrana:

1. Eletrodos de Vidro;
2. Eletrodos Baseados em Sais Inorgânicos;
3. Eletrodos Baseados em Trocadores Iônicos e Suportes Neutros;
4. Eletrodos Sensores de Gases;
5. Miscelânea.

Os eletrodos de membrana de vidro são bem conhecidos há muito tempo e são os mais amplamente utilizados dos eletrodos que respondem a íons hidrogênio.

Em 1934, Lengyel e Blum²³ mostraram que a introdução de Al_2O_3 e B_2O_3 em vidro simples para pH aumentavam enormemente a resposta do vidro a íons sódio e de maneira nernstiana. Depois, Eisenman e Nicolsky trabalharam em formulações de vidros que conduziram aos eletrodos para íons sódio e potássio. Nicolsky³³ foi o primeiro a apresentar a equação de Nernst modificada, que descreve a resposta do eletrodo de vidro para ambos os íons, hidrogênio e sódio

$$E = E^0 + 2,303RT/F \log (a_{H^+} + K_{H,Na}^{POT} a_{Na^+}) \quad (2)$$

que é conhecida como equação de Nicolsky. Na dedução teórica da equação, ele assumiu que a troca iônica de Na^+ e H^+ ocorre entre a solução e o vidro, que o mesmo número de sítios está disponível para a troca catiônica, que as atividades de Na^+ e H^+ no vidro são proporcionais às suas frações molares, e que o potencial observado do eletrodo de vidro representa a soma dos potenciais limítrofes de fase (desprezando-se a possibilidade de um potencial de difusão com a membrana).

Nesses eletrodos, a resposta iônica seletiva é função da composição da membrana de vidro. Desta forma, membranas contendo 22% de Na_2O , 72% de SiO_2 e 6% de CaO monitoram variações de íons H^+ , enquanto membranas constituídas de 11% de Na_2O , 18% de Al_2O_3 e 71% de SiO_2 apresentam resposta preferencial a íons Na^+ .

Se o vidro possui estrutura tetraédrica, tendo como átomo central o silício, pelo menos três vértices do tetraedro são compartilhados, o que significa que existe um átomo de oxigênio servindo como sítio negativo para a incorporação de um próton proveniente da solução em que a membrana de vidro se encontra imersa. Evidentemente, o sítio negativo será bem mais efetivo, se nenhum cátion estiver ocupando uma posição intersticial.

Quando um eletrodo de vidro recém fabricado, composto de Na_2O e SiO_2 , é condicionado em soluções aquosas de íons hidrogênio, o silicato de sódio da camada superficial se hidrolisa, originando uma camada de vidro hidratada. Íons hidrogênio, provenientes da solução, penetram na camada hidratada, alojando-se nos sítios negativos disponíveis, ao mesmo tempo em que íons sódio, inicialmente presentes no vidro, são transferidos para a solução. No interior do vidro, a camada de silicato de sódio permanece intacta (vidro seco), e o potencial Donnan é gerado através de um mecanismo de troca iônica entre íons H^+ da camada hidratada, e aqueles presentes na solução de medida.

O esquema de um eletrodo de vidro é representado na fig. 2A .

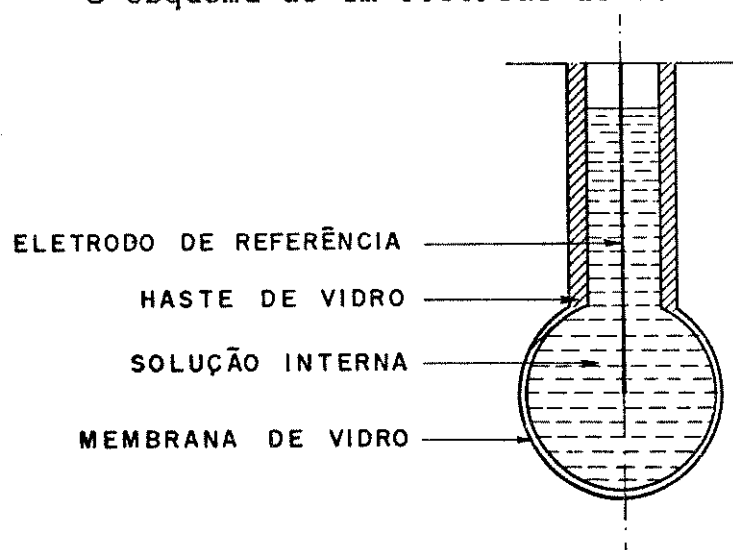


FIGURA 2A: Representação Esquemática de um Eletrodo de Vidro.

Os eletrodos baseados em sais inorgânicos, que foram os da primeira geração de eletrodos íon-seletivos comerciais, sucedendo os eletrodos de vidro na década de 60.

Os primeiros tipos de tais eletrodos foram os de membranas heterogêneas em que o material ativo é disperso em uma matriz inerte, que por sua vez, confere propriedades mecânicas à membrana.

Tais eletrodos precederam os eletrodos de membrana homogênea, nos quais a membrana é composta por um cristal simples, tal como fluoreto de lantânio em eletrodos de fluoreto²⁸, ou uma mistura homogênea, como nos eletrodos de prata e haletos em que as membranas são obtidas a partir de pastilhas prensadas de sais de prata co-precipitados com sulfeto de prata³⁴. Isto, por sua vez, conduziu ao desenvolvimento de eletrodos para cobre, chumbo e cádmio³⁵.

Em geral, os mecanismos de resposta de membranas homogêneas e heterogêneas, preparadas a partir do mesmo material ativo, são essencialmente os mesmos. Sua propriedade comum é que os centros ativos, para troca de íons no interior da membrana, são fixos e não têm mobilidade. Contudo, algumas diferenças no desempenho podem ocorrer quando existem mudanças nas propriedades do material ativo, como, por exemplo, as mudanças nas condições de precipitação.

O esquema de um eletrodo baseado em sais inorgânicos é representado na figura 2B.

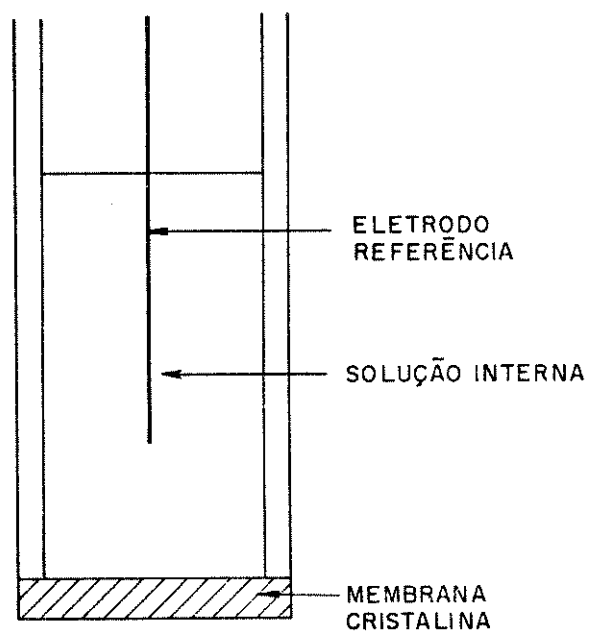


FIGURA 2B: Representação Esquemática de um Eletrodo Baseado em Sales Inorgânicos

11.5.3 ELETRODOS BASEADOS EM TROCADORES IÔNICOS E SUPORTES NEUTROS

Os eletrodos baseados em trocadores iônicos foram desenvolvidos antes daqueles baseados em suportes neutros. Estes sensores foram inicialmente denominados de eletrodos íon-seletivos de membrana líquida pelo fato de o trocador ter sido incorporado em uma solução de solvente orgânico.

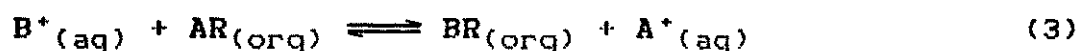
Atualmente esta terminologia já não é usada, uma vez que é comum incorporar-se o componente ativo em matrizes inertes, como cloreto de polivinila, polietileno ou borracha de silicone.

O nome trocador iônico não foi utilizado para descrever mecanismo de desenvolvimento de potencial na interface eletrodo/solução, mas sim, para dizer que o material sensível é constituído de grandes moléculas orgânicas dissolvidas em um solvente apropriado.

Nos sistemas em que a membrana consiste em uma fase líquida, a membrana é representada por um líquido imiscível em água, em que está dissolvida uma substância capaz de trocar o íon na solução para a qual o eletrodo é seletivo. Esta substância pode ser a associação de um íon com outro de carga oposta ou um complexo macrocíclico não carregado contendo o íon ou, ainda, outro composto neutro. A solução pode ser suportada, por exemplo, em um diafragma poroso ou usada como um plastificante para um filme polimérico, embora um autor¹⁸ insista que o último sistema é uma membrana sólida.

No sistema de membrana líquida com trocador iônico orgânico dissolvido, o sítio e o íon movem-se, concomitantemente, através da membrana e na interface com a solução, ocorre um processo de troca iônica entre os íons do sítio e íons livres na fase aquosa, mecanismo

responsável pela diferença de potencial na interface da membrana com a solução. Essencialmente, os limites de detecção e seletividade de um eletrodo de troca iônica são determinados pelo equilíbrio da atividade do íon determinando na membrana e o coeficiente de distribuição para este íon, entre a membrana e a amostra em solução. Para uma resposta nernstiana a um determinado íon A na presença de um outro íon B, é necessário que a posição de equilíbrio seja atinjida:



onde R representa um grupo de sítios carregados. Em outras palavras, o sítio R deveria formar um complexo mais estável com o íon A do que com qualquer outro íon na amostra. A medida que B entra na fase membrana, o potencial do eletrodo será afetado.

Dispondo-se de sítios positivamente carregados, pode-se desenvolver eletrodos ânion seletivos. A classe mais importante de sítios nesta categoria, são os complexos de metais de transição com um ligante volumoso contendo o grupo orto fenantrolina, complexos do tipo FeL_3^{2+} ou NiL_3^{2+} , onde L é a fenatrolina substituída.

Outros sítios trocadores de grande utilidade são os de tetraquilamônio com alto peso molecular

O papel do solvente, onde ele é necessário, não é claramente entendido, especialmente nos casos de eletrodos íon seletivos divalentes baseados em grupos ester do ácido fosfórico²⁸. Os requisitos físicos gerais do solvente são que ele deve ser imiscível em água, excluindo íons de carga oposta àquela de interesse e não ser volátil. No caso de membranas poliméricas, o solvente deve ser capaz de formar uma

solução homogênea na matriz inerte para dar uma membrana transparente, não exsudando o solvente³⁷.

A constante dielétrica do solvente é um fator importante em determinar a seletividade, especialmente entre os íons mono e divalentes³⁸, e é, também, um fator que afeta o tempo de resposta do eletrodo³⁹.

11.5.4

ELETRODOS SENSORES DE GASES

Esses eletrodos são células eletroquímicas completas, incorporando o eletrodo íon-seletivo e o eletrodo de referência num mesmo dispositivo. São sensíveis as pressões parciais dos gases em solução e não sofrem interferências de íons, sendo muito distintos, no seu princípio de operação e rendimento, dos demais tipos de eletrodos.

Os mais conhecidos são os eletrodos de dióxido de carbono³⁴, amônia⁴⁰ e dióxido de enxofre, usados para determinar íons carbonato, amônio e sulfeto, que são convertidos aos respectivos gases em solução por pré-tratamento da amostra.

11.5.5

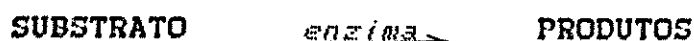
MISCELANEA

Alguns tipos de sensores eletroquímicos descritos na literatura não pertencem a nenhuma daquelas classes vistas anteriormente, apesar de certas semelhanças em alguns casos; esses tipos são, no caso, agrupados juntos por conveniência.

Sensores nesta classe incluem, principalmente, os eletrodos de enzima e os eletrodos surfactantes.

Os eletrodos de enzima⁴¹ são um tanto quanto semelhantes, em conceito, aos eletrodos sensores de gás.

Reações envolvendo enzimas podem ser representadas na forma simplificada:



Métodos de análise envolvendo enzimas podem ser utilizados para medir o substrato ou a atividade da enzima e o sensor pode ser usado para detectar um dos produtos ou, raramente, o substrato.

Por combinação da alta seletividade da reação enzimática com a seletividade do eletrodo íon-seletivo ou eletrodo de gás, métodos excelentes são desenvolvidos.

A enzima (para análise do substrato) ou o substrato (para análise da enzima) é imobilizada na superfície do sensor por um gel. Assim, o sensor é imerso na amostra, que reage com a enzima (ou substrato) a uma velocidade constante, e o potencial é conhecido quando ocorre o equilíbrio. A reação ocorre somente no interior do gel e na interface gel-amostra.

Os eletrodos surfactantes são semelhantes àqueles baseados em trocadores iônicos orgânicos, respondendo a surfactantes catiônicos⁴² e aniônicos⁴³.

Os esquemas de um eletrodo de membrana líquida e de um eletrodo sensor de gás são representados nas Figuras 2C e 2D, respectivamente.

