

CRISTINA MARIA CAVADAS MORAIS DO COUTO

LICENCIADA EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS (U.P)

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE SISTEMAS DE
FLUXO CONTÍNUO DE ALTA SENSIBILIDADE COM
DETECÇÃO POTENCIOMÉTRICA**

FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO

PORTO
1999

CRISTINA MARIA CAVADAS MORAIS DO COUTO

LICENCIADA EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS (U.P)

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE SISTEMAS DE
FLUXO CONTÍNUO DE ALTA SENSIBILIDADE COM
DETECÇÃO POTENCIOMÉTRICA**

*Dissertação de candidatura ao grau de Doutor à
Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto*

FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO

PORTO
1999

Resumo

Neste trabalho descreve-se, de uma forma pormenorizada, a construção, desenvolvimento e avaliação de sistemas de análise por injeção em fluxo com detecção potenciométrica de sensibilidade aumentada, utilizando eléctrodos de membrana cristalina homogénea.

Na construção dos eléctrodos de membrana cristalina homogénea as respectivas misturas sensoras foram preparadas por precipitação de Ag_2S , nos detectores sensíveis a Ag(I) e S^{2-} , ou co-precipitação de Ag_2S e o correspondente sulfureto metálico ($\text{MS/Ag}_2\text{S}$, nos eléctrodos sensíveis a Cu(II) , Cd(II) e Pb(II)) ou halogeneto de prata ($\text{AgX/Ag}_2\text{S}$ ($\text{X} = \text{Cl}^-$, Br^- e I^-)). Para a obtenção da membrana sensora foi utilizada uma técnica de prensagem como forma de aglutinação do sensor sólido. Os eléctrodos foram construídos com uma configuração tubular, em que cada corpo albergava uma ou duas membranas sensoras.

Com a finalidade de se conseguir aumentar a sensibilidade da metodologia potenciométrica, atendendo a que esta é razão da variação do sinal analítico (ΔS) relativamente à variação da concentração do analito (ΔC), promoveu-se o acréscimo da variação de diferença de potencial medida pelo detector utilizado. Este aumento de sensibilidade foi conseguido utilizando sistemas diferenciais, utilizando dois eléctrodos tubulares, semelhantes, colocados sequencialmente; e sistemas tipo “soma” utilizando um eléctrodo indicador tubular composto por duas membranas com igual sensor, em que o sinal analítico resulta da soma das respectivas diferenças de potencial, relativamente a um mesmo eléctrodo de referência.

Os ensaios de avaliação dos dois tipos de montagens de sensibilidade acrescida, para todos os iões mencionados, constavam da determinação dos parâmetros gerais da curva de calibração, do efeito do pH nos valores de potencial, do tempo de vida dos eléctrodos, da estabilidade dos potenciais ao longo de um dia de trabalho e da determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos relativamente a diversos interferentes.

Avaliou-se igualmente a possibilidade de aplicação de alguns dos sistemas de detecção de sensibilidade aumentada implementados a determinações analíticas de diferentes parâmetros químicos em águas, vinhos e formulações farmacêuticas.

Desta forma procurou-se demonstrar que os sistemas de análise por injeção em fluxo com detecção potenciométrica de elevada sensibilidade poderiam ser vistos como alternativas reais de automatização, às respectivas metodologias de referência.

Abstract

This work describes the construction, development and evaluation of increased sensitivity potentiometric detectors for flow injection analysis systems, based on homogeneous crystalline membrane electrodes.

The electrodes were obtained by high pressure pressing of Ag_2S , $\text{MS} / \text{Ag}_2\text{S}$, ($\text{M} = \text{Cu (II)}$, Cd (II) or Pb (II)) or $\text{AgX} / \text{Ag}_2\text{S}$ ($\text{X} = \text{Cl}^-$, Br^- and I^-) sensor mixtures. The tubular electrodes were constructed including one or two sensor membranes in each electrode body.

The sensitivity of the potentiometric measurement is the ratio of the change in the analytical signal variation (potential variation) to the change in the analyte concentration that is measured. In order to increase the sensitivity the analytical signal should be increased.

This work presents the construction and evaluation of two types of detection systems designed for FIA, based on the use of tubular electrodes with homogeneous crystalline membranes sensitive to chloride, bromide, iodide, sulphide, silver (I), copper (II), cadmium (II) and lead (II). One of the systems displays two electrodes of the same kind placed sequentially in a single channel FIA manifold, each one working alternatively as reference of the other (SDS – sequential detection system). The other system consists of tubular detectors constructed with two membranes, 3 mm apart, totalling the potentials (vs the same reference electrodes) with an electronic summing device (DMDS – double membrane detection system).

The general working characteristics of both increased sensitivity systems were evaluated, namely calibration curve parameters, stability and life time, pH effect and potentiometric selectivity coefficients.

In order to evaluate the performance and analytical usefulness of the detection systems developed, water, wine and pharmaceutical products were analysed.

Résumé

Dans ce travail nous décrivons la construction, le développement et évaluation de systèmes d'analyse par injection en flux avec détection potentiométrique de sensibilité augmentée, utilisant des électrodes à membrane cristalline homogène.

Pour la construction des électrodes de membrane cristalline homogène, les mixtures sensorielles respectives ont été préparées par précipitation de Ag_2S dans les détecteurs sensibles au Ag (I) et S^{2-} , ou co-précipitation de Ag_2S et le correspondant sulfur métallique ($\text{MS} / \text{Ag}_2\text{S}$, dans les électrodes sensibles au Cu (II), Cd (II) et Pb (II)) ou halogénate d'argent ($\text{AgX} / \text{Ag}_2\text{S}$ ($\text{X} = \text{Cl}^-$, Br^- ou I^-)). Pour l'obtention de la membrane sensorielle, il a été utilisée une technique de pressage comme forme d'agglutination du senseur solide. Les électrodes ont été construites avec une configuration tubulaire, où dans les corps étaient logées une ou deux membranes sensorielles.

Avec la finalité d'obtenir l'augmentation de la sensibilité de la méthodologie potentiométrique on a proportionné l'accroissement de la variation de la différence de potentiel mesuré par le détecteur utilisé. Cette augmentation de la sensibilité a été obtenue à travers des systèmes différentiels, utilisant des électrodes tubulaires semblables, posés séquentiellement, et des systèmes du genre "somme", employant une électrode indicatrice tubulaire de deux membranes d'égale sensibilité, dont le signal analytique de la somme des différences de potentiel respectives par rapport à une électrode de référence.

Les essais d'évaluation des deux types de montage de sensibilité accrue pour tous les ions mentionnés, consistaient de la détermination des paramètres généraux de la droite de calibration, de l'effet pH, du temps de vie des électrodes, de la stabilité des potentiels et de la détermination des coefficients de sélectivité potentiométriques en rapport avec des divers interférents.

Nous avons également évalué la possibilité d'application de quelques systèmes de détection de sensibilité augmentée à certaines déterminations analytiques de différents paramètres chimiques dans des eaux, des vins et des formulations pharmaceutiques.

Agradecimentos

À Prof. Dra. Maria da Conceição Branco da Silva de Mendonça e Montenegro, manifesto o meu sincero reconhecimento pela supervisão cuidadosa e interessada de todo o trabalho que realizei, o seu contributo para a minha preparação científica e o apoio e disponibilidade sempre manifestados.

Ao Prof. Dr. José Luís Fontes da Costa Lima, agradeço a co-orientação no trabalho realizado, o estímulo e ânimo sempre demonstrados.

À Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto agradeço o ter-me aceite como estudante de Doutoramento.

À Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica agradeço a concessão de uma bolsa de estudo para doutoramento.

Ao Prof. Dr. Alberto o apoio e ajuda nas mais diversas fases do trabalho.

À Prof. Dra. Salette a ajuda imprescindível e o apoio e entusiasmo que conseguiu transmitir, particularmente na área das constantes.

À Prof. Dra. Beatriz, Prof. Dr. Rui Lapa, Dra. Isabel, Dra. Aida e Prof. Dra Cristina Matos a disponibilidade e estímulo.

Ao Catita, Carmo, Rui Cerdeira, Goreti, Carla Guimarães, João Luís, Lúcia, Agostinho, Carla Matos, Cristina Almeida, João Almeida, Xiao, Rita, Manuela, Ivone, Mireia, Nestor, Mercedes e Nuno o apoio e companheirismo sempre demonstrados.

À Sra. Teresa o carinho e amizade que sempre transmitiu.

À Belmira o estímulo e camaradagem.

À Isabel Ferreira a amizade e o apoio nos primeiros passos no laboratório.

Ao grupo do CENA pelo apoio e hospitalidade na estada em Piracicaba.

Ao Eng. Queirós e José Eduardo pela amizade, apoio e incentivos constantes.

Ao Sr. Carlos Torres, pela disponibilidade e empenho na construção de uma parte substancial das peças utilizadas nas montagens FIA.

Ao departamento de Química Orgânica pela disponibilidade na utilização do material de prensagem.

À Edite pela amizade e apoio constantes.

À minha família por estar sempre presente...

A todos os que inadvertidamente foram esquecidos o meu muito obrigada.

Índice Temático

Índice Temático

Preâmbulo

1 - Enquadramento e objectivos gerais do trabalho	P. 2
2 - Organização da Dissertação	P. 4

Capítulo I – Detectores potenciométricos para sistemas de análise por injeção em fluxo, evolução e aplicação

I - 1 – Introdução	I 2
I - 2 - Tipos de eléctrodos usados em sistemas de fluxo	I 5
I - 3 - Tipos de configuração do detector e forma de inserção nos sistemas FIA	I 16
I - 4 - Desenvolvimento de sistemas de análise por injeção em fluxo com detecção potenciométrica e sua aplicação analítica	I 23
Referências Bibliográficas	I 31

Capítulo II - Aspectos gerais da parte experimental

II - 1 - Meios experimentais usados	II 2
1.1 Aparelhagem e material acessório	II 2
1.2 Eléctrodos	II 6
1.3 Reagentes e soluções	II 7
1.4 Montagens FIA estudadas	II 7
II - 2 - Construção dos eléctrodos	II 10
2.1 Preparação das membranas sensoras	II 10
2.2 Processo de construção dos eléctrodos selectivos de configuração convencional	II 10
2.3 Processo de construção dos eléctrodos selectivos de configuração tubular	II 11
2.4 Módulo de suporte dos eléctrodos de configuração tubular e sua manutenção	II 13
II - 3 - Adaptação do eléctrodo de referência	II 14
II - 4 - Avaliação dos parâmetros de calibração dos eléctrodos construídos	II 15
4.1 Determinação do limite inferior de resposta linear e limite prático de detecção	II 20
4.2 Comportamento dos eléctrodos ao longo do tempo	II 22
4.2.1 Estabilidade e reprodutibilidade dos potenciais	II 22
4.2.2 Tempo de vida dos eléctrodos	II 22
4.3 - Avaliação da influência do pH nos valores de potencial dos eléctrodos	II 23
4.4 - Coeficientes de selectividade potenciométricos	II 25
II - 5 - Desenvolvimento e optimização das montagens FIA	II 27
II - 6 - Avaliação da qualidade dos resultados fornecidos pelas metodologias desenvolvidas	II 28
Referências Bibliográficas	II 30

Capítulo III - Desenvolvimento de sistemas de análise por injeção em fluxo com detecção potenciométrica de sensibilidade aumentada

III - 1 – Introdução	III 2
III - 2 - Parte experimental	III 7
2.1 Aparelhagem e eléctrodos	III 7
2.1.1 Preparação das misturas sensoras	III 8
2.1.2 Construção dos eléctrodos	III 10
2.2 Reagentes e soluções	III 11
2.3 Montagens FIA utilizadas	III 12
2.3.1 Construção de sistema de detecção de sensibilidade aumentada	III 12
2.3.2 Construção das montagens FIA de sensibilidade aumentada	III 12
III - 3 - Resultados e sua discussão	III 14
3.1 - Montagens de Fluxo incluindo os sistemas de detecção de sensibilidade aumentada sensíveis a Aniões	III 16
3.1.1 - Optimização do Sistema de Detecção Diferencial (SDD)	III 16
3.1.2 - Optimização do Sistema de Detecção com Eléctrodos de Dupla Membrana (tipo “soma” - SDDM)	III 23
3.1.3 - Estudo das características operacionais dos sistemas SDD e SDDM sensíveis a aniões	III 28
a) Parâmetros de calibração	III 28
b) Ritmo de amostragem, estabilidade e repetitibilidade	III 31
c) Avaliação da influência do pH	III 33
d) Coeficientes de selectividade potenciométricos	III 37
3.2 - Montagens de fluxo incluindo os sistemas de detecção de sensibilidade aumentada sensíveis a Catiões	III 41
3.2.1 - Optimização do Sistema de Detecção Diferencial (SDD)	III 41
3.2.2 - Optimização do Sistema de detecção de dupla membrana (SDDM)	III 45
3.2.3 - Estudo das características operacionais dos SDD e de SDDM sensíveis a catiões	III 48
a) Parâmetros de calibração	III 48
b) Ritmo de amostragem, estabilidade e repetitibilidade	III 51
c) Avaliação da influência do pH	III 52
d) Coeficientes de selectividade potenciométricos	III 53
III - 4 – Conclusões	III 55
Referências Bibliográficas	III 58

Capítulo IV - Desenvolvimento de montagens FIA, utilizando detectores potenciométricos de $\text{AgCl/Ag}_2\text{S}$ de sensibilidade acrescida, para a determinação directa de cloreto em águas.

IV- 1 – Introdução	IV 2
IV - 2 - Parte experimental	IV 4
2.1 Aparelhagem e eléctrodos	IV 4
2.2 Reagentes e soluções	IV 5
2.3 Preparação das amostras	IV 5
2.4 Método analítico de referência	IV 6
2.5 Montagens FIA utilizadas	IV 6
IV - 3 - Resultados e sua discussão	IV 9
IV - 4 - Determinação de cloreto em águas	IV 14
IV - 5 – Conclusões	IV 19
Referências Bibliográficas	IV 20

Capítulo V - Desenvolvimento de uma montagem FIA, utilizando um detector potenciométrico de Ag_2S de sensibilidade aumentada, para a determinação de cloreto em vinhos.

V - 1 – Introdução	V 2
V - 2 - Parte experimental	V 5
2.1 Aparelhagem e eléctrodos	V 5
2.2 Reagentes e soluções	V 6
2.3 Preparação das amostras	V 6
2.4 Método analítico de referência	V 7
2.5 Montagem FIA utilizada	V 7
V - 3 - Resultados e sua discussão	V 9
V - 4 - Determinação de cloreto em vinhos	V 17
V - 5 – Conclusões	V 20
Referências Bibliográficas	V 21

Capítulo VI - Desenvolvimento de uma montagem FIA, utilizando um detector potenciométrico de duas membranas, sensível a iodeto, para a determinação de SO_2 em vinhos

VI - 1 – Introdução	VI 2
VI - 2 - Parte experimental	VI 6
2.1 Aparelhagem e eléctrodos	VI 6
2.2 Reagentes e soluções	VI 6
2.3 Método de referência	VI 8
2.4 Preparação das amostras para doseamento por FIA e pelo método de referência	VI 9
2.5 Montagem FIA usada	VI 9

VI - 3 - Resultados e sua discussão	VI 11
VI - 4 - Determinação do SO ₂ em vinhos	VI 20
VI - 5 - Conclusões	VI 26
Referências Bibliográficas	VI 28

Capítulo VII - Desenvolvimento de um sistema FIA, com detecção com sensibilidade acrescida, para determinação de catião cádmio (II) em águas residuais, com etapa de separação e concentração em linha.

VII - 1 - Introdução	VII 2
VII - 2 - Parte experimental	VII 5
2.1 Aparelhagem e eléctrodos	VII 5
2.2 Reagentes e soluções	VII 6
2.3 Preparação das amostras	VII 7
2.4 Método de referência	VII 7
2.5 Montagem FIA utilizada	VII 8
VII - 3 - Resultados e sua discussão	VII 12
VII - 4 - Determinação de cádmio em águas residuais	VII 29
VII - 5 - Conclusões	VII 33
Referências Bibliográficas	VII 34

Capítulo VIII - Desenvolvimento de uma montagem FIA, utilizando um detector potenciométrico de CuS/Ag₂S de sensibilidade aumentada, para a determinação de Tetraciclinas em formulações farmacêuticas.

VIII - 1 - Introdução	VIII 2
VIII - 2 - Parte experimental	VIII 6
2.1 Reagentes e soluções	VIII 6
2.2 Aparelhagem e eléctrodos	VIII 6
2.3 Preparação das amostras	VIII 7
2.4 Método de referência	VIII 8
2.5 Montagem FIA utilizada	VIII 9
VIII - 3 - Resultados e sua discussão	VIII 11
VIII - 4 - Determinação de TC em formulações farmacêuticas	VIII 22
VIII - 5 - Conclusões	VIII 25
Referências Bibliográficas	VIII 27

<i>Capítulo IX - Conclusões globais</i>	C 2
--	------------

Preâmbulo

Preâmbulo

1 - Enquadramento e objectivos gerais do trabalho

A análise por injeção em fluxo (FIA), criada em 1975 por Ruzicka, provou ser, ao longo de 2 décadas, uma técnica valiosa na automatização dos procedimentos analíticos, devido às suas características de versatilidade, aliada à simplicidade, fácil operação, baixo custo das montagens e possibilidade de trabalhar com praticamente qualquer tipo de detector.

A técnica FIA, quando associada à potenciometria, com eléctrodos selectivos de ião, permite que sejam melhoradas as suas características de resposta, particularmente a selectividade analítica e reprodutibilidade. Para além disso, proporciona a obtenção de sistemas analíticos económicos, com elevados ritmos de amostragem e aplicáveis a amplas gamas de concentração, sem perda de sensibilidade analítica. A possibilidade de poder conferir aos detectores potenciométricos uma configuração tubular permitiu rentabilizar ainda mais as potencialidades dos sistemas FIP (Flow Injection Potentiometry) atendendo ao facto de ser possível manter as características hidrodinâmicas do fluxo inalteradas e permitir uma maior estabilidade mecânica dos sistemas.

A escolha de uma metodologia analítica é sempre feita atendendo a diferentes factores, como a selectividade, frequência de amostragem, economia e também sensibilidade (razão da variação do sinal analítico/ variação da concentração de analito) proporcionada, já que a precisão dos resultados analíticos depende deste factor. No caso da potenciometria, embora o valor de sensibilidade, relativamente a outras metodologias, seja considerado elevado, é, no entanto, por vezes apontado como um factor limitante à sua utilização, particularmente na análise de espécies iónicas divalentes. Este aspecto pode, contudo, ser solucionado de uma forma simples.

É objectivo desta dissertação o estudo e desenvolvimento de sistemas de análise por injeção em fluxo com detecção potenciométrica de sensibilidade aumentada. Para a

sua concretização, foram explorados, quer sistemas de detecção diferencial, quer sistemas tipo “soma”. Nos sistemas diferenciais, utilizavam-se dois detectores potenciométricos tubulares semelhantes, colocados em linha, de forma a que cada um deles actuasse como referência do outro alternativamente, sem recurso a um eléctrodo de referência convencional. Nos sistemas tipo “soma” procedeu-se à construção e desenvolvimento de detectores potenciométricos tubulares com duas membranas no mesmo corpo do eléctrodo, com soma das respectivas diferenças de potencial, relativamente a um eléctrodo de referência convencional, efectuada externamente através de um sistema electrónico construído para o efeito.

Procedeu-se ao estudo sistemático dos parâmetros de resposta dos sistemas de detecção de sensibilidade aumentada implementados, visando avaliar o seu comportamento, quando se trabalhava com detecção diferencial ou detecção com eléctrodos de membrana dupla, comparativamente com outros anteriormente implementados, que constavam de um detector tubular com uma membrana sensora associado a um eléctrodo de referência convencional.

Avaliou-se igualmente a possibilidade de aplicação dos sistemas de detecção desenvolvidos a determinações analíticas de diferentes parâmetros químicos em águas, vinhos e formulações farmacêuticas. Explorou-se as potencialidades que os sistemas de fluxo oferecem no processamento das amostras, criando-se montagens que incorporavam etapas de titulação em linha, separação de componentes gasosos mediante a inserção de uma unidade modular de difusão de gases, e pré-concentração do analito em linha, com separação de interferentes por intermédio de reacções de complexação.

Desta forma procurou-se demonstrar uma perspectiva alargada das potencialidades que os sistemas de análise por injeção em fluxo com detecção potenciométrica de elevada sensibilidade oferecem, por forma a poderem, no futuro, ser vistos como alternativas reais de automatização, às respectivas metodologias de referência habitualmente seguidas nos laboratórios de controlo analítico.

2 - Organização da Dissertação

O presente trabalho está organizado em nove capítulos.

No **primeiro capítulo** faz-se uma revisão dos trabalhos realizados em sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA) com detecção potenciométrica, pretendendo-se mostrar a evolução nos processos de construção dos eléctrodos, na forma como são inseridos nas montagens FIA e nas aplicações analíticas a que foram dedicados. A análise do estado de conhecimento e evolução dos sistemas de análise por injeção em fluxo, com detecção potenciométrica, servem para dar uma visão global da importância e versatilidade desta técnica de detecção como metodologia analítica, assim como realçar as vantagens da utilização de sistemas FIA como forma de facilitar o processamento, em linha, da amostra até ao detector.

No **segundo capítulo**, intitulado *Aspectos gerais da parte experimental*, faz-se uma descrição detalhada dos materiais e métodos comuns aos diferentes trabalhos descritos na dissertação.

No **Capítulo III** apresenta-se o desenvolvimento de sistemas potenciométricos de sensibilidade aumentada, baseados quer na colocação sequencial de eléctrodos, quer na soma de potenciais decorrentes de duas membranas sensoras colocadas a uma distância mínima, no mesmo corpo do eléctrodo. Apresenta-se a avaliação comparativa das características de funcionamento dos sistemas de detecção desenvolvidos, com destaque para o declive da curva de calibração, limite inferior de resposta linear, repetitibilidade e estabilidade dos sinais analíticos, ritmo de amostragem, influência do pH na resposta dos eléctrodos e coeficientes de selectividade. Os sistemas desenvolvidos eram sensíveis a cloreto, brometo, iodeto, sulfureto, prata (I), cobre (II), cádmio (II) e chumbo (II).

Nos **Capítulos IV a VIII** justifica-se a utilidade analítica dos sistemas de detecção construídos, implementando-se montagens FIA para aplicação à análise de

diferentes parâmetros químicos a amostras reais. No **Capítulo IV** referem-se os resultados comparativos obtidos quando o mesmo processo analítico - a determinação de cloreto em águas - é efectuado utilizando-se um sistema de detecção diferencial ou um sistema de detecção por soma.

O **Capítulo V** descreve o desenvolvimento de uma montagem FIA, incorporando um sistema de detecção constituído por eléctrodos tubulares de Ag_2S de membrana dupla, para determinação de anião cloreto em vinhos, recorrendo a um procedimento analítico baseado na pseudo titulação do composto com catião prata (I),

No **Capítulo VI** desenvolve-se um sistema de fluxo para determinação de SO_2 em vinhos, utilizando-se uma etapa de separação por intermédio de uma unidade de difusão de gases. Neste trabalho descreve-se a utilização de um sistema de detecção baseado num detector tubular de $\text{AgI} / \text{Ag}_2\text{S}$, de membrana dupla.

No **Capítulo VII** refere-se o desenvolvimento de um sistema de fluxo para determinação de catião cádmio (II) em águas residuais, com separação e concentração em linha, por intermédio de uma coluna contendo uma resina de troca aniónica. Neste trabalho descreve-se o recurso à complexação, como etapa de aumento da selectividade analítica, e utiliza-se um sistema de detecção constituído por um eléctrodo tubular de $\text{CdS} / \text{Ag}_2\text{S}$, de dupla membrana.

O **Capítulo VIII** descreve uma montagem FIA incorporando um sistema de detecção composto um detector potenciométrico de dupla membrana sensível a Cu(II) , para determinação de tetraciclina, oxitetraciclina e clortetraciclina em produtos farmacêuticos comercializados no mercado português, recorrendo-se a uma titulação com Cu (II) .

Finalmente, o **Capítulo IX** é dedicado às conclusões globais, fazendo-se um comentário geral dos resultados obtidos ao longo desta dissertação.

CAPÍTULO I

***Detectores potenciométricos para sistemas de análise
por injeção em fluxo, evolução e aplicação.***

I – 1 - Introdução

As amostras para análise química são geralmente de proveniências diversas e procedentes de matrizes de grande complexidade composicional. Tendo em conta que muitos dos sistemas de detecção não apresentam selectividade e sensibilidade suficientes para a sua determinação directa, é necessário muitas vezes recorrer a métodos de análise que decorram por etapas, que poderão ser de separação, conversão química, diluição ou concentração dos analitos, para tratamento das amostras.

A necessidade premente de obviar alguns dos problemas inumerados, visando a obtenção de resultados mais precisos e fiáveis, bem como de fomentar a automatização dos procedimentos que precedem a determinação analítica, de forma a efectuar as análises em tempos mais reduzidos, justifica que alguns autores lhes tenham dedicado particular atenção nestes últimos 40 anos. Assim, tendo em conta que a maior parte dos processos de separação e conversão química se realizam em fase aquosa, deu-se o primeiro passo no desenvolvimento de uma metodologia baseada em fluxo contínuo segmentado (SFA), proposta por Skeggs [1] em 1957, com monitorização contínua dos parâmetros em análise em fluxo. Durante cerca de duas décadas, para promover análises contínuas de amostras, recorreu-se ao uso da segmentação, por intercalação de bolhas de ar ou de azoto entre as amostras, como forma de evitar a dispersão, e consequentemente, mantendo a identidade de cada amostra evitando-se a mistura de sucessivas zonas de analito.

Foi apenas em 1975 que surgiu o conceito de análise por injeção em fluxo (FIA), no qual, pequenos volumes de amostra, rigorosamente medidos, eram introduzidos de forma intermitente/discreta num fluido transportador, que a arrastava através de um sistema de fluxo não segmentado [2]. No decurso desse transporte, a amostra poderia sofrer uma série de transformações físico-químicas, desde diluição, reacção química, tamponação, extracção, etc, em unidades modulares adequadas, intercaladas em linha.

As determinações em sistemas FIA apresentavam como grandes vantagens, particularmente em relação ao fluxo segmentado, a possibilidade de efectuar as determinações em condições de não equilíbrio físico ou químico e permitiam adicionalmente um processamento de dados mais versátil (facultando a análise da altura,

área e largura de pico ou distância entre picos). Aliado a este facto, destaca-se ainda a possibilidade de a esta técnica poder ser acoplado virtualmente qualquer sistema de detecção.

Embora a metodologia FIA seja uma das mais recentes técnicas baseadas em fluxo, a sua aplicação compreende já mais de 5000 artigos publicados, abrangendo desde analitos inorgânicos a enzimáticos, desde iões a proteínas, desde quantidades vestigiais a altas concentrações, podendo ser utilizada em meios aquosos ou não aquosos [3, 4]. O próprio conceito e definição de análise por injeção em fluxo tem vindo a sofrer alterações desde o seu início, decorrendo este facto quer das potencialidades que a técnica foi oferecendo ao longo dos tempos, quer da sua grande versatilidade de aplicação.

Foram aliás Ruzicka [5-7] e Pungor [8-10] que, ao se aperceberem da utilidade analítica dos sistemas FIA, exploraram também a possibilidade de os aplicar conjuntamente com a detecção potenciométrica, sugerindo o desenvolvimento dos sistemas denominados FIP (Flow Injection Potentiometry).

Segundo a definição da IUPAC [11], os eléctrodos selectivos de ião (ESI) são sensores electroquímicos cujo potencial depende linearmente do logaritmo da actividade de um ião em solução, sendo baseados em filmes finos ou membranas selectivas como elementos de reconhecimento. Os eléctrodos selectivos de ião funcionam pois como detectores de superfície, pelo que a natureza do processo electroquímico, que geralmente decorre à superfície do sensor, os torna especialmente atractivos para sistemas de fluxo [12]. É ainda de salientar a simplicidade da aparelhagem que lhes está associada, tornando-os particularmente indicados para processos de controlo analítico, como alternativa às normalmente morosas e dispendiosas metodologias convencionais. Adicionalmente, são de fácil construção, as suas medições não são afectadas pela coloração ou turvação das amostras, e não necessitam da adição de um reagente específico de desenvolvimento de cor para a determinação do analito, como acontece muitas vezes com o método espectrofotométrico.

Para que possam ser incorporados em sistemas FIA, de forma a serem obtidos os melhores resultados experimentais possíveis, os eléctrodos deverão apresentar certos requisitos, dos quais se destacam, uma rápida velocidade de resposta, reduzido ruído

eléctrico, repetitibilidade de resposta, compatibilidade com os restantes componentes da montagem FIA e facilidade de adaptação à mesma.

A inserção deste tipo de detectores em sistemas de análise por injeção em fluxo contribui igualmente para uma melhoria das suas características operacionais, apresentando, por isso, inúmeras vantagens relativamente ao uso das mesmas unidades de configuração clássica em técnicas potenciométricas convencionais [13, 14]. Destacam-se como vantagens o uso reprodutível de pequenos volumes de injeção (proporcionado pelo uso de diferentes configurações das unidades potenciométricas, particularmente a tubular, como será posteriormente referido), a reprodutibilidade do sinal analítico, a velocidade rápida de resposta e o condicionamento contínuo da membrana sensora. Também pode contribuir para minimizar o problema de deslizamento de potenciais, para uma melhoria da selectividade analítica, uma eliminação da contaminação resultante do eléctrodo de referência, pouco ou nenhum pré tratamento da amostra, já que este pode ser feito em linha, obtenção de elevados ritmos de amostragem e economia e facilidade de automatização dos métodos analíticos [14].

Pelas vantagens inumeradas resultantes da utilização desta metodologia compreende-se que a potenciometria tenha sofrido um grande desenvolvimento nas últimas duas décadas, tendo-se estabelecido novos tipos de sensores potenciométricos, novos processos de construção e diferentes tipos de acoplamento aos sistemas de fluxo. Estes desenvolvimentos tiveram como finalidade, dar resposta aos problemas e limitações que foram sendo encontrados e, desta forma, vieram trazer um novo interesse pela potenciometria como metodologia analítica de eleição.

Muito embora num artigo de revisão apresentado [15] já em 1993, se tenha dado uma panorâmica sobre o tipo de eléctrodos utilizados em sistemas FIA, sua classificação, processos de construção e formas de acoplamento, o aparecimento de novas situações analíticas justificou que, desde então, novos modelos fossem aparecendo.

Neste capítulo tenta-se, de uma forma exaustiva descrever e tipificar o estado de desenvolvimento dos sistemas FIP o qual serviu de base e orientação para o trabalho desenvolvido no decurso desta dissertação.

I - 2 - Tipos de eléctrodos usados em sistemas de fluxo

Os sistemas FIP têm tido um crescente desenvolvimento e uma grande aplicação como metodologia analítica nestes últimos anos (Figura 1), como consequência directa das vantagens operacionais anteriormente referidas. A sua utilização é particularmente relevante desde 1993, atingindo desde então mais de 50 % das referências citadas neste capítulo.

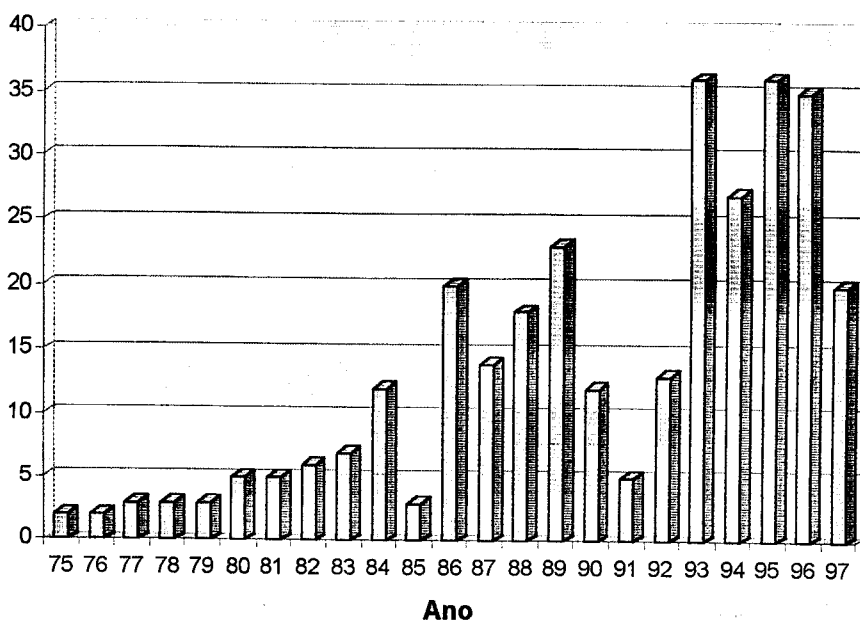


Figura 1 - Distribuição de publicações referentes a sistemas FIP nas duas últimas décadas.

A classificação dos eléctrodos em grupos perfeitamente definidos nem sempre é um procedimento fácil, suscitando algumas dúvidas dadas as peculiaridades de que se revestem, quer relativas ao modo como são construídos quer ao mecanismo de funcionamento e composição das suas membranas sensoras. Um bom exemplo disso é o

que se vem observando com as normas e recomendações propostas pela IUPAC, que desde 1976 passou a aceitar, para a classificação das unidades potenciométricas, outras características para além da composição restrita e do estado físico da membrana. Esta alteração na classificação resulta das melhorias que se foram introduzindo nos eléctrodos, no sentido de melhor responderem às necessidades analíticas concretas, assim como da evolução dos conhecimentos teóricos e também do crescente interesse analítico por esta metodologia.

Em 1976, a IUPAC [16] definiu dois grandes grupos para a classificação dos eléctrodos selectivos de ião, um correspondendo aos eléctrodos primários, onde se incluíam os cristalinos e não cristalinos, e fazendo parte de um segundo grupo os eléctrodos selectivos de ião sensibilizados.

Posteriormente, em 1994 a IUPAC [11] renovou a sua proposta, passando a englobar os eléctrodos em três categorias. Na primeira integravam-se os eléctrodos selectivos de ião primário, nos quais se incluíam os eléctrodos cristalinos, homogéneos e heterogéneos, e os eléctrodos não cristalinos, de matriz rígida e de condutor móvel. Na segunda categoria encontravam-se os eléctrodos selectivos de compostos ou membrana múltipla, que abrangiam as unidades sensíveis a gases e os eléctrodos de substrato de enzima; por fim, os eléctrodos selectivos de ião de contacto metálico ou "all solid state", que se caracterizam pela ausência de solução de referência interna e que dependiam simultaneamente da condutividade iónica e electrónica (condutores mistos).

Contudo, a contínua evolução deste tipo de detectores é de tal forma rápida, que, em muitos casos, se torna difícil o seu enquadramento em qualquer tipo de classificação, tornando-a muitas vezes limitante ou ambígua.

No sentido de poder dar uma certa continuidade à revisão já anteriormente efectuada [15], que admitiu uma classificação em eléctrodos cristalinos, de matriz rígida, condutor móvel, redox, 1^a e 2^a espécies, ISFET e sensibilizados, tentar-se-á, tanto quanto possível, respeitá-la.

Visando este objectivo, procedeu-se a um estudo, cujos resultados são apresentados na Fig. 2, onde se representa a distribuição relativa dos diferentes tipos de eléctrodos surgidos na literatura nestes últimos vinte anos e que têm sido usados em sistemas de análise por injeção em fluxo.

A análise do diagrama apresentado leva a concluir que os eléctrodos selectivos de membrana cristalina, juntamente com os condutor móvel, são os que mais têm sido utilizados em análises automáticas em sistemas de fluxo, representando cerca de 70 % dos artigos referidos na literatura, desde 1975. Os eléctrodos de 2ª espécie são responsáveis por 9 % das referências bibliográficas, enquanto que os sensibilizados abrangem cerca de 6 % da totalidade dos artigos descritos. Os eléctrodos de matriz rígida, os ISFET's e eléctrodos de 1ª espécie são mencionados em apenas 4 % das referências. Os eléctrodos redox estão praticamente em desuso em sistemas de fluxo contínuo, representando menos de 2% dos artigos.