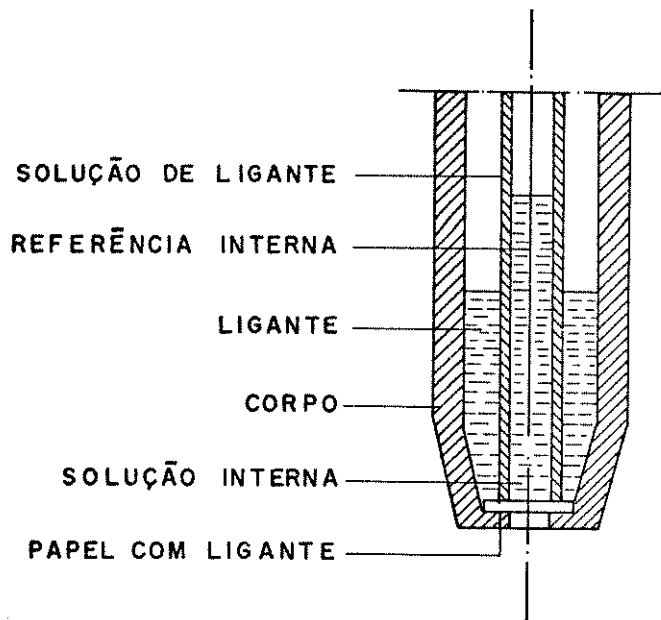


FIGURA 2C: Eletrodo de Membrana Líquida

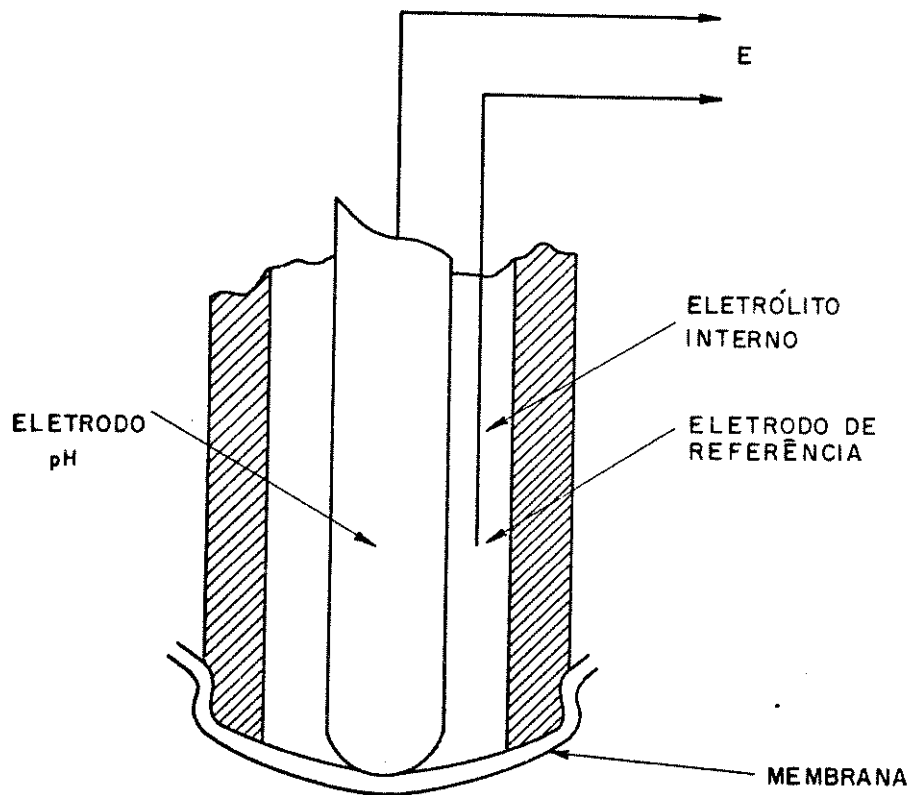


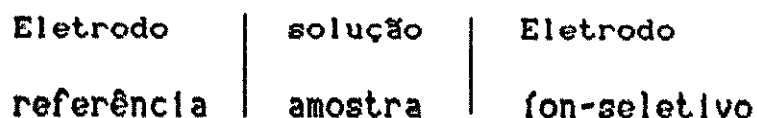
FIGURA 2D: Eletrodo Sensor de Gás

11.6

CÉLULAS ELETROQUÍMICAS E ELETRODOS DE REFERÊNCIA

Para medidas de potencial com eletrodos íon-seletivos é necessário a construção de células eletroquímicas. Assim, três tipos de células são comumente usadas:

1º) Células sem junção líquida

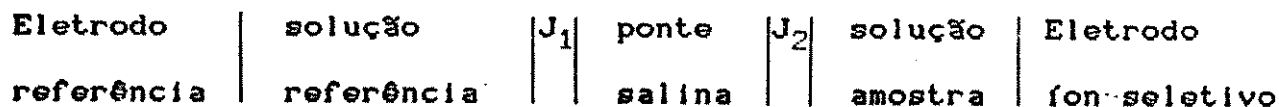


2º) Células com junção líquida



/montagem eletrodo referência: JS/

3º) Células com duas junções líquidas



/montagem do eletrodo de referência : DJ /

O eletrodo de referência é definido como um eletrodo cujo potencial não varia durante a medida na célula eletroquímica. Em células do primeiro tipo, o eletrodo de referência é um outro eletrodo íon-seletivo, sensível a espécies diferentes daquelas do eletrodo indicador (EIS). Em células do segundo e terceiro tipo, o eletrodo de referên-

cia, a junção líquida, a ponte salina e soluções de referência são usualmente contidas em um envoltório simples, e o conjunto todo é conhecido como eletrodo de referência.

A função do eletrodo de referência é a de atuar como uma meia célula de potencial constante contra as variações de potencial que podem ser medidas em várias amostras, pelo eletrodo íon-seletivo. Entretanto, nenhum eletrodo de referência adota um potencial absolutamente constante em todas as condições. A instabilidade do potencial de junção líquida no sistema de eletrodos com ponte salina também deve ser considerada uma fonte de erro. Assim, a escolha do eletrodo de referência é de grande importância. Os três requisitos principais para que um eletrodo de referência seja satisfatório são: reversibilidade, reprodutibilidade e estabilidade.

O uso de células sem junção líquida evita qualquer incerteza associada ao potencial de junção líquida. Qualquer eletrodo íon-seletivo pode ser utilizado como um eletrodo de referência se houver uma atividade constante dos íons nos sensores do eletrodo indicador. Talvez o eletrodo de referência mais comumente utilizado em células sem junção líquida seja o de Ag/AgCl , mantendo-se uma atividade constante em íons cloreto em adição ao determinando.

Em células com junção líquida, o eletrodo de referência adota um potencial que se considera independente da composição da amostra. A escolha correta do eletrodo, da ponte salina e junção líquida, pode justificar esta suposição. Por isso, e pelo fato de um eletrodo de referência comercial ser barato, ter longa vida útil com baixa manutenção, células com junção líquida são quase sempre utilizadas em trabalhos analíticos com eletrodos íon-seletivos.

O eletrodo de referência mais comumente utilizado é o de calomelano. Ele é um eletrodo de segunda classe constituído de mercúrio, cloreto de mercúrio(I) e uma solução de cloreto de potássio com concentração definida. O uso de cloreto de potássio saturado fez surgir o termo eletrodo de calomelano saturado(ECS). O cloreto de potássio tem dupla função: fornece um nível de referência de íons cloreto para o qual o eletrodo dá uma resposta nernstiana e atua como uma ponte salina entre o eletrodo e a amostra. Neste último aspecto, seu uso é apropriado porque a transferência de íons potássio e cloreto é equitativa na solução de cloreto de potássio e daí, o potencial de junção líquida é minimizado na interface com a amostra.

As principais limitações do eletrodo de calomelano são relacionadas aos efeitos de histerese térmica. Entretanto, na maioria das medidas com eletrodos íon seletivos, os eletrodos de referência e indicador estão à mesma temperatura e esta dificuldade é raramente verificada na prática, sendo a contaminação pela ponte salina o problema mais comum. Isto pode ser contornado usando-se um eletrodo de referência de dupla junção, no qual uma ponte salina diferente é interposta entre a amostra e a solução de referência via uma segunda junção líquida. Alternativamente, um sal diferente, tal como cloreto de rubídio, pode ser utilizado como um eletrólito de ponte salina.

O eletrodo de referência de calomelano pode ser representado esquematicamente:



onde x representa a concentração de cloreto de potássio na solução. A reação do eletrodo é dada pela equação:



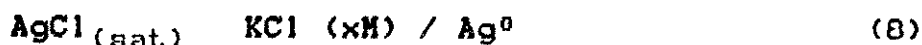
O potencial é dado pela expressão:

$$E = E^0 - 0,05915 \log [\text{Cl}^-] \text{ a } 25^\circ\text{C} \quad (7)$$

e depende da concentração dos íons cloreto, ou seja, da concentração de cloreto de potássio, visto que o cloreto mercurioso tem um produto de solubilidade bastante baixo.

O eletrodo de referência de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl) é, essencialmente, um fio ou placa de prata recoberto com cloreto de prata e em contato com uma solução de íons cloreto saturada com cloreto de prata. Esse sistema é o mais comumente utilizado, também, como um eletrodo de referência interna na maioria dos eletrodos íon-seletivos, pois estes são conjuntos de eletrodos em que o sistema de referência interna deve ser estável.

O eletrodo é reversível e de segunda classe, e a sua resposta é governada pelo equilíbrio de solubilidade do cloreto de prata. Esses eletrodos são semelhantes aos de calomelano e podem ser representados esquematicamente, por:



sendo a reação parcial



O maior problema com esse eletrodo é a solubilidade relativamente alta do cloreto de prata em soluções concentradas em íons cloreto, devido a formação de complexos, sendo necessário uma pré-saturação da solução de referência interna com cloreto de prata, especialmente se o trabalho é realizado em altas temperaturas.

Efeitos de histerese térmica são pequenos e podem ser desprezados; o eletrodo é quase que insensível à polarização na troca de corrente, relativamente grande, na interface cloreto de prata-solução.

Outros tipos de eletrodos de referência, como por exemplo, mercúrio/sulfato de mercúrio(I) e o eletrodo de amálgama de tálio/cloreto de tálio(I) são, também, ocasionalmente, usados.

Uma revisão completa de diversos sistemas de eletrodos pode ser encontrada no livro de Ives e Janz⁴⁴.

11.7 ATIVIDADE E COEFICIENTE DE ATIVIDADE

O potencial de um eletrodo íon-seletivo é dado pela equação de Nernst. Isto é, o potencial do eletrodo é proporcional ao logaritmo da atividade do íon para o qual o eletrodo é sensível (íon primário). O conceito de atividade é necessário devido ao comportamento não ideal da solução, causado por interações entre as partículas.

A preocupação maior de todo analista tem sido a determinação da concentração de uma dada espécie numa amostra. Toda a química analítica clássica se preocupa com essa questão. Sem dúvida, dados de concentração são muito úteis e continuarão necessários. Contudo, em muitos casos, quando se trata de determinar posições de equilíbrio ou

velocidades de reações químicas, funções baseadas em dados expressos em concentrações podem ser enganosas.

O papel da atividade do íon hidrogênio na química ácido-base é por demais conhecido, e a sua importância conduziu ao desenvolvimento do primeiro eletrodo íon-seletivo, o de membrana de vidro.

Recentemente as medidas de atividade para outras espécies químicas têm-se mostrado igualmente importantes. Assim, a dureza da água depende da atividade do íon cálcio na amostra e não da concentração total de cálcio.

O papel do cálcio em processos biológicos, como a condução nervosa ou na contração muscular, é determinado pela atividade do íon cálcio livre no sistema, a qual pode variar em mais de 100% da concentração total de cálcio.

Os íons existentes em uma solução não podem ser considerados como espécies isoladas. Quando se determina a condutância de um eletrólito, verifica-se que o comportamento dos íons é influenciado pela presença dos íons vizinhos, devido às forças eletrostáticas que se manifestam.

Do mesmo modo, a disponibilidade de um íon participar de uma reação ou para determinar a posição de um equilíbrio será afetada pela presença de outros íons na solução.

Assim, não é difícil de entender que a concentração de um íon não reflete verdadeiramente sua capacidade de determinar uma propriedade qualquer da solução, exceto em diluição infinita, quando foi eliminada a interação iônica.

A quantidade que é usada para exprimir melhor a disponibilidade de um íon em determinar as propriedades das soluções é a atividade.

de relativa, quantidade esta que considera a interação do íon com a sua vizinhança.

A atividade relativa se relaciona com a concentração através da equação:

$$a_x = \gamma_x c_x \quad (10)$$

onde a_x é a atividade relativa, γ_x é o coeficiente de atividade e c_x é a concentração molar ou molal da solução.

Em diluição infinita, ou em uma solução ideal, situação em que não há interação iônica, o coeficiente de atividade é unitário e a atividade do íon é proporcional à concentração da solução.

O coeficiente de atividade é uma função da força iônica (I) da solução :

$$I = 1/2 \sum C_i Z_i^2 \quad (11)$$

onde C_i é a concentração molar de cada íon presente e Z_i é a carga de cada íon presente na solução.

O coeficiente de atividade de um íon individual pode ser calculado pela expressão ampliada da lei de Debye-Huckel:

$$\log \gamma_i = - 0,5 z_i^2 (I)^{1/2} / 1 + (I)^{1/2} \quad (12)$$

Não há método conveniente para avaliar coeficientes de atividade para íons individuais abstraindo-os dos outros.

O coeficiente de atividade médio de um eletrólito $M_m N_n$ é dado por:

$$\log \bar{\gamma}_{\pm} = - 0,5 Z_M Z_N (I)^{1/2} / 1 + (I)^{1/2} \quad (13)$$

onde Z_M é a carga de M e Z_N a de N, sem levar em consideração o sinal.

Infelizmente, os eletrodos íon-seletivos não respondem exclusivamente ao íon para o qual são construídos (íon primário), sendo necessário avaliar sua seletividade na presença de outras substâncias interferentes.

Segundo a IUPAC²⁰, uma substância interferente é qualquer outra espécie, diferente do íon primário, que, presente numa solução a ser analisada, afeta a medida do potencial da célula. São duas as principais classes de substâncias interferentes: (1) aquelas substâncias as quais o eletrodo responde como se fossem o íon primário; (2) as substâncias que reagem com o íon primário na amostra, diminuindo sua concentração aparente. Outros tipos de interferências podem ser encontradas em espécies que interagem com a membrana do eletrodo mudando sua composição química, ou em eletrólitos presentes em concentrações suficientemente altas que provoquem um aumento apreciável no potencial de junção líquida.

Uma modificação da equação de Nernst foi proposta por Nicolsky³³, para descrever a resposta de eletrodos de vidro a íons hidrogênio e sódio. A forma geral desta equação pode ser usada para definir o grau de seletividade para o íon primário, A, em relação ao íon interferente, B; para qualquer eletrodo íon-seletivo, o potencial de célula medido, em mV, é dado por

$$E = \text{cte} + \frac{2,303RT}{Z_A F} \log \left(a_A + \sum_B K_{A,B}^{\text{pot}} a_B^{z_A/z_B} \right), \quad (14)$$

onde Z_A e Z_B são as cargas dos íons A e B e o termo constante inclui o potencial padrão do eletrodo indicador, E^0 , o potencial do eletrodo de referência e a junção líquida.

O termo $K_{A,B}^{POT}$ é chamado de coeficiente de seletividade potenciométrico, para distingui-lo do termo similar usado nos processos de separação, e é uma medida da contribuição do íon B ao potencial de célula medido. Portanto, quando um eletrodo é muito seletivo a A, e comparação com B, então $K_{A,B}^{POT}$ será menor que a unidade.

O valor do coeficiente de seletividade não é, entretanto, constante para todas as atividades de A e B e depende, mais precisamente, do método usado para sua determinação⁴⁵. Mas, se é usado um método sensível para a determinação do valor do $K_{A,B}^{POT}$, especialmente para eletrodos baseados em trocadores iônicos e suportes neutros, é essencial saber os detalhes do método pelo qual o valor é determinado.

Muitos métodos têm sido descritos para a determinação do coeficiente de seletividade e podem ser classificados em *método das soluções separadas* e *método das soluções misturadas*. No método das soluções separadas, o potencial de uma célula contendo o eletrodo íon-seletivo e o eletrodo de referência é medido em cada uma das soluções, uma contendo o íon primário A, com atividade conhecida, na ausência de B, e outra contendo o íon interferente B, usualmente com a mesma atividade, mas na ausência de A. O valor do coeficiente de seletividade é então calculado a partir das atividades e potenciais medidos. Claramente o método não simula as condições reais sob as quais os eletrodos são usados, e os valores do $K_{A,B}^{POT}$ obtidos podem diferir substancialmente daqueles obtidos em medidas de soluções misturadas⁴⁶.

Preferencialmente, o coeficiente de seletividade deve ser determinado por métodos de soluções misturadas. Nestes, o potencial é medido em soluções tanto com atividade constante do íon interferente, A, e atividade variável do íon primário, a, quanto com atividade de A constante e nível de atividade de B variável. O primeiro método é convencionalmente usado quando corresponde mais aproximadamente às condições usuais da amostra. A maior excessão a isto é quando o hidrogênio é o íon interferente, onde é usual produzir curvas mostrando o potencial de célula em soluções de atividade de A constante variando-se o pH. Estas curvas são então usadas para determinar a faixa de trabalho do eletrodo em amostras de diferentes pHs.

Se um número de soluções com atividade de B constante e atividade de A variável são preparadas e os potenciais medidos com estas soluções são graficados contra a atividade de A, uma curva do tipo da mostrada na Figura 1 é usualmente obtida. Como a atividade do íon primário decresce, ocorre um gradual aparecimento do interferente até que o eletrodo responda somente a atividade de B constante e o efeito do decréscimo de A não é detectado. Na região entre o limite inferior de resposta nernstiana a A em Q e o ponto inicial da completa interferência de B em R, o eletrodo mostra uma resposta "misturada" para A e B. Haverá um ponto no qual o eletrodo responde igualmente a ambos os íons, então a relação

$$e_A = K_{A,B}^{POT} a_B^{n_A/n_B} \quad (15)$$

será satisfeita. O intercepto da linha de resposta nernstiana extrapolada com a horizontal, de interferência total define este ponto, e então, $K_{A,B}^{POT}$ pode ser calculado⁴⁷.

Sob condições de altas interferências na região horizontal, as medidas tornam-se irreprodutíveis. Nestes casos, o valor de atividade requerido, a'_A , pode ser encontrado como se segue:

$$E = \text{cte} + 2,303RT/Z_A F \log (a'_A + \sum_B K_{A,B}^{\text{pot}} a'_B)^{z_A/z_B} \quad (16)$$

Se a atividade do íon B, no ponto onde a Eq. (15) é satisfeita, é a'_B , então, o potencial, E, neste ponto é dado por:

$$E = \text{cte} + 2,303RT/Z_A F \text{Log} (2a'_A) \quad (17)$$

A resposta do eletrodo na ausência do íon interferente B é dada pela extrapolação da linha de resposta nernstiana. A diferença entre o potencial, E, em soluções de A com atividade a'_A , com e sem B de atividade a'_B é:

$$E = 2,303RT/Z_A F (\log 2a'_A - \log a'_A) \quad (18)$$

$$E = 2,303RT/Z_A F \log 2$$

$$\Delta E \approx 18/Z_A \text{ mV a } 25^\circ\text{C} \quad (19)$$

Então, encontram-se no gráfico a atividade de A na qual a linha experimental difere na resposta nernstiana extrapolada por $18/Z_A$ mV, a atividade a'_A é determinada e o coeficiente de seletividade pode ser calculado.

Finalmente, poderia ser novamente enfatizado que o conceito de coeficiente de seletividade é de aplicação limitada. Seu uso como um fator quantitativo deveria ser visto com particular atenção. Um melhor guia para a seletividade do eletrodo é, provavelmente, um grupo de curvas como as da fig.1, onde o nível de interferência ou a quantidade de íons interferentes que podem ser tolerados em dadas amostras podem ser vistos. Certamente, comparações de performances de eletrodos baseados nos valores do coeficiente de seletividade só devem ser feitas quando as medidas são realizadas identicamente para cada eletrodo.

11.9

TÉCNICAS ANALÍTICAS E APLICAÇÕES

Muitas técnicas analíticas de medida envolvendo eletrodos íon-seletivos têm sido descritas. A mais indicada vai depender de parâmetros, tais como: composição das amostras, precisão e exatidão requeridas, tempo disponível para realizar as análises.

As técnicas mais importantes e largamente utilizadas são, em ordem crescente de precisão e exatidão e, também, em ordem crescente de tempo requerido por análise:

1. Método Direto;
2. Adição de Padrão;
3. Método de Gran; e
4. Titulação Potenciométrica.

Geralmente, a utilidade de cada técnica é inversamente proporcional ao seu grau de complexidade.

Nem todas as técnicas são aplicáveis a todos os tipos de análise. Uma limitação pode ser imposta, como por exemplo, pela falta de um titulante adequado. Em geral, titulações potenciométricas são mais exatas e precisas que métodos diretos.

11.9.1

MÉTODO DIRETO

O método direto é, como o próprio nome indica, a técnica mais direta e é a técnica de escolha sempre que possível.

Neste método, a amostra é pré-tratada como requerido e o conjunto eletrodo íon-seletivo e eletrodo de referência são mergulhados. O potencial de equilíbrio na célula é medido e relacionado à atividade ou concentração do determinando por meio de um gráfico de calibração. (Existem pHmetros/milivoltímetros com leitura direta de concentração.)

Essa técnica é rápida, permitindo medidas de dois a três minutos. Em sistemas de fluxo contínuo, cerca de cem amostras por hora podem ser analisadas. Ela é, também, mais familiar e simples para aqueles sem experiência com a nova geração de sensores potenciométricos, pois é idêntica à determinação de pH. A exatidão da medida é de aproximadamente $\pm 2\%$ ($\pm 0,5\text{mV}$ para determinandos monovalentes) para amostras a 25°C e concentrações maiores que o limite nernstiano. Com grandes cuidados (temperatura controlada, velocidade constante de agitação e pré-tratamento da amostra) a exatidão pode chegar a $\pm 1\%$; para trabalhos mais precisos, a célula deve ser frequentemente checada com um único padrão para assegurar a validade da calibração.

O método direto é indicado para análise de todas as amostras em que o determinando está presente na forma livre (não complexada) ou nas quais o determinando pode ser descomplexado por pré-tratamento adequado.

O eletrodo pode ser, também, adequado para análises de amostras em que apenas uma proporção do determinando encontra-se na forma livre, desde que se tome o cuidado de garantir a mesma proporção em todas as amostras e padrões.

Inevitavelmente, métodos envolvendo complexação parcial do determinando, são menos sensíveis do que os correspondentes métodos em que todo o determinando está complexado.

11.9.2 ADIÇÃO DE PADRÃO

No método de adição de padrão (alternativamente chamado de "método da adição conhecida") o eletrodo íon seletivo e o eletrodo de referência são imersos na amostra e o potencial de equilíbrio na célula é anotado; um volume conhecido de uma solução padrão do determinando é então adicionado e mede-se, após um novo equilíbrio, a alteração no potencial de equilíbrio. A concentração inicial do determinando na amostra pode ser calculada pela equação:

$$[X]_A = [X]_B / 10^{\Delta E/S} [1 + (V_A/V_B)] - (V_A/V_B) \quad (20)$$

onde $[X]_A$ e $[X]_B$ são as concentrações do determinando x na amostra e no padrão, respectivamente; V_A e V_B são os volumes iniciais da amostra

e o volume adicionado do padrão; E é a variação no potencial da célula e S é a inclinação do gráfico de calibração para o eletrodo. Esta equação é derivada de equações para potenciais de eletrodos na amostra antes e depois da adição de uma alíquota de solução padrão⁴⁸.

11.9.3

MÉTODO DE GRAN

Para contornar as dificuldades relacionadas com a assimetria de certas curvas de titulação, Gran⁴⁹ sugeriu um método gráfico para a determinação do ponto final. O método lineariza os dados obtidos em titulações potenciométricas e localiza mais fácil e precisamente o ponto de equivalência.

Considere, por exemplo, a resposta de um eletrodo íon-seletivo a um cátion monovalente, X , em soluções livres de íons interferentes:

$$E = E^0 + S \log a_x \quad (21)$$

onde E é a medida do potencial na célula, S é a inclinação na calibração do eletrodo e a_x é a atividade do íon x . Rearranjando esta equação teremos

$$\text{antilog}(E/S) = \text{cte. } a_x \quad (22)$$

onde a constante é $\text{antilog}(E^0/S)$. Assim, $\text{antilog}(E/S)$ é proporcional a a_x nas coordenadas contra o volume do titulante adicionado, na abscissa, para dar uma reta.

A grande vantagem do método é que o gráfico permite extrapolar a reta para um volume de titulante onde $a_x = 0$; assim o ponto de equilíbrio pode ser obtido.

Numa titulação potenciométrica convencional, x é titulada com y e o curso da titulação é monitorado com eletrodo íon seletivo sensível a x.

Uma complicação pode ser associada ao método quando do processamento dos resultados obtidos. Assim, a concentração da espécie monitorada precisa ser corrigida para aumento de volume da amostra, devido aos incrementos do titulante:

$$[X]_c = [X]_i (V_A + V_B) / V_A \quad (23)$$

onde $[X]_c$ é o valor corrigido e $[X]_i$ é a concentração inicial de $[X]$. A geração coulométrica do titulante elimina essa correção ou se a espécie é tamponada na amostra, de sorte que a atividade sensorizada pelo eletrodo íon seletivo não é afetada pela diluição.