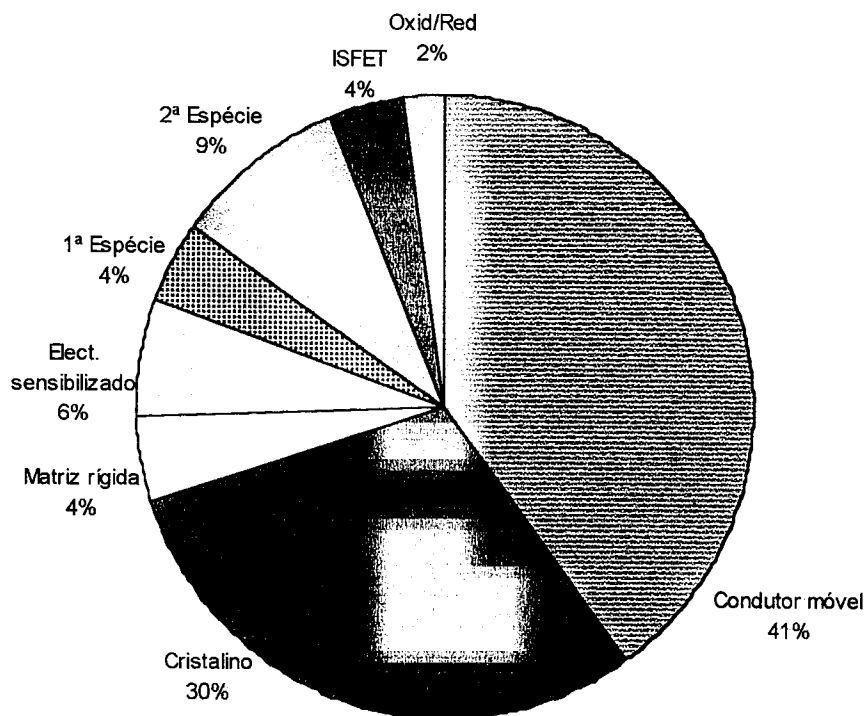


Figura 2 - Representação estatística dos diferentes tipos de eléctrodos utilizados em sistemas FIA desde 1975.

Na Tabela I resumem-se e agrupam-se os diferentes tipos de detectores referidos na literatura consultada.

Tabela I. Tipos de detectores potenciométricos utilizados em sistemas FIA

<i>Tipos de eléctrodos</i>	<i>Referências</i>
<i>Eléctrodos cristalinos</i>	14, 17-112
<i>Eléctrodos de matriz rígida</i>	44, 55, 113-124
<i>Eléctrodos de condutor móvel</i>	7, 56-60, 125-245, 320
<i>Eléctrodos sensibilizados</i>	23, 61, 62, 211, 247-262
<i>ISFET (transistores de efeito de campo)</i>	263-275
<i>Eléctrodos Redox</i>	89, 276 – 281
<i>Eléctrodos de 1ª espécie</i>	220, 282-294
<i>Eléctrodos de 2ª espécie</i>	60, 63-64, 220, 295-319

Os eléctrodos de membrana cristalina, responsáveis por 30 % das referências, poderão ser classificados como sendo de membrana homogénea ou então de membrana heterogénea [41 - 43], sendo estes últimos cada vez menos utilizados (menos de 5% da totalidade das unidades cristalinas) pelo facto de apresentarem, de uma forma geral, como desvantagem uma menor velocidade de resposta, conduzindo a sistemas FIP com baixa frequência de amostragem.

Desde a sua introdução, em 1965, por Frant e Ross [321] que o Ag_2S é considerado como composto de escolha para utilização na tecnologia convencional de preparação, por prensagem, de membranas de eléctrodos sensíveis a halogenetos e metais pesados. Estes detectores são maioritariamente constituídos por sulfureto de prata, halogenetos de prata ou sulfuretos metálicos, sendo predominantemente sensíveis

a halogenetos, sulfureto, prata (I), cobre (II), cádmio (II), chumbo (II), cianeto e mercúrio (II). Apesar das reconhecidas vantagens de utilização deste tipo de sensores [322], estes apresentam algumas limitações, nomeadamente a instabilidade provocada pela corrosão em meio fortemente ácido e a forte interferência provocada pelo catião Hg (II). Estes problemas motivaram a procura de alternativas tecnológicas relativamente a novos materiais para utilização na preparação de membranas sensoras, surgindo detectores baseados em calcogenídeos [65, 95, 100, 108, 109], obtidos por electrodeposição catódica de membranas de calcogenídeos metálicos (selenetos e teluretos) num substrato electrocondutor. O recurso a sais de mercúrio também se mostrou uma alternativa legítima, tendo como vantagem a obtenção de unidades com limites de detecção muito baixos, devido à baixa solubilidade dos seus sais, comparativamente com outras preparadas com os sais de prata correspondentes. Em contrapartida, o mercúrio devido à sua elevada toxicidade tem sido preterido relativamente a compostos de menor perigosidade, pelo que a descrição deste tipo de unidades é cada vez menos frequente [23, 90].

Nos eléctrodos de membrana cristalina são maioritárias as referências à utilização de eléctrodos selectivos a aniões, particularmente a fluoreto [14, 18, 20-22, 32, 33, 36-39, 44-46, 48, 51, 55, 58, 60, 64, 69, 74, 86, 94, 96, 99, 104, 106] e a iodeto [25, 28, 42, 43, 49, 54, 59, 67, 68, 72, 73, 83, 85, 87, 98, 101, 107] incorporados em montagens FIA destinadas à determinação dos respectivos iões primários nas mais variadas matrizes. Muitos destes detectores cristalinos são também utilizados em sistemas de fluxo para determinação indirecta, envolvendo reacções de complexação ou precipitação, por exemplo na determinação de alumínio [14], sulfito [23, 110], iões metálicos [34], sulfato, ortofosfato e trifosfato [35], cloreto [41, 111], cianeto [42], fosfato [52], tioureia [68], ácido acético [70], sulfato [91, 109], tióis [94] e cisteína [98], ampliando assim desta forma a sua aplicabilidade analítica.

As unidades baseadas em membranas cristalinas apresentam como principais características a durabilidade, muitas vezes superior a três anos, facilidade de construção, e características de selectividade notórias.

Nestes últimos anos tem-se assistido a um crescente uso de eléctrodos de membrana cristalina (Fig. 3), tirando-se partido de todas as vantagens que lhe estão associados e que foram referidas. Têm no entanto, como inconveniente, o facto de a sua

construção estar limitada pelo número de compostos com características de solubilidade, condutividade e grau de compressibilidade adequados para a preparação deste tipo de membranas. Por esta razão, o aparecimento de unidades sensíveis a novas espécies está de certa forma restringido, e actualmente estuda-se preferencialmente a sua aplicação em determinações indirectas [14, 23, 34, 35, 41, 42, 52, 68, 70, 91, 94, 98, 109 - 111].

Pelo contrário, a existência de um grande número de sistemas permutadores, que possibilitam a construção de eléctrodos sensíveis a praticamente qualquer espécie iónica explica um uso tão generalizado de detectores com membrana baseada em condutor móvel. Além disso, o processo de construção deste tipo de unidades, muito simples e económico, podendo ser implementado em qualquer laboratório químico, justifica a generalização do seu uso que se reflecte em cerca de 40 % da totalidade das publicações citadas nos últimos 20 anos (Fig. 2). Estes detectores apresentam como principais vantagens, a sensibilidade a inúmeros analitos, a facilidade de construção e o facto de o corpo do eléctrodo ser facilmente reciclável, tornando-se o processo de construção versátil e económico.

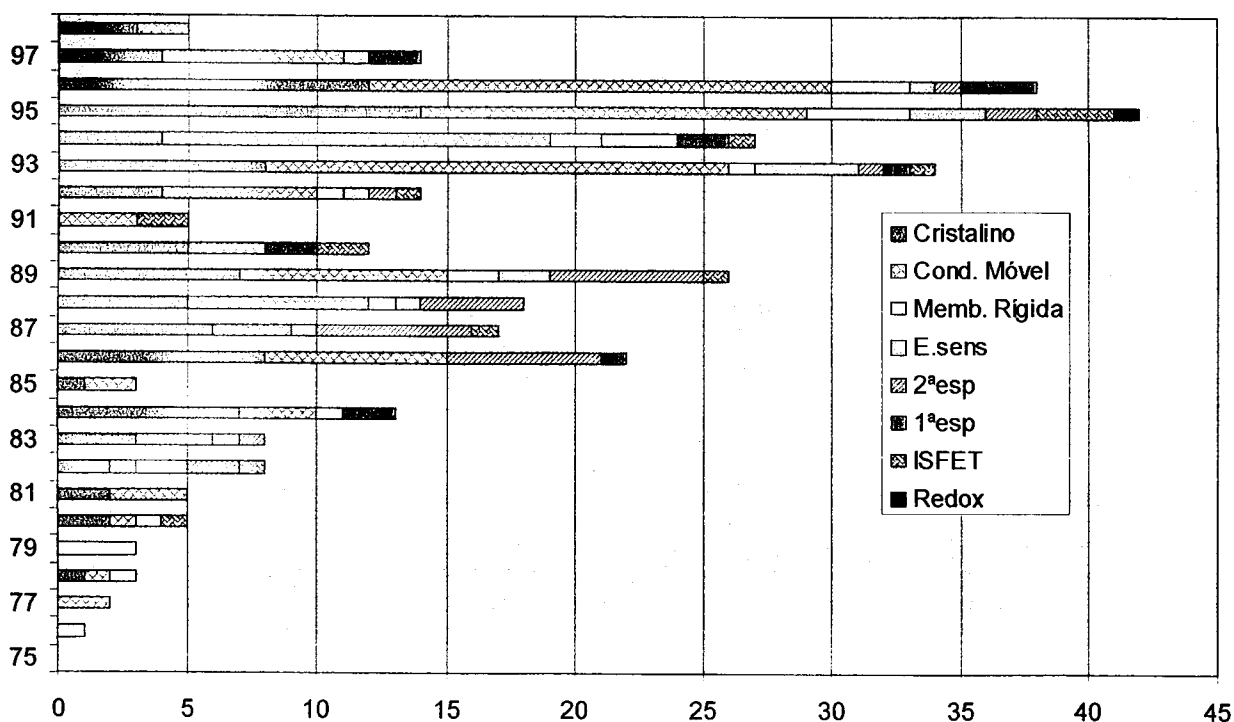


Figura 3 – Distribuição relativa dos diferentes tipos de eléctrodos ao longo do tempo

Apesar da grande diversidade de sistemas sensores possíveis, os detectores com membrana baseada em condutor móvel, sensíveis a espécies inorgânicas continuam a ser preponderantes. Existe um grande número de referências bibliográficas que descrevem a utilização de eléctrodos sensíveis a Ca^{2+} [56, 57, 125, 127, 128, 134, 141, 151, 152, 169, 170, 177, 182, 196-198, 225, 230] para determinação directa deste ião. Também muito mencionados são os eléctrodos sensíveis a NH_4^+ [129, 130, 152, 157, 171, 175, 177, 203, 208, 211, 212, 215, 217, 227, 231, 240, 241], em que a maioria das montagens recorrem a sistemas de separação do gás, algumas delas com o objectivo de determinação da ureia [208, 215, 217, 240]. São também diversos os trabalhos que citam detectores sensíveis a nitrato, utilizados quer na determinação de nitratos [7, 126, 128, 135, 137, 139, 152, 154, 175, 191, 196, 221, 224, 242] quer de nitritos [139, 154], assim como unidades sensíveis a potássio [7, 131, 132, 150, 152, 156, 159, 163, 169, 171, 177, 224, 232] utilizadas na quantificação analítica desse mesmo ião.

Curiosamente, só em 1986 surge a primeira referência à utilização de um eléctrodo para compostos orgânicos especificamente construído para incorporação numa montagem FIA, com configuração tubular. O eléctrodo sensível a salicilato [140] era preparado com uma membrana de condutor móvel e mostrou ser um detector com excelentes características para aplicação em ensaios de controlo serológico. A partir daí a generalização desses sistemas sensores para uma grande variedade de espécies orgânicas passou a ser possível. Surgiram descritos na literatura eléctrodos sensíveis aos mais diversos compostos orgânicos, caso do benzoato [158], 5,5-dietilbarbiturato [161], tripelenamina [190], picrato [193], prometazina [243], vitaminas [165], alcalóides [176, 184, 192], etc.

Com o objectivo de superar algumas das dificuldades encontradas na utilização dos detectores de condutor móvel foi proposto o recurso à fotopolimerização de membranas baseadas em acrilatos [150, 225, 230, 235, 239], originando unidades denominadas "photo-cured electrodes". Este sistema de construção origina membranas sensoras consideradas mecanicamente mais fortes e robustas, mais hidrofóbicas, e consequentemente com menores problemas de adesão ao contacto sólido [225] do que os encontrados com a maioria das membranas de PVC. No entanto, também o desenvolvimento de diferentes composições da membrana e estudo de diversas

proporções dos vários componentes integrantes das misturas sensoras das membranas de PVC [143, 159, 173, 185, 190, 199, 210, 241, 243, 245], permitiram a obtenção de unidades com melhores características operacionais, nomeadamente no que diz respeito à selectividade analítica, limite de detecção e tempo de vida. Citam-se como exemplos, o estudo de diferentes solventes mediadores [190, 199, 243], aditivos [173, 229] e ionóforos [143, 185, 241, 245] que permitiram a obtenção de unidades com melhores características operacionais.

As razões citadas justificam a grande popularidade destas unidades e a evolução por que têm passado, na procura de soluções que lhes confirmem maior selectividade e robustez mecânica, e permitem compreender a sua crescente utilização nestes últimos anos (Fig. 3).

Os eléctrodos de 2ª espécie foram igualmente muito utilizados, particularmente até 1993 (Fig. 2 e 3), dada a facilidade da sua construção e obtenção. Trojanowicz [60, 63, 64, 295, 296, 312] e Van Staden [298-303, 305-309, 311, 313, 316], foram responsáveis por grande parte dos artigos publicados com este tipo de eléctrodos, sendo na sua maioria unidades aplicadas à determinação de halogenetos [296, 298-301, 303, 304, 306, 311, 312, 316]. A sua utilização tem, contudo, vindo a decrescer desde então, fruto dos bons resultados e da resolução dos inconvenientes de perturbações de fenómenos redox, obtidos com os eléctrodos de membrana cristalina correspondentes. Consequentemente, actualmente são poucas as referências que descrevem a utilização deste tipo de eléctrodos (Tabela I), em sistemas FIP, dado que, para as espécies a que são sensíveis existem ESI's de boa qualidade e com muito maior selectividade. Só se compreende ainda uma utilização de eléctrodos de 2ª espécie pelo facto de, em condições de fluxo, ocorrer uma limpeza e condicionamento constantes da superfície da membrana sensora. Atendendo a que nos sistemas de fluxo contínuo as medições analíticas se efectuam num período de tempo fixo e reprodutível, é possível reduzir substancialmente os problemas referidos, inerentes a este tipo de unidades.

Os eléctrodos sensibilizados, com uma percentagem de utilização de cerca de 6% (Fig. 2), poderão incluir eléctrodos sensíveis a gases e sensíveis a substratos enzimáticos. Este tipo de unidades, englobadas num grupo de certa forma heterogéneo, é o que mais modificações tem sofrido nestes últimos anos e, consequentemente, onde a aplicação de qualquer tipo de classificação de eléctrodos se torna mais ambígua. A sua

incorporação em sistemas FIP tem crescido significativamente (Fig. 3), apesar de lhe estar associada uma tecnologia dispendiosa. É no entanto uma das áreas em que a potencimetria mais se poderá vir a expandir, pela diversidade de enzimas disponíveis e pela variedade de áreas em que é aplicável [323]. Verifica-se que em química analítica tem havido um interesse crescente na utilização das propriedades catalíticas das enzimas em áreas de análises de âmbito industrial, médico, farmacêutico e alimentar [323]. As reacções catalisadas por enzimas podem ser utilizadas para determinar a própria enzima, o seu substrato ou qualquer activador ou inibidor da reacção enzimática [323]. No entanto, uma das limitações à utilização de enzimas para fins analíticos tem sido a perda de actividade catalítica, como resultado da sua instabilidade em soluções aquosas. Daí surgir a ideia de as imobilizar em matrizes inertes, proporcionando uma actividade enzimática mais prolongada. Uma das soluções consiste na utilização de eléctrodos selectivos de ião, recobertos com um filme enzimático, que causa a reacção de um substrato orgânico ou inorgânico produzindo uma espécie à qual o eléctrodo é sensível [248, 252, 253, 254, 255, 257 - 259, 261, 262]. Salienta-se a utilização das enzimas glucose oxidase (GOD) [254, 259], utilizada na determinação simultânea de maltose e glucose [254] e glucose [259], e da urease, utilizada na determinação analítica de ureia [217, 240, 248, 255, 257]. Alternativamente, o sensor pode ser recoberto por uma camada de substrato que reage com a enzima, co-factor ou inibidor em ensaio. Os sistemas constituídos por eléctrodos selectivos de ião recobertos com um filme enzimático, apresentam como grande vantagem, relativamente aos sistemas com intercalação da enzima num canal da montagem FIA ou mesmo a sua imobilização numa coluna reactiva, a economia de reagente enzimático. Em contrapartida, estes sistemas, apesar da boa selectividade analítica que proporcionam, têm um tempo de vida relativamente curto e tornam-se bastante mais dispendiosos que os que utilizam ESI's de fabrico laboratorial inseridos em montagens FIA, com etapa de difusão de gases, no qual a libertação do componente gasoso ocorre por intermédio de uma reacção química.

Existem ainda sistemas em que a determinação analítica se baseia na medida, por intermédio de um eléctrodo selectivo ao ião, de um gás libertado por reacção química, ou ainda convertido enzimaticamente numa espécie a que o eléctrodo seja sensível [115, 119, 121, 124]. Neste último caso é comum a libertação de protão cuja determinação é efectuada por intermédio de um eléctrodo tubular de vidro.

Encontra-se um número pouco significativo de referências a eléctrodos de matriz rígida, que constituem 4 % do valor total das unidades descritas na literatura (Fig. 2). Estas unidades são constituídas por eléctrodos selectivos de ião cuja composição química da membrana, de polímero fino ou de vidro, é determinante na sua selectividade. Encontram-se descritos eléctrodos selectivos a catião amónio, sódio e potássio, sendo no entanto o eléctrodo mais estudado e mais frequentemente usado em FIA o sensível ao protão [55, 89, 97, 113 - 120, 122, 124]. Este tipo de unidades, pela sua limitação relativamente ao número reduzido de espécies a que é sensível, nunca teve um uso muito significativo em montagens FIP (Fig. 3), sendo actualmente notória a sua substituição por eléctrodos de condutor móvel correspondentes [133, 136, 138, 155, 160, 178, 245], de muito menor custo e fácil construção.

Os transístores de efeito de campo sensíveis a iões (ISFET) representam cerca de 4 % das unidades descritas (Fig. 2). Este tipo de montagem foi inicialmente proposta por Bergveld em 1970 [324], sendo constituído por um semi-condutor electrónico, no qual é depositado, directamente, o material activo da membrana, imobilizado em PVC. A maior parte das referências bibliográficas a este tipo de detector referem-se a pH-ISFET [263, 266, 267, 271-273], utilizados na monitorização do pH, ou a eléctrodos sensíveis a potássio [263, 264, 269, 270, 274]. São também descritas montagens FIA que incorporam BioFET's, (transístores de efeito de campo, biomodificados enzimaticamente) [265, 268], que permitem a determinação de variações de pH provocadas por reacções enzimáticas, fundamentalmente destinadas ao controlo de processos biotecnológicos e clínicos. As grandes vantagens dos FET (transístores de efeito de campo), quando aplicados a sistemas de fluxo, resultam da possibilidade de miniaturização e da facilidade de incorporação em sistemas portáteis. A miniaturização permite mesmo a sua incorporação numa agulha hipodérmica ou noutro tipo de sonda, possibilitando determinações *in vivo* [273]. No entanto, estas vantagens são restringidas pela impossibilidade de utilização de um eléctrodo de referência com características similares aos ISFET, nomeadamente no que diz respeito à miniaturização. Daí ter surgido a ideia de associar o ISFET a um microeléctrodo baseado em condutor móvel [271] ou mesmo utilizar um sistema diferencial ISFET/REFET [273], no qual se propõe a utilização de dois ISFET semelhantes mas em que um deles funciona permanentemente como eléctrodo de referência, por inserção num canal contendo uma

solução tampão de pH constante. Desta forma tiram-se todas as vantagens da possibilidade de miniaturização das unidades potenciométricas, particularmente em determinações *in vivo*.

Também raramente referidos, são os sistemas que integram eléctrodos de 1ª espécie (Fig. 2), que respondem a variações de concentração dos iões do metal que constitui o eléctrodo. Estas unidades são fundamentalmente utilizadas em determinações indirectas, onde a falta de selectividade não é limitante, sendo referidos como exemplos o uso do eléctrodo de cobre na determinação de metais (Mg, Ca, Pb, Co, Cu, Ni, Mn, Ba e Zn) [282], de pirofosfato, cianeto, sulfureto, iodeto e tiocianato [283] ou aminoácidos e peptídeos [287]. Também se refere a utilização de um eléctrodo de prata, utilizado na determinação de cianeto [284], bem como o de tungstato, na determinação de metais de transição [289] e ácidos carboxílicos [291]. As principais vantagens destes detectores, relativamente aos restantes eléctrodos, são a grande disponibilidade de obtenção de metais na natureza, fácil miniaturização, longos tempos de vida, procedimentos de manutenção mínimos e baixo custo [286]. São particularmente úteis nas determinações de elementos para os quais não existam ESI's adequados, por exemplo o Al^{3+} [286], que normalmente é determinado indirectamente com um ESI sensível a F^- . Nas poucas montagens FIP referentes a eléctrodos de 1ª espécie, são citados eléctrodos de cobre [220, 282, 283, 287, 290] ou de prata [284, 285, 294], normalmente inseridos no sistema com uma configuração filiforme [282-285, 294]. O potencial de resposta potenciométrica destas unidades não é selectivo e são susceptíveis à presença de substâncias oxidantes e redutoras, estando dependentes da presença de complexantes, daí serem invariavelmente pouco utilizados (Fig. 3).

Os eléctrodos redox, pontualmente referidos (Fig. 2), são fundamentalmente utilizados em FIA como eléctrodos indicadores em titulações redox para monitorização da variação transiente de potencial na proximidade do ponto de equivalência. Os pares de oxidação-redução maioritariamente utilizados são o Fe (III) / Fe (II) [89, 277 - 279, 281] e Ce (IV) / Ce (III) [89, 276, 280].

I - 3 - Tipos de configuração do detector e forma de inserção nos sistemas FIA

Nos sistemas de fluxo com detecção potenciométrica, para se conseguir obter melhores resultados analíticos, deverá ser prestada a máxima atenção à configuração da célula detectora e ao seu processo de construção bem como à sua geometria, área de contacto com as soluções e volume interno [135, 305]. A forma como o sistema de detecção é acoplado à restante montagem FIA pode ser responsável por inúmeros problemas, salientando-se o aparecimento de volumes mortos, formação e retenção de bolhas de ar e alterações de estabilidade, reprodutibilidade de potenciais e variações no tempo de resposta da membrana sensora [135, 305], com consequências negativas na resposta analítica obtida. As dificuldades de inserção dos detectores potenciométricos nos sistemas de análise por injeção em fluxo foram no início, aliás, apontadas como as principais razões responsáveis pela fraca implementação e aceitação que este método de detecção teve por parte da comunidade científica. Daí ter resultado que, até 1983, apenas 14% dos trabalhos publicados sobre FIA fossem referentes a sistemas FIP [325].

Contudo, apesar de ser importante a forma como a célula potenciométrica é inserida no sistema FIP, já que influencia os resultados analíticos obtidos, é curioso constatar que são muito raras as referências a estudos comparativos de diferentes tipos de configuração dos detectores potenciométricos acoplados a sistemas FIP [276, 305, 326]. O mesmo se passa relativamente ao estudo e análise da influência das dimensões das células de fluxo utilizadas [45, 85, 305] nos resultados analíticos proporcionados.

Os detectores potenciométricos descritos na literatura podem apresentar diferentes formas de incorporação nos sistemas FIA em que se inserem (Tabela II), podendo consistir numa adaptação de eléctrodos de configuração convencional, ou então, serem construídos especificamente para esse fim, sendo-o maioritariamente com uma configuração tubular. A percentagem para cada tipo de arranjo referido na literatura citada está representada no gráfico esquematizado na Fig. 4.

Tabela II. Forma de acoplamento de detectores potenciométricos nas montagem FIA

<i>Tipo de arranjo/configuração</i>	<i>Referências</i>
<i>Cascata</i>	7, 18, 20, 23, 30, 40, 53, 63, 95, 113, 126, 127, 131, 296
<i>Cápsulas de fluxo (flow-through caps)</i>	22, 24, 26, 28, 30, 34-36, 38, 44, 49-52, 54-56, 59, 61, 62, 65, 69, 71, 72, 74, 86, 92 - 94, 100, 109, 114, 120 - 123, 125, 136, 137, 144, 146, 149-151, 159, 166, 172, 173, 176 - 179, 181, 183, 185, 200, 201, 203, 204, 212, 213, 220, 221, 223, 224, 227, 228, 230, 234, 236, 237, 247-249, 256, 261, 265, 266, 268, 270 - 273, 280, 281, 284, 286, 290 - 292, 294, 295, 297, 336, 365
<i>Membrana com papel de filtro</i>	33, 317, 327, 328
<i>Fio no circuito</i>	136, 142, 143, 145, 148, 149, 152, 160, 174, 186, 276, 282-285, 288, 312, 315
<i>Arranjo em jacto (wall-jet)</i>	14, 21, 27, 31-33, 37, 39, 45, 46, 48, 60, 64, 85, 87, 88, 90, 96, 99, 156, 163, 171, 205, 211, 218, 219, 225, 229, 233, 250, 251, 263, 264, 269, 277, 287, 304, 315
<i>Tubulares</i>	17, 19, 25, 41 - 43, 47, 58, 67, 68, 73, 75 - 84, 98, 102, 105, 107, 110 - 112, 115-119, 128-130, 132 - 135, 138 - 141, 147, 153-155, 157, 158, 161, 162, 164, 165, 167, 168, 180, 182, 184, 187 - 199, 202, 208, 215, 217, 222, 232, 240 - 245, 253, 267, 298-303, 305, 307-311, 313, 314, 316 - 318, 320

Existem inúmeras referências a adaptações de eléctrodos convencionais para inserção em sistemas FIA, sendo a cápsula de fluxo (flow-through cap) a mais vulgarmente utilizada, em 35 % da literatura analisada (Fig. 4). Menos frequentemente utilizados são os arranjos em jacto, que englobam 14 % dos artigos referidos, e em cascata, com apenas 5% das referências. As configurações tubulares representam 39 % das referências enquanto que o fio inserido no circuito é indicado em apenas 6 % dos artigos.

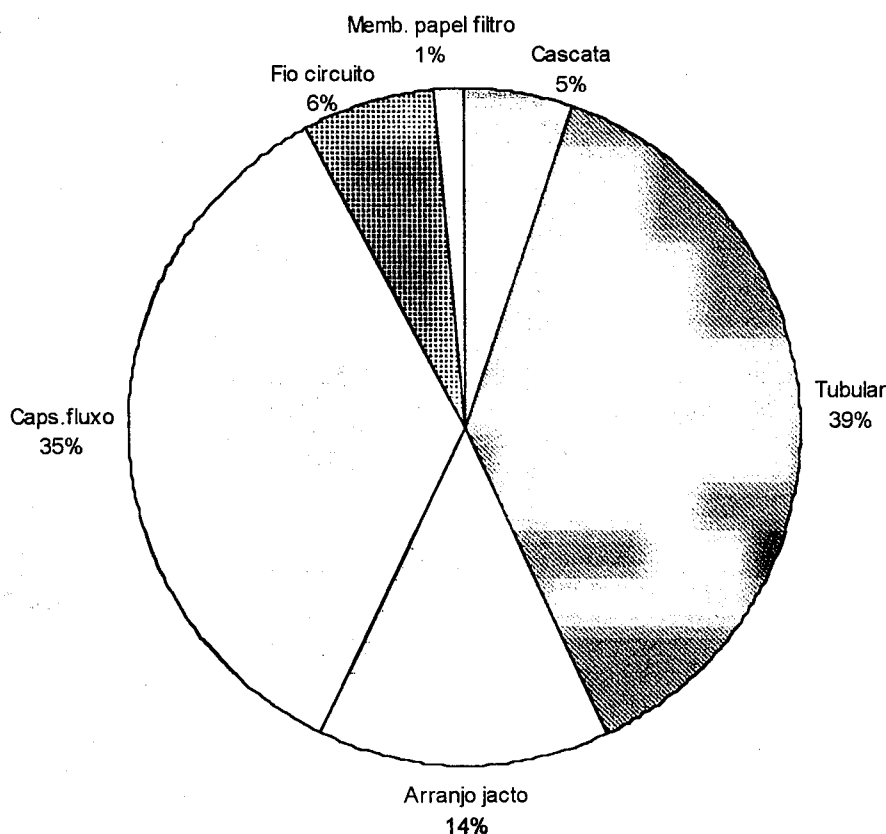


Figura 4 - Gráfico de distribuição das diferentes formas de acoplamento dos detectores potenciométricos aos sistemas FIA

Tal como acontecia com os processos de construção dos detectores potenciométricos, também as formas de incorporação nos sistemas FIA, sofreram uma evolução relativamente aos dados obtidos até 1993 [15], com uma acentuada

diminuição do recurso a sistemas em cascata e fio inserido no circuito (Fig. 5). O decréscimo da utilização destes dois sistemas de acoplamento está relacionado com a valorização da utilização de arranjos que permitam rentabilizar ao máximo as potencialidades dos sistemas FIP, particularmente no que se refere à forma tubular e às cápsulas de fluxo. Os arranjos tubulares e de cápsula de fluxo induzem menores alterações nas características hidrodinâmicas do fluxo que as provocadas pelos restantes arranjos potenciométricos, tornando-se por isso particularmente vantajosos.

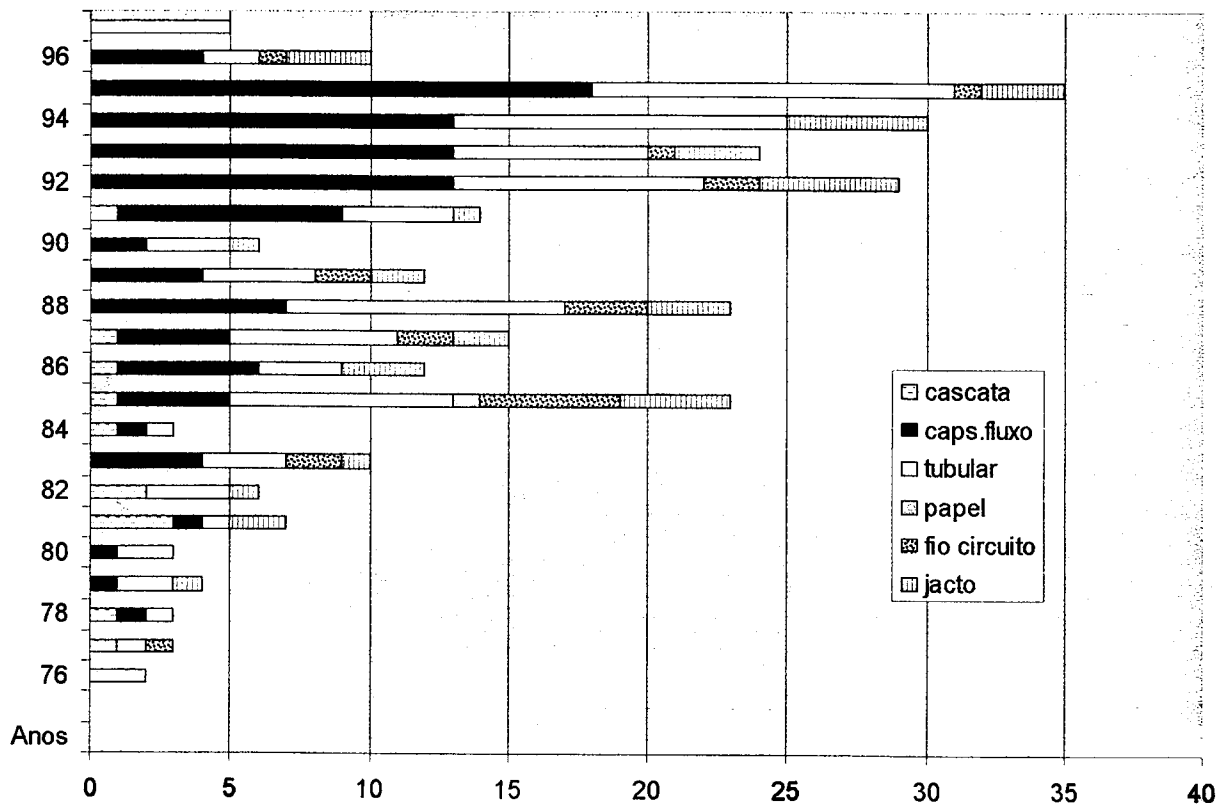


Figura 5 - Distribuição relativa das diferentes formas de acoplamentos de detectores potenciométricos em sistemas FIA ao longo do tempo

Os primeiros trabalhos de potenciometria em FIA, desenvolvidos por Ruzicka e Hansen [7] empregaram arranjos em cascata. Nesta configuração, o detector encontrava-se obrigatoriamente em fim de linha; o troço de amostra passava tangencialmente sobre a superfície do detector e continuava o seu percurso escorrendo sobre o eléctrodo de referência ou então, era recolhido num recipiente de esgoto onde se encontrava localizado o eléctrodo de referência. Este arranjo é ainda por vezes utilizado (Fig. 5) particularmente porque não é necessário introduzir quaisquer modificações aos eléctrodos de configuração convencional existentes. Tem, no entanto, como grandes desvantagens, a alteração das condições hidrodinâmicas do fluxo ao longo da membrana, que conduzem a instabilidade mecânica, com consequente oscilação dos potenciais. Além disso ocorrem frequentemente perdas de contacto electrolítico entre o eléctrodo indicador e o de referência. Estas razões justificam a baixa frequência de utilização deste tipo de arranjo, em apenas 5 % das referências citadas.

As primeiras tentativas de superar os arranjos em cascata, recorreram à adaptação dos extremos sensíveis dos eléctrodos de configuração convencional a cápsulas de fluxo (flow-through caps). Estas permitiam a fácil inserção de detectores convencionais em sistemas de fluxo contínuo não segmentado, justificando assim a sua grande popularidade de utilização (Fig. 5). As cápsulas de fluxo têm, contudo, como principal limitação a formação de uma câmara de diluição, com volumes variáveis entre 25 e 1500 μL [326], ficando as características operacionais do eléctrodo bem como os resultados analíticos obtidos prejudicados, dado que contribuem para uma maior dispersão do segmento de amostra intercalado no sistema. Os detectores em sandwich [137, 146, 159], constituídos por duas peças justapostas, em que uma delas contem uma cavidade que inclui a membrana sensora e a outra condiciona o percurso tangencial do fluxo sobre o sensor, poderão também ser incluídos como uma variante às cápsulas de fluxo podendo, por vezes, também alojar o eléctrodo de referência. Estas unidades tinham como principal vantagem a facilidade de substituição da membrana sensora e uma maior estabilidade mecânica relativamente à apresentada pelas cápsulas de fluxo convencionais. Em contrapartida, a dificuldade de controlar o ruído eléctrico, levou a

que houvesse pouca adesão à utilização deste processo de inserção de detectores em fluxo.

A utilização de membrana com papel de filtro [33, 317, 327, 328] situa-se um pouco entre os arranjos em cascata e cápsula de fluxo, referidos anteriormente. Estes arranjos baseiam-se na intercalação de uma membrana de papel entre o eléctrodo indicador e o de referência controlando o percurso da solução sobre a membrana sensora, permitindo desta forma ultrapassar a desvantagem de um arranjo em cascata. Assim promove-se a estabilidade mecânica da ligação iónica entre os dois eléctrodos. Estes sistemas estão, no entanto, limitados pelo aumento da diluição do segmento de amostra e por uma baixa frequência de amostragem, pelo que a sua utilidade analítica é reduzida (correspondendo a apenas 1% dos artigos citados (Fig. 4)), particularmente em sistemas de rotina onde o ritmo de amostragem se torna um parâmetro crucial.

Encontram-se também descritos arranjos denominados de “fio no circuito”. Estes poderão estar localizados em condutas miniaturizadas [136, 142, 143, 145, 148, 149], baseadas nos conceitos de circuitos electrónicos integrados, nos quais os sistemas de canais são colocados numa superfície planar ou numa superfície multi-camada de muito pequenas dimensões. Também poderão localizar-se no centro do fluxo transportador [276, 282, 283, 312, 315]. A composição da membrana sensora pode ser muito diversificada, sendo constituída apenas por um fio metálico, recoberto por halogenetos de prata e sulfuretos, ou ainda por uma membrana plastificada de condutor móvel. Este arranjo é de muito fácil construção e incorporação, daí a sua grande utilização, particularmente até 1988 (Fig. 5). O decréscimo de utilização deste tipo de inserção do detector está directamente relacionado com o facto da maioria dos detectores com configuração filiforme ser constituída por eléctrodos de 1ª e 2ª espécies, que também, pela sua inespecificidade, estão em desuso.

O arranjo em jacto (wall-jet), no qual a solução é espalhada uniformemente sobre toda a membrana sensora, permite uma fácil utilização dos eléctrodos comerciais em sistemas FIA, sendo descrito, como se representa na Fig. 4, em 14 % dos artigos revistos. Este arranjo permite dispensar o uso de cápsulas de fluxo, tornando-se portanto mais económico e versátil. Apresenta, no entanto, como principal limitação a destruição do troço de amostra bem como a impossibilidade da sua utilização em sistemas de paragem de fluxo (stopped-flow).

Com o objectivo de superar as dificuldades e limitações impostas por cada um dos arranjos anteriormente referidos, e de forma a rentabilizar as potencialidades dos sistemas FIA, foram desenvolvidos eléctrodos com geometrias mais apropriadas e com acoplamentos que proporcionavam montagens mecanicamente mais estáveis aos módulos de análise. Das geometrias propostas [17, 129, 130, 132, 134, 135], destaca-se a tubular, na qual as soluções atravessam a membrana sensora incorporada no corpo do eléctrodo por intermédio de um canal talhado de pequenas dimensões. Este tipo de configuração permitia a construção do eléctrodo indicador, com um diâmetro igual ao do percurso analítico, evitando a dispersão da amostra na sua passagem pelo detector e garantindo a manutenção das características hidrodinâmicas do fluxo. Esta forma de configuração permitia a obtenção de unidades com diâmetros internos de 0,8 a 2 mm e comprimentos na ordem dos 5 / 20 mm, consequentemente com volumes internos muito reduzidos. Esta última característica reveste-se de particular importância em montagens nas quais se coloquem detectores em série, viabilizando determinações multiparamétricas. Em 1990 foi também proposta uma variante aos arranjos referidos para as montagens FIA, que consistia em incorporar, num só bloco, o eléctrodo tubular e o de referência, de forma a simplificar as montagens e torná-las mais económicas, já que se dispensava o recurso a um dispositivo adicional para alojar o eléctrodo de referência convencional [162].

Apesar de todas as vantagens evidenciadas pela configuração tubular, houve inicialmente pouco interesse no seu desenvolvimento. Este facto deveu-se à dificuldade de encontrar um processo de construção versátil, que permitisse conferir ao eléctrodo a forma tubular. A dificuldade de construção de eléctrodos tubulares cristalinos explica aliás que, até 1993, a maior parte das referências a eléctrodos tubulares se restringisse praticamente a eléctrodos de 2ª espécie [298-303, 305, 310, 311, 313, 314, 316] e de condutor móvel [128-130, 132, 135, 138, 141, 147, 153-155, 157, 158, 161]. A partir do final da década de 80, o forte empenho de alguns grupos de investigação no desenvolvimento de processos de construção mais flexíveis, viabilizados pelo recurso a resinas epoxídicas com características moldáveis [329], permitiu atribuir aos detectores as mais variadas formas, e conduziu a um grande desenvolvimento de detectores cristalinos e de condutor móvel com configuração tubular (Tabela II e Fig. 5).

Actualmente a configuração mais correntemente utilizada, nos sistemas analíticos desenvolvidos para aplicação com a técnica FIA, é precisamente a tubular, abrangendo 39 % das referências.

A evolução das técnicas de construção dos eléctrodos e da sua incorporação nas montagens FIA permitiu a exploração de sistemas muito variados. As características proporcionadas pela utilização de unidades com pequeno volume morto permitiu que, empregando conjuntos de unidades distintas, os chamados “arrays”, se efectuasse a avaliação simultânea de diferentes parâmetros analíticos, sem que o segmento de amostra sofresse uma dispersão significativa na passagem por múltiplos detectores [177, 203, 207, 220, 224, 226]. A grande estabilidade mecânica proporcionada por estas montagens permitiu inclusivamente a construção de sistemas de fluxo portáteis (peso < 10 kg) para monitorização da poluição ambiental *in loco*, utilizando diferentes tipos de detectores [87, 220, 224, 236]. O pequeno volume morto e a manutenção das características de fluxo permitiram igualmente o desenvolvimento de eléctrodos com corpos contendo mais do que uma membrana sensora, com o objectivo de obter sistemas de detecção de sensibilidade aumentada.

Além disso a facilidade de acoplamento do detector potenciométrico na montagem, e a pequena dispersão por ele provocada, permitiu o desenvolvimento de sistemas de detecção saltitante [189]. Estes permitiam uma remoção sequencial de zonas singulares do segmento de amostra, dirigindo-as para canais específicos e independentes, nos quais se inseriam sistemas de detecção adequados, proporcionando determinações multiparamétricas. Nestes sistemas, a baixa dispersão sofrida pelo segmento de amostra ao passar pelo detector potenciométrico e a sua sólida e estável incorporação na montagem, só são viáveis com a utilização de detectores tubulares.

I - 4 - Desenvolvimento de sistemas de análise por injeção em fluxo com detecção potenciométrica e sua aplicação analítica

Poder-se-á constatar que a detecção potenciométrica, dada a grande diversidade de eléctrodos existentes e fácil incorporação em sistemas de fluxo automático, tem sido

aplicada à análise química nas mais diversas áreas, nomeadamente ao controlo químico de águas e alimentos, amostras biológicas (sangue, soro, urina, saliva, etc), produtos farmacêuticos, assim como à área ambiental (Fig. 6)

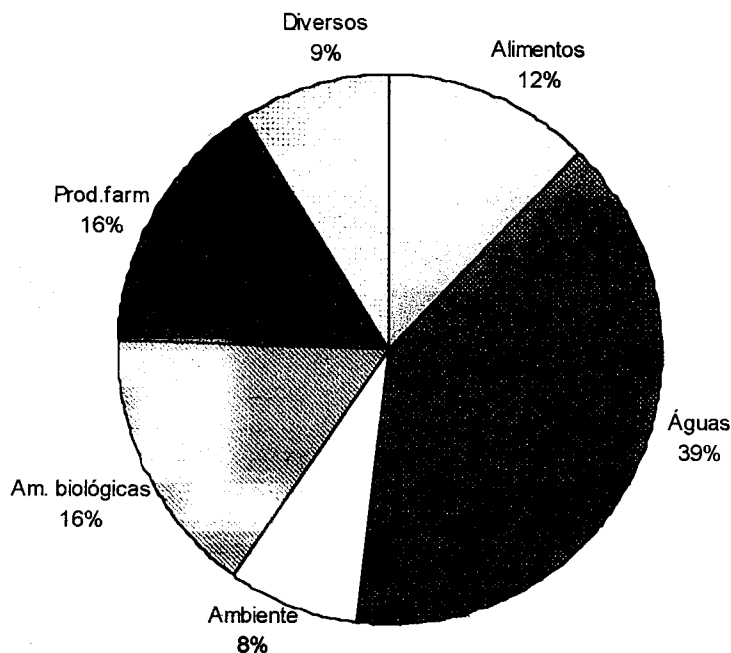


Figura 6 - Distribuição das áreas de aplicação dos sistemas FIA citados.

Por observação da Fig. 6 verifica-se referenciada uma percentagem muito elevada (39 %) de sistemas FIP aplicados à análise de águas, não só de consumo, mas também águas do mar, de lagos, de rios e águas residuais. Curiosamente as aplicações analíticas de produtos farmacêuticos correspondem a 16% das aplicações citadas na literatura descrita, apresentando-se como valiosas alternativas aos morosos e muitas vezes dispendiosos métodos de referência descritos pelas diferentes monografias oficiais. Esse reconhecimento é inclusivamente feito pela Farmacopeia Portuguesa, com a recente inclusão de uma metodologia potenciométrica para determinação de concentrações

iónicas, pela utilização de eléctrodos selectivos [330]. Nesta área destaca-se a aplicação de detectores potenciométricos na monitorização não só do teor em princípio activo de diferentes formulações [49, 51, 158, 161, 162, 165, 167, 168, 176, 184, 190, 192, 201, 204, 209, 214, 223, 235, 237], mas também em ensaios de controlo da forma farmacêutica, caso da dissolução e de uniformidade de conteúdo em comprimidos de diflunisal [218] e do processo de fermentação para obtenção de penicilinas [121, 257].

Na área alimentar começa-se também a assistir a uma significativa utilização da potencimetria como técnica de detecção em sistemas FIA, com uma percentagem de 12 % da totalidade da literatura revista [23, 28, 70, 75, 77, 80, 81, 89, 93, 110, 111, 187, 191, 193, 221, 225, 232, 244, 288, 299, 310]. Os vinhos têm sido das matrizes mais visadas, com a avaliação dos teores em açúcares redutores [193], potássio livre e total [232], SO₂ livre e total [23, 110, 246], cloretos [81, 111, 310] e glicerol e 2,3-butanodiol [320].

A área ambiental, devido ao crescente interesse pelas questões relacionadas com a qualidade do meio físico e saúde pública, tem registado um aumento significativo de solicitações para proceder a análises químicas de solos e ar, representando cerca de 8% da totalidade das publicações [38, 62, 66, 76, 122, 126, 138, 188, 220, 306] (Fig. 6). Numa perspectiva ambiental, o controlo analítico da composição dos solos, com determinação de nitrato e potássio [66], cloreto [76], pH [138], nitrato [188] e brometo [306], tem assumindo uma elevada importância, dado que a eventual presença de espécies contaminantes, provenientes de produtos químicos utilizados na agricultura ou resíduos industriais, poder vir a ser absorvida pelas plantas ou lixiviado para águas superficiais ou subterrâneas, com consequente introdução na cadeia alimentar.

As amostras biológicas são também visadas em 16 % das situações referidas (Fig. 6), com determinação dos parâmetros bioquímicos comuns e controlo de processos de hemodiálise como, por exemplo, a análise do teor em ureia [215, 217, 240], sódio [159, 166, 168, 169, 207, 213], cálcio [127, 169, 197, 198, 207], potássio [132, 159, 163, 169, 207, 210, 238], creatinina [200] e lítio [145].

Muito embora grande parte das aplicações analíticas que foram referidas recorram a sistemas de fluxo simples, a grande versatilidade dos sistemas FIP, particularmente devido à crescente utilização de detectores tubulares, contribuiu para o

desenvolvimento de montagens que permitiam a determinação simultânea de várias espécies analíticas. O primeiro sistema FIA com detecção multiparamétrica deve-se a Hansen [127], que incorporou, em série, um eléctrodo sensível a cálcio e outro de pH para detecção simultânea dos respectivos iões. Este procedimento pode ser atingido utilizando-se vários detectores, ou um só detector, com a ajuda de diferentes configurações FIA [331]. As montagens para determinações multiparamétricas podem ser baseadas na colocação de detectores em série, desde que o primeiro detector não seja destrutivo da amostra, ou na divisão de fluxo após a injeção da amostra. Estes sistemas, nos quais numa mesma análise se procede à monitorização de dois ou mais parâmetros, têm sido muito explorados, particularmente nesta última década, em grande parte devido ao uso crescente de detectores tubulares. Encontram-se descritos inúmeros sistemas de fluxo empregando dois ou mais detectores potenciométricos [14, 42, 56, 67, 69, 97, 109, 127, 152, 160, 174, 175, 177, 182, 184, 196, 198, 203, 207, 220, 224, 226, 273, 301], mas também dois tipos distintos de processos de detecção. Como exemplos destacam-se, a detecção potenciométrica associada respectivamente à espectrofotometria UV/Vis [7, 34, 75, 152, 187, 189], à espectrofotometria de absorção atómica [141, 197], à fotometria de chama [79, 80, 120, 189, 232] e ainda à condutimetria [120, 318]. Encontram-se também algumas referências a sistemas potenciométricos multiparamétricos associados a técnicas de separação com HPLC [25, 287], colunas cromatográficas clássicas [21, 73, 156, 219, 290, 304, 312, 318] e electroforese capilar [233].

A aplicabilidade dos detectores potenciométricos é praticamente ilimitada. As espécies que não podem ser detectadas directamente, por inexistência de um eléctrodo selectivo apropriado, podem, por vezes, ser determinadas de uma forma indirecta, por titulação ou por análise diferencial [14, 51, 68, 121, 199, 251, 252]. Pode-se promover reacções químicas entre o analito e um reagente, seguido da medição do produto da reacção ou do decréscimo do reagente utilizado como titulante [14, 51, 68, 121, 199, 251, 252]. Como exemplos pode-se referir a determinação de Al^{3+} [14] e teofilina [51] com ESI's sensíveis a F^- , tioureia usando um ESI sensível a I^- [68], penicilinas usando eléctrodos sensibilizados [251, 252] ou de membrana rígida [121] e glicerol usando um eléctrodo de condutor móvel sensível a periodato [199].

Também as titulações potenciométricas têm sido privilegiadas em inúmeras determinações analíticas. A sua popularidade resulta do baixo custo das montagens, baixa manutenção e facilidade de operação, aliada à possibilidade de automatização e aquisição de dados por computador. As titulações em fluxo são normalmente denominadas “pseudo-titulações”, dado que o que se obtém é uma correspondência em termos de concentração entre o titulante e titulado, que permite estabelecer uma relação linear entre a largura de pico (intervalo de tempo) e o logaritmo da concentração do analito. Podem ser baseadas em reacções ácido-base, precipitação, oxidação-redução e reacções de complexação [41, 76, 81, 113, 117, 125, 147, 172, 192, 193, 272, 310], ou ainda baseadas em técnicas de gradiente [123], utilizadas por exemplo na determinação de constantes de complexação do sistema Cd (II) - glicina.

À medida que as determinações potenciométricas se foram impondo como metodologia analítica, registou-se um aumento de procura de soluções para problemas cada vez mais específicos. A selectividade potenciométrica, apontada muitas vezes como uma das suas maiores limitações, conduziu à intercalação de etapas de separação, modificação de matriz ou mesmo conversão da espécie a determinar, atingidas por passos de extracção, difusão de gases, diálise ou inserção de reactores empacotados, como forma de proporcionar melhores características operacionais a estes detectores.

Encontram-se descritas inúmeras montagens FIA com intercalação de unidades de separação por intermédio de membranas [26, 27, 42, 78, 102, 129, 130, 133, 139, 140, 145, 153-155, 157, 171, 187, 188, 208, 217, 227, 240, 244, 267, 284, 299], que permitem uma passagem selectiva de uma substância ou grupo de substâncias com determinadas características. É o caso da inserção em linha de unidades de difusão de gases, propostas por inúmeros autores [26, 27, 42, 110, 129, 130, 133, 139, 153-155, 157, 171, 187, 188, 208, 217, 227, 240, 244, 267, 284]. Nestes sistemas descreve-se a utilização de unidades modulares contendo membranas permeáveis a gases, hidrofóbicas e microporosas, de dimetilsilicone ou teflon, nos quais o processo de difusão é comandado por uma diferença na pressão parcial dos dois lados da membrana (entre o canal dador e aceitador) ou então por diferenças de solubilidade do gás nas soluções que circulam nos dois canais. A inserção destas unidades pode mesmo permitir a obtenção de um efeito de pré-concentração de gases, quando se utiliza a técnica de

“stopped-flow” no canal aceitador, como foi referido na determinação de baixos teores de amónia (concentrações próximas de 10^{-6} mol L⁻¹) em águas [227].

O uso de membranas hidrofílicas, normalmente de silicone, permitem a separação de analitos dos restantes constituintes da matriz, podendo também ser utilizadas para promover um processo de diluição reprodutível e exacto ou ainda uma microfiltração, por transferência de espécies de um canal aceitador para um receptor. É o caso da diálise, que permite a difusão de espécies de baixo peso molecular entre soluções que fluem em canais distintos. Destacam-se como exemplos as montagens FIA destinadas à determinação de cloreto em banhos electrolíticos [78], em soluções parenterais e de hemodiálise [102] e em leite [299], e a determinação de salicilato [140] e lítio [145] em soros.

O estudo de cinéticas de reacções químicas e, particularmente, o estabelecimento da ordem da reacção e determinação das respectivas constantes estequiométricas, poderá igualmente ser acompanhada por sistemas FIP. Com estes objectivos encontra-se descrito o estudo da reacção de um composto fluoretado com tióis, em diferentes meios surfactantes [94], e a determinação de alumínio em extractos e infusões de folhas de chá [106].

A possibilidade de determinação de analitos em concentrações particularmente baixas, principalmente metais pesados em concentrações inferiores ao limite de resposta dos detectores, é referida pelo recurso a processos de concentração em linha utilizando resinas de troca iónica [31, 40, 46, 96, 112]. O seu princípio baseia-se na diminuição da dispersão da amostra intercalada, por introdução de um volume relativamente grande de solução amostra, com retenção do analito numa coluna miniaturizada, seguido da sua eluição, num pequeno volume de solução, e encaminhamento para o detector. Como exemplo refere-se um sistema FIA com resinas quelantes para determinação de Cu (II) [31], que permite atingir limites de detecção da ordem dos 10^{-8} mol L⁻¹. Recorrendo a um processo semelhante são referidas na literatura as determinações de Mn²⁺, Pb²⁺, Cu²⁺ e Cd²⁺ [40, 46, 112]. A inserção nos sistemas de fluxo, de reactores empacotados, pode também ter como objectivo, além do efeito de pré-concentração, estudos de especiação [311] e remoção de interferentes, por retenção destes em colunas de troca iónica [228], caso por exemplo da determinação simultânea de fluoreto, brometo, cloreto e iodeto [67].

Frenzel [14] e Trojanowicz [200, 296] utilizaram, também, montagens que permitiam a determinação de iões abaixo do valor de solubilidade intrínseca da membrana sensora dos eléctrodos utilizados, estabelecendo uma relação directa entre a diferença de potencial registada e a actividade dos iões a determinar. Foi o caso da determinação de anião cloreto para valores abaixo do produto de solubilidade de AgCl (na ordem dos 10^{-7} mol L⁻¹) [14, 296] e de creatinina para valores fisiológicos presentes na urina [200], utilizando um detector baseado em condutor móvel.

Se por um lado a detecção potenciométrica tem sofrido uma notável evolução no sentido de melhorar o processo de detecção, também as técnicas de fluxo vão sofrendo modificações com o objectivo de aumentar a sua versatilidade analítica. O aparecimento da análise por injeção sequencial, SIA (Sequential Injection Analysis), proposta em 1990, por Ruzicka e Marshall [332], como alternativa aos procedimentos FIA apresenta como principal característica a possibilidade de reversão do sentido do fluxo. Assim, estes sistemas apresentam como grande vantagem, relativamente aos sistemas FIA, o facto de, qualquer alteração que se faça no sistema (ex. volume de injeção, tempo de reacção, diluição da amostra ou de reagentes) poder ser conseguido apenas por programação do fluxo em vez de reconfiguração física do sistema [4, 333]. Estes sistemas têm, para já, sido pouco aplicados à detecção potenciométrica, encontrando-se referências à determinação simultânea de fluoreto e cloreto [92], pH e cloreto em águas [97] e glicerol e 2,3-butanodiol [320].

As diferentes abordagens descritas até agora fundamentam-se, quase na sua totalidade, na procura de soluções técnicas, através de alterações no design das montagens FIA utilizadas e na realização de diversas etapas, de tratamento das amostras, em linha. Apesar de, por essa via, se ter conseguido encontrar muitas soluções para inúmeros problemas e dificuldades analíticas, subsistiram ainda algumas limitações inerentes à detecção potenciométrica. Um dos problemas que por vezes se coloca relativamente à detecção potenciométrica prende-se com as limitações da sua sensibilidade analítica, particularmente quando aplicada a espécies di e trivalentes. No sentido de resolver esta limitação foram propostas anteriormente algumas abordagens em sistemas potenciométricos convencionais. Uma delas baseava-se no recurso ao método CCS ("cells connected in series"), que consistia na colocação de um número variável de células electroquímicas em série [334-336], sendo cada uma delas

constituída por um eléctrodo indicador convencional e um eléctrodo de referência. Foi também experimentada a soma dos potenciais de dois eléctrodos convencionais contra um mesmo eléctrodo de referência [337-339], bem como uma variante desta, recorrendo à utilização de eléctrodos com duas membranas incorporadas no mesmo corpo do eléctrodo de configuração convencional [340, 341], onde o potencial referente a cada membrana, relativamente ao eléctrodo de referência, era somado por intermédio de um dispositivo electrónico externo. O desenvolvimento de eléctrodos com geometrias mais apropriadas e com acoplamentos que proporcionavam montagens mecanicamente mais estáveis aos módulos de análise, permitiu abrir um novo caminho na procura de sistemas FIP de sensibilidade aumentada. Os detectores de configuração tubular tornaram-se particularmente vantajosos na resolução deste tipo de problemas, pelo facto de não provocarem a dispersão da amostra na sua passagem pelo sistema de detecção e pela possibilidade de colocação de mais do que uma membrana sensora num espaço relativamente curto. O objectivo destes sistemas era, com montagens simples e com pouca instrumentação, a obtenção de um sinal analítico aumentado, sem que a isso correspondesse um acréscimo do ruído eléctrico. Esta abordagem foi, no entanto, muito raramente experimentada em fluxo [14, 69, 182, 221, 236], normalmente recorrendo a sistemas diferenciais.

Do decorrer desta revisão pode-se constatar a importância e versatilidade dos sistemas FIP, e a evolução quer das técnicas de construção, quer das formas de incorporação dos sistemas de detecção, que permitiram responder a uma grande diversidade de situações analíticas e contornar muitas das limitações que inicialmente lhe foram apontadas, alargando assim a sua aplicabilidade analítica.

Referências Bibliográficas

- [1] L.T. Skeggs, *Analysis Am. J. Clin. Pathol.*, **1957**, 28, 311.
- [2] J. Ruzicka e E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1975**, 78, 145
- [3] J. Ruzicka, *Anal. Chim. Acta*, **1992**, 261, 3.
- [4] J. Ruzicka, *Analyst*, **1994**, 119, 1925.
- [5] J. Ruzicka, E.H. Hansen e E.A. Zagatto, *Anal. Chim. Acta*, **1977**, 88, 1.
- [6] J. Ruzicka e E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1978**, 99, 37.
- [7] E.H. Hansen, F.J. Krug, A.K. Groser e J. Ruzicka, *Analyst*, **1977**, 102, 714.
- [8] E. Pungor; K. Toth e G. Nagy, *Hung. Sci. Instrum.*, **1975**, 35 ,1.
- [9] E. Pungor; K. Toth e G. Nagy, *Ion and Enzyme electrodes in Biology and Medicine*, Ed. M. Kessler, Urban ans Schwarzenberger, Munchen, **1976**.
- [10] Zs. Fecher, G. Nagy, K. Toth e E. Pungor; *Anal. Chim. Acta*, **1978**, 98 ,193.
- [11] IUPAC, *Pure and Appl. Chem.*, **1994**, 66, 2527.
- [12] M. Valcárcel e M.D. Luque de Castro, *Flow-Injection Analysis, Principles e Applications*, Ellis Horwood, Chichester, **1987**.
- [13] L.K. Shpigun, *Spec. Public. R.Soc. Chem. (Reviews on Analytical Chemistry, Euroanalysis VIII)*, **1994**, 154, 246.
- [14] W. Frenzel, *Analyst*, **1988**, 113, 1039.
- [15] I.M.P.L.O. Ferreira e J.L.F.C. Lima, *J. Flow Injection Anal.*, **1993**, 10, 17.
- [16] IUPAC, *Pure and Appl. Chem.*, **1976**, 48, 129.
- [17] W.E. Van der Linden e R. Oostervink, *Anal. Chim. Acta*, **1978**, 101, 419.
- [18] J. Slanina, W.A. Lingerak e F. Bakker, *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 117, 91.
- [19] H. Müller, *Anal. Chem. Symp. Series*, **1981**, 8, 279.

- [20] M. Trojanowicz e W. Matuszewski, *Anal. Chim. Acta*, **1982**, 138, 171.
- [21] W.J. Van Oort e E.J.J.M. Van Eerd, *Anal. Chim. Acta*, **1983**, 155, 21.
- [22] P. Van den Winkel, G. De Backer, M. Vandeputte, N. Mertens, L. Dryon e D.L. Massart, *Anal. Chim. Acta*, **1983**, 145, 207.
- [23] G.B. Marshall e D. Midgley, *Analyst*, **1983**, 108, 701.
- [24] J.D.R. Thomas, *Anal. Chem. Symp. Series*, **1984**, 18, 141.
- [25] H. Müller, *Anal. Chem. Symp. Series*, **1984**, 18, 353.
- [26] C. Okumoto, M. Nagashima, S. Mizoiri, M. Kazama e K. Akiyama, *Eisei Kagaku*, **1984**, 30, 7.
- [27] K. Brunt, *Anal. Chim. Acta*, **1984**, 163, 293.
- [28] Cheng-Chih Lee e B.D. Pollard, *Anal. Chim. Acta*, **1984**, 158, 157.
- [29] T.P. Lynch, *Analyst*, **1984**, 109, 421.
- [30] M.G. Glaister, G.J. Moody e J.D.R. Thomas, *Analyst*, **1985**, 110, 113.
- [31] L. Risinger, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 179, 509.
- [32] W. Frenzel e P. Brätter, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 188, 151.
- [33] W. Frenzel e P. Brätter, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 185, 127.
- [34] N. Ishibashi, T. Imato e K. Tsukiji, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 190, 185.
- [35] J.F. Coetzee e C.W. Gardner, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 608.
- [36] D.E. Davey, D.E. Mulcahy e G.R. O'Connell, *Anal. Lett.*, **1986**, 19, 1387.
- [37] W. Frenzel e P. Bratter, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 187, 1.
- [38] J. Fucskó, K. Tóth, E. Pungor, J. Kunovits e H. Puxbaum, *Anal. Chim. Acta*, **1987**, 194, 163.
- [39] T.J. Cardwell, R.W. Catrall, P.C. Hauser e I.C. Hamilton, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 206.

- [40] Y.A. Zolotov, L.K. Shpigun, I.Y. Kolotyrkina, E.A. Novikov e O.V. Bazanova, *Anal. Chim. Acta*, **1987**, 200, 21.
- [41] S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J. Garcia-Raurich e E. Martinez-Fàbregas, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1988**, 6, 749.
- [42] E. Figuerola, A. Florido, M. Aguilar, J. Pablo e S. Alegret, *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 215, 283.
- [43] S. Alegret, A. Florido, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Talanta*, **1989**, 36, 825.
- [44] D.R. Turner, S. Knox, M. Whitfield, M. Santos, C. Pescada e M.L. Gonçalves, *Anal. Chim. Acta*, **1989**, 226, 229.
- [45] J.G. Douglas, *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 922.
- [46] Y. Okabayashi, M. Hikawa, T. Nakagawa, H. Tanaka e M. Chikuma, *Analyst*, **1989**, 114, 1267.
- [47] J.L.F.C. Lima e L.S.M. Rocha, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **1990**, 38, 127.
- [48] O. Elsholz, W. Frenzel, Cheng-Yu Liu e J. Möller, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1990**, 338, 159.
- [49] D.E. Davey, D.E. Mulcahy e G.R. O'Connell, *Talanta*, **1990**, 7, 313.
- [50] T. Imato, K. Ishii e N. Ishibashi, *Bunseki Kagaku*, **1990**, 39, 135.
- [51] Tai-Guang Wu e R.A. Durst, *Mikrochim. Acta [Wien]* **1990**, I, 187.
- [52] D.E. Davey, D.E. Mulcahy e G.R. O'Connell, *Talanta*, **1990**, 37, 683.
- [53] T.K. Krawczyk, M. Trojanowicz e A. Hulanicki, *Chem. Anal.*, **1988**, 33, 69.
- [54] D.E. Davey, D.E. Mulcahy e G.R. O'Connell, *Analyst*, **1992**, 117, 761.
- [55] D.R. Turner, S. Knox, M. Whitfield, M. Santos, C. Pescada e M.L. Gonçalves, *Anal. Chim. Acta*, **1989**, 226, 239.
- [56] R. Virtanen, *Anal. Chem. Symp. Series*, **1981**, 8, 375.
- [57] M.D.L. de Castro e M.V. Cases, *Analyst*, **1984**, 109, 413.

- [58] K. Tóth, J. Fucskó, E. Lindner, Z. Fehér e E. Pungor, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 179, 359.
- [59] T.K. Christopoulos e E.P. Diamandis, *Analyst*, **1987**, 112, 1293.
- [60] M. Trojanowicz, T.K.V. Krawczyk e W. Augustyniak, *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 207, 325.
- [61] K. Stulík, *Analyst*, **1989**, 114, 1519.
- [62] K. Stulík, *Pure Appl. Chem.*, **1987**, 59, 521.
- [63] M. Trojanowicz e W. Matuszewski, *Anal. Chim. Acta*, **1982**, 138, 71.
- [64] L. Ilcheva, M. Trojanowicz e T.K. Krawczyk, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1987**, 328, 27.
- [65] M.T. Neshkova, *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 273, 255.
- [66] R.M. Liu, D.J. Liu, A.L. Sun, *Analyst*, **1992**, 117, 1335.
- [67] F.M. Najib e S. Othman, *Talanta*, **1992**, 39, 1259.
- [68] J. Komljenovic e N. Radic, *Sens. Actuators*, **1995**, B24-25, 312.
- [69] J. Borzitsky, A. Dvinin, O. Petrukhin e Y. Urusov, *Analyst*, **1993**, 118, 859.
- [70] M.D. Capelato, A.M. Santos, O. Fatibello-Filho e R. Gama, *Anal. Lett.*, **1996**, 29, 711.
- [71] G. Nagy, K. Tóth, Z. Fehér e J. Kunovits, *Anal. Chim. Acta*, **1996**, 319, 49.
- [72] C.S. Pedreño, J.A. Ortuño e M.C. López, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 315, 63.
- [73] A.A. Almeida, X. Jun e J.L.F.C. Lima, *Mikrochim. Acta*, **1997**, 127, 55.
- [74] I. Papaefstathiou, M.T. Tena e M. Luque de Castro, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 308, 246.
- [75] I.M.P.L.V.O. Ferreira, J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro, R. Pérez-Olmos e A. Rios, *Analyst*, **1996**, 121, 1393.

- [76] A.M.R. Ferreira, A.O.S.S. Rangel e J.L.F.C. Lima, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, **1996**, 27, 1437.
- [77] J.L.F.C. Lima, A.O.S.S. Rangel e M.R. Souto, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, **1996**, 27, 37.
- [78] A.N. Araújo, M.B. Etxebarria, J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro e R. Pérez-Olmos, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1995**, 351, 614.
- [79] I.M.P.L.V.O. Ferreira, J.L.F.C. Lima e A.O.S.S. Rangel, *Rev. Port. Farm.*, **1995**, XLV, 24.
- [80] I.M.P.L.V.O. Ferreira, J.L.F.C. Lima e A.O.S.S. Rangel, *Anal. Sci.*, **1994**, 10, 801.
- [81] I.M.P.L.V.O. Ferreira, J.L.F.C. Lima e A.O.S.S. Rangel, *Food Chem.*, **1994**, 50, 423.
- [82] I.M.P.L.V.O. Ferreira e J.L.F.C. Lima, *Analyst*, **1994**, 119, 209.
- [83] I.M.P.L.V.O. Ferreira, J.L.F.C. Lima e L.S. Rocha, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1993**, 347, 314.
- [84] J. Gracia, J.L. Montesinos, M. Poch, J. Alonso, J. Bartroli, I.M.P.L.V.O. Ferreira e J.L.F.C. Lima, *Sens. Actuators A*, **1993**, 37-38, 607.
- [85] D.E. Davey, D. Mulcahy e G. O'Connell, *Electroanalysis*, **1993**, 5, 581.
- [86] X. Wang, W. Shen, R. Cattrall, G. Nyberg e J. Liesegang, *Electroanalysis*, **1995**, 7, 1048.
- [87] T. Dimitrakopoulos, P. Alexander, D.B. Hibbert, L. Cherkson e J. Morgan, *Electroanalysis*, **1995**, 7, 1118.
- [88] P.C. Nascimento e G. Schwedt, *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 283, 755.
- [89] T. Imato, *J. Flow Injection Anal.*, **1995**, 12, 145.
- [90] J. Lexa e K. Stulik, *Talanta*, **1994**, 41, 301.
- [91] T. Tang e H.J. Huang, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 2299.

- [92] J. Alpizar, A. Crespi, A. Cladera, R. Forteza, V. Cerdá, *Electroanalysis*, **1996**, 8, 1051.
- [93] H. Hara, N. Ishio e K. Takahashi, *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 281, 45.
- [94] A.M. Gerakis e M.A. Koupparis, *Analyst*, **1993**, 118, 1001.
- [95] L.K. Shpigun, O.V. Basanova e Y.A. Zolotov, *Sens. Actuators B*, **1992**, 10, 15.
- [96] J.X. Li e G.J. Liu, *Fenxi-Huaxue*, **1995**, 23, 671.
- [97] J. Alpizar, A. Crespi, A. Cladera, R. Forteza, V. Cerdá, *Lab. Rob. Autom.*, **1996**, 8, 165.
- [98] J. Komljenovic e N. Radic, *Analisis*, **1996**, 24, 63.
- [99] I. Rizov e L. Ilcheva, *Analyst*, **1995**, 120, 1651.
- [100] M.T. Neshkova e E.M. Pancheva, *Electroanalysis*, **1996**, 8, 557.
- [101] D.E. Davey, D.E. Mulcahy e G.R O'Connell, *Electroanalysis*, **1996**, 8, 274.
- [102] R.A.S. Lapa, J.L.F.C. Lima, E. Barrado e H. Vela, *Il Farmaco*, **1997**, 52, 127.
- [103] Y. Vlasov, Y. Ermolenko, I.A. Popov, S. El-Marug, V.G. Koroshev e V.V. Kolodnikov, *J. Anal. Chem.*, **1997**, 52, 81.
- [104] H. Hara e C.C. Huang, *Anal. Chim. Acta*, **1997**, 338, 141.
- [105] L. Olenic, E. Hopirtean e L. Olenic, *Analyst*, **1997**, 122, 107.
- [106] H.S. Wang, Z.H. Zhang, A.L. Sun, D.J. Liu e R.M. Liu, *Talanta*, **1996**, 43, 2067.
- [107] C.M.C.M. Couto, J.L.F.C. Lima e M.C.B.S.M. Montenegro, *Anal. Sci.*, **1997**, 13, 403.
- [108] M. Neshkova, E. Pancheva, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 300, 133.
- [109] M. Trojanowicz, *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 114, 293.
- [110] A.N. Araújo, C.M.C.M. Couto, José L.F.C. Lima e M.C.B.S.M. Montenegro, *J. Agric. Food Chem.*, **1998**, 46, 168.