É evidente que os cálculos associados com o gráfico, segundo Gran, são tediosos, embora possam ser agilizados empregando uma calculadora.

A melhor maneira de empregar o método de Gran é usar um papel especial (antilog-linear) com ou sem correção de volume.

Na titulação potenciométrica, a medida do potencial de um eletrodo indicador é usada para acompanhar a variação da concentração de uma espécie iônica envolvida na reação e, assim, detectar o ponto de equivalência. A técnica requer um eletrodo indicador adequado para o sistema em questão. O eletrodo indicador e um eletrodo de referência são, convenientemente, associados para constituir uma célula galvânica, cuja f.e.m. é, então, medida no curso da titulação. A titulação potenciométrica não requer a medida de valores absolutos da f.e.m. da célula; realmente, o que interessa é acompanhar a variação da f.e.m. como meio de localizar o ponto final. Portanto, a rigor, o eletrodo de referência não precisa ter um potencial exatamente conhecido e reproduzível.

A titulação potenciométrica é, inerentemente, mais exata e precisa do que a potenciometria direta. Aquela se relaciona com a variação da f.e.m. da célula no ponto de equivalência, ao passo que a precisão da técnica direta é limitada pela inclinação da resposta nernstiana do eletrodo indicador. Além disso, os potenciais de junção líquida e os coeficientes das atividades em pouco ou nada afetam a variação da f.e.m. na titulação potenciométrica. A exatidão nas titulações potenciométricas é, primariamente, determinada pela magnitude do salto de potencial no ponto de equivalência, que, por sua vez, depende da constante de equilíbrio da reação envolvida.

As titulações potenciométricas requerem equipamento especial e são de execução mais demorada, em comparação com as titulações com indicadores visuais. Todavia, elas oferecem vantagens.

A grande sensibilidade da técnica potenciométrica permite sua aplicação a soluções muito diluídas, podendo ser utilizada na análise de soluções coradas ou turvas, não apresentando dificuldades.

A técnica potenciométrica permite utilizar certas reações para as quais a técnica convencional é impraticável pela falta de indicadores apropriados. Ela permite, ainda, determinar sucessivamente, vários componentes numa amostra, sendo aplicável em meio não-aquoso, permitindo fácil adaptação a uma metodologia automática.

A maior vantagem da titulação potenciométrica é que ela permite que sejam analisadas, uma grande variedade de espécies não diretamente monitoradas pelo eletrodo íon-seletivo. Assim, Zircônio, Tório, Lantânio, Samário, Níquel, Zinco, Cálcio e Cádmio podem ser titulados com EDTA usando eletrodo íon-seletivo para cobre e íons Cu^{2+} como indicador (via atividade dos íons Cu^{2+} livre em equilíbrio com complexo Cu-EDTA).

A exatidão dessas titulações é determinada primariamente pela exatidão da padronização e medidas de volume do titulante e, ainda, pelo salto do potencial no ponto final.

O problema crítico é encontrar ou identificar o ponto em que as espécies reagentes estão presentes em quantidades equivalentes.

CAPÍTULO III

DETERMINAÇÃO DE SALICILATO

III.1

INTRODUÇÃO

A aspirina é, provavelmente, a droga mais utilizada como analgésico, antipirético e anti-inflamatório. Após ingestão, a maior parte do ácido acetilsalicílico é hidrolisada a ácido salicílico junto às paredes do intestino, circulando no sangue na forma ionizada. Portanto, a análise dos níveis de salicilato no soro sanguíneo é vital para finalidades terapêuticas, uma vez que o nível de salicilato, no soro, atinge seu valor máximo após duas horas da ingestão de aspirina.

A decomposição do ácido acetilsalicílico resulta da hidrólise do grupo éster, dando origem ao ácido salicílico e ao ácido acético. Esta reação foi objeto de inúmeros trabalhos. A revisão publicada por Kelly⁹ em 1970 apresenta um extenso levantamento bibliográfico sobre o assunto. Outra revisão, publicada por Stempel¹⁰, trata da decomposição do ácido acetilsalicílico em solução, suspensão e comprimido.

A influência do pH na reação de hidrólise do ácido acetilsalicílico foi estudada por Edwards¹¹. Segundo esse autor, o ácido acetilsalicílico é mais estável em pH=2,0. A constante de velocidade desta reação, na faixa de pH compreendida entre 4,0 e 8,0, permanece inalterada para, em seguida, aumentar. A reação de hidrólise do ácido acetilsalicílico segue cinética de primeira ordem.

Foram determinadas as constantes de velocidade de hidrólise do ácido acetilsalicílico e de 14 derivados⁴³. A decomposição do AAS em estado sólido foi acompanhada empregando termoanálise⁴⁴.

III.2

MÉTODOS EXISTENTES

Muitos métodos de análise de salicilato e outros metabólitos menores da aspirina, têm sido relatados: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)⁵⁰, Cromatografia Gasosa⁵¹, Espectrofotometria⁵², Fluorimetria⁵³ e Colorimetria⁵⁴.

Todos estes métodos descritos têm sua validade e aplicação; entretanto, quando da escolha do melhor método, deve-se levar em consideração alguns itens, tais como: disponibilidade, precisão e exatidão requeridos, reprodutibilidade, tempo requerido por análise e principalmente o custo de cada um.

III.3

ELETRODOS SELETIVOS SENSÍVEIS A SALICILATO

Com a evolução dos eletrodos íon seletivos, dentro de sua curta história e desenvolvimento, vários eletrodos íons seletivos sensíveis a salicilato têm sido descritos, dada a importância de sua determinação.

O primeiro eletrodo sensível a salicilato surgiu em 1971⁵⁵. É um eletrodo de membrana líquida obtido a partir do trocador iônico salicilato de tetraheptilamônio em 1-decanol. Responde a salicilato

numa faixa de concentração de $1,00 \times 10^{-3}$ a $1,00 \times 10^{-1}$ M com inclinação de 58 mV por década de concentração.

Em 1972, Freiser e colaboradores descreveram um *coated-wire* (microeletrodo de fio recoberto)⁵⁶ sensível a salicilato, obtido a partir do trocador iônico Aliquat 336S em 1-decanol. Este eletrodo responde a salicilato na faixa de concentração de $1,00 \times 10^{-3}$ a $1,00 \times 10^{-1}$ M com inclinação de 53 mV.

A partir dos anos oitenta, vários outros eletrodos seletivos sensíveis a salicilato também têm sido descritos. HadjiIoannou e Critzadis⁵⁷, em 1981, fizeram um eletrodo de membrana líquida baseado em trocadores iônicos. Em 1982, Choi e Fung⁶⁰ descreveram um eletrodo de membrana de PVC baseado em Aliquat 336S em dibutilftalato como trocador iônico. HadjiIoannou e colaboradores⁵⁸ descreveram em 1984 um eletrodo de membrana líquida baseado em haletos de tetralquilamônio e p-nitrocumeno. Yipe e seus alunos⁵⁹ descreveram, em 1986, um eletrodo de membrana de PVC sensível a salicilato baseado num trocador iônico de cristal violeta-salicilato e C. Oliveira Neto e col.² construíram um eletrodo enzimático sensível a salicilato.

Na tabela 1 mostra-se as características de avaliação de todos os eletrodos sensíveis a salicilato descritos até aqui, para efeito de comparação.

TABELA 1: Avaliação dos Eletrodos Seletivos Sensíveis a Salicilato

TIPO DE ELETRODO	INCLINAÇÃO	RESPOSTA LINEAR	LIMITE DE DETECÇÃO	DURABILIDADE
Coated-wire ⁵⁶	53,0 mV	10 ⁻⁴ a 10 ⁻³ M	1,00x10 ⁻³ M	3 semanas
Membrana ⁶⁰ de PVC	56,0 mV	10 ⁻⁴ a 10 ⁻⁴ M	2,00x10 ⁻⁴ M	200 med
Membrana ⁵⁹ de PVC	36,0 mV	10 ⁻⁴ a 10 ⁻⁴ M	5,00x10 ⁻⁴ M	não dá
Membrana ⁵⁷ Líquida	58,0 mV	10 ⁻² a 10 ⁻⁵ M	1,00x10 ⁻⁵ M	baixa
Membrana ⁵⁸ Líquida	59,0 mV	10 ⁻⁴ a 10 ⁻⁵ M	2,00x10 ⁻⁵ M	não dá
Membrana ⁵⁵ Líquida	58,0 mV	10 ⁻⁴ a 10 ⁻³ M	1,00x10 ⁻³ M	não dá

Seguindo a evolução dos métodos potenciométricos e dos próprios eletrodos íon-seletivos, na tentativa de se construir um eletrodo sensível a salicilato com melhor desempenho geral, com boa resposta nernstiana, durabilidade e baixo custo, comparado aos já descritos, foram construídos e avaliados dois tipos de eletrodos:

1. Eletrodo de Membrana de PVC Sensível a Salicilato

2. Eletrodo Sensível a Salicilato com Suporte Vidro Condutor

CAPÍTULO IV

IV. ELETRODOS DE MEMBRANA DE PVC SENSÍVEIS A SALICILATO

IV.1 Preparação do Trocador Iônico

Utilizou-se o procedimento de Choi e Fung⁶⁰ na obtenção do trocador iônico. Preparou-se 10,00 ml de uma solução de brometo (ou hidróxido) de tetralquilamônio em dibutilftalato 10% (m/v ou v/v) que foi juntada a 10,00 ml de solução aquosa de salicilato de sódio $1,00 \times 10^{-4} M$. A solução final foi agitada por 15 minutos para completa conversão da forma de brometo (ou hidróxido) para salicilato.

Após separação, rejeitou-se a fase aquosa e a fase orgânica foi completamente secada com sulfato de sódio anidro.

IV.2 Construção dos Eletrodos

Todo o esquema de obtenção das membranas e construção dos eletrodos é mostrado nas Figuras 3A e 3B.

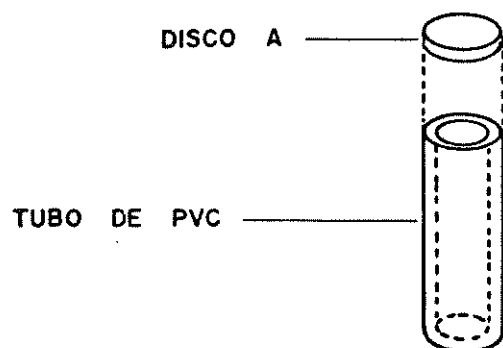
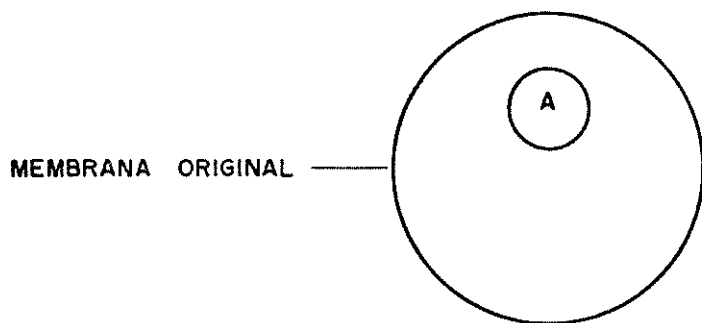
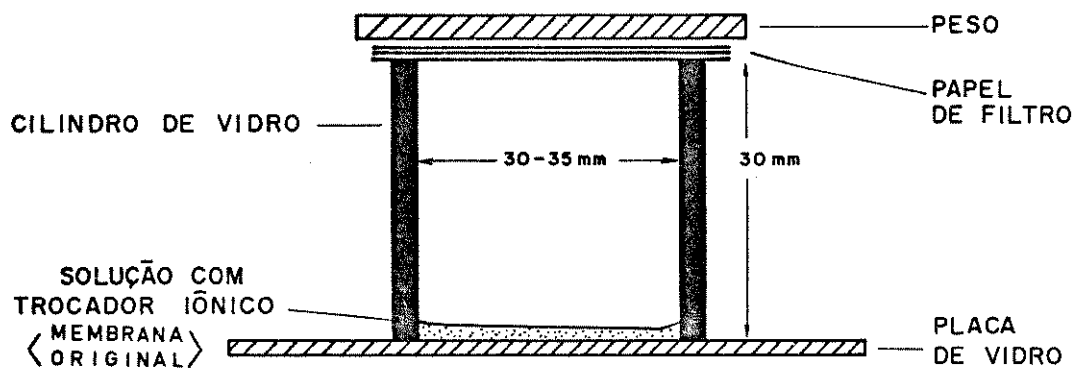


FIGURA 3A: Obtenção e Corte das Membranas.