- [111] C.M.C.M. Couto, J.L.F.C. Lima e M.C.B.S.M. Montenegro, *Analisis*, **1998**, 26, 182.
- [112] Cristina M.C.M. Couto, José L.F.C. Lima e M. Conceição B.S.M. Montenegro, Boaventura F. Reis e Elias AG. Zaggato, *Anal. Chim. Acta*, **1998**, 366, 155.
- [113] O. Åström, *Anal. Chim. Acta*, **1979**, 105, 67.
- [114] E.A.G. Zagatto, B.F. Reis, H. Bergamin Fº e F.J. Krug, *Anal. Chim. Acta*, **1979**, 109, 45.
- [115] J. Ruzicka, E.H. Hansen, A.K. Ghose e H.A. Mottola, *Anal. Chem.*, **1979**, 51, 199.
- [116] J. Ruzicka e E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 114, 19.
- [117] S.F. Simpson e F.J. Holler, *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 43.
- [118] T.E. Edmonds e G.Coutts, *Analyst*, **1983**, 108, 1013.
- [119] H.A. Mottola, Ch-Michel Wolff, A. Iob e R. Gnanasekaran, *Anal. Chem. Symp. Series*, **1984**, 18, 49.
- [120] F. Cañete, A. Ríos, M.D.L. de Castro e M. Valcárcel, *Analyst*, **1988**, 113, 739.
- [121] M. Carlsen, L. Christensen e J. Nielsen, *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 274, 117.
- [122] S. Ito, H. Hachiya, K. Baba, M. Eto, Y. Asano e H. Wada, *Talanta*, **1996**, 43, 1421.
- [123] A.C.Lopes da Conceição, M.L.S. Simões Gonçalves e M.M. Correia dos Santos, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 302, 97.
- [124] R. Shi, K. Stein e G. Schwedt, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1997**, 357, 752.
- [125] J. Ruzicka, E.H. Hansen e H. Mosbaek, *Anal. Chim. Acta*, **1977**, 92, 235.
- [126] E.H. Hansen, A.K. Ghose e J. Ruzicka, *Analyst*, **1977**, 102, 705.
- [127] E.H. Hansen, J. Ruzicka e A.K. Ghose, *Anal. Chim. Acta*, **1978**, 100, 151.

- [128] D.S. Papastathopoulos, E.P. Diamandis e T.P. Hadjiioannou, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 2100.
- [129] M.E. Meyerhoff e Y.M. Fraticelli, *Anal. Lett.*, **1981**, 14, 415.
- [130] Y.M. Fraticelli e M.E. Meyerhoff, *Anal. Chem.*, **1981**, 53, 992.
- [131] M. Trojanowicz, Z. Augustowska, W. Matuszewski, G. Moraczewska e A. Hulanicki, *Talanta*, **1982**, 29, 113.
- [132] M.E. Meyerhoff e P.M. Kovach, *J. Chem. Educ.*, **1983**, 60, 766.
- [133] W.N. Opdycke, S.J. Parks e M.E. Meyerhoff, *Anal. Chim. Acta*, **1983**, 155, 11.
- [134] A.J. Frend, G.J. Moody, J.D.R. Thomas e B.J. Birch, *Analyst*, **1983**, 108, 1357.
- [135] S. Alegret, J. Alonso, J. Bartrolí, J.M. Paulís, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Anal. Chim. Acta*, **1984**, 164, 147.
- [136] J. Ruzicka e E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1984**, 161, 1.
- [137] S. Alegret, J. Alonso, J. Bartrolí, J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado e J.M. Paulís, *Anal. Lett.*, **1985**, 18, 2291.
- [138] C. Hongbo, E.H. Hansen e J. Ruzicka, *Anal. Chim. Acta*, **1985**, 169, 209.
- [139] G.B. Martin e M.E. Meyerhoff, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 186, 71.
- [140] Q. Chang e M.E. Meyerhoff, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 186, 81.
- [141] J. Alonso, J. Bartroli, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 179, 503.
- [142] R.Y. Xie, V.P.Y. Gadzekpo, A.M. Kadry, Y.A. Ibrahim, J. Ruzicka e G.D. Christian, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 184, 259.
- [143] Zheng-Nan Zhou, R.Y. Xie e G.D. Christian, *Anal. Lett.*, **1986**, 19, 1747.
- [144] P.W. Alexander e J. Koopetngarm, *Anal. Chim. Acta*, **1987**, 197, 353.
- [145] R.Y. Xie e G.D. Christian, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 1806.

- [146] S. Alegret, J. Alonso, J. Bartrolí, A.A.S.C. Machado, J.L.F.C. Lima e J.M. Paulís, *Quím. Anal.*, **1987**, 6, 278.
- [147] C.J. Dowle, B.G. Cooksey, J.M. Ottaway e W.C. Campbell, *Analyst*, **1988**, 113, 117.
- [148] A.S. Attiyat, G.D. Christian, M.J. Pugia e R.A. Bartsch, *Microchem. J.*, **1988**, 38, 246.
- [149] J.A. Ortuño, M.C. Torrecillas e C. Sánchez-Pedreño, *Quím. Anal.*, **1988**, 7, 311.
- [150] T.J. Cardwell, R.W. Cattrall e P.J. Iles, *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 204, 329.
- [151] H. Wada, T. Ozawa, G. Nakagawa, Y. Asano e S. Ito, *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 211, 213.
- [152] P.C. Hauser, S.S. Tan, T.J. Cardwell, R.W. Cattrall e I.C. Hamilton, *Analyst*, **1988**, 113, 1551.
- [153] H.L. Lee e S.T. Yang, *J. Kor. Soc. Anal. Sci.*, **1989**, 2, 77.
- [154] H.L. Lee e J.H. Yun, *Proceedings of the Third Korea-Japan Joint Symposium on Analytical Chemistry*, **1989**, 271.
- [155] H.L. Lee e J.H. Yun, *J. Kor. Chem. Soc.*, **1989**, 33, 388.
- [156] M. Trojanowicz e M.E. Meyerhoff, *Anal. Chim. Acta*, **1989**, 222, 95.
- [157] S. Alegret, J. Alonso, J. Bartrolí e E. Martínez-Fàbregas, *Analyst*, **1989**, 114, 1443.
- [158] J.L.F.C. Lima, M.C.B.S. Montenegro, J. Alonso, J. Bartrolí e J.G. Raurich, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **1989**, 7, 1499.
- [159] G.J. Moody, B.B. Saad e J.D.R. Thomas, *Analyst*, **1989**, 114, 15.
- [160] P.C. Hauser, T.J. Cardwell, R.W. Cattrall, S.S. Tan e I.C. Hamilton, *Anal. Chim. Acta*, **1989**, 221, 139.

- [161] J.L.F.C. Lima, M.C.B.S. Montenegro, J. Alonso, J. Bartrolí e J.G. Raurich, *Anal. Chim. Acta*, **1990**, 234, 221.
- [162] J.L.F.C. Lima, M.C.B.S. Montenegro e A.M. Roque da Silva, *J. Flow Injection Anal.*, **1990**, 7, 19.
- [163] E. Lindner, K. Tóth, J. Jeney, M. Horváth, E. Pungor, I. Bitter, B. Ágai e L. Töke, *Mikrochim. Acta [Wien]*, **1990**, I, 157.
- [164] H.L. Lee e J.H. Yun, *J. Kor. Chem. Soc.*, **1991**, 35, 51.
- [165] J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro e A.M.R. Silva, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **1991**, 9, 1041.
- [166] M. Telting-Diaz, D. Diamond e M.R. Smyth, *Anal. Chim. Acta*, **1991**, 251, 149.
- [167] J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro, J. Alonso-Chamarro, J. Bartrolí e J. Garcia-Raurich, *Anal. Sci.*, **1992**, 8, 19.
- [168] J. Bartrolí, L. Alerm, P. Fabry e E. Siebert, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 308, 102.
- [169] D. Diamond e R. Forster, *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 276, 75.
- [170] J. Nyman e A. Ivaska, *Talanta*, **1993**, 40, 95.
- [171] W. Frenzel e C. Liu, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1992**, 342, 276.
- [172] O. Lutze, B. Ross e K. Cammann, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1994**, 350, 630.
- [173] T. Hattori e M. Kato, *Anal. Sci.*, **1995**, 11, 285.
- [174] A. Attiyat, G. Christian, J. McDonough, B. Strzelbicka e M.J. Goo, *Anal. Lett.*, **1993**, 26, 1413.
- [175] I. Rizov e L. Ilcheva, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 311, 175.
- [176] E. Elnemma, *Anal. Lett.*, **1994**, 27, 1863.
- [177] F.J.S. Viteri e D. Diamond, *Analyst*, **1994**, 119, 749.
- [178] S. Alegret, J. Garcia-Raurich, C.I. Porcel, E. Martinez-Fabregas e D. Martorell, *Quím. Anal.*, **1994**, 13, 176.

- [179] S.S. Hassan e I.H. Badr, *Talanta*, **1994**, 41, 523.
- [180] A. Florido, L. G. Bachas, M. Valiente e I. Villaescusa, *Analyst*, **1994**, 119, 2421.
- [181] J.A. Ortuño, C.S. Pedreño e R. F. Bobadilla, *Talanta*, **1994**, 41, 627.
- [182] L.M.B.C. Alvares-Ribeiro e A.A.S.C. Machado, *Analyst*, **1997**, 122, 1435.
- [183] S.S. Hassan, F.M. Zawawi, S.A. Marzouk e E.M. Elnemma, *Analyst*, **1992**, 117, 1683.
- [184] C. Hongbo, *Talanta*, **1993**, 40, 1445.
- [185] M.R. Bates, T. Cardwell, R. Cattrall, L. Deady e C.G. Gregorio, *Talanta*, **1995**, 42, 999.
- [186] P.C. Hauser, *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 278, 227.
- [187] J.L.F.C. Lima, A.O.S.S. Rangel e M.R.S. Souto, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1997**, 358, 657.
- [188] A.M.R. Ferreira, J.L.F.C. Lima e A.O.S.S. Rangel, *Aust. J. Soil Res.*, **1996**, 34, 503.
- [189] P.B. Martelli, J.A.G. Neto, E.A.G. Zagatto, S.M.B. Brienza, M.C.B.S.M. Montenegro e J.L.F.C. Lima, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 317, 239.
- [190] J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro e M.G.F. Sales, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1996**, 14, 931.
- [191] J.L.F.C. Lima, A.O.S.S. Rangel e M.R. Souto, *J. Agric. Food Chem.*, **1995**, 43, 704.
- [192] M.N. Alçada, J.L.F.C. Lima e M.C.B.S.M. Montenegro, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1995**, 13, 459.
- [193] T.I.M.S. Lopes, A.O.S.S. Rangel, J.L.F.C. Lima e M.C.B.S.M. Montenegro, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 308, 122.

- [194] A.N. Araújo, M.B. Etxebarria, J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro e R. Pérez-Olmos, *Anal. Chim. Acta*, **1994**, 293, 35.
- [195] J.A.G. Neto, A.R.A. Nogueira, H. Bergamin Filho, E.A.G. Zagatto, J.L.F.C. Lima e M.C.B.S.M. Montenegro, *Anal. Chim. Acta*, **1994**, 285, 293.
- [196] J.A. Chamarro, J. Bartroli, S. Jun, J.L.F.C. Lima e M.C.B.S.M. Montenegro, *Analyst*, **1993**, 118, 1527.
- [197] S. Jun, J.L.F.C. Lima e M.C.B.S.M. Montenegro, *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, **1994**, 8, 93.
- [198] S. Jun, J.L.F.C. Lima e M.C.B.S.M. Montenegro, *Rev. Port. Farm.*, **1993**, XLIII, 27.
- [199] M.C.B.S.M. Montenegro, J.L.F.C. Lima, I. Mattos, G.O. Neto, J.A.G. Neto e E.A.G. Zagatto, *Talanta*, **1993**, 40, 1563.
- [200] W. Matuszewski, M. Trojanowicz, M. Meyerhoff, A. Moszczynska e E.L. Moroz, *Electroanalysis*, **1993**, 5, 113.
- [201] S.S. Hassan e S. Marzouk, *Electroanalysis*, **1993**, 5, 855.
- [202] S. Daunert, A. Florido, J. Bricker, W. Dunaway, L. Bachas e M. Valiente, *Electroanalysis*, **1993**, 5, 839.
- [203] F.J.S. Viteri e D. Diamond, *Electroanalysis*, **1994**, 6, 9.
- [204] S.S. Hassan, E. Elnemma e M. Hamada, *Electroanalysis*, **1995**, 7, 656.
- [205] K.S. Lee, J.H. Shin, S.H. Han, G.S. Cha, D.S. Shin e H.D. Kim, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 3151.
- [206] A. Jyo e I. Ishibashi, *J. Flow Injection Anal.*, **1993**, 10, 269.
- [207] R.J. Forster e D. Diamond, *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 1721.
- [208] L.R. Júnior, G.O. Neto, J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro e V.L. Silva, *Anal. Sci.*, **1997**, 13, 589.

- [209] Y.M. He, C.H. Pan e S.B. Xing, *Fenxi-Huaxue*, **1994**, 22, 67.
- [210] B.M. Buchheister, K. Herna, M.M. Schindler e J.G. Schindler, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1993**, 347, 141.
- [211] B.O. Palsson, B.Q. Shen, M.E. Meyerhoff e M. Trojanowicz, *Analyst*, **1993**, 118, 1361.
- [212] M.S. Ghauri e J.D.R. Thomas, *Anal. Proc.*, **1994**, 31, 181.
- [213] S. Walsh, F.J.S. Viteri e D. Diamond, *Anal. Proc.*, **1995**, 32, 365.
- [214] M.A. Hamada, G.J. Moody e J.D.R. Thomas, *Anal. Proc.*, **1993**, 30, 146.
- [215] M. Jurkiewicz, S. Solé, J. Almirall, M. García, S. Alegret e E. Martinez-Fàbregas, *Analyst*, **1996**, 121, 959.
- [216] C.E. Efstathiou e T.P. Hadjiioannou, *Rev. Anal. Chem.*, **1995**, 14, 253.
- [217] A. Orellana, E. Martinez-Fàbregas e S. Alegret, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1993**, 11, 921.
- [218] P. Solich, P.E. Macheras e M.A. Koupparis, *J. Pharm. Sci.*, **1995**, 84, 889.
- [219] B.L. de Backer e L.J. Nagels, *Anal. Chim. Acta*, **1994**, 290, 259.
- [220] P.W. Alexander, L.T. di Benedetto, T. Dimitrakopoulos, D.B. Hibbert, J.C. Ngila, M. Sequeira e D. Shiels, *Talanta*, **1996**, 43, 915.
- [221] F. Zuther, B. Ross e K. Cammann, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 313, 83.
- [222] J. Alonso, J. Baró, J. Bartrolí, J. Sánchez e M. del Valle, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 308, 115.
- [223] S.S.M. Hassan e S.A.M. Marzouck, *Talanta*, **1994**, 41, 891.
- [224] T. Dimitrakopoulos, P.A. Alexander e D.B. Hibbert, *Electroanalysis*, **1996**, 8, 438.
- [225] T. Dimitrakopoulos, J.R. Farrell e P.J. Iles, *Electroanalysis*, **1996**, 8, 391.
- [226] M. Hartnett e D. Diamond, *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 1909.

- [227] R. Liu e B. Sun, *Anal. Lett.*, **1997**, 30, 1255.
- [228] T. Masadome, T. Imato, S. Itoh e Y. Asanon, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1997**, 357, 901.
- [229] B. Saad, M.M. Ariffin e M.I. Saleh, *Anal. Chim. Acta.*, **1997**, 338, 89.
- [230] L.T di Benedetto, T. Dimitrakopoulos, J.R. Farrel e P.J. Iles, *Talanta*, **1997**, 44, 349.
- [231] H. Shen, T.J. Cardwell e R.W. Cattrall, *Analyst*, **1997**, 122, 89.
- [232] A.O.S.S. Rangel e I.V. Toth, *Anal. Sci.*, **1996**, 12, 887.
- [233] B.L. De-Backer e L.J. Nagels, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 4441.
- [234] S. Ozawa, H. Miiyagi, Y. Shibata, N. Oki, T. Kunitake e W.E. Keller, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 4149.
- [235] J.R. Farrell, P.J. Iles e T. Dimitrakopoulos, *Anal. Chem. Acta*, **1996**, 335, 111.
- [236] P.W. Alexander, T. Dimitrakopoulos e D.B. Hibbert, *Field Anal. Chem. Technol.*, **1996**, 1, 31.
- [237] S.S.M. Hassan, W.H. Mahmoud e A.H.M. Othman, *Anal. Chim. Acta*, **1996**, 332, 39.
- [238] A. Uhlig, F. Dietrich, E. Lindner, U. Schnakenberg e R. Hintsche, *Sens. Actuators*, **1996**, B34, 252.
- [239] J.R. Farrell, P.J. Iles e T. Dimitrakopoulos, *Anal. Chem. Acta*, **1996**, 334, 133.
- [240] M. Jurkiewics, M. del Valle, S. Alegret e E. Martinez-Fabregas, *Anal. Chem. Acta*, **1996**, 327, 243.
- [241] L.R. Júnior, G.O. Neto, J.L.F.C. Lima e M.C.B.S.M. Montenegro, *Quím. Nova*, **1996**, 19, 549.
- [242] J.L.F.C. Lima, A.O.S.S. Rangel e M.R.S. Souto, *Rev.Port. Farm.*, **1996**, XLVI, 82.

- [243] José L.F.C. Lima, M. Conceição B.S.M. Montenegro e M. Goreti F. Sales, *J. Pharm. Sci.*, **1997**, 86, 1234.
- [244] José L.F.C. Lima, Cristina Delerue-Matos e M. Carmo V.F. Vaz, *J. Agric. Food Chem.*, **1998**, 46, 1386.
- [245] P.B. Martelli, B.F. Reis, E.A.G. Zagatto, J.L.F.C. Lima e R.A. S. Lapa, *Quim. Nova*, **1998**, 21, 133.
- [246] I.H.A. Badr, M.E. Meyerhoff e S.S.M. Hassan, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 310, 211.
- [247] J.W.B. Stewart, J. Ruzicka, H. Bergamin Filho e E.A. Zagatto, *Anal. Chim. Acta*, **1976**, 81, 371.
- [248] Bo A. Petersson, *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 209, 239.
- [249] S. Alegret e E. Martínez-Fàbregas, *Biosensors*, **1989**, 4, 287.
- [250] T.K. Krawczyk, M. Trojanowicz e A. Lewenstam, *Talanta*, **1994**, 41, 1229.
- [251] C. Maccà, L. Soldà e G. Palma, *Anal. Lett.*, **1995**, 28, 1735.
- [252] M. Carlsen, C. Johansen, R.W. Min, J. Nielsen, H. Meier e F. Lantreibecq, *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 279, 51.
- [253] Zulfikar, D.B. Hibbert e P. Alexander, *Electroanalysis*, **1995**, 7, 722.
- [254] H. Qu, X. Zhang e S. Zhang, *Food Chem.*, **1995**, 52, 187.
- [255] D. Martorell, E.M. Fabregas, J. Bartroli, S. Alegret e C.T. Minh, *Sens. Actuators B*, **1993**, 15-16, 448.
- [256] H. Hara e S. Matsumoto, *Analyst*, **1994**, 119, 1839.
- [257] H. Meier, F. Lantreibecq e C.T. Minh, *J. Aut. Chem.*, **1992**, 14, 137.
- [258] D.M. Ivnickii e J. Rishpon, *Biosensors e Bioelectronics*, **1994**, 9, 569.
- [259] F. Lisdat, N. Miura e N. Yamazoe, *Chem. Lett.*, **1994**, 1737.
- [260] L.T. di Benedetto e T. Dimitrakopoulos, *Electroanalysis*, **1997**, 9, 179.
- [261] K. Stein, R. Shi e G. Scwedt, *Anal. Chim. Acta*, **1996**, 336, 113.

- [262] K. Stein, *Chemie Labor Biotechnik*, **1993**, 44, 453.
- [263] A.U. Ramsing, J. Janata, J. Ruzicka e M. Levy, *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 118, 45.
- [264] A. Haemmerli, J. Janata e H.M. Brown, *Anal. Chim. Acta*, **1992**, 144, 115.
- [265] S. Shiono, Y. Hanazato, M. Nakako e M. Maeda, *Anal. Chim. Acta*, **1987**, 202, 131.
- [266] S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J. Domenech, N. Jaffrezic-Renault e Y. Duvault-Herrera, *Anal. Chim. Acta*, **1989**, 222, 373.
- [267] S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, M. Del Valle, N. Jaffrezic-Renault e Y. Duvault-Herrera, *Anal. Chim. Acta*, **1990**, 231, 53.
- [268] U. Brand, B. Reinhardt, F. Rüther, T. Scheper e K. Schügerl, *Anal. Chim. Acta*, **1990**, 238, 201.
- [269] P.D. van der Wal, E.J.R. Sudhölter e D.N. Reinhoudt, *Anal. Chim. Acta*, **1991**, 245, 159.
- [270] P.L.H.M. Cobben, R.J.M. Egberink, J.G. Bomer, E.J.R. Sudhölter, P. Bergveld e D.N. Reinhoudt, *Anal. Chim. Acta*, **1991**, 248, 307.
- [271] S. Alegret, J. Bartroli, C.J. Jorquera, M. Valle, C. Dominguez, J. Esteve e J. Bausells, *Sens. Actuators B*, **1992**, 7, 555.
- [272] J. Bartroli, L. Alerm, J.G. Raurich e J. Masip, *Quim. Anal.*, **1994**, 13, 31.
- [273] P. Woias, S. Koch, E. Muller, B. Barrow, J. Cefai, G. Curtis e H. Hughes, *Sens. Actuators B*, **1993**, 15-16, 68.
- [274] H. Muller e A. Spichermann, *Chem. Anal. [Warsaw]*, **1995**, 40, 599.
- [275] A. Isquierdo e M.D. Luque de Castro, *Electroanalysis*, **1995**, 7, 505.
- [276] Bo Karlberg e S. Thelander, *Analyst*, **1978**, 103, 1154.
- [277] K. Brunt, *Analyst*, **1982**, 107, 1261.

- [278] Y. Maeshima, T. Inui, A. Sakai, A. Henmi, S. Ito, Y. Asano e T. Imato, *J. Flow Injection Anal.*, **1992**, 9, 187.
- [279] H. Ohura, T. Imato, S. Yamasaki e N. Ishibashi, *Bunseki Kagaku*, **1994**, 43, 31.
- [280] H. Ohura, T. Imato e S. Yamasaki, *Bunseki Kagaku*, **1996**, 45, 689.
- [281] H. Ohura, T. Imato, S. Yamasaki e N. Ishibashi, *Talanta*, **1996**, 43, 943.
- [282] P.W. Alexander, M. Trojanowicz e P.R. Haddad, *Anal. Lett.*, **1984**, 17, 309.
- [283] P.W. Alexander, P.R. Haddad e M. Trojanowicz, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 2417.
- [284] W. Frenzel, C.Y. Liu e J. Oleksy-Frenzel, *Anal. Chim. Acta*, **1990**, 233, 77.
- [285] A.T. Hai-Hussein e G.D. Christian, *Anal. Lett.*, **1986**, 19, 825.
- [286] J.C. Ngila, P. Alexander e D.B. Hibbert, *Electroanalysis*, **1994**, 6, 990.
- [287] M. Trojanowicz, G.B. Martin e M.E. Meyerhoff, *Chem. Anal. [Warsaw]*, **1994**, 41, 521.
- [288] O. Fatibello-Filho, J.A. Nobrega e A.J.M. Guaritá-Santos, *Talanta*, **1994**, 41, 731.
- [289] Z.L. Chen e P.W. Alexander, *Electroanalysis*, **1997**, 9, 141.
- [290] Z.L. Chen e P.W. Alexander, *J. Chromatogr.*, **1997**, 758, 227.
- [291] Z. Chen e P.W. Alexander, *Anal. Chim. Acta*, **1996**, 332, 187.
- [292] Y. Zhang, J. Wu e E. Wang, *Electroanalysis*, **1993**, 5, 863.
- [293] E. Bychkov, M. Bruns, H. Klewe-Nebenius, G. Pfenning, K. Raptis, W. Hoffmann e H.J. Ache, *Sens. Actuators*, **1995**, B26-27, 384.
- [294] D.B. Hibbert, P.W. Alexander, S. Rachmawati e S.A. Caruana, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 1015.
- [295] M. Trojanowicz, W. Matuszewski e A. Hulanicki, *Anal. Chim. Acta*, **1982**, 136, 85.
- [296] M. Trojanowicz e W. Matuszewski, *Anal. Chim. Acta*, **1983**, 151, 77.

- [297] J. F. Coetzee e C. Gunaratna, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 650.
- [298] J.F. van Staden, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1986**, 325, 247.
- [299] J.F. van Staden, *Anal. Lett.*, **1986**, 19, 1407.
- [300] J.F. van Staden, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 179, 407.
- [301] J.F. van Staden, *Analyst*, **1986**, 111, 1231.
- [302] J.F. van Staden e C.C.P. Wagener, *Anal. Chim. Acta*, **1987**, 197, 217.
- [303] J.F. van Staden, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1987**, 328, 68.
- [304] J.E. Lockridge, N.E. Fortier, G. Schmuckler e J.S. Fritz, *Anal. Chim. Acta*, **1987**, 192, 41.
- [305] J.F. van Staden, *Anal. Proceedings*, **1987**, 24, 331.
- [306] J.F. van Staden, *Analyst*, **1987**, 112, 595.
- [307] J.F. van Staden, *Analyst*, **1988**, 113, 885.
- [308] J.F. van Staden, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1988**, 331, 594.
- [309] J.F. van Staden, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1988**, 332, 157.
- [310] J.L.F.C. Lima e A.O.S.S. Rangel, *J. Food Comp. Anal.*, **1989**, 2, 356.
- [311] J.F. van Staden, *Anal. Chim. Acta*, **1989**, 219, 55.
- [312] M. Trojanowicz, E. Pobozy e M.E. Meyerhoff, *Anal. Chim. Acta*, **1989**, 222, 109.
- [313] J.F. van Staden, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1989**, 333, 226.
- [314] W. Frenzel, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1989**, 335, 931.
- [315] F. Nyasulu, *Anal. Chim. Acta*, **1989**, 220, 287.
- [316] J.F. van Staden, *Analyst*, **1992**, 117, 51.
- [317] T. Altunbulduk, H. M. Kocker e W. Frenzel, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1995**, 351, 593.

- [318] W. Frenzel, A. Rauterberger-Wulff e D. Schepers, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1995**, 353, 123.
- [319] M.L. Hitchman e F.W.M. Nyasulu, *Talanta*, **1993**, 40, 1449.
- [320] G.C. Luca, B.F. Reis, E.A.G. Zagatto, M.C.B.S.M. Montenegro, A.N. Araújo e J.L.F.C. Lima, *Anal. Chim. Acta*, **1998**, 366, 193.
- [321] U.S. Frant e J.W. Ross, *Ger. Offen*, 1598453, **1965**.
- [322] P.L. Bailey, *Analysis with Ion-Selective Electrodes*, Heyden & Son Ltd., London, **1976**.
- [323] E.P. Serjeant, *Potentiometry and Potentiometric Titrations*, John Wiley and Sons, **1984**.
- [324] P. Bergveld, *IEEE Biomed. Eng. BME-19*, 70, **1970**.
- [325] M. Valcárcel e M.L. de Castro, *Quim. Anal.*, **1983**, 1, 201.
- [326] J.M.C.S. Magalhães e A.A.S.C. Machado, *Port. Electrochim. Acta*, **1991**, 9, 431.
- [327] K. Cammann, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1988**, 329, 691.
- [328] W. Frenzel, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1988**, 329, 689.
- [329] A.A.S.C. Machado, *Analyst*, **1994**, 119, 2263.
- [330] *Farmacopeia Portuguesa*, VI Edição Oficial, Lisboa, **1997**.
- [331] J. Ruzicka e E.H. Hansen, *Flow injection Analysis*, John Wiley and Sons, Nova Iorque, **1988**.
- [332] J. Ruzicka e G.D. Marshall, *Anal. Chim. Acta*, **1990**, 237, 329.
- [333] G.D. Christian, *Analyst*, **1994**, 119, 2309.
- [334] R. Stepak, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **1983**, 315, 629.
- [335] A. Parczewski e R. Stepak, *Fresenius'Z. Anal. Chem.*, **1983**, 316, 29.
- [336] K. Suzuki, K. Tohda e T. Shirai, *Anal. Lett.*, **1987**, 20, 1773.

- [337] A. Parczewski, *Talanta*, **1987**, 34, 586.
- [338] A. Parczewski, *Talanta*, **1988**, 35, 473.
- [339] A. Karocki, K. Madej e A. Parczewski, *Chem. Anal. [Warsaw]*, **1989**, 34, 383.
- [340] R.A.S. Lapa, J.L.F.C. Lima e M.S.H. Reis, *Il Farmaco*, **1993**, 48, 1605.
- [341] R.A.S. Lapa, J.L.F.C. Lima, E. Barrado e H. Vela, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **1997**, 66, 71.

CAPÍTULO II

Aspectos gerais da parte experimental

Este capítulo visa uma descrição detalhada de parâmetros experimentais que são comuns aos diferentes capítulos desta dissertação. Para evitar desnecessárias repetições, optou-se por uma apresentação genérica dos meios e metodologias aplicadas, reservando-se para a parte experimental de cada capítulo as indicações específicas.

II - 1 - Meios experimentais usados

1.1 Aparelhagem e material acessório

A avaliação da diferença de potencial entre o(s) eléctrodo(s) indicador(es) e o eléctrodo de referência foi efectuada por intermédio de um potenciómetro Crison, modelo MicropH 2002, com sensibilidade de $\pm 0,1$ mV. Quando necessária a determinação dos valores de potencial de mais do que um eléctrodo indicador de configuração convencional, utilizou-se um comutador de eléctrodos, de construção laboratorial, acoplado ao potenciómetro [1].

A avaliação das características de funcionamento dos eléctrodos selectivos de configuração convencional foi efectuada por imersão das unidades em cubas de vidro, de parede dupla, da marca Crison, termostatizadas a $25 \pm 0,2$ °C por circulação de água proveniente de um banho termostático, marca Variomag, tipo EM/4. Os eléctrodos eram fixados às tampas, da marca Crison, adaptadas às cubas.

As soluções empregues nos ensaios de avaliação eram mantidas em constante agitação, por intermédio de um agitador magnético, marca Crison, microST modelo 2038.

Para a medição de volumes, na preparação de soluções padrão, reagentes e amostras, empregaram-se pipetas automáticas, da marca Gilson, modelos P20, P100, P200, P1000 e P5000, com volumes reguláveis. Para capacidades superiores a 5 mL foram usadas pipetas volumétricas da marca Glasfirn de classe AS.

O material de vidro utilizado era de classe A ou semelhante, lavado e passado por água bidesionizada.

As pesagens foram realizadas numa balança da marca Mettler, modelo AE 163, com uma sensibilidade de 0,00001g.

Nalguns casos, para promover a dissolução de substâncias sólidas, foi usado um banho de ultra-sons da marca Bandelin, modelo Sonorex RK 100H.

Utilizou-se um pHmetro da marca Metrohm, modelo E520, quando se pretendia controlar o valor do pH das soluções.

O registo dos sinais analíticos, resultantes do traçado de gráficos de variação de potencial em função do tempo, foi efectuado por intermédio de um registador da marca Metrohm, modelo E 586 Labograph ou de um registador Kipp & Zonen, modelo BD 111.

As titulações potenciométricas de soluções padrão e a execução de algumas metodologias de referência por titulação potenciométrica foram realizadas usando um sistema de titulação, constituído por uma bureta de marca CRISON, modelo Micro Bur 2031, comandada por um computador Hyundai, modelo Super 16, equipado com uma placa Advantech, modelo PCL 720, ligado a uma impressora EPSON, modelo RX 80 (Fig. 1). O software adequado para as titulações potenciométricas foi desenvolvido de acordo com o descrito em [2].

Na avaliação das características de funcionamento dos eléctrodos tubulares constituídos por duas membranas cristalinas homogéneas, soma dos potenciais foi efectuada por intermédio de um somador analógico de três entradas, construído especificamente para esse fim [3], com capacidade de efectuar a soma de potencial correspondente a 2 ou 3 membranas (Fig. 2). A montagem estabelecida era constituída por três amplificadores operacionais do tipo MXL 1179 (cada um deles associado a uma membrana sensora), e um circuito somador associado a um comutador que permitia a soma de duas ou três membranas. Na etapa somadora foi usada a entrada inversora, originando uma polaridade invertida na saída em relação às entradas do somador. A montagem final do circuito ocupava cerca de 3 x 3 cm e foi instalada numa caixa metálica de cerca de 15 x 4,5 x 15 cm. A fonte de alimentação era externa e de tensão igual a 220 V.

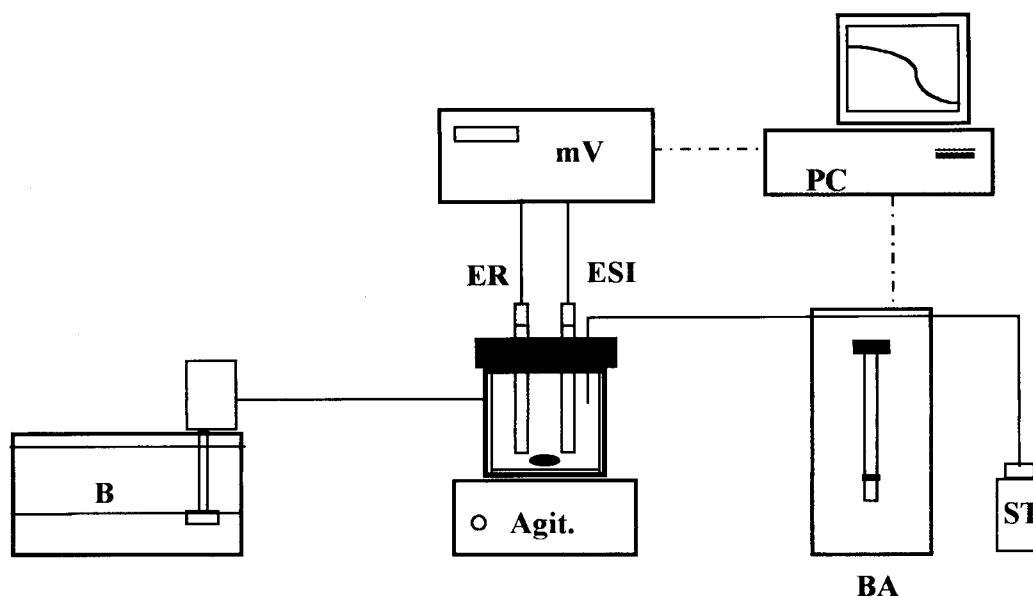


Figura 1 - Sistema automático de titulação potenciométrica.

Legenda: ER - eléctrodo de referência; ESI - eléctrodo indicador; ST - solução titulante; mV - decimilivoltímetro; PC - computador; B - banho termostático, BA - bureta automática; Agit. - agitador magnético.

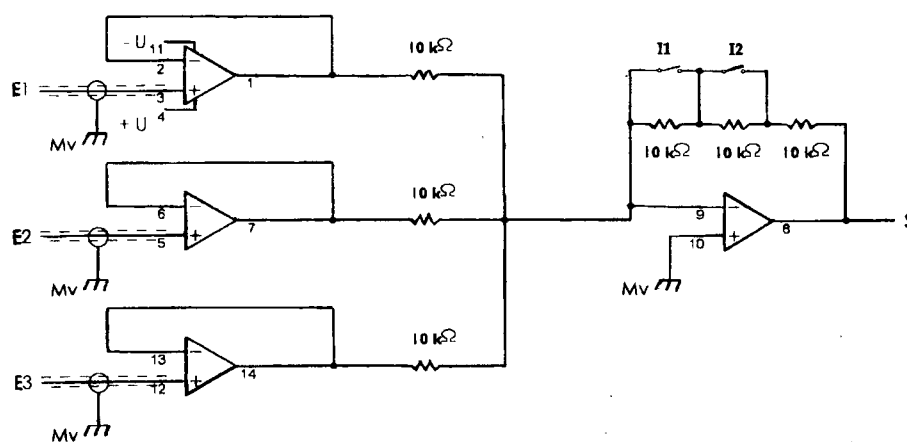


Figura 2 - Circuito somador

Legenda: E1, E2 e E3 - entradas do somador; S - saída para o voltímetro.

caixa metálica de cerca de 15 x 4,5 x 15 cm. A fonte de alimentação era externa e de tensão igual a 220 V.

Para a prensagem das membranas sensoras, quando da construção dos eléctrodos, utilizou-se um pastilhador metálico, construído expressamente para a realização desta etapa, apresentando um diâmetro de 10,0 mm e cujo material suportava uma carga máxima de prensagem de 31.000 Kg cm⁻². A prensa utilizada era da marca C-30, Research & Industrial Instruments Company (30 ton press, Ser. nº 0144).

As montagens FIA desenvolvidas eram constituídas por um sistema propulsor, composto por bombas peristálticas das marcas Gilson Minipuls 2 ou Ismatec S 820, e tubos de impulsão de PVC da marca Gilson. A inserção das soluções padrão, reagentes e amostras era efectuada por intermédio de uma válvula de 6 portas (4 vias), da marca Rheodyne, modelo 5020 ou um módulo injector/comutador de fabrico laboratorial [4] semelhante ao esquematizado na Fig. 3.

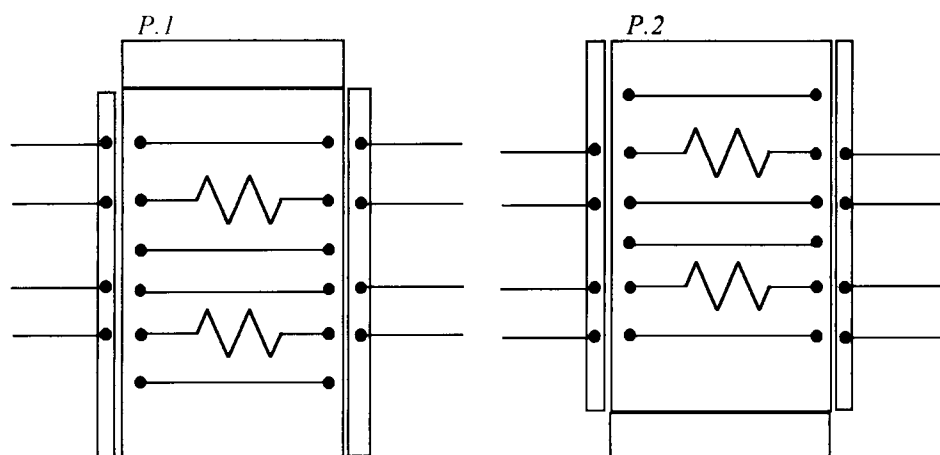


Figura 3 - Esquema de um módulo injector-comutador.

Legenda : P.1 – posição de enchimento; P.2 – posição de injecção.

A ligação dos diversos componentes da montagem era efectuada por intermédio de tubos Omnifit PTFE de 0,8 mm de diâmetro interno.

Nas montagens estudadas, o controlo do caudal de aspiração das soluções era conseguido pela selecção do diâmetro interno dos tubos de impulsão usados, bem como pela selecção da velocidade de rotação da bomba (no caso da bomba Gilson). O valor

como pela selecção da velocidade de rotação da bomba (no caso da bomba Gilson). O valor de caudal obtido era quantificado por medição do volume de água contido numa proveta e cuja aspiração era feita num certo intervalo de tempo. Desta forma obtinha-se um valor de caudal real, tendo em conta quaisquer sobrepressões que pudessem ocorrer nas diferentes zonas da montagem.

A quantificação do volume interno da válvula de injeção usada e dos tubos de ligação desta ao exterior, foi efectuada por intermédio de um sistema monocal em que a solução transportadora (H_2O) era dirigida para um vaso de titulação. Após união dos tubos de ligação com um ligador apropriado procedeu-se a 25 injeções de uma mesma solução padrão de HCl de concentração $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. A solução recolhida era posteriormente titulada potenciometricamente com uma solução de NaOH, cuja concentração era aferida, após titulação potenciométrica com uma solução padrão de HCl $0,10000 \text{ mol L}^{-1}$ (ampola comercial Titrisol 9973 - Merck). O volume interno da válvula, e dos correspondentes tubos de ligação, tinha um valor igual a $89 \mu\text{L}$. Os volumes de injeção indicados deverão ser adicionados de um valor correspondente ao volume interno da válvula de injeção e suas ligações, em todas as situações referidas ao longo desta dissertação.

1.2 Eléctrodos

Foi utilizado como eléctrodo de referência um eléctrodo de dupla junção de cloreto de prata/prata, da marca ORION, modelo 90-00-02. A solução interna era constituída por uma solução saturada de cloreto de potássio. A esta era adicionado nitrato de prata, com o objectivo de minimizar a dissolução do cloreto de prata depositado à superfície do fio de prata. Desta forma preveniam-se alterações do potencial de referência do eléctrodo. A composição da solução externa utilizada, com força iónica ajustada a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, foi escolhida tendo em conta os valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos determinados para cada um dos tipos de membranas do eléctrodo indicador associado. Foi escolhida uma solução de perclorato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no caso da avaliação das características dos eléctrodos tubulares sensíveis a chumbo e uma solução de nitrato de potássio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para todos os outros casos.

As medições de pH foram efectuadas com eléctrodos de vidro simples sensíveis ao protão, das marcas Russell, modelo SWL/B14 e Philips GAH 110.

1.3 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de qualidade pró-análise ou semelhante, não tendo sido submetidos a qualquer purificação adicional. Todas as soluções foram preparadas com água bidesionizada (condutividade inferior a $0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$).

Os reagentes e soluções padrão utilizados foram obtidos por pesagem rigorosa dos respectivos sólidos, seguida de diluição. Sempre que necessário, procedia-se à titulação da solução pretendida utilizando soluções padrão adequadas (padrões primários e/ou comerciais). As soluções menos concentradas eram obtidas a partir das anteriores por diluição rigorosa. Nalguns casos, procedeu-se à preparação de soluções padrão a partir de ampolas comerciais.

Os eléctrodos de vidro sensíveis a H^+ eram calibrados com soluções tampão Titrisol (Merck), pH 4,00 (ref. 9884), pH 7,00 (ref. 9887) e pH 9,00 (ref. 9889).

Foram empregues dois tipos de resina na construção dos eléctrodos. A resina epoxídica condutora era composta por EPO-TECH 410 (componente A) e EPO-TECH 410 (componente B) da Epoxy Technology, Inc. - 14 Fortune Drive, Billerica, Mass., 01821 USA, sendo usada na proporção de 1,5g : 0,16 g. A resina epoxídica não condutora era constituída por Araldite M e endurecedor HR, da Ciba-Geigy, sendo usada na proporção de 1g : 0,4 g.

1.4 Montagens FIA estudadas

Foram utilizados dispositivos em metacrilato de metilo (perspex), nomeadamente confluências (Fig. 4), câmaras de mistura [5] (Fig. 5) e unidades de difusão de gás/dialisadores (Fig. 6), suportes fixadores dos módulos sensores de

configuração tubular (Fig. 9) e suportes para eléctrodo de referência (Fig. 10), construídos de acordo com o descrito em [6].

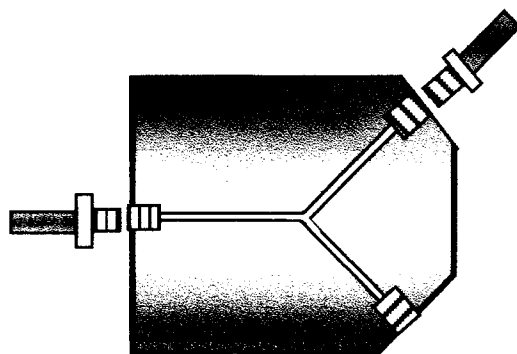


Figura 4 - Vista em corte de uma confluência

(Dimensões aproximadas 28 x 28 x 20 mm).

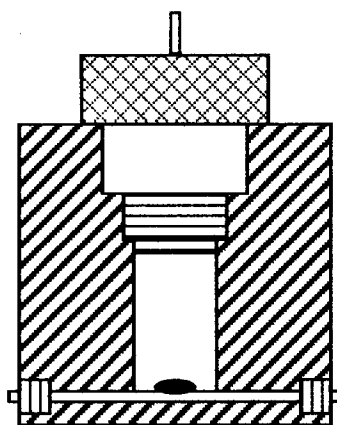


Figura 5 - Esquema em corte de uma câmara de mistura.

(Dimensões aproximadas 37 x 34 x 20 mm; dimensões internas 10 mm diâmetro x 22,5 mm).

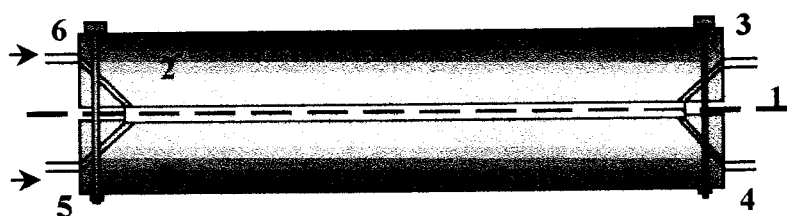


Figura 6 - Esquema em corte de uma unidade de difusão de gás

Legenda: 1 - membrana difusão gás (PTFE); 2 - bloco em perspex; 3 - canal saída para o detector; 4 - canal saída para o esgoto; 5 - canal entrada para a amostra; 6 - canal solução aceitadora (Dimensões : 58 / 98 / 128 x 39 x 27 mm).

O contacto de ligação à terra, destinado a eliminar o ruído eléctrico do sistema, nomeadamente o desenvolvido pela fricção dos rodízios metálicos resultante do funcionamento da bomba peristáltica, era constituído por um tubo de aço inoxidável, de 0,8 mm de diâmetro interno e com cerca de 10 mm de comprimento, ao qual era soldado um fio condutor com ligação eléctrica à terra do sistema de rede instalado no laboratório, como esquematizado na Fig. 7. O seu posicionamento no sistema FIA foi avaliado em cada uma das situações estudadas por forma a ser obtido o menor ruído eléctrico possível.

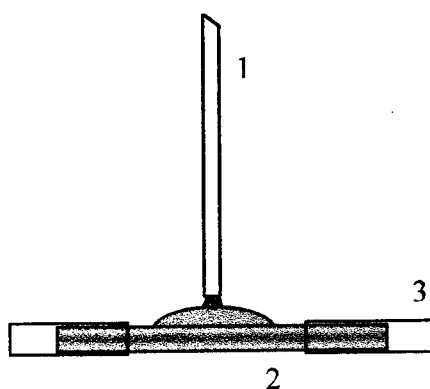


Figura 7 - Eléctrodo de ligação à terra

Legenda: 1 - cabo eléctrico blindado; 2 - tubo em aço inoxidável (10 mm x 0,8 mm d.i.); 3 - tubo teflon de ligação ao sistema FIA.

II - 2 - Construção dos eléctrodos

2.1 Preparação das membranas sensoras

O processo de preparação de cada uma das misturas sensoras, usadas na construção dos eléctrodos, será referido detalhadamente no capítulo respectivo. Neste capítulo serão apenas referidos os procedimentos comuns utilizados na construção de todos os eléctrodos.

As misturas sensoras, obtidas por reacção de precipitação, usadas na preparação das membranas, eram compostas por sulfureto de prata (I), no caso dos eléctrodos sensíveis a prata (I) e sulfureto, e sulfureto de prata e sais de prata dos aniões cloreto, brometo e iodeto, para os eléctrodos sensíveis aos três halogenetos referidos ($\text{AgX/Ag}_2\text{S}$). No caso dos eléctrodos sensíveis a cobre, cádmio e chumbo a mistura sensora era composta por sulfureto de prata e sulfuretos dos cations respectivos ($\text{MS/Ag}_2\text{S}$). O precipitado obtido na respectiva reacção era seco na estufa, triturado em almofariz de ágata e guardado em excicador ao abrigo da luz.

As membranas sensoras eram obtidas por prensagem de uma quantidade estabelecida de sensor (normalmente 0,25 g e 0,5 g no caso particular do cádmio) a uma pressão de cerca de $19.000 \text{ Kg cm}^{-2}$ o que, dado o pastilhador usado, originava uma pastilha de 10 mm de diâmetro com uma espessura de cerca de 0,4 mm.

2.2 Processo de construção dos eléctrodos selectivos de configuração convencional

Sempre que foi necessário preparar eléctrodos de configuração convencional, seguiu-se o processo de construção descrito em [7]. Neste, o condutor interno de um cabo eléctrico blindado era fixado, com solda, a um disco de prata de cerca de 5 mm de diâmetro. Este conjunto era colado a um cilindro de perspex por intermédio de uma resina epoxídica não condutora. Depois de seco, a membrana sensora (10 mm de

diâmetro) era fixada ao disco de prata, usando-se para esse efeito uma resina epoxídica condutora, sendo este conjunto aplicado num dos extremos de um tubo de perspex (12 cm comprimento x 10 mm diâmetro externo) e colado a este com resina não condutora.

2.3 Processo de construção dos eléctrodos selectivos de configuração tubular

Na construção destes eléctrodos [3], esquematizada na Fig. 8, o condutor interno de um cabo eléctrico blindado era fixado a uma lâmina rectangular de prata (cerca de 1,5 x 3,0 mm) com solda de estanho (A). A esta lâmina era colado, com resina epoxídica condutora à base de prata, um fragmento da membrana sensora, com uma dimensão de cerca de 3 x 3 mm (B-C). No caso dos eléctrodos de membrana simples esse conjunto era alojado na cavidade paralelepipedica (3,0 x 4,5 x 7,5 mm) de um pequeno cilindro de perspex de 1 cm x 7 mm e colado por intermédio de uma resina epoxídica não condutora à base de metacrilato (D).

Na construção dos eléctrodos de dupla membrana todo o procedimento era semelhante, usando-se, no entanto, um cilindro com duas cavidades paralelepipedicas (2 x (3,0 x 4,5 x 7,5 mm)) distanciadas entre si de cerca 3 mm, sendo inserida uma membrana sensora em cada uma delas (F).

Em ambos os casos, quando a resina epoxídica não condutora se apresentava endurecida, efectuava-se um furo centrado, de 0,8 mm de diâmetro, perpendicular às duas faces opostas do cilindro (E-G), atravessando a membrana sensora.

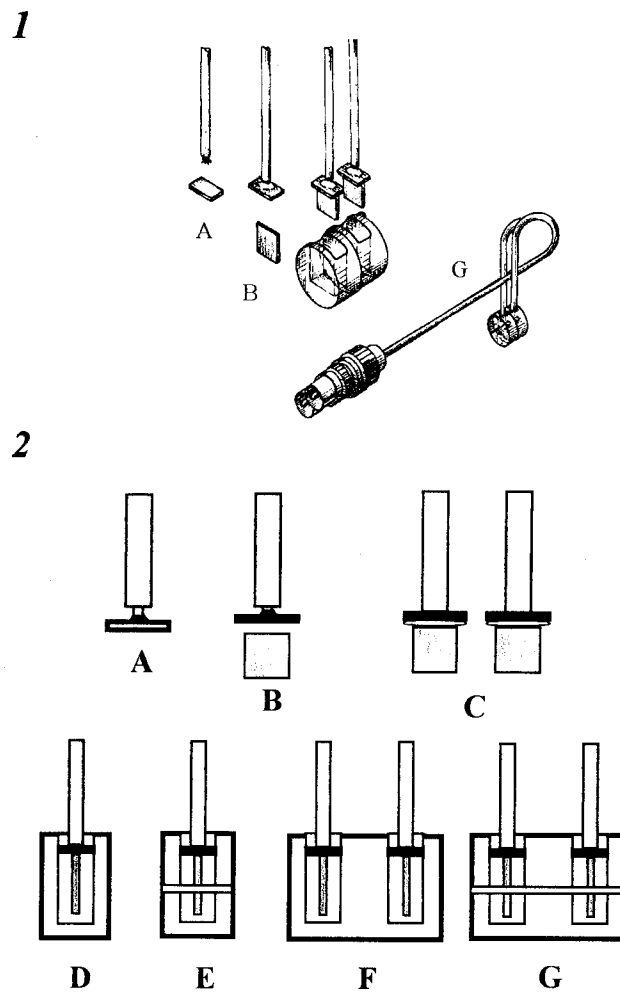


Figura 8 - Etapas de construção dos eléctrodos tubulares de membrana cristalina homogénea

Legenda : 1 - Visão gráfica; 2 - Visão esquemática

2.4 Módulo de suporte dos eléctrodos de configuração tubular e sua manutenção

As unidades sensoras eram fixadas à montagem FIA inserindo-as num bloco de perspex semelhante ao representado na Fig. 9. A superfície sensora apresentava um diâmetro de 0,8 mm, igual ao da tubagem usada em todo o sistema FIA, para que não ocorresse qualquer alteração no fluxo, e um comprimento de 0,4 mm.

Antes da sua primeira utilização, e sempre que havia perda de qualidade na resposta operacional dos detectores potenciométricos construídos, era efectuado um polimento, utilizando um fio de algodão humedecido, revestido de óxido de alumínio (Buehler, 3 micron, 40-6603-030-016) ou papel de polimento com pó de óxido de alumínio, de 3 micron, da Ultralap, Moyco Industries, Inc.

Após o polimento, procedia-se ao condicionamento dos eléctrodos fixando-os à montagem FIA e deixando fluir através da membrana, durante cerca de 2 h, uma solução de ião primário de concentração aproximadamente igual a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

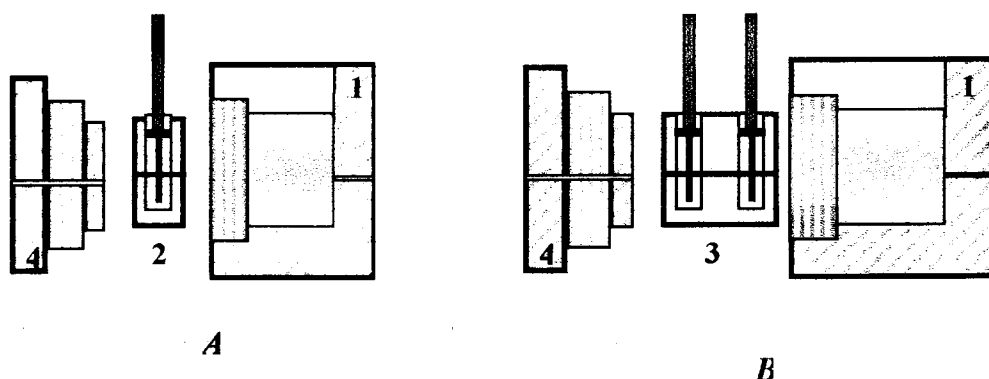


Figura 9 – Esquema dos suportes de eléctrodos indicadores

Legenda: A - suporte para eléctrodos simples; B - suporte para eléctrodos de dupla membrana; 1 - bloco em perspex; 2 - electrodo simples; 3 - electrodo de dupla membrana; 4 - rosca (Dimensões (A) 40 x 20 x 30 mm e (B) 50 x 20 x 30 mm).

II - 3 - Adaptação do eléctrodo de referência

A adaptação do eléctrodo de referência ao sistema FIA era feita através de um módulo de suporte de perspex semelhante ao esquematizado na Fig. 10. A sua colocação no suporte respectivo era efectuada sobre pressão, para evitar a formação de bolhas de ar na superfície do eléctrodo e consequente ruído eléctrico.

O seu posicionamento na montagem era feito em linha, imediatamente a seguir ao eléctrodo indicador. Desta forma garantia-se que não ocorria contaminação da membrana sensora do eléctrodo indicador pelo electrólito do eléctrodo de referência.

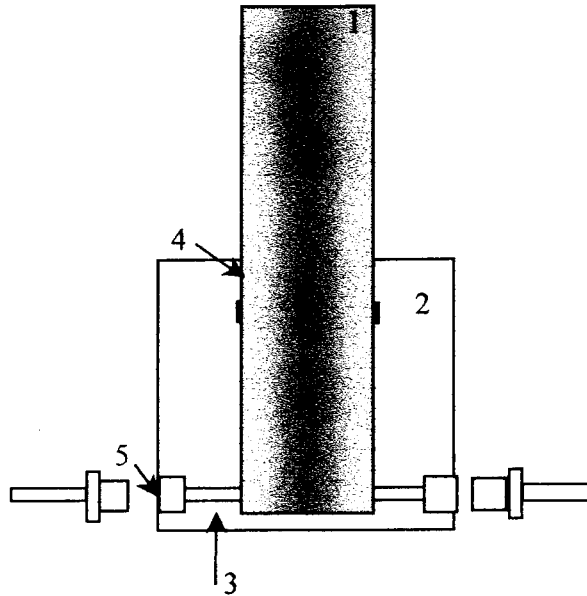


Figura 10 - Esquema do suporte de eléctrodo de referência

Legenda: 1 - eléctrodo de referência; 2 - bloco em perspex; 3 - canal de ligação, 4 - cavidade para encaixe do eléctrodo; 5 - ligação ao sistema FIA

(Dimensões aproximadas 35 x 20 x 28 mm).

II -4 - Avaliação dos parâmetros de calibração dos eléctrodos construídos

Contrariamente ao que sucede com os eléctrodos de configuração convencional, não existe uma metodologia definida para a avaliação das características operacionais dos eléctrodos destinados a serem incorporados em sistemas FIA.

Assim, no caso da avaliação de detectores para FIA, procurou-se utilizar uma metodologia de avaliação análoga à que era proposta para o estudo de eléctrodos convencionais, adaptando-a às condições de fluxo contínuo. Para tal, usou-se uma montagem FIA monocanal, de baixa dispersão, semelhante à representada na Fig. 11, com uma concepção que pudesse tornar a diluição da amostra praticamente irrelevante.

Procedeu-se à avaliação de um conjunto de parâmetros de calibração característicos que incluíam a determinação do declive das rectas de calibração, limite inferior de resposta linear (LIRL) e valores de repetitibilidade e estabilidade dos potenciais ao longo do tempo. Foram também efectuados estudos de avaliação do grau de extensão de interferências, por determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos, bem como da influência do pH nos valores de potencial dos eléctrodos.

Os eléctrodos selectivos de ião são sensores electroquímicos, cujo potencial depende quer do tipo quer da concentração das espécies químicas em solução. Por medida da diferença de potencial que se estabelece entre o eléctrodo indicador e um eléctrodo de referência pode-se determinar a actividade (ou, no caso de a força iónica se encontrar ajustada, a concentração) da espécie livre em solução.

A diferença de potencial obtida traduz-se pela equação de Nernst - Nikolsky modificada:

$$E = \text{const} + \frac{2,303RT}{Z_A F} \log \left[a_A + K_{A,B}^{\text{pot}} (a_B^{z_A/z_B}) + K_{A,C}^{\text{pot}} (a_C^{z_A/z_C}) + \dots \right]$$

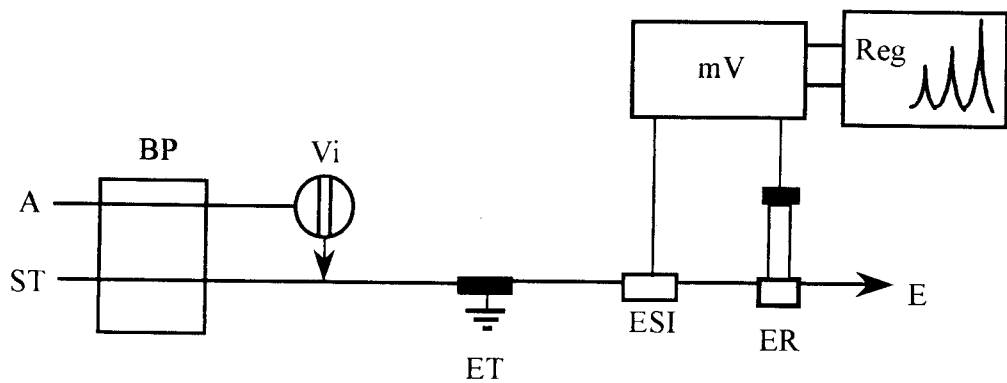


Figura 11 - Montagem FIA de baixa dispersão

Legenda : A - amostra; ST - solução transportadora; BP - bomba peristáltica; Vi - válvula de injeção; ET - eléctrodo "terra"; ESI- eléctrodo selectivo de iões de configuração tubular; ER - eléctrodo de referência; mV - decimilivoltímetro; Reg - registador, E - esgoto.

sendo

E - valor da diferença de potencial estabelecida entre o eléctrodo indicador e o de referência, expresso em mV;

R - a constante dos gases ideais, com um valor de $8,3144 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$;

T - a temperatura absoluta, expressa em Kelvin;

F - a constante de Faraday, igual a $9,64846 \times 10^4 \text{ C mol}^{-1}$;

a_A - a actividade do ião principal e a_B e a_C as actividades dos iões interferentes em solução

z - as respectivas cargas;

$K_{A,B}^{pot}$ e $K_{A,C}^{pot}$ - os coeficientes de selectividade potenciométricos do eléctrodo relativamente aos iões interferentes B e C .

O parâmetro *const* inclui o potencial normal do eléctrodo selectivo, o potencial do eléctrodo de referência e o potencial de junção líquida, expressos em mV.

Se em solução não se encontrarem presentes iões interferentes (a_B e $a_C = 0$), a equação anterior toma a forma simplificada :

$$E = const + \frac{2,303RT}{Z_A F} \log a_A$$

Quando a força iónica da solução se encontra ajustada ($I = \text{const}$) a actividade do ião é representada pela expressão

$$a_A = f_A c_A \quad \text{sendo } c_A \text{ a concentração do ião primário } A$$

O factor de actividade (f_A) é constante para uma força iónica constante, e a equação toma então a seguinte forma :

$$E = \underbrace{\text{const} + \frac{2,303RT}{Z_A F} \log f_A + \frac{2,303RT}{Z_A F} \log c_A}_{\text{const}'}$$

Ao fixar-se a força iónica, o factor de actividade (f_A) mantém-se constante, pelo que, o potencial do eléctrodo variará linearmente com a concentração, exprimindo-se por

$$E = \text{const}' + \frac{2,303RT}{Z_A F} \log c_A$$

O valor de const' é um parâmetro que vem expresso em mV, relativamente ao eléctrodo de referência empregue na determinação.

O factor de actividade pode ser calculado, a 25 °C, pela expressão de Debye-Huckel simplificada:

$$-\log f_A = \frac{0,51z_A^2 \sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}}$$

sendo I a força iónica da solução que contem o ião principal.

Segundo as recomendações da IUPAC [8], a curva de calibração de um eléctrodo selectivo de ião consiste na representação gráfica da variação da diferença de potencial, estabelecida entre o eléctrodo selectivo e o eléctrodo de referência, em função do logaritmo da actividade iónica (e/ou concentração) do ião primário, como se esquematiza na Fig. 12.

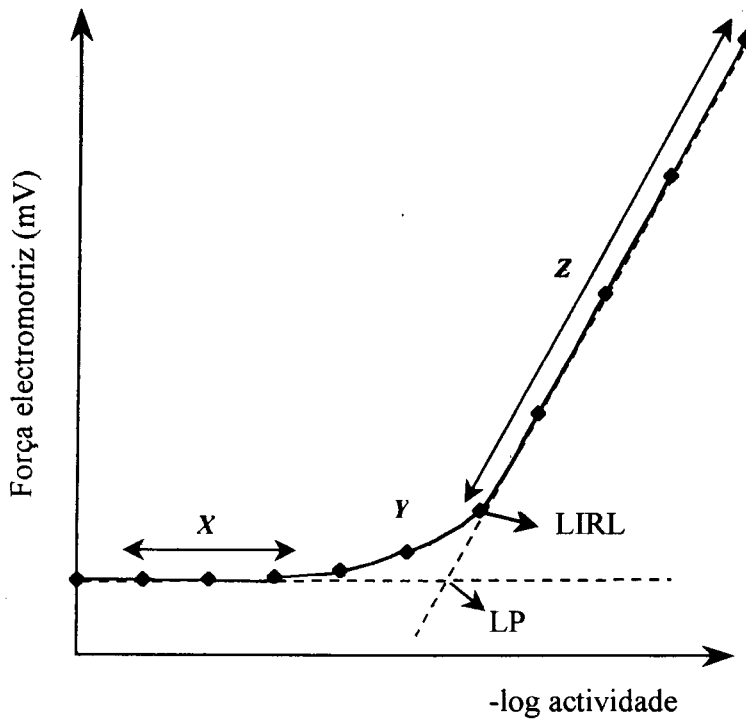


Figura 12 - Curva de calibração de um eléctrodo selectivo a catião

Legenda: LIRL - limite inferior de resposta linear; LPD - Limite prático de detecção.

É possível distinguir três zonas distintas numa curva de calibração: *zona x* - na qual a diferença de potencial entre o eléctrodo selectivo e o eléctrodo de referência se mantém constante mesmo que a actividade (concentração) do ião primário varie; *zona y* - onde ocorre uma variação não linear da diferença de potencial entre o eléctrodo selectivo e o eléctrodo de referência com a alteração da actividade; e a terceira zona, correspondente à variação linear da diferença de potencial entre o eléctrodo selectivo e

o eléctrodo de referência, que obedece à equação de Nernst-Nikolsky (*zona z*). Nesta zona de concentração o eléctrodo responde linearmente em função do logaritmo de actividade ou da concentração do ião para o qual é sensível.

O declive da recta pode ser positivo, quando o eléctrodo é sensível a catião, ou negativo, quando é sensível a anião, tendo um valor, a 25 °C, de 59,16 ou 29,58 mV década⁻¹ para iões mono e divalentes respectivamente.

4.1 Determinação do limite inferior de resposta linear e limite prático de detecção

O limite inferior de resposta linear (LIRL) é definido pela IUPAC [8] como sendo o valor de actividade do ião primário a partir do qual a relação linear, entre a diferença de potencial estabelecida entre o eléctrodo indicador e o eléctrodo de referência e o logaritmo da actividade do ião primário, se deixa de verificar (Fig. 12).

O valor do limite inferior de resposta linear varia com as condições experimentais usadas, além de que é fortemente dependente do estado físico e tempo de vida das membranas. Desta forma, na sua determinação, apenas se poderá atribuir significado à ordem de grandeza que lhe corresponde.

O limite prático de detecção (LPD) é também, de acordo com a definição da IUPAC [8], o valor da actividade do ião principal no ponto de intercepção das extrapolações das partes lineares da curva de calibração (Fig. 12).

O traçado das curvas de calibração nos ensaios realizados em FIA foi efectuado em triplicado, introduzindo na montagem FIA soluções padrão do ião primário, de diferentes concentrações, e procedendo-se ao registo do sinal analítico correspondente. Para estes ensaios utilizou-se como transportador uma solução constituída por um ajustador de força iónica (KNO₃ de concentração 0,1 mol L⁻¹ ou NaClO₄, no caso da avaliação dos eléctrodos sensíveis a catião chumbo) adicionada de uma pequena quantidade de ião primário, com a função de estabilizar a linha de base, diminuir a solubilização contínua da membrana e tornar mais rápido o retorno do sinal analítico à linha de base, após a injeção das soluções padrão. As soluções padrão de ião primário

injectadas tinham a força iónica ajustada com o mesmo electrólito da solução transportadora.

Na avaliação destes mesmos parâmetros, usando eléctrodos de configuração convencional, utilizou-se o método da adição de quantidade conhecida. Após prévia lavagem dos eléctrodos, que se encontravam em condicionamento numa solução 1×10^{-3} mol L⁻¹ de ião primário, com água bidesionizada, e secagem dos mesmos com papel absorvente, procedia-se à sua colocação, juntamente com o eléctrodo de referência, numa cuba de vidro de parede dupla, termostatzada a 25 °C. Nesta, era colocado um volume conhecido de uma solução diluída de ião primário (de concentração $1,0 \times 10^{-6}$ - $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) e ajustador de força iónica, em constante agitação. Por adição de volumes crescentes de uma solução mais concentrada do ião primário procedia-se ao registo do valor de diferença de potencial estabelecido entre os eléctrodos indicadores e de referência, após homogeneização e estabilização da leitura, usando como critério de estabilidade $\pm 0,1$ mV.

As curvas de calibração eram estabelecidas com base nos valores de potencial obtidos e utilizando um programa de computador - programa Statview 512TM da firma Abacus Concepts, Inc. desenvolvido para MacIntosh. Para isso, registavam-se os valores das diferenças de potencial em função da concentração do ião principal, por regressão linear, de y em x. As equações das rectas obtidas eram utilizadas para deduzir o valores de declive e o respectivo coeficiente de correlação quadrático.

O limite inferior de resposta linear (LIRL) foi determinado seguindo as indicações da IUPAC [8], calculando-se o valor de concentração (dado que se trabalhava com força iónica ajustada) correspondente ao ponto do gráfico onde a resposta do eléctrodo começava a apresentar desvio da linearidade.

As determinações dos valores de declive e LIRL das várias unidades construídas foram sempre efectuadas calculando-se a média dos valores obtidos num mínimo de três ensaios, empregando duas unidades diferentes, sujeitas a condicionamento antes e depois de cada ensaio.

4.2 Comportamento dos eléctrodos ao longo do tempo

4.2.1 Estabilidade e repetitibilidade dos potenciais

A estabilidade dos eléctrodos de configuração convencional e tubular foi avaliada traçando várias curvas de calibração ao longo de um dia de trabalho e procedendo-se ao cálculo da variação de potencial para diferentes níveis de concentração, na zona de resposta linear do eléctrodo. Para essa avaliação foram elaboradas as respectivas rectas de calibração, calculando-se o seu declive e o coeficiente de correlação quadrático.

Para os eléctrodos de configuração convencional, a avaliação da repetitibilidade dos potenciais obtidos, era efectuada pela determinação do potencial dos eléctrodos, relativamente ao eléctrodo de referência, para uma dada concentração de ião primário ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

No caso dos eléctrodos tubulares, a repetitibilidade foi avaliada calculando-se o desvio padrão dos sinais analíticos obtidos, após intercalação repetida de soluções de concentração conhecida ($5,0 \times 10^{-4}$; $1,0 \times 10^{-3}$ e $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de ião primário), soluções estas correspondentes a concentrações intermédias da zona de resposta linear do eléctrodo.

4.2.2 Tempo de vida dos eléctrodos

Para a avaliação deste parâmetro procedeu-se ao traçado de curvas de calibração repetidas, ao longo do tempo, no intervalo de concentração correspondente à zona de resposta linear do eléctrodo. Determinaram-se os correspondentes valores de declive, coeficiente de regressão linear e estabilidade dos potenciais dos eléctrodos.

As unidades consideravam-se inutilizadas quando, após polimento e condicionamento, a resposta do eléctrodo se mantinha degradada, nomeadamente quando havia decréscimo do declive da recta de calibração, aumento do tempo de

resposta, aumento do valor do limite inferior de resposta linear e a estabilidade dos potenciais se alterava mais do que 2 mV.

4.3 - Avaliação da influência do pH nos valores de potencial dos eléctrodos

A determinação da influência do pH na resposta dos eléctrodos tubulares, com o objectivo de determinar o intervalo de pH no qual não se registava alteração do sinal analítico, foi efectuada pelo traçado dos diagramas de Reilley.