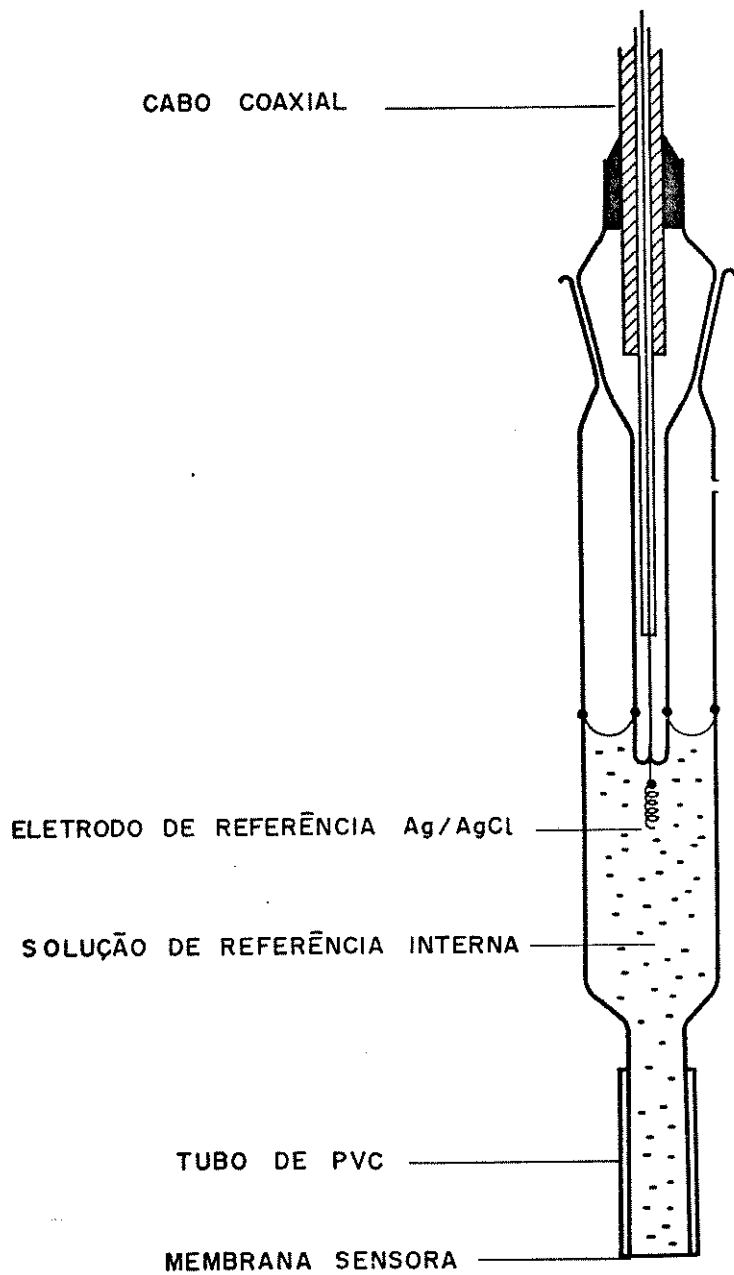


FIGURA 3B: Montagem dos Eletrodos.

A membrana e o eletrodo foram construídos como descrito por Thomas e colaboradores⁶⁴. A solução de salicilato de tetralquilamônio em dibutilftalato (0,40g) foi completamente misturada a 0,17g de PVC (cloreto de polivinila) em 6,0 ml de THF (tetrahydrofurano) para completa dissolução. Esta mistura foi colocada em um cilindro de vidro (de 35 mm de diâmetro interno) fixado em uma placa de vidro, por 48 horas para total evaporação do solvente.

Cortou-se um disco de 6 mm de diâmetro desta membrana e fixou-o a uma das extremidades de um tubo de PVC de mesmo diâmetro, que foi conectado a um tubo de vidro na forma de eletrodo. Um fio de Ag/AgCl foi introduzido no eletrodo pela outra extremidade e o conjunto preenchido com uma mistura de soluções de salicilato de sódio 0,10 M e cloreto de sódio 0,10 M, como referência interna.

Foram construídos vários eletrodos de membrana de PVC contendo salicilato de alguns sais de tetralquilamônio dissolvidos em diferentes solventes orgânicos, seguindo o procedimento citado acima.

Os ânions (brometo ou hidróxido) dos diferentes cátions, foram trocados, via extração, por salicilato na presença de vários solventes conforme procedimento já descrito.

Para certificar-se de que a troca iônica fora efetiva, realizaram-se testes qualitativos com nitrato de prata e cloreto férrico, para brometo e salicilato, respectivamente, tanto na fase orgânica como na fase aquosa, após separação.

IV.2.1 Propriedades das Membranas

A sensibilidade e seletividade dos eletrodos baseados em líquidos orgânicos imiscíveis em água podem estar relacionadas com dados obtidos a partir de sistemas líquidos de extração, quanto ao decréscimo da saturação da fase orgânica, por medidas dos valores das constantes de extração ou coeficientes de distribuição⁶².

Se a transferência de íons à membrana é associada às camadas de difusão, deve-se considerar, entretanto, a probabilidade de um equilíbrio de troca iônica e uma relativa mobilidade iônica estarem relacionadas à seletividade do eletrodo⁶³.

IV.2.2 Propriedades do Solvente

A escolha de um solvente adequado deve obedecer alguns critérios, tais como: completa dissolução do trocador iônico e ter boa viscosidade, dando plasticidade e resistência mecânica à membrana.

Assim, é comum utilizar-se de álcoois de cadeia longa ou ftalatos como solventes para esses trocadores. Estes últimos são um tanto viscosos, o que permite uma certa mobilidade aos sítios do trocador iônico, conferindo à membrana plasticidade e resistência mecânica.

IV.2.3 Sistema de Referência Interna nos Eletrodos

Todos os eletrodos de membrana de PVC sensíveis a salicilato usam sistemas aquosos de referência interna.

Utilizou-se uma mistura equimolar de salicilato de sódio (0,10 M) e cloreto de sódio (0,10 M), sendo o eletrodo de referência interna de Ag/AgCl.

IV.3. Avaliação dos Eletrodos

IV.3.1 Estudo da Influência do pH na Resposta do Eletrodo

Sabe-se que eletrodos seletivos respondem à atividade iônica e, em força iônica controlada, à transformamos em concentração molar.

Foram feitos estudos da influência de íons hidrogênio na resposta dos eletrodos sensíveis a salicilato em diferentes concentrações.

Em soluções padrão e amostras reais, numa faixa de pH entre 7,0 e 9,5, pode-se ter até 100% de íons salicilato livres. Para diferentes concentrações em salicilato, nesta faixa de pH, as medidas de potencial permanecem estáveis. Escolheu-se o valor intermediário de pH=8,5 como o ideal de trabalho.

IV.3.2 Procedimento Analítico

As soluções padrão de salicilato de sódio foram preparadas visando-se reproduzir as mesmas condições das soluções de amostras reais de aspirina.

O desempenho analítico dos eletrodos foi estudado por medidas de potencial de soluções padrão de salicilato de sódio (25,00 ml) na faixa de concentração de $1,00 \times 10^{-4}$ a $1,00 \times 10^{-6}$ M com 3,00 ml de solução borax saturada ($5,27 \times 10^{-2}$ M) e 3,00 ml de sulfato de amônio 2,0 M, que foram adicionados para se ter as soluções tamponadas em pH=8,5 e corrigida a força iônica em $1,20 \times 10^{-4}$ M, respectivamente.

As leituras de potencial foram feitas diretamente, após estabilização em $\pm 0,1$ mV, mergulhando-se o conjunto eletrodo indicador + eletrodo de referência nas mesmas, sob agitação magnética.

A célula eletroquímica está representada abaixo:

ELETRODO REFERÊNCIA INTERNA (Ag/AgCl)	NaCl 0,10M + Salicilato Sódio 0,10M	Membrana de PVC contendo Trocador Iônico	Solução Padrão ou Amostra	ELETRODO REFERÊNCIA EXTERNA (Ag/AgCl)
--	--	---	------------------------------------	--

As inclinações e os limites de detecção das curvas de calibração, para diversas membranas obtidas a partir de diferentes sais de amônio quaternário como trocadores iônicos em alguns solventes, via extração, são mostradas na Tabela 2.

TABELA 2

Inclinação e limite de detecção de vários eletrodos de membrana de PVC para salicilato.

Íons	Inclinação e limite de detecção em vários solventes				
	Dibutilftalato (10%)	Dibutilftalato (20%)	Dibutilftalato (30%)	Decanol (10%)	Dodecanol (10%)
Tetraetil (Br ⁻)	26,7 (4,0) ^a	0,2 (3,9)	20,6 (4,0)	2,2 (4,0)	-1,1 (3,9)
Tetraetil (OH ⁻)	-0,2 (4,0)	---	---	---	---
Tetrabutil (Br ⁻)	22,0 (4,0)	-7,3 (4,0)	---	-0,5 (4,0)	3,4 (4,0)
Tetrabutil (OH ⁻)	-0,8 (4,0)	---	---	---	---
Dodeciltrimetil (Br ⁻)	-21,2 (4,0)	---	1,1 (4,0)	-9,1 (4,0)	-0,3 (4,0)

a: O primeiro número indica a inclinação em mV com p [salicilato], correspondente ao limite de detecção, entre parenteses.

IV.4 Discussão dos Resultados

De acordo com os resultados obtidos, mostrados na tabela 2, nenhum dos eletrodos apresentou resposta nernstiana.

Os sais de amônio quaternário utilizados (Figura 4) são grupos tetraalquil de cadeia muito curta (tetraetil, tetrabutil e dodeciltrimetil) com baixo peso molecular, o que deve ter dificultado uma maior distribuição da carga sobre o íon amônio, tornando muito difícil uma troca efetiva do haleto ou hidróxido, via extração, pelo íon salicilato.

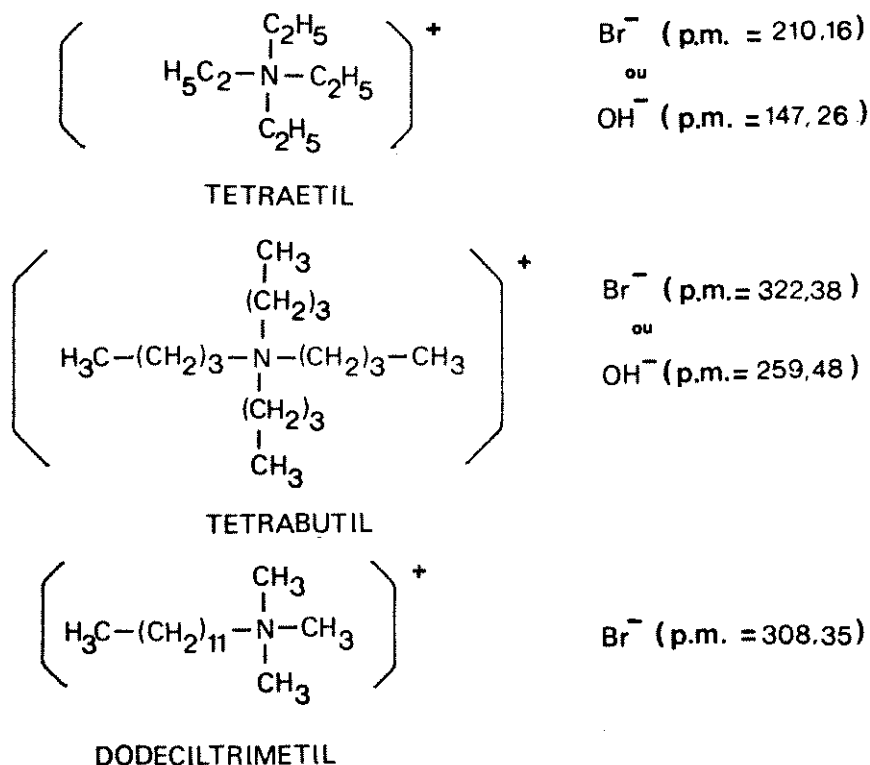


FIGURA 4: Estrutura dos Sais de Tetraalquilamônio

Isto foi verificado logo após a extração, com testes qualitativos para brometo e salicilato, com nitrato de prata e cloreto férrico, respectivamente.

Observou-se que muito pouco salicilato precipitou na fase orgânica, de interesse para obtenção da membrana, e uma quantidade mínima de brometo na fase aquosa, o que determina efetivamente a baixa sensibilidade destas membranas a íons salicilato.

Outro fator determinante para a baixa seletividade destas membranas pode estar associado ao solvente utilizado na extração.

Sabe-se, como já foi dito anteriormente, que o solvente deve dissolver completamente o trocador iônico e ter boa viscosidade, conferindo plasticidade e resistência mecânica à membrana. Entretanto, dibutilftalato dissolve muito pouco os sais de tetraquilamônio, apesar de conferir plasticidade e resistência mecânica às membranas.

Decanol e dodecanol, que também têm sido descritos⁵⁶⁻⁶³, dissolvem razoavelmente os sais de amônio quaternário, mas não ajudam na troca dos íons, dificultando sua mobilidade e conferindo às membranas uma baixa plasticidade e/ou pequena resistência mecânica.

ELETRODO SELETIVO SENSÍVEL A SALICILATO COM SUPORTE VIDRO CONDUTOR

V.1 Introdução

O eletrodo em que a membrana é depositada sobre a superfície de um vidro condutor surgiu inspirado nos já descritos *coated-wire* (microeletrodos de fio recoberto).