Utilizou-se uma montagem FIA semelhante ao descrito em [9], com algumas adaptações, no qual, para se evitar variações significativas do volume da solução de ião primário, se promovia a recirculação da solução através da válvula de injeção (Fig. 13).

Num recipiente de grande volume (cerca de 250 mL) colocava-se uma solução de ião primário, de concentração $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, preparada em nitrato de potássio de concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido nítrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, de forma a ser obtido um valor de pH inicial próximo da unidade (e força iónica ajustada a $0,2 \text{ mol L}^{-1}$). O valor de pH da solução era determinado com o auxílio de um eléctrodo de vidro simples mergulhado no mesmo recipiente. Para tal, procedia-se inicialmente à calibração do eléctrodo de vidro, por medição da diferença de potencial entre esta unidade e um eléctrodo de referência quando ambos eram introduzidos em soluções tampão de pH 4,00, 7,00 e 9,00. Com os pares de valores obtidos (potencial vs pH) procedia-se ao traçado da correspondente recta de calibração e ao cálculo dos respectivos parâmetros de regressão linear. Os valores de pH posteriores eram determinados com base nos valores de regressão calculados, por interpolação dos valores de potencial obtidos para o eléctrodo de vidro. Após as alterações de pH provocadas na solução, por adição de pequenos volumes de solução de NaOH saturada e estabilização do eléctrodo de vidro, esta era intercalada na montagem FIA, registando-se a variação do sinal analítico correspondente.

O uso de volumes elevados de solução de ião primário e a adição de pequenos volumes de NaOH saturado visavam assegurar uma variação desprezável da concentração da solução ao longo do ensaio, para que as alterações de potencial verificadas pudessem ser exclusivamente relacionadas com as variações de pH.

Os diagramas de Reilley assim obtidos proporcionavam uma avaliação da variação do potencial dos detectores tubulares em relação ao pH da solução no momento da sua intercalação no sistema FIA e não em relação ao pH da solução em contacto com a membrana.

A determinação dos intervalos de pH para os quais não ocorria variação de resposta dos eléctrodos foi sempre efectuada calculando a média de, no mínimo três ensaios, empregando duas unidades tubulares diferentes sujeitas a condicionamento antes e depois de cada ensaio.

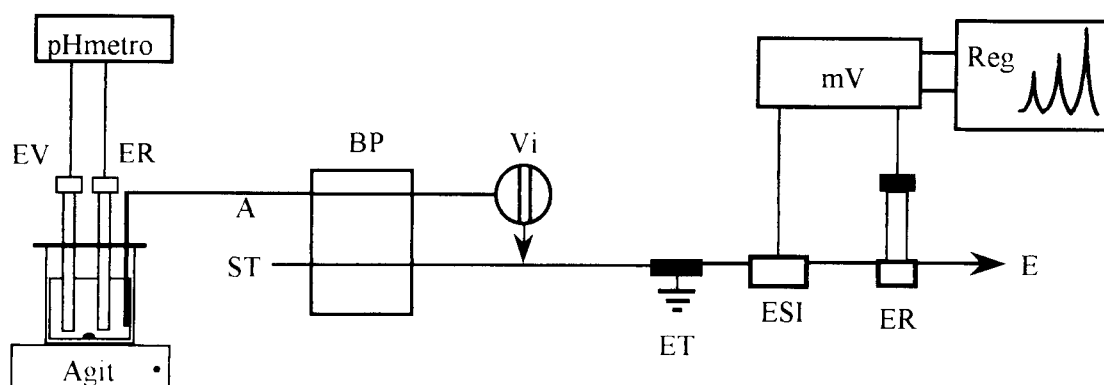


Figura 13 - Montagem FIA utilizada na determinação da influência do pH nos valores de potencial dos eléctrodos tubulares construídos.

Legenda: A - amostra; ST - solução transportadora; BP - bomba peristáltica; Vi - válvula de injeção; ET - electrodo "terra"; ESI- electrodo tubular; ER - electrodo de referência; mV - decimilivoltímetro; Reg - registador; EV - electrodo de vidro; Agit - agitador magnético; pHmetro - voltímetro para avaliação do pH.

4.4- Coeficientes de selectividade potenciométricos

De acordo com a equação de Nernst-Nikolsky, o potencial depende não só da concentração do ião principal como também da concentração e coeficiente de selectividade potenciométrico (K^{pot}) de todas as espécies presentes em solução.

A aplicabilidade analítica dos eléctrodos selectivos de iões é muitas vezes comprometida pela sua selectividade. O coeficiente de selectividade potenciométrico (K^{pot}) é definido pela IUPAC [8] como sendo a capacidade que um eléctrodo selectivo de iões tem de distinguir uma espécie iónica de outras presentes em solução e, quanto menor é este valor maior a preferência do eléctrodo para o ião primário.

Na determinação deste parâmetro em FIA, procurou-se reproduzir condições experimentais semelhantes às usadas com eléctrodos de configuração convencional, utilizando-se o método das soluções misturadas [8]. Neste, mede-se a variação de potencial entre o eléctrodo indicador e o de referência, em soluções de actividade de ião primário constante e variando-se a actividade do ião interferente. Os valores de diferença de potencial obtidos são representados graficamente, relativamente ao logaritmo de actividade do ião interferente. A intercepção da extrapolação das porções lineares da curva obtida na representação gráfica, indica os valores de concentração de ião interferente, c_B , que serão usados para o cálculo dos valores de K^{pot}

$$K_{A,B}^{pot} = \frac{c_A}{c_B^{z_B/z_A}}$$

Se $z_A = z_B$ a equação anterior assume a seguinte forma :

$$K_{A,B}^{pot} = \frac{c_A}{c_B}$$

Segundo Pungor [10], no caso dos eléctrodos de membrana cristalina, o valor de K^{pot} pode ser previsto pela razão dos produtos de solubilidade do sal constituinte da membrana do eléctrodo (AgA) e do sal interferente (AgB), podendo ser expresso pela equação:

$$K_{A,B}^{pot} = \frac{K_{ps}AgA}{K_{ps}AgB}$$

Esta mesma relação foi utilizada para comparação dos valores dos coeficientes de selectividade potenciométrica teóricos previsíveis e os valores obtidos experimentalmente com os eléctrodos construídos.

Os valores experimentais obtidos dependiam das condições em que foi realizado o ensaio, nomeadamente do tipo de metodologia usada na avaliação deste coeficiente, do estado físico das membranas e das concentrações dos iões, principal e interferentes, na solução a analisar, pelo que apenas podem ser tidos como uma ordem de grandeza da extensão da interferência. Uma vez que o objectivo deste trabalho era verificar se ocorriam variações nas características operacionais de resposta dos sistemas potenciométricos de sensibilidade aumentada propostos relativamente aos sistemas previamente descritos [11], optou-se por empregar uma metodologia semelhante.

O procedimento seguido na avaliação deste parâmetro consistia na injeção, no sistema FIA, de soluções de concentração constante de ião primário e concentrações crescentes de ião interferente, de modo a ser efectuado um estudo numa gama de concentrações suficientemente ampla. Com os valores de potencial registados procedia-se à elaboração de um gráfico de potencial em função do logaritmo da concentração do ião interferente, realizando-se o cálculo do coeficiente de selectividade potenciométrico da forma como foi atrás indicado. O valor de K^{pot} era determinado pela intercepção da extrapolação dos dois segmentos lineares da curva, obtida por representação gráfica.

Estes ensaios foram sempre efectuados empregando duas unidades tubulares distintas.

II - 5 - Desenvolvimento e optimização das montagens FIA

Os sistemas de análise por injeção em fluxo de baixa dispersão utilizados na avaliação das características operacionais dos eléctrodos tubulares construídos foram desenvolvidos e optimizados com o objectivo de serem seleccionadas as melhores condições de fluxo, de forma a obter o melhor comportamento possível das unidades potenciométricas. Para isso, procedeu-se à avaliação da influência dos parâmetros físicos, como sendo volume de injeção, caudais e dimensão de reactores, na amplitude de resposta dos eléctrodos. Com esse objectivo, foram ensaiados diversos valores de velocidade de fluxo, diferentes volumes de injeção (100; 200; 500 e 1000 μL) e vários comprimentos de reactores, colocados entre a válvula e o eléctrodo selectivo e entre os dois eléctrodos constituintes dos sistemas potenciométricos diferenciais.

A optimização era feita com o objectivo de se obter um sistema com o máximo de sensibilidade analítica, elevado ritmo de amostragem e boa estabilidade, recorrendo ao método univariante. Neste, cada um dos parâmetros era alterado independentemente, fixando-se os restantes.

Para isso, introduziram-se na montagem FIA soluções padrão com diferentes concentrações, na zona de resposta linear do eléctrodo, registando-se para cada uma delas a altura do respectivo sinal analítico. Os valores obtidos eram posteriormente relacionados graficamente com o logaritmo da concentração do ião primário. Este procedimento foi repetido para cada um dos parâmetros estudados, optando-se pelas condições que conduziam a uma maior sensibilidade, com uma boa frequência de amostragem.

O estabelecimento das condições de baixa dispersão, necessárias à avaliação das características operacionais dos eléctrodos, foi conseguido por avaliação da influência dos parâmetros físicos anteriormente citados na dispersão do sistema.

A dispersão do sistema era calculada pela equação

$$\log D = \frac{H^0 - H^*}{S}$$

sendo

S o valor experimental do declive da curva de calibração do detector, traçada imediatamente antes da determinação da dispersão

H^0 a altura do sinal analítico, expresso em mV, para uma situação sem dispersão no sistema

H^* a altura do sinal analítico, expresso em mV, para uma situação com dispersão e cuja concentração do ião primário era igual à anterior

A medição do sinal analítico correspondente a um sistema sem dispersão, equivalente a um valor obtido em estado estacionário, era conseguida por substituição da solução transportadora por soluções de diferentes concentrações do ião primário em estudo. De seguida, procedia-se à injeção de diferentes volumes de soluções, com concentrações distintas de ião primário. A altura do sinal obtido era posteriormente comparada com a altura do sinal resultante em fase estacionária, de acordo com a equação anterior.

O ritmo de amostragem era dado pelo tempo gasto no registo de um número determinado de sinais analíticos. A partir desse valor determinava-se o número de registos que era possível efectuar por hora.

II - 6 - Avaliação da qualidade dos resultados fornecidos pelas metodologias desenvolvidas.

Nas situações em que os eléctrodos construídos foram utilizados em aplicações analíticas concretas, a exactidão dos resultados obtidos com as montagens FIA desenvolvidas (C_F) foi avaliada por análise comparativa com os resultados decorrentes dos respectivos métodos de referência (C_R). Através de regressão linear foram estabelecidas relações do tipo

$$C_F = C_0 + S C_R$$

Os valores de C_o e S , bem como o coeficiente de correlação r , calculados davam-nos indicações sobre a concordância entre os dois métodos.

Em todos os casos foi igualmente calculado o respectivo desvio relativo percentual ($DR \%$), expresso pela seguinte relação:

$$DR \% = \left(\frac{C_F - C_R}{C_R} \right) \times 100$$

Aplicou-se igualmente o teste t de Student aos resultados obtidos, que permitia efectuar a comparação de resultados emparelhados (paired t test), utilizando-se o programa StatView. Os resultados obtidos foram avaliados relativamente aos valores tabelados referidos na literatura [12], para o nível de significância pretendido.

A precisão analítica dos resultados foi determinada, na maior parte das situações, após 12 injeções sucessivas de amostras, de concentração conhecida, normalmente próxima à do valor médio do intervalo de concentrações em análise. A concentração correspondente a cada sinal analítico medido era calculada por interpolação na respectiva curva de calibração. A partir desse valor calculava-se o respectivo desvio padrão relativo, recorrendo ao programa StatView 512TM ou Microsoft Excel, versão 7.0 (1995) desenvolvido para PC.

Referências Bibliográficas

- [1] M.A.R.P. Barros, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Port. Electrochim. Acta*, **1983**, 1, 277.
- [2] R.A.S. Lapa, Dissertação de doutoramento, Instrumentação e detectores para potenciometria - desenvolvimento e aplicação. Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, **1994**.
- [3] C.M.C.M. Couto, J.L.F.C. Lima e M.C.B.S.M. Montenegro, *Anal. Sci.*, **1997**, 13, 403.
- [4] F.J. Krug, H. Bergamin Fº e E.A.G. Zagatto, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 179, 103.
- [5] M. Varcárcel e M.D. Luque de Castro, *Flow injection analysis : principles and applications*. Ellis Horwood Ltd., John Wiley and Sons, Chichester (UK), **1987**.
- [6] S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, A.A.S.C. Machado, J.L.F.C. Lima e J.M. Paulis, *Quim. Anal.*, **1987**, 18, 278.
- [7] I.M.P.L.V.O. Ferreira, J.L.F.C. Lima e L.S.M. Rocha, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1993**, 347, 314.
- [8] IUPAC - Recommendations for nomenclature of ion-selective electrodes, *Pure and Appl. Chem.*, **1994**, 66, 2527.
- [9] S Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J.L.F.C. Lima , A.A.S.C. Machado e J.M. Paulis, *Anal. Lett.*, **1985**, 18, 2291.
- [10] E. Pungor e K. Toth, *Anal. Chim. Acta*, **1969**, 47, 291.
- [11] I.M.P.L.V.O. Ferreira, Dissertação de doutoramento, Construção, avaliação e aplicação de detectores potenciométricos tubulares para FIA baseados em membranas

cristalinas homogéneas. Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, **1994**.

[12] D. McCormick e A. Roach, *Measurements, statistics and computation*, John Wiley and Sons, Chichester (UK), **1987**.

CAPÍTULO III

***Desenvolvimento de sistemas de análise por
injecção em fluxo com detecção
potenciométrica de sensibilidade aumentada.***

III - 1 - Introdução

A detecção potenciométrica oferece inúmeras vantagens relativamente a outros processos de detecção, como foi amplamente referido no Capítulo I desta dissertação, particularmente devido ao baixo custo da instrumentação necessária para a sua aplicação e a sua grande versatilidade analítica. No entanto, em alguns casos, a sensibilidade analítica limitada pelas características da resposta nernstiana do detector potenciométrico, poderá ser restritiva à sua utilização. Devido à relação logarítmica que se estabelece entre a variação de potencial e a concentração do ião primário [1], para um ião monovalente, teoricamente detectado com uma sensibilidade de 59,1 mV década⁻¹, um erro de $\pm 0,5$ mV na leitura de potencial conduz a um erro relativo de concentração de cerca de 2%, enquanto que para um ião divalente, detectado com uma sensibilidade de 29,6 mV década⁻¹, poderá, para o mesmo erro de leitura, ocorrer um erro de concentração de cerca de 4%. Para obviar esta situação têm surgido inúmeros trabalhos que procuram soluções diversas no sentido de promover um aumento da sensibilidade da detecção potenciométrica, de forma a potencializar a sua utilização como método analítico de eleição [2-9].

A sensibilidade de um método analítico (m) é dada pela razão da variação do sinal analítico (ΔS) relativamente à variação da concentração do analito (ΔC) a determinar :

$$m = \frac{\Delta S}{\Delta C}$$

Com a finalidade de se conseguir aumentar a sensibilidade de uma metodologia poder-se-á portanto, promover o acréscimo da amplitude do sinal analítico, ou seja, no caso específico da potencimetria, poder-se-á incrementar a variação de diferença de potencial medida pelo detector utilizado.

Os primeiros trabalhos realizados com este objectivo, utilizando detectores potenciométricos em “batch”, basearam-se em três abordagens distintas. A primeira,

denominada método CCS (“cells connected in series”), consistia na colocação de um número variável de células electroquímicas em série [2-4], sendo cada uma delas constituída por um eléctrodo indicador convencional e um eléctrodo de referência. A segunda baseava-se na soma dos potenciais de dois eléctrodos convencionais imersos numa mesma cuba, contra um mesmo eléctrodo de referência [5-7]. A última, que consistia numa variação de configuração da anterior, baseava-se na utilização de eléctrodos com duas membranas incorporadas no mesmo corpo do eléctrodo [8, 9], onde o potencial referente a cada membrana, relativamente ao eléctrodo de referência, era somado por intermédio de um dispositivo electrónico externo semelhante ao descrito em [5-7].

A necessidade de automatização das determinações potenciométricas, de forma a aumentar a frequência de amostragem, diminuir o consumo de amostra e reagentes e minorar a sua manipulação, levou ao acoplamento desta técnica de detecção a sistemas de análise por injeção em fluxo, com todas as vantagens que advêm desta associação [10].

Também em sistemas de fluxo, a tentativa de obter um incremento de sensibilidade foi alvo de particular atenção por parte de alguns autores. Uma das abordagens mais utilizadas consistia na detecção diferencial, com a colocação de dois eléctrodos sequencialmente no mesmo canal [10-16], posicionados em canais paralelos [17-19] ou mesmo pela medição de potencial utilizando os dois lados da membrana sensora de um mesmo eléctrodo indicador [20]. Os eléctrodos colocados sequencialmente poderiam ser sensíveis à mesma espécie analítica [10-15] ou terem respostas a diferentes iões primários [16-19], sendo, este último caso, encarado como um processo de realizar determinações bi ou multiparamétricas. Contudo, sempre que o objectivo era promover o aumento da sensibilidade da determinação potenciométrica [10-15, 20], eram colocados dois detectores similares em linha, baseando-se o seu funcionamento na possibilidade de permuta das suas funções, como eléctrodo indicador / eléctrodo de referência ao longo do tempo actuando cada um deles, alternativamente, como referência um do outro.

O sinal analítico obtido com montagens do tipo diferencial consiste num registo ascendente e outro descendente, conforme se esquematiza na Fig. 1, cuja amplitude total resulta da soma das respectivas alturas parciais (h_1+h_2). O formato e amplitude do

senal analítico, que influenciam a sensibilidade analítica do sistema de detecção, são dependentes tanto da geometria e parâmetros hidrodinâmicos do sistema FIA, responsáveis pela dispersão do segmento da amostra, como também do tempo de resposta dos próprios detectores.

Nestes sistemas, um dos detectores encontra-se ligado à entrada do eléctrodo indicador do voltímetro, enquanto que o outro é conectado à entrada correspondente ao eléctrodo de referência, pelo que o sinal analítico obtido é igual à soma da diferença de potencial referente a cada eléctrodo. Assim poderão ser obtidos registos analíticos distintos consoante a geometria física do sistema, de acordo com a representação da Fig. 1. Em A, representa-se um sinal transiente tomado como “ideal”, no qual as alturas de pico correspondentes à variação de potencial de cada eléctrodo (h_1 e h_2) são iguais; neste sistema o segundo detector começaria a registar a passagem do segmento de amostra, imediatamente após o retorno à linha de base do sinal analítico correspondente ao registo do primeiro eléctrodo. Em B o sinal descendente é menor do que o ascendente, porque a distância d_B entre os dois eléctrodos é insuficiente, pelo que o segundo detector começa a registar a passagem do segmento de amostra antes do retorno do sinal correspondente à linha de base do primeiro detector; desta forma ocorre sobreposição dos sinais analíticos com redução dos valores de h_1 e h_2 . Em C, esquematiza-se o sinal que resulta da colocação dos detectores a uma distância excessiva entre si (d_C), no qual a amplitude do sinal correspondente ao primeiro detector é igual ao registado na situação A, mas a dispersão ao nível do segundo detector é demasiado elevada, o que tem como resultado, um decréscimo na amplitude do sinal analítico relativo ao segundo detector (h_2). Nesta terceira situação há um evidente alargamento do sinal registado, com um patamar entre o pico ascendente e descendente, correspondente a uma fracção de tempo em que ambos os detectores registam apenas a passagem de solução transportadora.

Se a optimização da distância entre os detectores colocados sequencialmente for adequada e as suas respostas analíticas semelhantes, então o sinal analítico aumentado conduz a uma melhoria da sensibilidade da detecção potenciométrica.

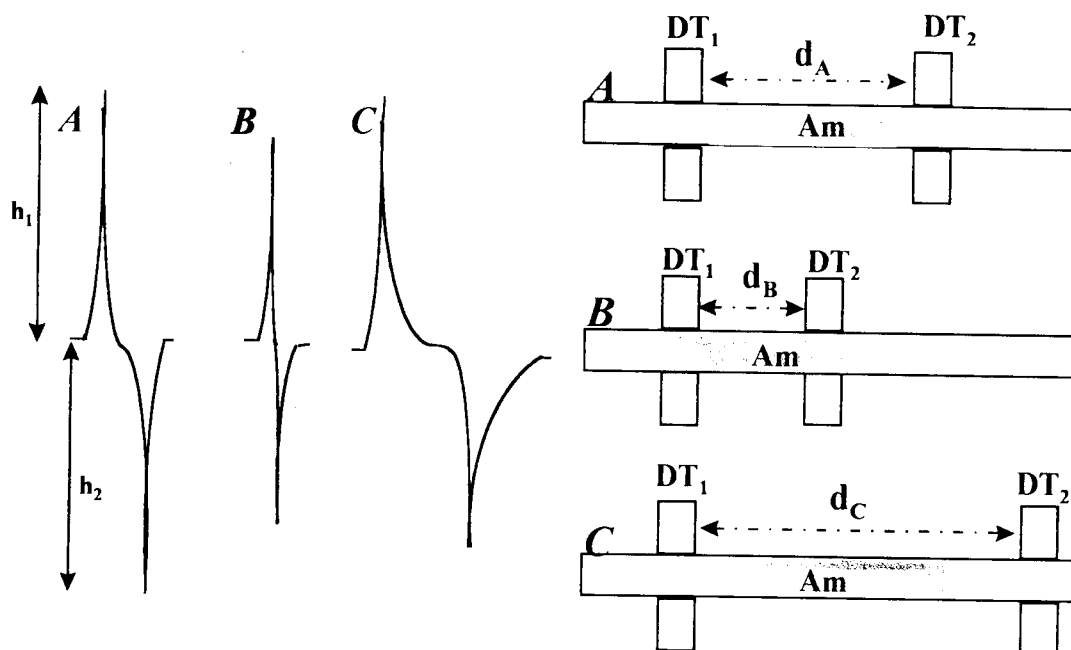


Figura 1 - Representação gráfica dos sinais analíticos típicos obtidos com um sistema de fluxo com detecção diferencial.

Legenda: Am - segmento de amostra; DT₁ e DT₂ - detectores potenciométricos tubulares, d_i - distância entre os eléctrodos.

A - sinal analítico "ideal" ($h_1 \approx h_2$)

B - sinal analítico com sobreposição dos picos ascendente e descendente.

C - sinal analítico com diminuição da amplitude do segundo registo, resultante de dispersão elevada do troço de amostra.

Os sistemas anteriormente descritos na literatura, como consequência de, na sua maioria, incorporarem eléctrodos de configuração convencional [10-12, 16, 19], provocavam alterações nas características hidrodinâmicas de fluxo. Por esta razão, a dispersão do segmento de amostra no momento de passagem nos dois detectores potenciométricos era diferente, pelo que os declives registados por cada um dos

detectores inseridos em linha, era distinta. Qualquer dispersão do segmento de amostra tem um efeito negativo na sensibilidade analítica do sistema [17], pelo que a utilização de eléctrodos com “volume interno morto” menor [13-15, 17, 20], particularmente eléctrodos com configuração tubular, contribui para uma diminuição da dispersão sofrida pela amostra, e consequentemente para a obtenção de uma maior amplitude do sinal analítico.

Por sua vez, a possibilidade de poder incorporar num mesmo corpo de eléctrodo, duas membranas sensoras, conseguindo-se um detector caracterizado por um baixo volume morto, abre novas alternativas à construção de sistemas de detecção potenciométrica para inserção em sistemas FIA de sensibilidade acrescida.

O recurso a eléctrodos incorporando duas membranas sensoras, como forma alternativa de se obter um acréscimo de sensibilidade, na qual o sinal analítico resulta da soma das respectivas diferenças de potencial, relativamente a um mesmo eléctrodo de referência já foi anteriormente explorada com eléctrodos de configuração convencional [8, 9]. Tendo como base os trabalhos citados [8, 9], a construção de detectores tubulares com duas membranas sensoras inseridas no mesmo corpo, poderão contribuir também para o desenvolvimento de sistemas de fluxo de sensibilidade acrescida. A utilização de detectores de configuração tubular tem como principal particularidade não alterar as características hidrodinâmicas de fluxo e, pelo facto de apresentar volumes internos muito pequenos, não alterar a dispersão sofrida pela amostra, permitindo assim que a medição efectuada pelas duas membranas sensoras ocorra praticamente nas mesmas condições de dispersão do analito, o que não acontece nos sistemas diferenciais. Estes sistemas tipo “soma” permitem, para além disso, a realização de diferentes técnicas potenciométricas, de maneira em tudo semelhante às realizadas com unidades convencionais. Este procedimento exige, porém, a utilização de um dispositivo electrónico de soma das diferenças de potencial registadas por cada uma das membranas sensoras relativamente a um eléctrodo de referência [5-9].

Neste capítulo procedeu-se a um estudo comparativo do desempenho de montagens de fluxo incorporando dois tipos diferentes de sistemas de detecção de sensibilidade aumentada. Os sistemas de detecção potenciométricos baseavam-se na utilização de eléctrodos selectivos de iões de membrana cristalina homogénea, que já

anteriormente se tinham revelado como unidades muito estáveis e reprodutíveis [1, 21]. Os detectores utilizados neste estudo eram sensíveis aos aniões cloreto, brometo, iodeto e sulfureto e aos catiões cobre (II), cádmio (II), chumbo (II) e prata (I).

Avaliaram-se as características operacionais dos dois tipos de sistemas de sensibilidade aumentada, nomeadamente o declive da recta de calibração, a estabilidade, a repetitibilidade dos sinais analíticos, o limite inferior de resposta linear (LIRL) e a frequência de amostragem, assim como a influência do pH nos valores de potencial registados e a extensão da influência de interferentes, fazendo-se o estudo comparativo com os resultados obtidos pelas mesmas unidades quando associadas, de uma forma simples, a um eléctrodo de referência convencional de AgCl / Ag [21].

Com este trabalho pretendeu-se demonstrar, com sistemas de fluxo simples incorporando detecção potenciométrica, em que medida era possível melhorar as características operacionais de um detector potenciométrico, particularmente como e de que forma era possível aumentar a sensibilidade analítica. Assim foram construídos sistemas de detecção incorporando as unidades já descritas [21], em que num tipo, o aumento de sensibilidade analítica era obtido por um diferencial de potenciais, enquanto que no outro se procedia à soma de potenciais.

III - 2 - Parte experimental

2.1 Aparelhagem e eléctrodos

Em todas as determinações efectuadas com os eléctrodos de configuração tubular recorreu-se à aparelhagem especificada no Cap. II.

2.1.1 Preparação das misturas sensoras

Na composição das membranas dos eléctrodos cristalinos a espécie activa é um componente que tem por finalidade transportar a corrente ou controlar a concentração do ião que transporta a corrente, através do equilíbrio do produto de solubilidade à superfície da membrana [22]. Todos os sensores utilizados neste trabalho, seguindo a metodologia anteriormente usada [21], foram preparados por precipitação de Ag_2S , nos detectores sensíveis a Ag (I) e S^{2-} , ou co-precipitação de Ag_2S e o correspondente sulfureto metálico (MS / Ag_2S , nos eléctrodos sensíveis a Cu (II), Cd (II) e Pb (II)) ou halogeneto de prata ($\text{AgX} / \text{Ag}_2\text{S}$ ($\text{X} = \text{Cl}^-$, Br^- e I^-)).

A adição de Ag_2S nos sensores dos eléctrodos sensíveis a halogenetos e metais pesados tem como funções aumentar a condutividade do sólido, diminuir a sua sensibilidade à luz, diminuir a sua solubilidade e facilitar a compressão. A sua presença torna-se particularmente útil na preparação de eléctrodos sensíveis a iodeto, dado que o precipitado de AgI é pouco compressível [1].

Os sensores utilizados na construção dos eléctrodos sensíveis a cloreto, brometo e iodeto eram obtidos por prensagem de misturas de sulfureto de prata (I) / halogeneto de prata, numa proporção molar de 1:1, sendo o processo de obtenção do sensor semelhante ao descrito por Ruzicka [23]. Neste, uma solução obtida por mistura de volumes iguais de soluções de concentração $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de Na_2S e NaX (sendo $\text{X} = \text{Cl}^-$, Br^- ou I^-) era lentamente adicionada ao volume de solução de AgNO_3 , de concentração $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, necessário para precipitar completamente os dois aniões, enquanto esta era fortemente agitada, por um período de cerca de 30 min.

Os eléctrodos sensíveis a sulfureto e a prata eram obtidos por um processo análogo também ao descrito por Ruzicka [23]. A uma solução de AgNO_3 de concentração $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ adicionava-se, lentamente, igual volume de Na_2S de igual concentração, com agitação forte. O precipitado obtido era mantido em agitação constante por um período de cerca de 30 min.

Na obtenção do sensor utilizado nos eléctrodos sensíveis a cobre (II), usou-se uma mistura 1:1 (proporções molares) de sulfureto de cobre (II) e sulfureto de prata (I), obtida por um processo idêntico ao descrito por Van der Linden [24]; neste, em 150 mL de água desionizada dissolviam-se 0,02 mol de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ e 0,04 mol de AgNO_3 , e esta solução, após arrefecimento a 2 °C, era adicionada, gota a gota, com agitação vigorosa, a uma solução de Na_2S arrefecida à mesma temperatura, preparada por dissolução de 0,072 mol em 150 mL de água. Após a precipitação, a suspensão era aquecida, a cerca de 70 °C, e mantida em agitação vigorosa durante cerca de 30 min.

O sensor dos eléctrodos sensíveis a cádmio (II) era constituído por uma mistura de sulfureto de cádmio (II) e sulfureto de prata (I) na proporção molar de 1:10. O processo de obtenção da mistura sensora era semelhante ao anteriormente referido por Ruzicka [25], e consistia na preparação de soluções de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, AgNO_3 e Na_2S de concentração aproximadamente 0,1 mol L⁻¹ (titulava-se a solução de Na_2S com a de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ e AgNO_3 , sucessivamente, usando como eléctrodo indicador um detector convencional de membrana cristalina de Ag_2S , sendo assim possível conhecer a equivalência, em volumes, das soluções preparadas). Misturavam-se volumes convenientes das soluções de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ e AgNO_3 para obter uma razão molar de 1:20; esta solução era adicionada, muito lentamente e com agitação vigorosa, a um volume de Na_2S com 20% de anião sulfureto em excesso, relativamente à precipitação completa dos dois catiões presentes na primeira solução. O precipitado era deixado em agitação durante cerca de 15 min.

O sensor dos eléctrodos sensíveis a chumbo (II) era constituído por uma mistura de 30% de sulfureto de chumbo (II) e sulfureto de prata (I) (percentagens molares), preparado por um processo análogo ao descrito por Van der Linden [26]; neste, procedia-se a uma adição lenta de uma solução de 19,0 g de AgNO_3 (correspondente a 0,112 mol) e 8,0 g de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (correspondente a 0,024 mol) em 200,0 mL de água, a uma solução de Na_2S de concentração 1,0 mol L⁻¹ (cerca de 100% em excesso). A suspensão obtida era aquecida a 75 °C e mantida a essa temperatura, com agitação vigorosa, durante cerca de 1 hora.

Para cada sensor, cuja preparação foi anteriormente referida, após repouso e decantação do líquido sobrenadante, procedia-se à lavagem dos diferentes precipitados, várias vezes com água bidesionizada (e acetona no caso do chumbo (II) e cobre (II)) e à sua filtração por funil de Buckner. O sólido obtido era seco, durante 24 horas em estufa a cerca de 80/100 °C (no caso específico do chumbo a secagem era efectuada com uma corrente de azoto durante cerca de 1 hora), e finalmente, pulverizado, em almofariz de ágata, e conservado ao abrigo da luz, em excicador com gel de sílica.

Para a obtenção da membrana sensora foi utilizada uma técnica de prensagem como forma de aglutinação do sensor sólido. As membranas sensoras, com 10 mm de diâmetro e 0,4 mm de espessura, eram obtidas por prensagem da mistura sensora a pressões elevadas, conforme se encontra descrito no Cap. II.

2.1.2 Construção dos eléctrodos

Na construção dos eléctrodos selectivos de ião de configuração tubular, quer de membrana simples quer de dupla membrana, seguiram-se as etapas descritas detalhadamente no Cap. II.

Após a construção e antes do seu uso a membrana sensora era polida, com um fio de algodão humedecido e impregnado de óxido de alumínio. Os eléctrodos eram depois colocados em condicionamento, em soluções de concentração igual a 1×10^{-3} mol L⁻¹ de ião primário, durante algumas horas. No caso dos eléctrodos com membrana sensora constituída apenas por Ag₂S, para responderem a Ag(I) necessitavam de um período de condicionamento inicial, de algumas horas, numa solução 1×10^{-3} mol L⁻¹ em catião Ag(I), enquanto que para responderem a S²⁻ era necessário um período de condicionamento de dois a três dias em solução de S²⁻ igualmente de concentração 1×10^{-3} mol L⁻¹.

Entre ensaios os eléctrodos eram deixados em solução de condicionamento ou ao ar. Quando fora de uso por períodos prolongados eram envoltos em papel de

alumínio e, antes das reutilizações, eram polidos e novamente condicionados numa solução idêntica à anteriormente referida.

2.2 Reagentes e soluções

Os reagentes usados na avaliação dos detectores tubulares eram todos de qualidade pró-análise ou semelhante.

A solução padrão de AgNO_3 de concentração $0,1000 \text{ mol L}^{-1}$ era preparada a partir de ampolas Titrisol (Merck, 9990). As soluções mais diluídas eram preparadas a partir da anterior, por diluição rigorosa.

As soluções padrão de sulfureto eram preparadas num sistema tampão, SAOB (sulphide anti-oxidant buffer), composto por 20,0 mg de ácido ascórbico (40,0 mg na determinação do LIRL) em NaOH de concentração igual a $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Fixando a quantidade de 40,0 mg de ácido ascórbico numa solução de NaOH de concentração igual a $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, garantia-se a concentração mínima de anti-oxidante necessária para retardar a oxidação de sulfureto, quando em soluções de concentração na ordem dos $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ [27]. A solução mãe de S^{2-} era padronizada por titulação com uma solução padrão de $\text{Pb}(\text{ClO}_4)_2$, de concentração $0,1000 \pm 0,0005 \text{ mol L}^{-1}$ (Orion 94-82-06). Os padrões de sulfureto eram preparados diariamente a partir da solução anterior, por diluição.

As soluções padrão de cloreto de sódio eram preparadas por pesagem do sólido, previamente seco em estufa até peso constante. As soluções de brometo de sódio e iodeto de potássio, estas últimas preparadas diariamente, eram tituladas potenciometricamente com uma solução padronizada de AgNO_3 de concentração $0,1000 \text{ mol L}^{-1}$. As soluções menos concentradas eram preparadas a partir das anteriores por diluição rigorosa.

As soluções de cobre (II) e cádmio (II) eram tituladas potenciometricamente com soluções padrão de EDTA, obtidas a partir de ampolas comerciais (Titriplex III, Merck, 9992) de concentração $0,1000 \text{ mol L}^{-1}$. As soluções de chumbo (II) eram obtidas por diluição de uma solução de chumbo (II) de concentração $0,1000 \text{ mol L}^{-1}$

(Metrohm AG, CH-9100). As soluções menos concentradas de qualquer dos três catiões eram preparadas a partir das anteriores, por diluição rigorosa.

2.3 Montagens FIA utilizadas

2.3.1 Construção de sistema de detecção de sensibilidade aumentada

Com as membranas sensoras, cujo processo de obtenção foi descrito anteriormente, estabeleceram-se dois tipos diferentes de sistemas de detecção de sensibilidade aumentada. Um deles era constituído por dois eléctrodos tubulares, semelhantes, colocados sequencialmente, funcionando um relativamente ao outro e alternadamente, como eléctrodo de referência. Com este sistema diferencial (SDD) evitava-se o uso de um eléctrodo de referência convencional.