Um eletrodo seletivo de fio recoberto refere-se a um tipo de eletrodo em que a espécie eletroativa é incorporada a um filme polimérico fino recobrindo diretamente um condutor metálico.

A idéia de desenvolver tais eletrodos veio do trabalho de Lima e Machado⁷⁶, que aplicam o sensor sobre um suporte de resina condutora, permitindo o estabelecimento de contato metálico interno com a membrana, não sendo necessário usar eletrodo referência interna nem qualquer solução interna.

Os *coated-wire* têm sido preparados para uma grande variedade de íon e têm aplicações gerais em análises instrumentais e clínicas⁵⁶. Dentre esses, um *coated-wire* sensível a salicilato foi preparado a partir de Aliquat 336S (cloreto de tricaprilmetilamônio) em 1-decanol e salicilato de sódio, conforme descrito. O eletrodo apresenta uma inclinação de 53,0 mV por década de concentração, numa faixa de concentração de $1,00 \times 10^{-4}$ a $1,00 \times 10^{-3} M$. Avaliando-se este eletrodo, observou-se que sua durabilidade e sensibilidade decresce muito rapidamente. Talvez, a fina espessura do filme polimérico, contendo o trocador iônico, se desgaste rapidamente.

Assim, de posse destes relatos e dados experimentais, construiu-se eletrodos utilizando-se como suporte para as membranas, vidros condutores.

Esses vidros de borossilicatos comuns, são recobertos com óxidos metálicos em uma de suas superfícies planas, o que poderia aumentar sensivelmente a condutância de tais membranas, aliada à eliminação da referência interna.

V.2. Preparação, Construção e Características do Eletrodo

O trocador iônico foi obtido, via extração, conforme o procedimento anteriormente descrito para os eletrodos de membrana de PVC. O Aliquat 336S (cloreto de tricaprilmetilamônio - p.m = 404,17) foi convertido à forma de salicilato, obtendo-se salicilato de tricaprilmetilamônio em dibutilftalato, como trocador iônico.

Os teste qualitativos, anteriormente descritos, quando realizados, mostraram que houve troca efetiva do cloreto pelo salicilato. Observou-se total precipitação de cloreto na fase aquosa e um complexo de cor vermelho-escura de ferro-salicilato, na fase orgânica.

A membrana foi obtida conforme procedimento já descrito, utilizando-se as mesmas quantidades requeridas, tanto para o trocador iônico como para o PVC. A quantidade mínima de tetrahydrofurano, utilizada para a total dissolução do trocador e do PVC, foi de aproximadamente 2 ml.

Após homogeneização, a mistura final foi depositada sobre a superfície do vidro condutor e deixada por 24 horas à temperatura ambiente, para total evaporação do solvente e fixação da membrana, conforme ilustração fotográfica (Figura 5).



FIGURA 5: Membrana depositada sobre a superfície do Vidro Condutor.

V.3. Avaliação do Eletrodo

O desempenho analítico do eletrodo foi estudado com o mesmo procedimento utilizado para as soluções padrão de salicilato, descrito para os eletrodos de membrana de PVC.

V.3.1 Resultados e Discussão

V.3.1.1 Propriedades da Membrana e do Vidro Condutor

A membrana obtida apresenta grande plasticidade e resistência mecânica. Isto pode estar relacionado ao uso de dibutilftalato como solvente, que além de permitir a mobilidade do trocador iônico, contribui efetivamente na plasticidade e resistência mecânica da membrana, devido a sua boa viscosidade e baixa constante dielétrica, comparando-o ao decanol e dodecanol.

O vidro condutor, além de servir como suporte para a membrana, como o fio ou placa de platina nos *coated-wire*, confere uma maior condutância ao conjunto eletrodo indicador + eletrodo de referência, diminuindo sensivelmente o tempo de resposta e aumentando o tempo de vida útil e durabilidade da membrana, comparado com outros eletrodos seletivos sensíveis a salicilato, conforme a Tabela 1.

V.3.1.2 Célula Eletroquímica

Alliado à maior mobilidade e condutância do vidro condutor, a durabilidade maior desse eletrodo, pode estar diretamente relacionada à ausência da referência interna, presente nos eletrodos descritos anteriormente, com membrana de PVC.

A célula eletroquímica do conjunto eletrodo vidro condutor + eletrodo de referência + amostra é representada abaixo e ilustrada na Figura 6:

VIDRO	MEMBRANA	SOLUÇÃO	ELETRODO
CONDUTOR	DE PVC c/ TROCADOR	PADRAO ou AMOSTRA	REF. EXT. (Ag/AgCl)



FIGURA 6: Ilustração da Célula Eletroquímica (EVC + ERef + Amostra)

V.3.1.3 Influência de íons hidrogênio na resposta do eletrodo

A influência do pH na resposta do eletrodo, em diferentes concentrações de salicilato, também foi estudada. A melhor faixa de pH de trabalho está entre 7,0 e 9,5, optando-se por trabalhar em $\text{pH}=8,5$.

Em pH baixos, na região ácida, numa faixa de 2,0 a 4,0, há uma efetiva protonação de íons salicilato, tendo-se ácido salicílico em solução. A pHs altos, na região alcalina, acima de $\text{pH}=11,0$, íons hidroxila podem contribuir para a formação de outros isômeros derivados do ácido salicílico ou até mesmo, para uma segunda desprotonação, agora no anel aromático.

Estas interferências nos extremos da escala pH, para diferentes concentrações de íons salicilato, levam a uma brusca oscilação na leitura ou mesmo na medida de potencial da célula eletroquímica em questão.

V.3.1.4 Curva de Calibração

As curvas de calibração foram construídas pelo método usual. Num bequer contendo água destilada (25,00 ml), 3,00 ml solução bórax ($5,27 \times 10^{-2} \text{M}$) e 3,00 ml de sulfato de amônio (2M), mergulhou-se o conjunto eletrodo indicador (EVC) + eletrodo de referência (ERef) e foram adicionados incrementos de concentrações de salicilato de sódio conhecidas, a fim de se obter vários pontos intermediários numa faixa de concentração de $1,00 \times 10^{-6}$ a $1,00 \times 10^{-4} \text{M}$.

Uma curva de calibração característica para esse eletrodo é mostrada na Figura 7A.

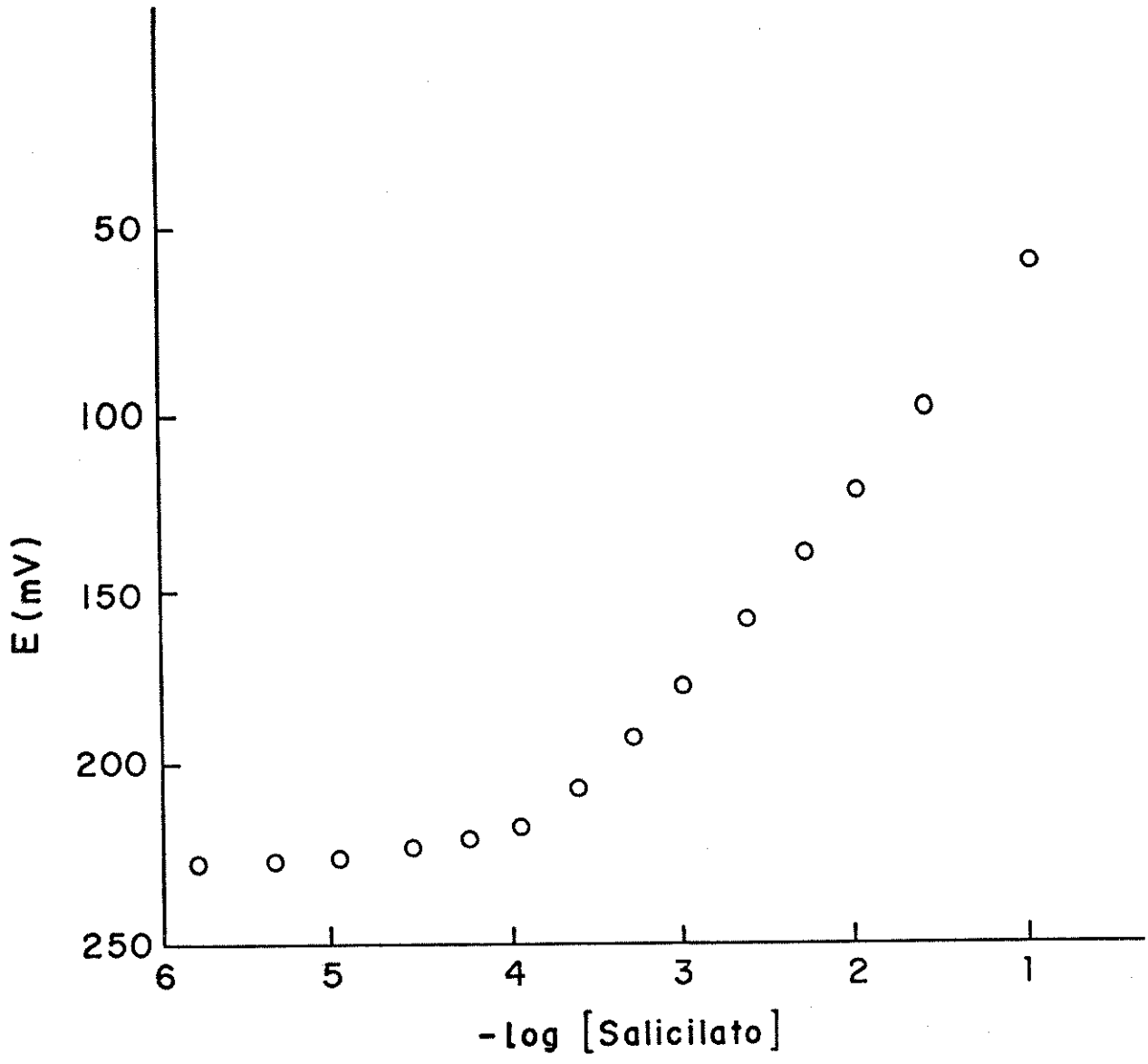


FIGURA 7A: Curva de Calibração com o Eletrodo Vidro Condutor

Inclinação: 55,8 mV
Limite de Detecção: $1,00 \times 10^{-4} M$
Limite Nernstiano: $2,50 \times 10^{-4} M$

Através das curvas de calibração observou-se que a resposta do eletrodo é nernstiana acima de $2,50 \times 10^{-4} \text{M}$, com inclinação de 55,8 mV por década de concentração e o limite de detecção em $1,00 \times 10^{-4} \text{M}$ de salicilato (Figura 7B).

É importante salientar que a inclinação é de 58,0 mV, na faixa de concentração de $1,00 \times 10^{-3}$ a $1,00 \times 10^{-4} \text{M}$, justamente na região que abrange as amostras reais de aspirina (Figura 7B).

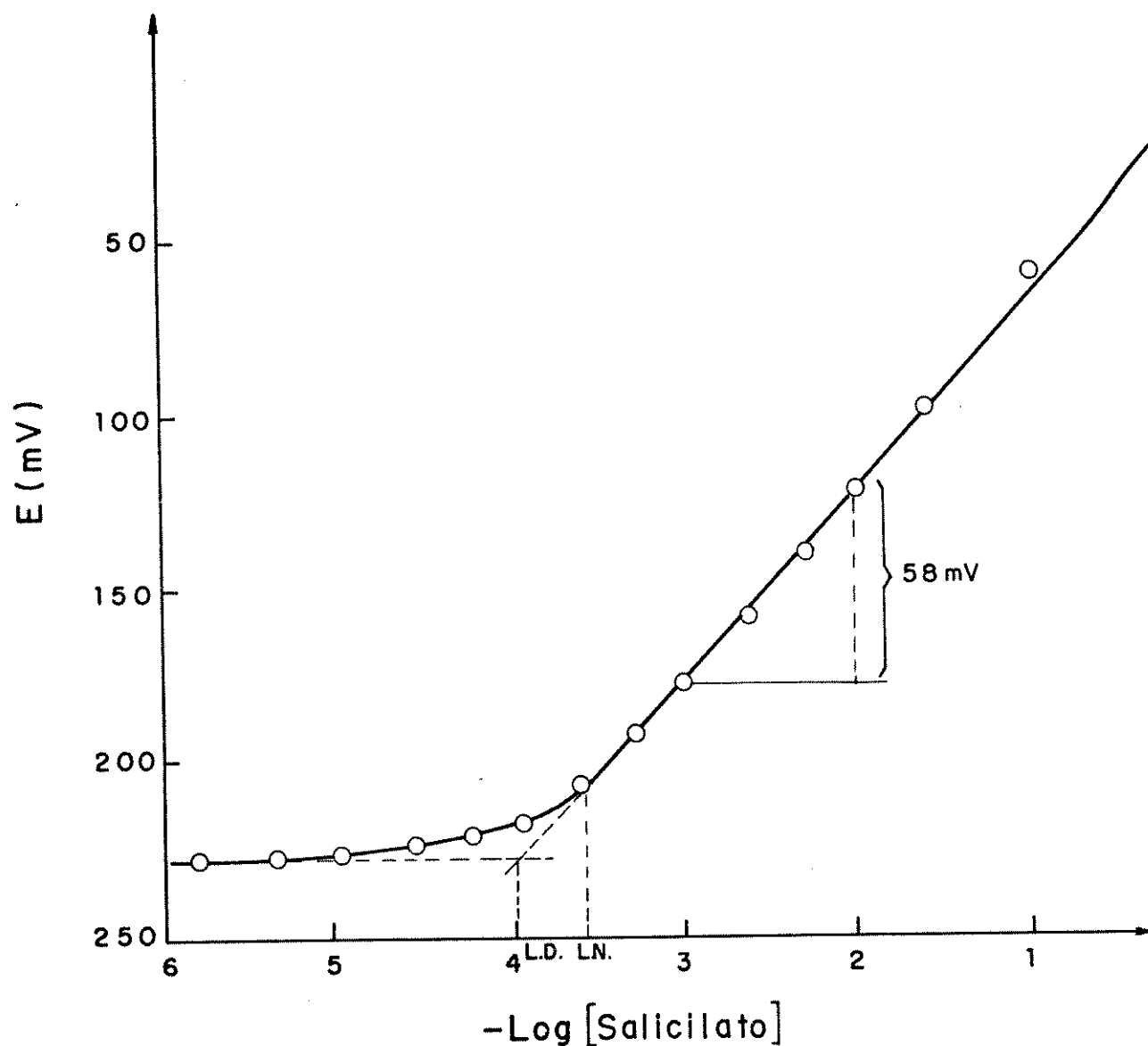


FIGURA 7B: Limite de detecção, Limite Nernstiano e Inclinação na Curva de Calibração com o EVC .