O outro sistema de detecção utilizava um eléctrodo indicador tubular composto por duas membranas com igual sensor, associado a um eléctrodo de referência convencional de AgCl / Ag. As membranas sensoras distavam 3 mm, permitindo obter um detector de volume interno reduzido. A soma de potenciais decorrente de cada membrana era efectuada através de um dispositivo somador. Desta forma constituiu-se um sistema de detecção de dupla membrana (SDDM).

2.3.2 Construção das montagens FIA de sensibilidade aumentada

Os sistemas de detecção construídos foram avaliados quando inseridos em montagens de fluxo contínuo monocal de baixa dispersão. Uma, incluindo o sistema diferencial (SDD), encontra-se representada na Fig. 2, e a outra, utilizando o sistema de detecção de dupla membrana (SDDM), é esquematizada na Fig. 3. Em qualquer das duas montagens procurou-se, sempre que possível, reproduzir condições experimentais semelhantes às usadas na avaliação dos eléctrodos tubulares constituídos por uma única

membrana [21], de forma a permitir uma comparação das suas características de resposta quando colocados em sistema FIA tradicional e em sistemas FIA de sensibilidade aumentada.

Nestas duas montagens, a amostra e soluções padrão eram inseridas, por intermédio de uma válvula de injeção, no canal transportador, constituído por uma solução de sal do ião primário e ajustador de força iónica, sendo a variação do sinal transiente monitorizada pelos detectores tubulares respectivos.

No sentido de se conseguir o máximo de sensibilidade analítica, procurou-se otimizar os sistemas FIA por variação dos seus parâmetros, otimizando um e fixando os restantes. Nestas condições variou-se o volume de injeção, a distância entre os detectores (no caso do sistema de fluxo diferencial) e a velocidade de fluxo, determinando-se, por registo de calibrações sucessivas, a influência destes factores na amplitude do sinal transiente, fornecido pelo sistema de detecção.

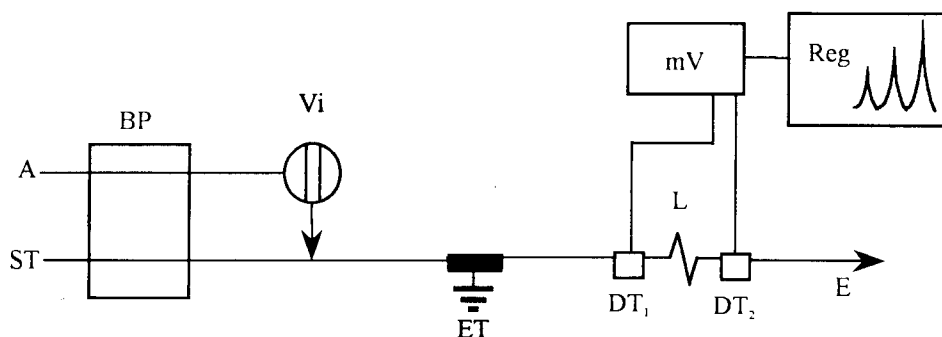


Figura 2 – Montagem FIA com detecção potenciométrica diferencial (SDD).

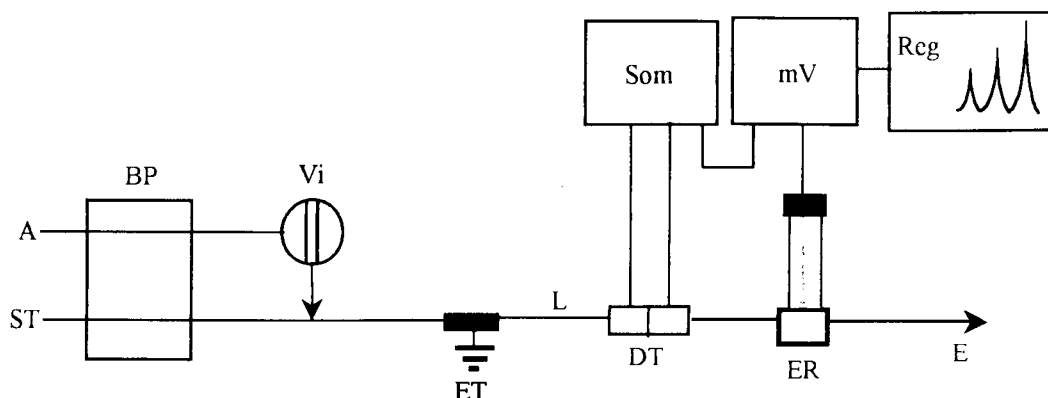


Figura 3 – Montagem FIA com detecção potenciométrica usando um detector de duas membranas (SDDM).

Legenda: **BP** - bomba peristáltica; **A** - amostra (μL); **ST** - solução transportadora (mL min^{-1}); **Vi** - válvula de injeção; **L** - tubo de ligação; **ET** - eléctrodo terra; **DT** - detector potenciométrico tubular; **ER** - eléctrodo de referência; **Som** - somador; **mV** - decimilivoltímetro; **Reg** - registador; **E** - esgoto.

III - 3 - Resultados e sua discussão

De forma a facilitar a exposição e discussão dos resultados, optou-se por subdividir o capítulo em duas partes, contemplando uma delas os sistemas de detecção sensíveis a anião e outra incluindo os sistemas de detecção sensíveis a catião.

Quer nos SDD quer nos SDDM para garantir o menor valor possível de dispersão do troço de amostra no interior da montagem, o comprimento da tubagem entre a válvula de injeção e o primeiro detector foi reduzido ao mínimo, 20 cm, imposto pelo estabelecimento das ligações entre os diferentes componentes do sistema.

A eliminação das interferências eléctricas nos dois tipos de sistemas implementados foi conseguida pela intercalação, na montagem FIA, de um “eléctrodo-terra” situado entre a válvula de injeção e o primeiro detector.

Em qualquer dos dois casos (SDD e SDDM), foi utilizada uma solução transportadora contendo a espécie a que o eléctrodo é sensível, em concentração muito baixa, visando a estabilização da linha de base e fornecendo ao detector um potencial razoavelmente estável porque, ao mantê-lo continuamente em contacto com o ião principal, reduzia-se a solubilização da membrana sensora. Considerando que a amplitude do sinal analítico registado pelos detectores, era medida a partir do valor fixado pela linha de base, era de todo conveniente que esta apresentasse um valor estável para que as determinações pudessem ser efectuadas correctamente. A ausência de ião principal, na solução transportadora, para além de provocar instabilidade dos potenciais da linha de base, também contribuía para um retorno bastante lento do sinal analítico a esta. Assim, utilizou-se uma solução transportadora cuja composição incluía o ião primário, numa concentração semelhante à anteriormente utilizada [21], e igual a $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, valor este ligeiramente inferior ao valor de limite inferior de resposta linear registado na maioria dos sistemas anteriormente avaliados [21]. A utilização de uma solução transportadora constituída apenas pelo ião primário e respectivo contra-ião não era, no entanto, suficiente para promover um bom contacto eléctrico entre o eléctrodo indicador e o de referência. Para isso, era necessária a utilização de um electrólito de concentração relativamente elevada, cuja escolha era feita de forma a que as espécies que o constituíam interferissem o menos possível no comportamento do sistema sensor. Em trabalhos anteriores que visavam avaliar unidades sensoras semelhantes às aqui descritas [21], os valores obtidos para os coeficientes de selectividade potenciométricos efectuados quando da avaliação de interferentes, sugeriam a escolha de uma solução de nitrato de potássio em todos os casos, excepto na avaliação dos eléctrodos sensíveis a catião Pb(II) , no qual se usou uma solução de perclorato de sódio. Também na avaliação das unidades sensíveis a S^{2-} , foi empregue a solução tampão SAOB.

3.1 - Montagens de Fluxo incluindo os sistemas de detecção de sensibilidade aumentada sensíveis a Aniões

3.1.1 - Optimização do Sistema de Detecção Diferencial (SDD)

A optimização deste tipo de sistemas foi efectuada no sentido de permitir obter dois sinais analíticos perfeitamente diferenciados, do tipo esquematizado na Fig. 1A.

Na optimização da montagem FIA com detecção diferencial, os parâmetros mais importantes são aqueles que contribuem para a definição de uma adequada separação entre os picos positivo e negativo do sinal analítico, isto é, factores que concorrem para a definição do tempo necessário para que o segmento de amostra percorra a distância entre os dois detectores. Assim, começou-se por estudar a distância entre os eléctrodos tubulares juntamente com a variação do volume de injeção das soluções padrão. Para isso, fixou-se o caudal da solução transportadora, no valor de $8,1 \text{ mL min}^{-1}$, valor este anteriormente utilizado na avaliação das características de detectores potenciométricos de membrana simples relativamente a um eléctrodo de referência convencional [21], e efectuaram-se calibrações sucessivas para a gama de padrões de $1,0 \times 10^{-4}$ a $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. Verificou-se que, para se obterem dois sinais analíticos individualizados, um crescente e o outro decrescente, com amplitudes semelhantes, era necessário que a distância entre as duas unidades tubulares fosse suficiente para permitir que, quando o troço de amostra atingisse o segundo detector, já o primeiro estivesse a registar um valor de potencial equivalente ao da linha de base (Fig. 1A). Desta forma evitava-se a sobreposição dos sinais analíticos (Fig. 1B), com consequente ganho de sensibilidade analítica. Porém, o aumento do comprimento do reactor, estava igualmente limitado quer pelo grau de dispersão da amostra ao nível do segundo detector, resultando numa diminuição e alargamento do segundo sinal analítico (Fig. 1C), quer pelo decréscimo do ritmo de amostragem. O objectivo primordial era, portanto, obter um valor de sensibilidade próximo dos 100% do valor correspondente à soma dos sinais individuais de cada eléctrodo, preferencialmente sem um significativo comprometimento do ritmo de amostragem.

Inicialmente começou-se por estudar a distância entre os dois detectores, variando-se o seu comprimento entre 50 e 90 cm, tendo-se obtido sinais analíticos de baixa amplitude, semelhantes ao representado na Fig. 1B. Com estas dimensões, o valor máximo de amplitude de sinal analítico obtido não ultrapassava os 80 % do valor correspondente à soma dos sinais individuais. Assim, decidiu-se aumentar essa distância estudando-se comprimentos variáveis de 150, 250 e 350 cm. Verificou-se que, para qualquer dos casos, distâncias inferiores a 150 cm conduziam a uma sobreposição dos sinais, enquanto que valores superiores a 250 cm causavam uma grande dispersão do sinal analítico ao nível do segundo detector e, consequentemente, um decréscimo da sensibilidade obtida.

Para cada valor de distância entre os detectores, foram estudados diferentes volumes de injeção, com valores de 100, 200 e 500 μL no caso do cloreto, brometo e iodeto, e 500 e 1000 μL na avaliação da resposta a sulfureto (Tabela I).

Para os diferentes tipos de halogenetos a resposta analítica com maior valor de declive, que permitia obter uma melhor definição do sinal analítico duplo e um máximo de sensibilidade, foi conseguida usando o volume de injeção correspondente a 200 μL e uma distância entre os detectores equivalente a 250 cm (Tabela I).

Dado que o caudal tem uma forte influência quer na dispersão sofrida pela amostra quer no ritmo de amostragem, procedeu-se igualmente à sua optimização, avaliando-se qual a extensão da sua influência quando o seu valor variava no intervalo entre 2,0 a 8,1 mL min^{-1} . Este estudo (Fig. 4) foi feito fixando o comprimento do reactor e o volume de injeção nos valores considerados óptimos, e indicados na Tabela I. Verificou-se que o encurtamento do tempo de passagem da amostra pelo sistema de detecção conduzia a um decréscimo, pouco significativo, da amplitude do sinal analítico correspondente à resposta a cloreto, brometo e iodeto, mas a uma grande diminuição do ritmo de amostragem. Optou-se portanto, nestes três casos, pelo valor de caudal mais elevado, ou seja o valor de 8,1 mL min^{-1} , responsável pelo valor de frequência de amostragem mais alto.

Assim, com o estudo de optimização efectuado, verificou-se que a sensibilidade do SDD para a resposta aos halogenetos era máxima quando a distância entre os

eléctrodos era de cerca de 250 cm e o caudal igual a $8,1 \text{ mL min}^{-1}$, para um volume de injeção de $200 \mu\text{L}$. Os diagramas característicos obtidos com os três tipos de sistemas de detecção encontram-se representados na Fig. 5.

Tabela I. Variação do declive da recta de calibração (mV década^{-1}) com o volume de injeção / comprimento do reactor para os sistemas de detecção diferencial sensíveis a halogenetos.

Volume/distância ($\mu\text{L/cm}$)	Cloreto *	%**	Brometo *	%**	Iodeto *	%**
100/150	$103,9 \pm 1,2$	94	$99,8 \pm 2,2$	90	$97,1 \pm 1,3$	89
100/250	$103,7 \pm 1,2$	93	$101,3 \pm 2,4$	91	$99,1 \pm 2,2$	91
100/350	$99,6 \pm 1,5$	89	$99,7 \pm 2,9$	90	$98,8 \pm 0,30$	91
200/150	$106,6 \pm 2,0$	96	$98,3 \pm 1,7$	89	$96,1 \pm 2,5$	88
200/250	$107,7 \pm 1,7$	97	$102,2 \pm 0,90$	92	$99,1 \pm 0,90$	91
200/350	$99,2 \pm 0,30$	89	$100,5 \pm 2,8$	91	$98,8 \pm 0,8$	91

*Valor médio de um mínimo de cinco determinações.

**% do valor da soma dos sinais individuais correspondentes a cada eléctrodo.

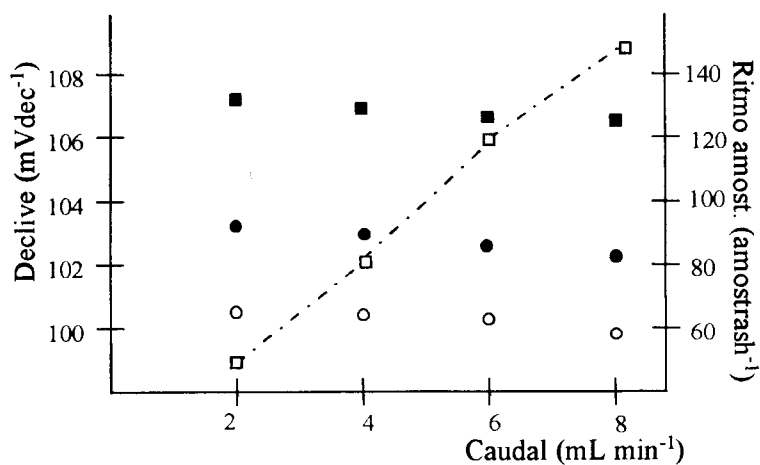


Figura 4 - Variação do declive e do ritmo de amostragem com o valor do caudal

Legenda : Sistema de detecção sensível a ■ - Cl^- ; ● - Br^- e ○ - I^- . □ - variação do ritmo de amostragem com o caudal, para os três halogenetos.

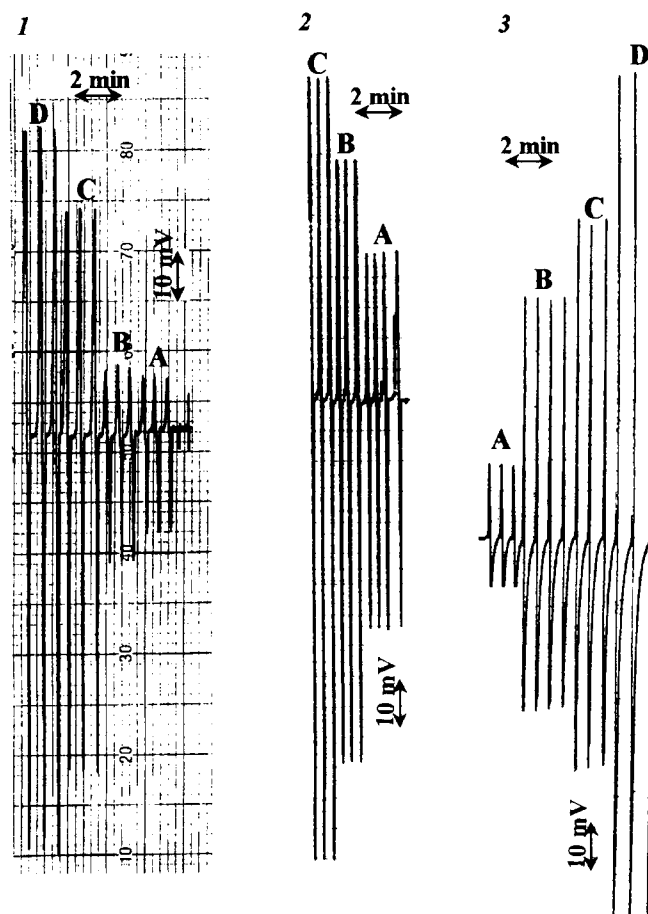


Figura 5 – Registos gráficos obtidos com os sistemas de detecção diferencial sensíveis a :

Legenda :

1 – cloreto ($A - 7,5 \times 10^{-5}$; $B - 1,0 \times 10^{-4}$; $C - 5,0 \times 10^{-4}$ e $D - 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$);

2 – brometo ($A - 2,0 \times 10^{-4}$; $B - 5,0 \times 10^{-4}$; $C - 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e

3 – iodeto ($A - 1,0 \times 10^{-4}$; $B - 5,0 \times 10^{-4}$; $C - 1,0 \times 10^{-3}$ e $D - 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$)

O sistema de detecção diferencial quando sensível a S^{2-} apresentou um comportamento químico muito particular, comparativamente com o observado para os três halogenetos referidos. Apenas se conseguia obter uma diferenciação dos sinais analíticos crescente e decrescente para valores de volume de injeção muito elevados e valores de caudal relativamente baixos, o que poderá estar relacionado com uma baixa velocidade de resposta destes detectores [21]. Além disso, a influência do valor de caudal na amplitude do sinal analítico era notória, ao contrário do que se tinha observado no mesmo estudo realizado com sistemas sensíveis a halogenetos. Por esta razão procedeu-se, tal como nos casos anteriores, a um estudo de avaliação dos parâmetros (caudal, distância entre eléctrodos e volume de injeção), fixando um e variando os dois restantes, de forma a estudar as suas influências na sensibilidade obtida.

A distância entre os detectores foi avaliada para os valores de 150, 250 e 350 cm, os valores de volume de injeção foram variados entre 500 e 1000 μL e os caudais entre 2,0 e 8,0 mL min^{-1} (Tabela II). Conforme expresso na Tabela II, para comprimentos do reactor de 150 cm, independentemente do valor do volume injectado ou do caudal escolhido, registava-se uma sobreposição dos picos ascendente e descendente, cujo valor de amplitude total correspondia praticamente à resposta analítica referente a uma só membrana (cerca de 50% do valor da soma dos sinais individuais). O aumento da distância entre os dois eléctrodos, assim como a diminuição do caudal, conduziam a melhores resultados analíticos.

Os melhores valores de declive da recta de calibração obtidos, iguais a 44,6 mV decada^{-1} , foram encontrados para volumes de injeção de amostra de 1000 μL , para uma distância entre os dois eléctrodos de cerca de 350 cm e um caudal da solução transportadora de 2,0 mL min^{-1} , conforme se representa na Tabela II. Na utilização de distâncias entre os eléctrodos superiores a 350 cm, a dispersão da amostra tornava-se muito significativa sem que a isso correspondesse um ganho na amplitude do sinal. Por outro lado, caudais inferiores a 2,0 mL min^{-1} , provocavam um abaixamento também muito significativo do ritmo de amostragem sem que se traduzisse num ganho efectivo de sensibilidade.

Na Fig. 6 representa-se um fiagrama característico obtido com este sistema.

Tabela II. Variação do declive da recta de calibração (mV década^{-1}) com o volume de injeção, comprimento do reactor e caudal da solução transportadora, para os eléctrodos sensíveis a S^{2-} quando inseridos no sistema de detecção diferencial.

<i>Volume/dist/caudal</i> ($\mu\text{L}/\text{cm}/\text{mL min}^{-1}$)	<i>Sulfureto</i> *	%**	<i>Volume/dist/caudal</i> ($\mu\text{L}/\text{cm}/\text{mL min}^{-1}$)	<i>Sulfureto</i> *	%**
500/150/5,5	24,1 $\pm$ 1,2	50	1000/150/5,5	24,6 $\pm$ 1,1	51
500/150/4,0	26,9 $\pm$ 1,2	56	1000/150/4,0	27,2 $\pm$ 1,3	57
500/150/2,0	28,2 $\pm$ 1,5	59	1000/150/2,0	28,5 $\pm$ 1,2	59
500/250/8,0	22,4 $\pm$ 1,5	47	1000/250/8,0	22,3 $\pm$ 1,9	46
500/250/5,5	29,9 $\pm$ 2,0	63	1000/250/5,5	31,4 $\pm$ 1,2	65
500/250/4,0	31,9 $\pm$ 1,7	66	1000/250/4,0	33,6 $\pm$ 1,2	70
500/250/2,0	38,2 $\pm$ 0,90	79	1000/250/2,0	43,8 $\pm$ 1,2	91
500/350/5,5	35,4 $\pm$ 1,2	74	1000/350/5,5	36,6 $\pm$ 1,6	76
500/350/4,0	35,9 $\pm$ 1,6	75	1000/350/4,0	37,6 $\pm$ 2,2	78
500/350/2,0	37,6 $\pm$ 1,9	78	1000/350/2,0	44,6 $\pm$ 2,1	92

* Valor médio de cinco determinações.

**% do valor da soma dos sinais individuais correspondentes a cada eléctrodo.

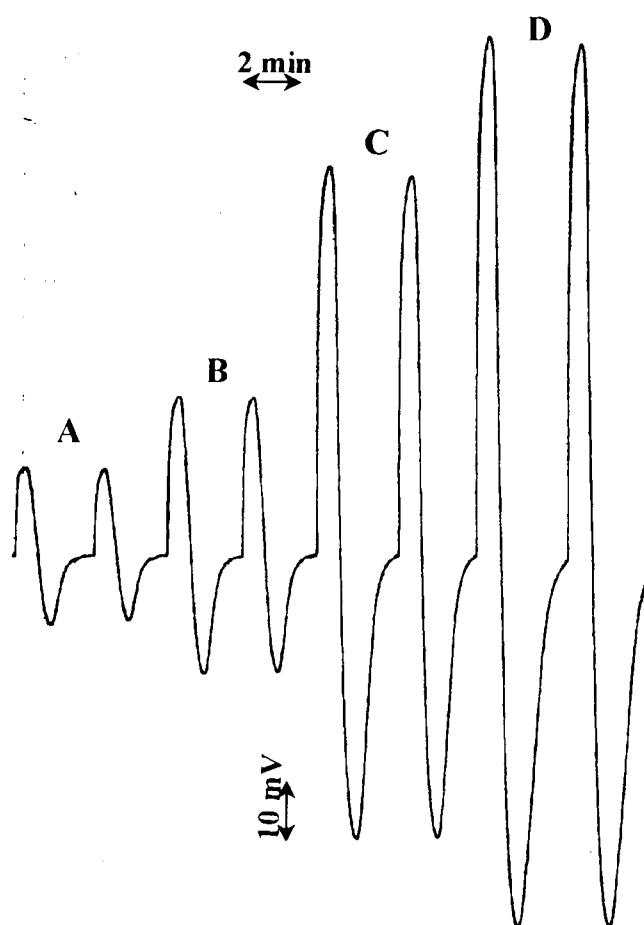


Figura 6 – Registo gráfico obtido com o sistema diferencial sensível a sulfureto

Legenda : A $5,0 \times 10^{-5}$; B $1,0 \times 10^{-4}$; C $1,0 \times 10^{-3}$ e D $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

3.1.2 - Optimização do Sistema de Detecção com Eléctrodos de Dupla Membrana (tipo “soma” - SDDM)

Na optimização da montagem FIA no sistema tipo “soma”, utilizando eléctrodos com dupla membrana, os parâmetros que mais contribuem para a alteração das características de sensibilidade do sistema são o volume injectado e o valor de caudal da solução transportadora, já que o sistema de fluxo pelo qual se optou para a sua avaliação era de baixa dispersão, com uma distância entre a válvula de injeção e o detector reduzida e fixa.

Para se avaliar a influências destes dois parâmetros na amplitude do sinal transiente dos sistemas sensíveis a cloreto, brometo e iodeto, fez-se variar o volume de injeção para valores entre 100 e 500 μL , realizando calibrações sucessivas com soluções padrão do ião principal no intervalo de concentrações de 1×10^{-4} – 1×10^{-1} mol L^{-1} . Procedeu-se também ao estudo da variação dos caudais para valores entre 4,0 e 8,1 mL min^{-1} .

Os resultados obtidos encontram-se expressos na Tabela III. Verificou-se que a influência destes parâmetros no declive das rectas de calibração respectivas não tinha grande significado, sendo aquele pouco afectado. Verificou-se nos três casos (cloreto, brometo e iodeto) que, para volumes de injeção de 100 μL ocorria um ligeiro acréscimo de sensibilidade com a diminuição do caudal, enquanto que para o volume de 200 μL se verificava um ligeiro decréscimo da sensibilidade com a diminuição do valor do caudal. A utilização de volumes de injeção superiores a 200 μL não trazia qualquer vantagem em relação quer à sensibilidade analítica obtida quer à frequência de amostragem. O ritmo de amostragem obtido aumentava, em todos os casos, com a diminuição do volume de injeção e com o aumento do caudal da solução transportadora. Por estas razões optou-se, nos três casos, pelos sistemas de fluxo no qual se injectava um volume de 200 μL de amostra a um caudal de 8,1 mL min^{-1} . Na Fig. 7 exemplificam-se os registos obtidos com estes sistemas.

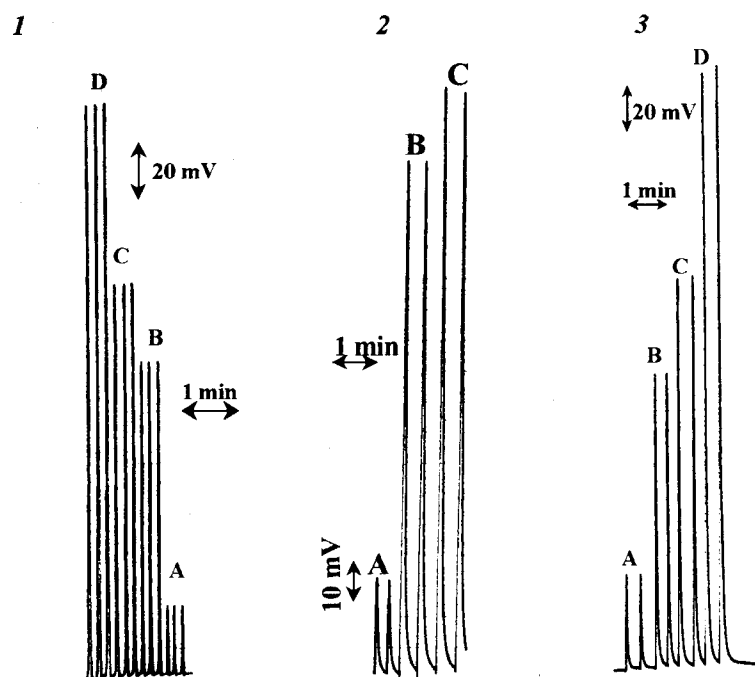


Figura 7 – Registos gráficos obtidos com os sistemas de detecção tipo soma sensíveis a :

Legenda :

1 – cloreto ($A - 5,0 \times 10^{-5}$; $B - 5,0 \times 10^{-4}$; $C - 1,0 \times 10^{-3}$ e $D - 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$);

2 – brometo ($A - 1,0 \times 10^{-4}$; $B - 7,5 \times 10^{-3}$; $C - 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) e

3 – iodeto ($A - 1,0 \times 10^{-4}$; $B - 5,0 \times 10^{-4}$; $C - 1,0 \times 10^{-3}$ e $D - 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$)

Tabela III. Variação do declive da recta de calibração (mV década^{-1}) e ritmo de amostragem (amostras h^{-1}) com o volume de injeção e caudal para os sistemas de detecção de dupla membrana sensíveis a halogenetos

Vol/distância ($\mu\text{L}/\text{mL min}^{-1}$)	Cloreto*		Brometo*		Iodeto*	
	Declive	R. amostr.	Declive	R. amostr.	Declive	R. amostr.
100/8,1	113,9 $\pm$ 0,10	200-250	105,7 $\pm$ 0,20	200-250	107,7 $\pm$ 0,30	200-250
100/6,0	114,5 $\pm$ 0,80	150-240	106,9 $\pm$ 0,10	150-240	109,8 $\pm$ 0,10	140-230
100/4,0	114,1 $\pm$ 0,70	100-200	109,3 $\pm$ 0,90	100-200	108,8 $\pm$ 0,40	100-200
200/8,1	115,3 $\pm$ 0,80	200-250	110,1 $\pm$ 1,0	200-250	112,4 $\pm$ 0,90	200-250
200/6,0	113,8 $\pm$ 0,90	140-225	109,6 $\pm$ 0,40	125-225	110,0 $\pm$ 2,2	125-225
200/4,0	114,7 $\pm$ 1,3	90-175	110,2 $\pm$ 1,1	85-175	110,4 $\pm$ 2,1	85-170
500/8,1	114,0 $\pm$ 0,10	150-220	110,1 $\pm$ 1,1	150-220	109,5 $\pm$ 1,3	140-220
500/6,0	113,9 $\pm$ 0,30	110-180	109,8 $\pm$ 0,50	110-180	107,7 $\pm$ 0,30	110-175
500/4,0	114,1 $\pm$ 0,10	75-150	111,0 $\pm$ 0,30	70-150	108,7 $\pm$ 0,10	65-140

*Valores médios de um mínimo de cinco determinações com duas unidades duplas distintas.

Mais uma vez a resposta do sistema de detecção de duas membranas sensível ao anião sulfureto mostrou-se singular. Assim, para este anião, foram testados volumes de injeção de 200, 500 e 1000 μL (Tabela IV), dado que as respostas analíticas obtidas para volumes inferiores a 200 μL não eram de todo satisfatórias em relação aos valores de sensibilidade obtidos (inferiores a 40 mV década^{-1}) e caudais variáveis entre 2,5 e 8,0 mL min^{-1} .

Neste caso notava-se uma grande dependência dos resultados com as condições experimentais utilizadas, sendo a amplitude da variação dos valores de declive obtidos muita elevada. Um aumento do volume de injeção no intervalo de 200 a 500 μL , associado a uma diminuição do caudal entre 8,0 e 2,5 mL min^{-1} conduziam a um

acentuado acréscimo da sensibilidade analítica. Contudo, para um volume de 1000 μL , a diminuição do caudal trazia poucas melhorias nesse mesmo parâmetro.

Tabela IV. Variação dos valores de declive (mV década^{-1}) e ritmos de amostragem (amostras h^{-1}) dos sistemas de detecção de dupla membrana sensíveis a anião sulfureto, com o volume de injeção e caudal.

<i>Volume/caudal</i>	<i>Sulfureto*</i>	
<i>($\mu\text{L/mL min}^{-1}$)</i>	<i>Declive</i>	<i>R. Amostr.</i>
200/8,0	49,1 $\pm$ 0,70	90-140
200/4,0	51,9 $\pm$ 0,30	65-105
200/2,5	57,9 $\pm$ 3,8	25-50
500/8,0	60,1 $\pm$ 0,80	80-120
500/4,0	59,4 $\pm$ 5,2	70-85
500/2,5	63,5 $\pm$0,30	25-40
1000/8,0	60,8 $\pm$ 4,6	65-85
1000/4,0	61,1 $\pm$ 4,8	40-60

*Valores médios de cinco determinações com duas unidades de dupla membrana distintas

Tal como acontecia com o correspondente SDD, as melhores condições de sensibilidade analítica no sistema sensível a sulfureto foram encontradas para valores de injeção elevados e grande tempo de residência da amostra no sistema, ou seja um volume de 500 μL e um caudal de 2,5 mL min^{-1} . A única razão que se encontrou para justificar esta variabilidade de resposta, relativamente ao comportamento dos halogenetos estudados, tem a ver com a baixa velocidade de resposta das membranas sensoras sensíveis a sulfureto [21], exigindo um maior tempo de contacto do segmento

de amostra com o sensor. Encontra-se representado na Fig. 8 um registo gráfico obtido com este sistema.

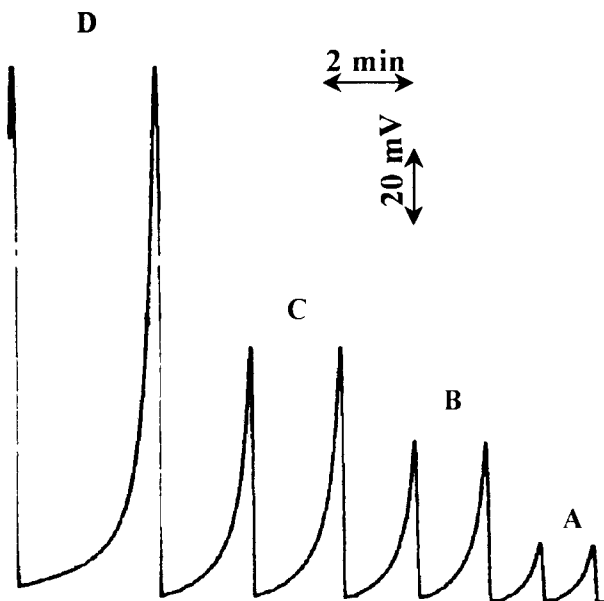


Figura 8 – Registo gráfico obtido com o sistema tipo soma sensível a sulfureto

Legenda : A - $2,0 \times 10^{-5}$; B - $5,0 \times 10^{-5}$; C - $1,0 \times 10^{-4}$ e D - $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Escolhidas as condições de fluxo óptimas para trabalhar com os sistemas de detecção implementados, procedeu-se à avaliação das suas características de resposta, por injeção sucessiva de soluções padrão de ião primário com diferentes concentrações e força iónica ajustada. Efectuou-se igualmente o traçado das curvas de calibração correspondentes, deduzindo-se, a partir delas, os parâmetros de resposta, nomeadamente, o declive da recta de calibração, a repetitibilidade dos sinais analíticos, o limite inferior de resposta linear (LIRL), a estabilidade, assim como a frequência de amostragem.

3.1.3 - Estudo das características operacionais dos sistemas SDD e SDDM sensíveis a aniões

a) Parâmetros de calibração

O limite inferior de resposta linear (LIRL) é um parâmetro de calibração dependente de vários factores, quer experimentais (interferências das impurezas dos reagentes utilizados, qualidade da água utilizada na preparação das soluções e quantidade de oxigénio nela presente, estado da membrana sensora, etc) quer intrínsecos à própria membrana. Esta característica dependendo fundamentalmente da solubilidade intrínseca do sensor, o que se prende com o valor de K_{ps} do sal constituinte da membrana sensora. Não é, portanto, surpreendente que os valores obtidos, para este parâmetro, nos sistemas de sensibilidade aumentada não sofram alteração relativamente aos assinalados anteriormente na literatura para unidades do mesmo tipo [21], pelo simples facto dos novos sistemas de detecção incluírem mais do que uma membrana ou uma diferente configuração. Neste estudo, este parâmetro foi avaliado recorrendo-se ao procedimento referido no Capítulo II, efectuando-se ensaios em triplicado e utilizando dois pares de unidades tubulares distintas, para o SDD, e dois detectores também diferentes para o SDDM.

Assim, observando-se os valores apresentados na Tabela V dá-se conta que eles são semelhantes aos descritos para as mesmas unidades, construídas com uma membrana e avaliadas conjuntamente com um eléctrodo de referência convencional [21]. A única excepção observada foi para o anião sulfureto, para o qual foram obtidos, com os dois sistemas implementados, LIRL com valores inferiores (Tabela V).