V.3.1.5 Seletividade do Eletrodo

Ao desenvolver um novo eletrodo sensível a determinado íon, deve-se dispor de um sítio carregado que forneça seletividade ao mesmo, na presença de possíveis interferentes.

A determinação dos coeficientes de seletividade potenciométrico ($K_{Sal,B}^{POT}$) frente a vários ânions interferentes como acetato, benzoato, brometo, carbonato, cloreto, iodeto, nitrato e sulfato, foram calculados, por extrapolação, nas curvas de calibração, a partir de medidas de potencial de solução contendo uma quantidade fixa do íon interferente (B) em $1,00 \times 10^{-3} M$, pois nas amostras reais já é uma quantidade relativamente alta, na qual se adiciona pequenos incrementos do íon primário (A=salicilato).

Entretanto, deve-se salientar mais uma vez que o coeficiente de seletividade é um número aproximado, podendo ser utilizado apenas para estimar a ordem de magnitude das interferências esperadas em uma dada aplicação. Seu valor não pode ser utilizado para fazer correções na leitura do potencial do eletrodo, em soluções nas quais o nível de interferência é alto, uma vez que a Equação (24) é seguida apenas para baixos teores de interferentes.

A equação de Nernst, modificada, para o eletrodo em estudo, assume a seguinte forma:

$$E = E^0 + \frac{2,303RT}{F} \log(a_{Sal} + \sum K_{Sal,B}^{POT} a_B)$$

Uma curva típica, utilizada na obtenção dos valores do coeficiente de seletividade potenciométrico, é apresentada na Figura 8. Os valores são retirados da curva por extrapolação.

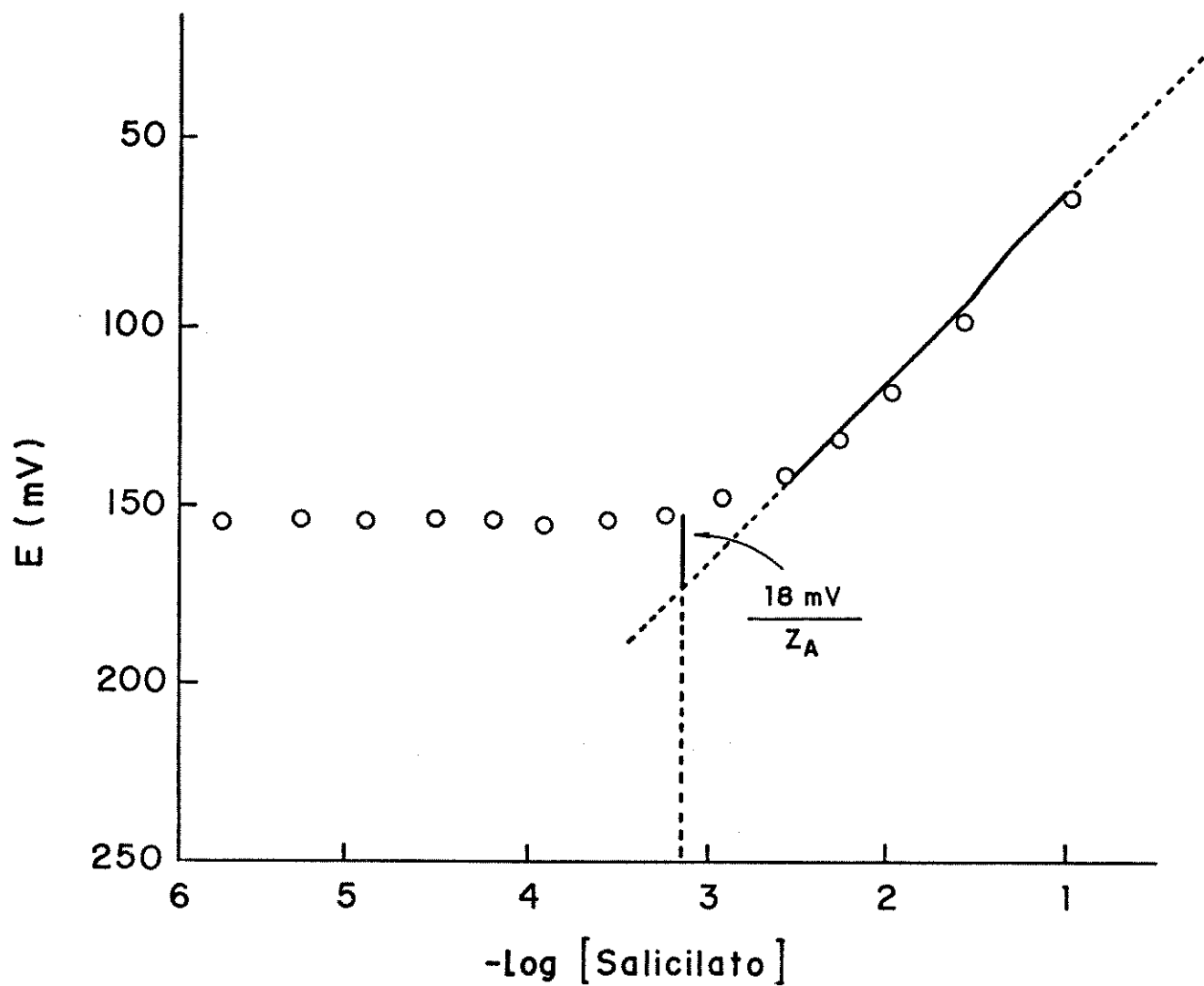


FIGURA 8: Curva de calibração utilizada para obtenção do $K_{\text{Sal},B}^{\text{POT}}$
 Ion Primário: salicilato ($1,00 \times 10^{-1}$ a $1,00 \times 10^{-6} \text{M}$)
 Ion Interferente: iodeto ($1,00 \times 10^{-3} \text{M}$).

A Tabela 3 apresenta os valores dos coeficientes de seletividade potenciométrica para vários ânions interferentes, obtidos com o eletrodo sensível a salicilato com suporte vidro condutor.

TABELA 3: Coeficientes de Seletividade Potenciométricos ($K_{Sal,B}^{POT}$) para vários ânions, obtidos com o EVC sensível a salicilato.

ÂNION INTERFERENTE	CONCENTRAÇÃO INTERFERENTE	COEFICIENTE DE SELETIVIDADE ($K_{Sal,B}^{POT}$)
ACETATO	$1,0 \times 10^{-3}$ M	$6,6 \times 10^{-2}$
BENZOATO	$1,0 \times 10^{-3}$ M	$8,3 \times 10^{-2}$
BROMETO	$1,0 \times 10^{-3}$ M	$1,1 \times 10^{-1}$
CARBONATO	$1,0 \times 10^{-3}$ M	$5,6 \times 10^{-2}$
CLORETO	$1,0 \times 10^{-3}$ M	$6,3 \times 10^{-2}$
IODETO	$1,0 \times 10^{-3}$ M	$2,3 \times 10^{-1}$
NITRATO	$1,0 \times 10^{-3}$ M	$9,1 \times 10^{-2}$
SULFATO	$1,0 \times 10^{-3}$ M	$7,1 \times 10^{-2}$

Os resultados mostraram que aqueles ânions pouco interferem em concentrações superiores a $1,00 \times 10^{-3} M$ de salicilato; para faixas de concentração inferiores a esta, íons brometo e iodeto interferem significativamente.

As interferências de íons brometo e iodeto podem ser correlacionadas ao equilíbrio de troca iônica, que é estabelecido na interface membrana/solução, proporcionado pelo uso do método das soluções misturadas.

Íons salicilato são trocados por íons cloreto muito facilmente, quando realizada a extração para obtenção do trocador iônico, formando um complexo mais estável (salicilato de tricaprilmetilamônio).

No entanto, quando o eletrodo é posto em contato com soluções aquosas de salicilato que contenham uma quantidade significativa de íons brometo ou iodeto, estes íons, por serem maiores que o próprio cloreto, formam complexos muito mais estáveis com o trocador (brometo ou iodeto de tricaprilmetilamônio), na interface membrana/solução, do que salicilato. Então o eletrodo responde mais sensivelmente a íons brometo e iodeto.

A medida que se adiciona novos incrementos de salicilato, no decorrer de uma curva de calibração, aumentando sua concentração, comparável à concentração fixa do ânion interferente, brometo ou iodeto, o eletrodo mostra-se mais seletivo ao íon salicilato, respondendo exclusivamente a esse íon.

CAPÍTULO VI

APLICAÇÃO ANALÍTICA

Após a avaliação dos eletrodos, escolheu-se aquele de melhor desempenho geral e com o qual foram feitas análises de amostras reais de aspirina, pelo método potenciométrico direto e pelo método padrão descrito na literatura, para efeito de comparação.

Para as determinações foram triturados cerca de vinte comprimidos, para cada série de análise.

VI.1 Análise Potenciométrica Direta⁶⁰:

Procedimento Analítico:

Uma tomada de ensaio, equivalente a cerca de 500 mg de ácido acetilsalicílico, foi refluxada com 25,00 ml de NaOH 0,5000 M por uma hora. A solução foi filtrada e transferida para um balão de 250 ml e o volume completado com água destilada.

Uma alíquota (10,00 ml) desta solução foi neutralizada com ácido sulfúrico diluído, usando verde de bromocresol como indicador e diluída com água destilada para 100 ml; 25,00 ml desta solução foram misturados a 3,00 ml de solução borax saturada e 2,00 ml de sulfato de amônio 2,0 M. Após uma curva de calibração foram medidos os valores de potencial das soluções amostras.

VI.2 Método Oficial:

Procedimento Analítico:

A Farmacopéia Brasileira⁶⁴ recomenda o seguinte procedimento: Cerca de 1,5g da amostra de aspirina, exatamente pesados, são colocados em frasco junto a 50,00 ml de NaOH 0,5000 N e a mistura fervida brandamente por dez minutos. Junta-se fenolftaleína e titula-se o excesso de NaOH com H_2SO_4 0,5000 N. Logo após, titula-se um branco. Cada ml de NaOH 0,5000 N equivale a 45,04 mg de $C_9H_8O_4$.

VI.3 Resultados e Discussão

Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 4.

O método potenciométrico direto apresentou-se ligeiramente superior. As estimativas dos desvios padrões são semelhantes, indicando precisões comparáveis.

Na potenciometria direta, o produto hidrolizado, salicilato, é determinado diretamente, mergulhando-se o eletrodo, tornando o procedimento mais simples, quando se considera um número grande de amostras.

TABELA 4: Comparação das médias e estimativas dos desvios padrões para os métodos: Potenciométrico com eletrodo seletivo e o da Farmacopéia Brasileira, correspondentes à quatro análises separadas.

MASSA DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO ENCONTRADA		
	POTENCIOMETRIA DIRETA	MÉTODO OFICIAL
Amostra 1	0,446g	0,440g
2	0,446g	0,438g
3	0,450g	0,437g
4	0,447g	0,438g
Média	0,447g	0,438g
s	0,0019	0,0017
x	89,4	87,6

Contudo, a aplicação analítica deverá ser avaliada também, com amostras de matéria prima pura, ou seja, do ácido acetilsalicílico, para se verificar possíveis interferências de outras substâncias presentes normalmente em comprimidos, o que explica as porcentagens encontradas.

Dever-se-á também, analisar outros tipos de formulações que empregam o ácido acetilsalicílico como componente ativo.

Evidentemente, esses estudos extrapolam os objetivos deste trabalho, e serão realizados, posteriormente, com vistas à publicação.

CAPÍTULO VII

DISCUSSÃO GERAL

A partir dos anos 60, com a construção e comercialização imediata, os eletrodos seletivos vem proporcionando uma excelente alternativa entre os métodos analíticos, devido ao baixo custo e fácil construção.

O primeiro passo deste trabalho foi o de se fazer uma revisão geral sobre os métodos potenciométricos, potenciometria com eletrodos seletivos e sobre a análise de Aspirina.

Devido à escassa bibliografia em português e pouca divulgação da técnica, optou-se por descrever de forma geral a potenciometria com eletrodos seletivos, propondo-se um roteiro para futuros trabalhos.

A baixa sensibilidade dos eletrodos de membrana de PVC construídos pode estar relacionada ao tamanho dos grupos tetraquilamônio utilizados como trocadores iônicos. Talvez, utilizando-se sais de tetraquilamônio com alto peso molecular, em que a carga sobre o íon amônio distribua mais, a troca iônica possa ser efetivada, como no caso do Aliquat 3365 (cloroto de tricaprilmetilamônio).

O papel do solvente ainda não é claramente entendido; sabe-se apenas sobre os requisitos físicos requeridos: alta viscosidade, imiscível em água, e baixa constante dielétrica.

Pode-se, numa segunda fase, avaliar outros tipos de solventes orgânicos, tentando-se obter uma troca efetiva para o anion de interesse, conferindo plasticidade, resistência mecânica e seletividade à membrana.

O eletrodo em que a membrana é depositada sobre o vidro condutor mostrou bom desempenho geral, comparável aos já descritos na literatura.

O uso do dibutilftalato como solvente, conferindo plasticidade e resistência mecânica à membrana, aliado ao uso do vidro condutor como suporte, proporciona uma excelente alternativa ao uso do *coated-wire* (microeletrodo de fio recoberto).

A boa sensibilidade e seletividade do eletrodo aliada ao baixo tempo de resposta e boa inclinação (58 mV), limite nernstiano e limite de detecção, pode ser creditada a eliminação do eletrodo de referência interna e ausência de solução interna.

O trabalho realizado permite concluir que é possível construir eletrodos seletivos sensíveis a salicilato com características aceitáveis para a sua utilização rotineira em laboratório. Assim, a determinação de ácido acetilsalicílico em comprimidos mostrou-se viável como método rotineiro, em substituição ao oficial, recomendado pela Farmacopéia Brasileira, e com vantagens.

Pode-se, dispondo de solventes e trocadores iônicos com características idênticas às já descritas, construir eletrodos seletivos a outras espécies aniônicas, especialmente às que compõem outros fármacos, cujos métodos existentes contrastam com a realidade do país, em relação a custo, tempo requerido por análise, precisão, etc.

Deve-se salientar que é possível a aplicação imediata nas aulas práticas de cursos a nível de graduação, como método alternativo, podendo ser construído e avaliado pelos alunos, introduzindo-os na técnica potenciométrica.

CAPÍTULO VIII

PARTE EXPERIMENTAL

VIII.1 Instrumental Analítico

Eletrodo de Referência: Utilizou-se um eletrodo de Ag/AgCl In-gold modelo G 447B, preenchido com solução de cloreto de potássio 3M.

Eletrodo de vidro: foi utilizado um eletrodo Analion modelo VG20-A65B.

pHmetro/milivoltímetro: Imbracrios modelo IA 601.

Vidro condutor: utilizou-se vidros de borossilicatos comuns em que foram depositados óxidos metálicos sobre uma das superfícies planas. O vidro condutor foi produzido no Instituto de Física da UNICAMP.

VIII.2 Padronização de Soluções

VIII.2.1 Padronização de Hidróxido de sódio 0,5000N

A solução de hidróxido de sódio 0,5000N foi padronizada⁶⁵ utilizando-se biftalato de potássio como padrão primário.

VIII.2.2 Padronização de Ácido Sulfúrico 0,5000N

A solução de ácido sulfúrico 0,5000N foi padronizada utilizando-se a solução de hidróxido de sódio padronizada.

VIII.3 Reagentes e Soluções

1. Brometo de Tetraetilamônio - Aldrich p.a.;
2. Brometo de Tetrabutilamônio - Fluka p.a.;
3. Brometo de Dodeciltrimetilamônio - Aldrich p.a.;
4. Hidróxido de Tetraetilamônio - Aldrich p.a.;
5. Hidróxido de Tetrabutilamônio - Aldrich p.a.;
6. Dibutilftalato - Mallinckrodt p.a.;
7. Decanol - B.D.H. p.a.;
8. Dodecanol - Aldrich p.a.;
9. Salicilato de Sódio - Fluka p.a.;
10. Sulfato de sódio anidro - ECIBRA p.a.;
11. Tetrahidrofurano - Art Lab p.a.;
12. Aliquat 336S - Aldrich p.a.;
13. PVC em pó, Breon 113, B. P. Chemicals;
14. solução de cloreto de potássio 3,0M;
15. solução diluída de nitrato de prata;
16. solução diluída de cloreto férrico;
17. solução de acetato de sódio $10^{-3}M$;
18. solução de sulfato de sódio $10^{-3}M$;
19. solução de iodeto de sódio $10^{-3}M$;
20. solução de carbonato de sódio $10^{-3}M$;
21. solução de brometo de sódio $10^{-3}M$;
22. solução de nitrato de sódio $10^{-3}M$;
23. solução de benzoato de sódio $10^{-3}M$;
24. solução de cloreto de sódio $10^{-4}M$;

25. solução de verde de bromocresol;
26. solução de fenolftaleína;
27. comprimidos de aspirina - Bayer;
28. solução bórax saturada $2,57 \times 10^{-2} \text{M}$;
29. solução de sulfato de amônio 2M.

REFERÊNCIAS

1. Rahni, M.A.N.; Guillbault, G.G.; Oliveira Neto, G., *Anal. Chem.*, **58**, 523 (1986).
2. Rahni, M.A.N.; Guillbault, G.G.; Oliveira Neto, G., *Anal. Chim. Acta*, **181**, 219 (1986).
3. Stillman, J.S., *Arthritis Rheum.*, **20**, 510 (1977).
4. Florey, K., *Anal. Prof. Drug Subst.*, **8**, 1 (1979).
5. Ferreira, S.H., *Ciência Hoje*, **3**, 56 (1985).
6. Goodman, L.S.; Gilman, A., *The pharmacological basis of therapeutics*, 6 ed., Nova Iorque, Macmillan, 1980, 688.
7. Mingóia, Q., *Química Farmacêutica*, S.Paulo, Melhoramentos, 1967, 136-138.
8. Zanini, A.C.; Oga, S., *Farmacologia Aplicada*, S.Paulo, Atheneu, 1979, 257-258.
9. Kelly, C.A., *J. Pharm. Sci.*, **59**, 1053 (1970).
10. Stempel, E., *Am. J. Pharm.*, **133**, 226 (1961).
11. Edwards, L.J.; Gore, D.N.; Rapson, H.D.C.; Taylor, M.T., *J. Pharm. Pharmacol.*, **7**, 892 (1955).
12. Luther, R., *Z. Phys. Chem.*, **27**, 364 (1898).
13. Dearden, J.C.; George, E., *Pharm. Acta. Helv.*, **54**, 347 (1979).
14. Ager, D.J.; Alexander, K.S.; Bhatti, A.S.; Blackburn, J.S.; Dollimore, D.; Koogan, T.S.; Mooseman, K.A.; Muhvic, C.M.; Sims, B.; Webb, V.J., *J. Pharm. Sci.*, **75**, 97 (1986).
15. Koryta, J., *Anal. Chim. Acta.*, **183**, 1, (1986).

16. Arnold, M.A.; Solsky, R.L., *Anal. Chem.*, **58**, 84R (1986).
17. Koryta, J., *Ion-Selective Electrodes*, Cambridge University Press, Cambridge, Inglaterra, 1975.
18. Bailey, P.L., *Analysis with Ion-Selective Electrodes*, Heyden, Londres, 1976.
19. Covington, A.K., *Ion-Selective Electrode Methodology*, vol.1 e 2, CRC Press, Inc, 1979.
20. IUPAC Commission on Analytical Nomenclature, *Pure Appl. Chem*, **48**, 127 (1976).
21. Cremer, M., *Z. Biol.*, **47**, 562 (1906).
22. Haber, F.; Klemensiewicz, Z, *Z. Physik. Chem.*, **67**, 385 (1909).
23. Blum, E.; Lengyel, B., *Trans. Faraday Soc.*, **30**, 461 (1934).
24. Eisenman, E. (ed.), *Glass Electrodes for Hydrogen and other Cation*, Marcel Dekker, Nova Iorque, 1967.
25. Teneloo, H.J.C., *J. Biol. Chem.*, **133**, 333 (1936).
26. Kolthoff, J.M.; Sanders, H.L., *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 416 (1937).
27. Pungor, E.; Rokosyni, H., *Acta. Chim. Acad. Sci. Hung.*, **27**, 63 (1961).
28. Frant, M.S.; Ross, J.W., *Science*, **154**, 3756 (1966).
29. Ross, J.W., *Science*, **156**, 3780 (1967).
30. Stefanoc, Z.; Simon, W., *Microchem. J.*, **12**, 125 (1967).
31. Stow, R.F.; Baer, R.F.; Randall, B.F., *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, **38**, 646 (1957).
32. Covington, A.K., *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, 355 (1974).
33. Nicolsky, B.P., *Acta. Physicochim. URSS*, **7**, 597 (1937).
34. Orion Research Inc., *Analytical Methods Guide*, oct. 1972.

35. Buck, R.P.; Shepard, V.R., *Anal.Chem.*, *46*, 2097 (1974).
36. Lima, J.L.F.C.; Machado, A.A.S.C., *Rev. Port. Quim.*, *21*, 153 (1979).
37. Griffiths, G.H.; Moody, G.J.; Thomas, J.D.R., *Analyst*, *97*, 420 (1972)
38. Fiedler, U., *Anal. Chim. Acta.*, *88*, 111 (1977).
39. Lindner, E.; Morf, W.E.; Simon, W., *Anal. Chem.*, *47*, 1595 (1975).
40. Bailey, P.L.; Riley, M., *Analyst*, *100*, 145 (1975).
41. Katz, S.A.; Rechnitz, G.A., *Z. Anal. Chem.*, *196*, 248 (1963).
42. Gavach, C.; Seta, P., *Anal. Chim. Acta.*, *50*, 407 (1970).
43. Gavach, C.; Bertrand, C., *Anal. Chim. Acta.*, *55*, 385 (1971).
44. Ives, D.J.G.; Janz, G.J., eds, *Reference Electrodes*, Academic Press, Nova Iorque, 1961.
45. Moody, G.J.; Thomas, J.D.R., *Talanta*, *18*, 1251 (1971).
46. Moody, G.J.; Thomas, J.D.R., *Analyst*, *95*, 310 (1970).
47. Orion Research Inc., *Newsletter*, *1*, 29 (1969).
48. Orion Research Inc., *Newsletter*, *2*, 5 (1970).
49. Gran, G., *Analyst*, *77*, 661 (1952).
50. Lo, L.Y.; Bye, A., *J. Chrom.*, *181*, 473 (1980).
51. All, S.L., *J. Chrom.*, *126*, 651 (1976).
52. Mantel, M.; Stillier, M., *Anal. Chem.*, *48*, 712 (1976).
53. Kleinerman, M., *Anal. Lett.*, *10*, 205 (1977).
54. Forman, F.; Firberg, L., *J. Pediatr.*, *70*, 207 (1967).
55. Haynes, W.M.; Wagenknecht, J.H., *4*, 491 (1971).
56. James, H.; Carmack, C.; Freiser, H., *Anal. Chem.*, *44*, 856 (1972).

57. Hadjiioannou, T.P.; Critzapis, P.C., *Anal. Chim. Acta.*, *126*, 51 (1981).
58. Papazoglou, A.M.; Diamandis, E.P.; Hadjiioannou, T.P., *Anal. Chim. Acta*, *159*, 393 (1984).
59. Chan, W.H.; Swong, M.; Yip, C.W., *J. Chem. Ed.*, *63*, 915 (1986).
60. Choi, K.K.; Fung, K.W., *Anal. Chim. Acta.*, *138*, 305 (1982).
61. Craggs, A.; Moody, C.J.; Thomas, J.D.R., *J. Chem. Ed.*, *51*, 541 (1974).
62. Ruzicka, J.; Jjell, J.C., *Anal. Chim. Acta.*, *51*, 1 (1970).
63. Carmack, G.P.; Freiser, H.; James, H.J., *Anal. Chem.*, *44*, 853 (1972).
64. Cunha, F.A. (ed), *Farmacopéia Brasileira*, 3a.ed, Org. Andrei Ed. Ltda., S.Paulo, 1977, p76.
65. Basset, J.; Denney, R.C.; Jeffery, G.H.; Mendham, J., *Vogel Análise Inorgânica Quantitativa*, 4a.ed, Guanabara Dois, R.J., 1984.