Dos estudos de calibração efectuados, verificou-se, como se mostra na Tabela V, uma melhoria muito significativa dos declives das rectas de calibração obtidos com os dois sistemas de detecção implementados, relativamente aos descritos anteriormente [21]. Nos sistemas de detecção diferencial obtiveram-se os valores de 107,7; 102,4;

99,1 e 44,6 mV década⁻¹ referentes aos aniões cloreto, brometo, iodeto e sulfureto, respectivamente. Nestes sistemas não ocorre uma duplicação dos valores de sensibilidade, relativamente às correspondentes unidades de membrana simples [21], dado que a dispersão sofrida pelo segmento de amostra quando atinge o segundo detector é obrigatoriamente superior à dispersão ao nível do primeiro detector, pelo que o segundo sinal registado é sempre de menor amplitude. No entanto os valores encontrados são, em qualquer dos quatro casos, sempre superiores a 90 % do valor correspondente à soma dos declives individuais relativos a cada um dos eléctrodos utilizados. Deve-se destacar ainda o facto de ocorrer um decréscimo dos valores de sensibilidade obtidos, para os sistemas sensíveis a cloreto, brometo e iodeto pela ordem indicada, seguindo a tendência já observada nos detectores de membrana simples correspondentes [21].

Nos ensaios realizados com sistemas de detecção utilizando detectores de dupla membrana (SDDM) obtiveram-se valores de declive de 115,3; 110,1; 112,4 e 63,5 mV década⁻¹, para os iões cloreto, brometo, iodeto e sulfureto, respectivamente.

A sensibilidade obtida com os sistemas de detecção tipo “soma” foi, em todos os casos, superior à registada com as montagens diferenciais, havendo uma quase duplicação relativamente aos valores anteriormente encontrados [21]. Esta ocorrência deve-se fundamentalmente ao facto de, nos sistemas SDDM, as membranas sensoras distarem de apenas 3 mm, estando por isso ambas em contacto com o segmento de amostra com o mesmo grau de dispersão, e consequentemente originarem amplitudes do sinal analítico idênticas.

Tabela V. Características operacionais de funcionamento dos sistemas de detecção de sensibilidade aumentada sensíveis a aniões e os respectivos eléctrodos de membrana simples quando avaliados conjuntamente com um eléctrodo de referência convencional [21].

<i>Sistema Detecção</i>	<i>Declive (mV dec⁻¹)</i>	<i>LIRL (mol L⁻¹)</i>	<i>Patamar pH (X=1x10³ mol L⁻¹)</i>	<i>Ritmo amostr. (amostras h⁻¹)</i>	<i>Repetitibil. (mV)</i>	<i>Estabil. (mV dia⁻¹)</i>
Cloreto						
<i>SDD</i>	107,7		2,0-9,0	120-150	±0,5	±1,5
<i>SDDM</i>	115,3	5x10 ⁻⁵	2,1-12,0	200-250	±0,6	±1,0
<i>DMS</i>	56,1		2,2-9,8	200-340	±0,2	±0,5
Brometo						
<i>SDD</i>	102,4	1x10 ⁻⁵	5,5-8,0	120-150	±0,5	±1,5
<i>SDDM</i>	110,1	1x10 ⁻⁵	2,1-11,5	200-250	±0,6	±1,0
<i>DMS</i>	56,0	5x10 ⁻⁶	2,2-11,0	210-360	±0,2	±0,5
Iodeto						
<i>SDD</i>	99,1		5,0-9,0	120-150	±0,5	±1,5
<i>SDDM</i>	112,4	2x10 ⁻⁵	3,0-12,0	200-250	±0,6	±1,0
<i>DMS</i>	54,3		2,5-11,0	210-340	±0,2	±0,8
Sulfureto						
<i>SDD</i>	44,6	5x10 ⁻⁶	---	20-35	±0,8	±1,5
<i>SDDM</i>	63,5	5x10 ⁻⁶	---	25-40	±0,8	±1,0
<i>DMS</i>	28,0	1x10 ⁻⁵	---	80-100	±0,4	±1,0

SDD - sistema de detecção diferencial.

SDDM - sistema de detecção dupla membrana.

DMS - detectores membrana simples [21].

b) Ritmo de amostragem, estabilidade e repetitibilidade

O ritmo de amostragem depende, não só dos parâmetros de optimização do sistema de fluxo (caudal da solução transportadora, comprimento dos tubos de ligação entre os diferentes elementos do sistema ou volume de injeção da amostra) como também da velocidade de resposta do próprio eléctrodo.

Como seria de esperar o ritmo de amostragem registado nos sistemas diferenciais é menor do que aquele encontrado nos sistemas constituídos por um só detector, passando de cerca de 200-300 para 120-150 amostras h^{-1} no caso dos halogenetos, e de 80-100 para 20-35 amostras h^{-1} na resposta a anião sulfureto. Este facto é facilmente justificado uma vez que o sinal analítico obtido corresponde à soma da resposta dada por cada um dos eléctrodos constituinte do SDD, que se encontram a uma distância significativa um do outro (250/350 cm), pelo que o intervalo de tempo mínimo que decorre entre duas determinações consecutivas, sem que ocorra sobreposição de sinal, é obrigatoriamente superior.

Nos sistemas SDDM (Tabela V) o ritmo de amostragem observado era, por um lado, superior ao registado para o correspondente sistema SDD, mas por outro, ligeiramente inferior aos valores encontrados para os sistemas de um só detector, passando, nesse caso de cerca de 200-300 amostras h^{-1} para 200-250 amostras h^{-1} , para os halogenetos, e de 80-100 para 20-40 amostras h^{-1} , na resposta ao anião sulfureto. Esta diminuição, embora ligeira nos três primeiros casos, prende-se igualmente com o facto de o sinal analítico ser resultante da soma dos sinais individuais de cada uma das membranas sensoras.

Avaliou-se igualmente a estabilidade dos potenciais ao longo de um dia de trabalho, efectuando-se calibrações sucessivas por um período de cerca de 8 h, tendo-se encontrado variações de potencial inferiores a $\pm 1,5$ mV e $\pm 1,0$ mV, para SDD e SDDM, respectivamente. Em qualquer dos casos os valores de estabilidade dos potenciais ao longo de um dia de trabalho, foram superiores àqueles que eram indicados em [21], como se demonstra na Tabela V. Este facto pode ser justificado quer nos

sistemas SDD quer nos sistemas SDDM, pelo sinal analítico estar dependente das variações individuais de cada detector, e apesar dos detectores terem características operacionais semelhantes, poderem apresentar desvios de potencial distintos, quer em amplitude quer em sinal.

Os ensaios de repetitibilidade foram efectuados para três soluções padrão de ião primário de concentrações $1,0 \times 10^{-4}$, $5,0 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, segundo o procedimento descrito no Cap. II. Para os eléctrodos sensíveis a cloreto, brometo e iodeto verificaram-se desvios padrão relativos da amplitude do sinal analítico de cerca de $\pm 0,5$ mV no caso dos sistemas SDD, e de $\pm 0,6$ mV nos sistemas SDDM. Para o anião S²⁻ foram obtidas variações de $\pm 0,8$ mV nos dois tipos de sistemas.

Não existem diferenças significativas em relação a este parâmetro, quer se trate de um sistema diferencial quer SDDM. As ligeiras diferenças encontradas devem-se fundamentalmente à menor imprecisão cometida na medida da diferença de altura correspondentes aos valores máximos dos picos ascendente e descendente de um sinal, tipo o representado na Fig. 1 (SDD), do que a cometida na avaliação da altura de um sinal analítico desde o seu máximo até à linha de base (SDDM).

Quando comparamos os resultados referentes aos dois sistemas de detecção desenvolvidos com aqueles já anteriormente indicados na literatura [21], verifica-se uma ligeira diminuição da repetitibilidade e estabilidade, explicada também pelas razões já anteriormente apontadas.

Os valores de repetitibilidade e estabilidade mantêm-se por largos períodos de tempo, no caso dos sistemas de detecção sensíveis a cloreto e brometo, não havendo portanto necessidade de recorrer ao polimento frequente das unidades sensoras que o constituem. Para os sistemas de detecção sensíveis a iodeto e a sulfureto, só era conseguida uma boa estabilidade analítica, desde que se efectuassem polimentos diários e, no caso particular do sulfureto, se se realizassem períodos de condicionamento superiores a dois dias.

Os valores das características obtidas com os dois tipos de sistemas de detecção estudados eram, em tudo, genericamente semelhantes aos encontrados para as

correspondentes unidades constituídos por membranas do mesmo tipo [21], excepto no que se refere à sensibilidade analítica. Contudo, na literatura são por vezes apontadas melhorias na resposta analítica de células ligadas em série [2-4] ou mesmo no sistema diferencial [14, 15, 20], sobretudo no que diz respeito aos valores de desvio padrão relativo da amplitude dos sinais analíticos. Esta melhoria é justificada [14, 15, 20] devido a um menor erro na leitura dos dois valores extremos do sinal (máximo e mínimo do sinal analítico ascendente e descendente) relativamente ao que aconteceria na medição de um sinal com uma linha de base com ruído ou deslizamento, o que é facilmente compreensível em detectores com deficiente reprodutibilidade ou grandes deslizamentos de potencial. Os resultados obtidos nos casos por nós estudados são no entanto justificáveis, dado que as unidades com que se trabalhou apresentam por si só óptimas características de reprodutibilidade e estabilidade [21], pelo que não era previsível melhorias destes parâmetros decorrentes da associação de eléctrodos em série ou da soma de potenciais referentes a eléctrodos de dupla membrana.

c) Avaliação da influência do pH

O traçado do diagrama de Reilley (variação de E em função do pH) foi efectuado por injeção sucessiva de uma solução de concentração constante em ião primário ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), com força iónica fixada em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, com KNO_3 e HNO_3 . O pH inicial da solução era próximo de 2, e a sua variação era provocada por adição de pequenos volumes de uma solução saturada de NaOH . Estes ensaios foram efectuados em triplicado, utilizando-se dois pares de unidades tubulares distintas, e com um sistema semelhante ao representado na Fig. 13 do Cap. II. Procedia-se ao cálculo da diferença de potencial correspondente ao máximo e mínimo de cada pico e representava-se graficamente essa variação em função do pH da solução injectada.

Na utilização de um detector potenciométrico seria desejável que variações de pH não alterassem o valor do respectivo potencial, num intervalo o mais amplo possível, quando em contacto com uma solução de ião primário de concentração constante. Este aspecto evitaria, em algumas situações, ter que recorrer ao uso de

sistemas tampão. Contudo, na prática isso não acontece, sendo o patamar de pH operacional, uma característica intrínseca da própria membrana, que deve ser conhecida e definida, de forma a ser possível ajustar as condições experimentais de utilização dos detectores às suas características de funcionamento. Por isso, procedeu-se à avaliação do efeito dos iões H^+ e OH^- na resposta dos sistemas de detecção sensíveis a halogenetos, determinando-se o patamar operacional de pH no qual o valor do sinal analítico dos detectores praticamente não variava com a alteração do valor de pH das soluções injectadas. Para o efeito utilizou-se a montagem anteriormente esquematizada e recorreu-se às condições experimentais previamente definidas.

Observando-se os valores representados na Tabela V, no sistema SDD sensível a cloreto concluiu-se que não havia alteração significativa do valor de potencial de resposta ao respectivo ião primário (Fig. 9) quando o pH variava entre 2,0 e 9,0, intervalo semelhante ao descrito anteriormente [21] para unidades do mesmo tipo avaliadas em sistemas FIA de baixa dispersão com eléctrodo de referência convencional. O abaixamento de potencial verificado para valores de pH inferiores a 2 poderá ser atribuível a um ataque das membranas pelo catião hidrogénio [1] enquanto que a diminuição de potencial que ocorre para valores de pH superiores a 9 poder-se-á dever à reacção entre o $AgCl$ e o OH^- , com consequente libertação de Cl^- para a solução.

Para os sistemas SDD sensíveis a brometo e iodeto, e em situação de comparação com o descrito [21], verificou-se, ao contrário do cloreto, um encurtamento muito significativo do patamar de pH operacional, quer na zona ácida quer na alcalina.

Ao contrário do que acontecia nos sistemas SDD, nos sistemas de fluxo incorporando detectores com dupla membrana, observou-se, para qualquer dos três tipos de aniões estudados, um ligeiro aumento do patamar operacional relativamente aos valores descritos em [21], particularmente na zona alcalina (Tabela V). Assim, para os detectores sensíveis a cloreto e brometo (Fig. 10) obteve-se um intervalo de cerca de 2,1-12,0 unidades, e para o sistema sensível a I^- um intervalo de 3,0-12,0 unidades.

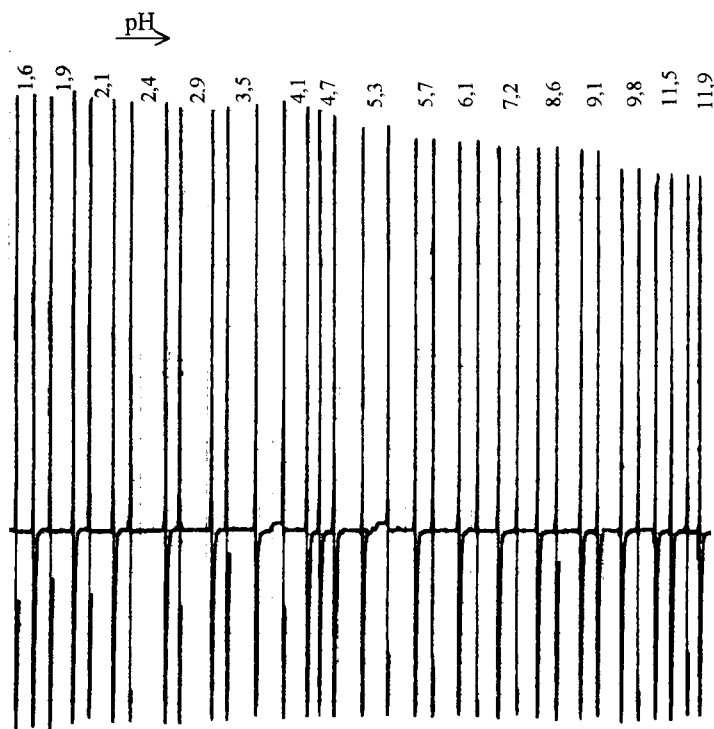


Figura 9 – Registo gráfico de um diagrama de Reilley obtido com o sistema diferencial sensível a cloreto

Legenda : padrão de Cl de concentração $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$

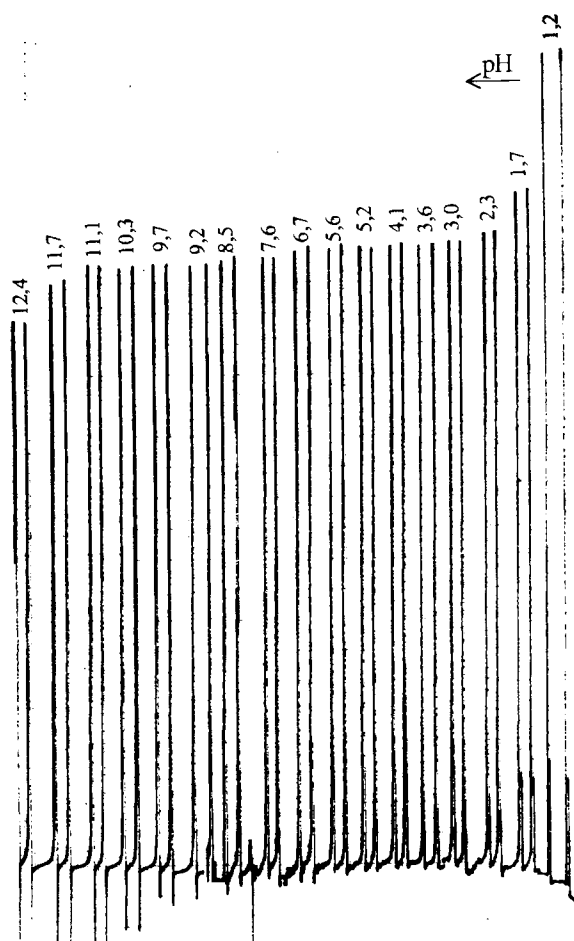
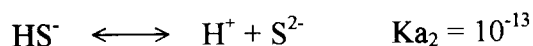
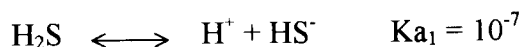


Figura 10 – Registo gráfico de um diagrama de Reilley obtido com o sistema tipo soma sensível a brometo

Legenda : solução padrão de Br^- de concentração $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Nos ensaios de avaliação dos sistemas sensíveis a S^{2-} , para garantir que a totalidade do sulfureto se encontrasse na forma de anião sulfureto livre, de acordo com os seguintes equilíbrios químicos:



teve que se usar um valor de pH próximo de 13, ajustado com uma solução tampão de SAOB. Assim não faria sentido estudar o efeito da influência deste parâmetro na amplitude de resposta dos sistemas de detecção sensíveis a S^{2-} , pois para valores de pH inferiores a 13 unidades as espécies químicas presentes em solução seriam outras que não o S^{2-} livre.

d) Coeficientes de selectividade potenciométricos

De acordo com a equação de Nernst- Nikolsky modificada, os detectores potenciométricos não são específicos para um determinado ião, sendo de esperar interferências na sua membrana sensora em solução quando estiverem presentes, além do ião primário, outras espécies que interactuem com o respectivo sensor.

No caso dos eléctrodos sensíveis a halogenetos as interferências catiónicas são raras, excepto no que diz respeito ao catião $Hg(II)$, porque forma rapidamente um filme de HgS à superfície do eléctrodo, destruindo a sua capacidade de resposta [1]. Pelo contrário as interferência de aniões são mais comuns, desde que essas espécies formem sais insolúveis com o catião prata (I).

Apesar de não ser previsível a ocorrência de alterações dos valores de K^{pot} relativamente aos anteriormente determinados [21], já que eles dependem fundamentalmente das características da membrana, foram, no entanto, feitos ensaios de avaliação dos coeficientes de selectividade potenciométricos (K^{pot}) para os diferentes

sistemas de detecção sensíveis aos aniões cloreto, brometo e iodeto para se confirmar se a variação da configuração poderia provocar alterações na resposta dos sistemas de detecção.

Os valores de K^{pot} foram determinados em condições experimentais que se assemelham ao método das soluções misturadas, com força iónica ajustada, mantendo-se constante a concentração de ião primário e variando-se a concentração do interferente, de acordo com o procedimento descrito no Cap. II. Assim, os ensaios realizados em triplicado, com dois pares de unidades tubulares, forneceram resultados cujos valores se representam na Tabela VI.

Os resultados obtidos assemelham-se aos descritos para os sistemas com detectores de membrana simples [21] e aproximam-se nalguns dos casos dos valores teóricos previsíveis a partir da razão dos produtos de solubilidade dos halogenetos de prata respectivos [28]. Tal como anteriormente se observou [21], também aqui, na avaliação da interferência dos iões brometo e iodeto na resposta dos detectores sensíveis a cloreto e na interferência do ião iodeto na resposta aos sistemas de detecção sensíveis a brometo, verificou-se que os valores de K^{pot} obtidos desviavam-se para valores muito inferiores aos teóricos. Isto acontece, quer para o SDD quer para o SDDM, nos casos em que o valor da constante de solubilidade (K_{ps}) do halogeneto de prata do ião interferente é menor que o do ião primário presente na mistura sensora. Este facto está de acordo com as observações de Klasens [29] quando da avaliação da interferência do anião iodeto em relação a um eléctrodo sensível a cloreto. Nesta, constatou-se ocorrer dissolução de AgCl da membrana e reacção do I^- com o Ag^+ libertado. Os resultados obtidos neste caso só coincidiriam com os previsíveis teoricamente, se a membrana sensora ficasse totalmente recoberta pelo precipitado do ião interferente e se se mantivesse em equilíbrio com a concentração deste em solução, o que na prática, muito dificilmente se verifica.

Dos resultados obtidos, constata-se que, quer no SDD quer no SDDM, o I^- é um potencial interferente dos sistemas de detecção sensíveis a cloreto e brometo, enquanto que os aniões cloreto e brometo só interferem significativamente na resposta

dos detectores sensíveis a iodeto, quando a sua concentração em solução é 10^4 ou 10^3 vezes superior à concentração de iodeto, respectivamente.

Quanto aos resultados obtidos com os dois tipos de montagem, SDD e SDDM, pode-se concluir que, de acordo com o esperado, não ocorrem diferenças analíticas significativas relativamente à avaliação deste parâmetro.

Em qualquer dos sistemas implementados destaca-se o facto de as membranas dos detectores constituintes poderem ser facilmente recuperadas, por polimento com óxido de alumínio, por eliminação da camada exterior do sensor, após utilização em soluções contendo qualquer dos interferentes aniónicos indicados. Nesta situação, a exposição de uma zona interior da membrana, não contaminada pelos depósitos precipitados à superfície, permite uma reutilização dos sistemas de detecção em condições adequadas.

Dos resultados de avaliação registados para os dois sistemas de detecção desenvolvidos, sensíveis a aniões, verificou-se, como era de esperar, não existirem diferenças significativas nas suas características de resposta, excepto no que se refere à sensibilidade da medida potenciométrica. Esta era para o SDDM, mais elevada que a obtida com o SDD dado que neste último caso era impossível evitar uma maior dispersão da amostra ao nível do segundo detector e, consequentemente, uma menor amplitude do sinal analítico referente a esse detector.

Tabela VI. Coeficientes de selectividade potenciométricos K^{pot} dos sistemas de detecção de sensibilidade aumentada sensíveis a aniões.

Tipo eléctrodo	Interferentes (y)		
	Cloreto [*]	Brometo [*]	Iodeto [*]
ião primário (x)			
Cloreto			
SDD		0,9	0,8
SDDM		1,3	2,7
DMS		4	5
Teórico ^{**}		$3,4 \times 10^2$	$2,1 \times 10^6$
Brometo			
SDD	$1,0 \times 10^{-2}$		2
SDDM	$2,2 \times 10^{-2}$		0,8
DMS	$2,0 \times 10^{-2}$		2
Teórico ^{**}	$3,0 \times 10^{-3}$		$6,4 \times 10^3$
Iodeto			
SDD	$1,0 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-3}$	
SDDM	$< 1,0 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-3}$	
DMS	$< 1,0 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-3}$	
Teórico ^{**}	$4,0 \times 10^{-7}$	$1,6 \times 10^{-4}$	

SDD - sistema de detecção diferencial.

SDDM - sistema de detecção de dupla membrana.

DMS - detectores membrana simples.

^{*}Valor médio de 3 determinações efectuadas com 2 pares de detectores distintos.

^{**}Valor teórico calculado a partir de relação $K_{ps}(AgX)/K_{ps}(AgY)$, ref [28]

3.2 - Montagens de fluxo incluindo os sistemas de detecção de sensibilidade aumentada sensíveis a Catiões

3.2.1 - Optimização do Sistema de Detecção Diferencial (SDD)

Tal como no caso dos sistemas diferenciais sensíveis a aniões, na optimização das montagens FIA com detecção diferencial para catiões teve-se em conta os parâmetros já referidos em 3.1.1 ou seja, a distância entre os eléctrodos tubulares e o volume de injeção das soluções padrão, e a sua influência na amplitude do sinal transiente. Para isso fixou-se o caudal da solução transportadora, em $8,1 \text{ mL min}^{-1}$, pelas razões anteriormente citadas, e procedeu-se a calibrações sucessivas na zona de resposta linear dos eléctrodos.

Também aqui se pretendia obter dois sinais analíticos individualizados, um crescente e o outro decrescente, com amplitudes o mais próximas possível, de forma a obter-se o máximo de sensibilidade analítica.

Foram estudadas distâncias variáveis entre 150 e 350 cm verificando-se que, para qualquer dos casos, comprimentos inferiores a 150 cm conduziam a uma sobreposição dos sinais, enquanto que valores superiores a 350 cm, causavam uma grande dispersão da amostra ao nível do segundo detector com um decréscimo da sensibilidade analítica. O aumento máximo de sensibilidade foi registado para os sistemas sensíveis a cobre e prata, para uma distância entre os eléctrodos de 350 cm, enquanto que para os sistemas sensíveis a cádmio, o valor máximo de declive era obtido com uma distância de 250 cm entre os detectores.

Para cada distância entre os detectores, foram testados volumes de injeção de 100, 200 e 500 μL . Verificou-se que o maior valor de declive, que concorria para a obtenção de uma melhor definição do sinal analítico, era conseguido quando o volume de solução injectada era de 200 μL e a uma distância entre os detectores equivalente a 350 cm para o catião cobre (II) e prata (I) e 250 cm para o cádmio, como se indica na Tabela VII. Os respectivos diagramas estão esquematizados na Fig. 11.

Tabela VII. Variação do declive da recta de calibração ($mV \text{ década}^{-1}$) com o volume de injeção / comprimento do reactor para os sistemas de detecção diferencial sensíveis a catiões.

<i>Volume/distância</i> <i>($\mu\text{L}/\text{cm}$)</i>	<i>Cobre*</i>	<i>%**</i>	<i>Cádmio*</i>	<i>%</i>	<i>Prata*</i>	<i>%**</i>
100/150	41,4 $\pm$ 0,90	74	42,4 $\pm$ 0,50	82	88,5 $\pm$ 2,0	77
100/250	42,3 $\pm$ 0,60	76	47,9 $\pm$ 0,50	93	94,5 $\pm$ 0,30	83
100/350	49,7 $\pm$ 0,30	89	46,9 $\pm$ 0,50	91	93,2 $\pm$ 0,70	82
200/150	46,3 $\pm$ 0,30	83	36,1 $\pm$ 0,30	70	88,1 $\pm$ 2,1	77
200/250	48,2 $\pm$ 1,5	86	47,5 $\pm$1,8	92	100,5 $\pm$ 2,4	88
200/350	51,5 $\pm$0,90	92	44,6 $\pm$ 0,50	87	102,8 $\pm$0,60	90
500/150	47,7 $\pm$ 1,3	85	40,3 $\pm$ 0,90	78	87,9 $\pm$ 1,3	77
500/250	48,1 $\pm$ 1,6	86	45,5 $\pm$ 1,4	88	89,7 $\pm$ 1,1	79
500/350	49,9 $\pm$ 1,9	89	47,1 $\pm$ 3,4	91	95,3 $\pm$ 2,1	83

*Valores médios de um mínimo de cinco determinações obtidos com dois pares de detectores.

**% do valor da soma dos sinais individuais correspondentes a cada eléctrodo.

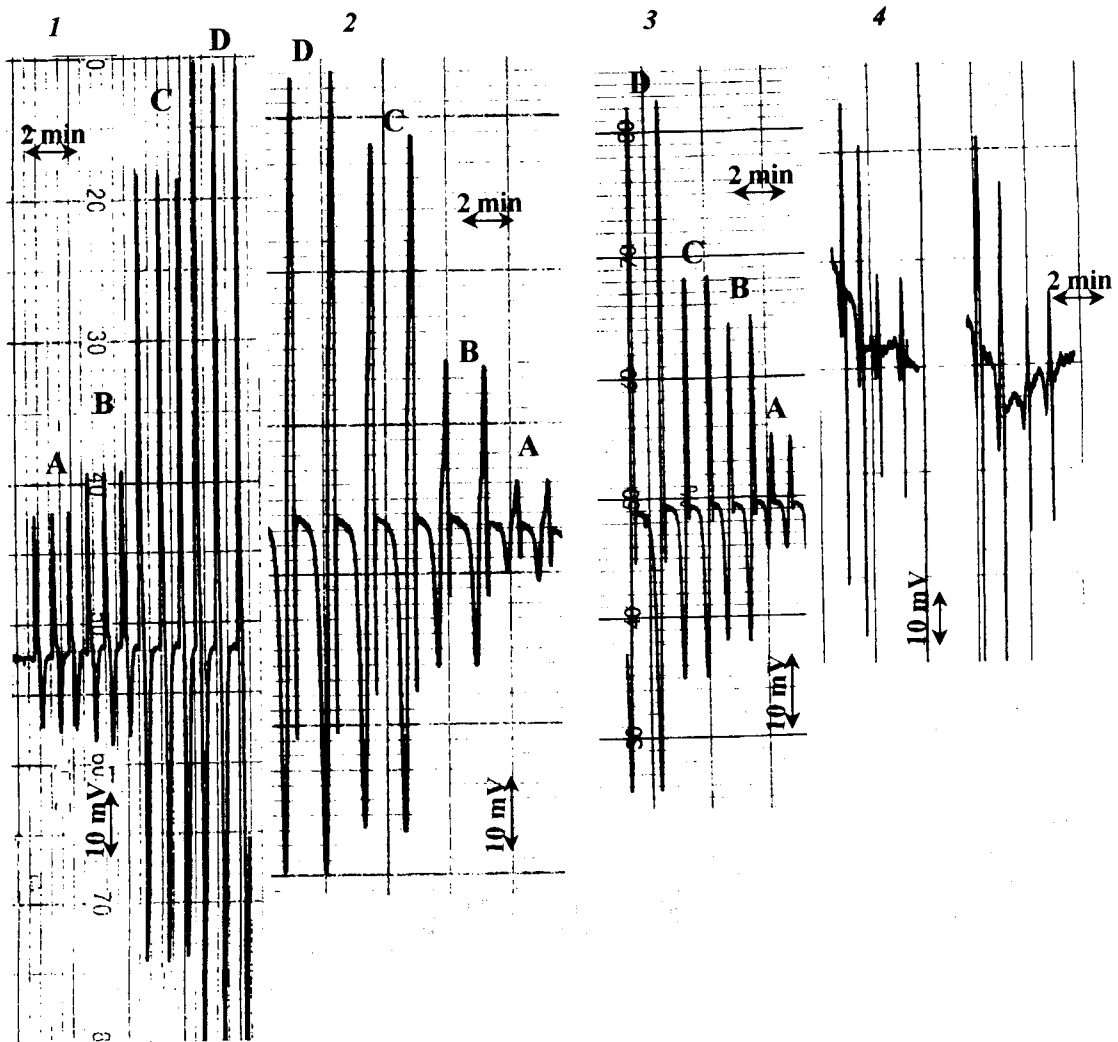


Figura 11 – Registos gráficos obtidos com os sistemas de detecção diferencial sensíveis a :

Legenda :

- 1 – prata (I) (A – $7,5 \times 10^{-4}$; B – $1,0 \times 10^{-3}$; C – $5,0 \times 10^{-3}$ e D – $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$);
- 2 – cobre (II) (A – $1,0 \times 10^{-4}$; B – $5,0 \times 10^{-4}$; C – $5,0 \times 10^{-3}$ e D – $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) e
- 3 – cádmio (II) (A – $1,0 \times 10^{-4}$; B – $5,0 \times 10^{-4}$; C – $1,0 \times 10^{-3}$; D – $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$)
- 4 – chumbo (II)

Fixando-se a distância entre os eléctrodos e o valor de volume injectado, fez-se alterar o caudal de transporte das soluções entre 2,0 a 8,1 mL min⁻¹, registando-se a sua influência no grau de dispersão da amostra e no ritmo de amostragem (Fig. 12). Verificou-se que o aumento do caudal da solução transportadora conduzia a um decréscimo, pouco significativo, da amplitude do sinal analítico referente aos três catiões analisados. Assim, optou-se pelo valor de caudal mais elevado, de 8,1 mL min⁻¹, que proporcionava os mais elevados ritmos de amostragem.

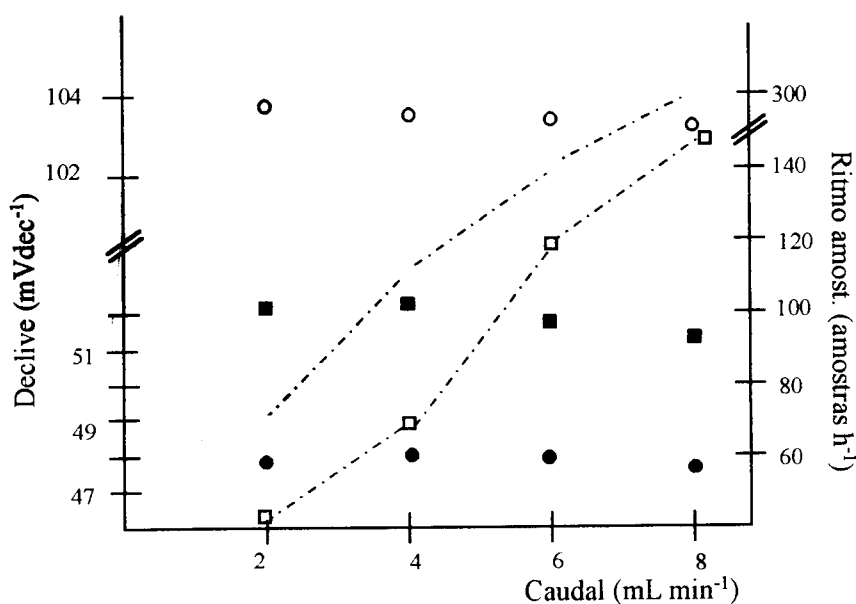


Figura 12 - Variação do declive e do ritmo de amostragem com o caudal

Legenda : Sistema de detecção sensível a ■ - Cu²⁺; ● - Cd²⁺ e ○ - Ag⁺.

Variação do ritmo de amostragem para os sistemas de detecção sensíveis a □ - Cu²⁺ e Ag⁺ e - Cd²⁺.

Quando se inseriam dois detectores potenciométricos sensíveis a Pb (II) em linha, registava-se uma linha de base muito instável e com grande deslizamento de potenciais, que inviabilizava a caracterização analítica do sistema implementado (Fig. 11

(4)). As dificuldades encontradas devem-se a um dos inconvenientes conhecidos da utilização de eléctrodos sensíveis a Pb (II) que se prende com a instabilidade do seu valor de E^0 , que é normalmente atribuída a fenómenos de oxidação na superfície do material sensor [30]. Este problema é obviamente agravado pela utilização de dois detectores distintos, e portanto com variações do valor de E^0 diferentes, conduzindo a resultados insatisfatoriamente imprecisos. Com estes detectores, não se conseguia pois obter uma linha de base estável, mesmo quando se aumentava a concentração de ião primário na solução transportadora, pelo que se concluiu da impossibilidade de aplicação destes detectores em sistemas diferenciais. Além disso, nas etapas de construção destes detectores registaram-se inúmeras dificuldades na fase de prensagem, já anteriormente referidas por Rechnitz [31], com o aparecimento de fracturas paralelas à superfície da membrana, devido à fraca compressibilidade do PbS, o que dificultava ainda mais a obtenção de unidades deste tipo.

3.2.2 - Optimização do Sistema de detecção de dupla membrana (SDDM)

Na optimização da montagem FIA com detecção utilizando eléctrodos com dupla membrana sensíveis a catião, começou-se por estudar também a influência do volume de injeção e do caudal da solução transportadora na amplitude do sinal transiente. Para isso fez-se variar o volume de injeção entre valores de 100 e 500 μL , realizando calibrações sucessivas com soluções padrão do ião principal na zona de resposta linear dos eléctrodos. Procedeu-se também ao estudo da influência no registo analítico, da variação dos caudais, para valores entre 4,0 e 8,0 mL min^{-1} .

Surpreendentemente, na avaliação do SDDM sensível a Pb (II) registou-se uma resposta analítica suficientemente estável e reprodutível, que permitiu efectuar os ensaios quer de optimização quer de estudo das suas características operacionais, ao contrário do que se tinha observado anteriormente.

Os resultados obtidos com os sistemas SDDM estão expressos na Tabela VIII e na Fig. 13 exemplificam-se registos gráficos característicos de cada um dos sistemas de

detecção. Verificou-se que os parâmetros otimizados, variando o volume de injeção entre 100 e 500 μL , e o caudal entre 4,0 e 8,0 mL min^{-1} , pouco influenciavam os declives das rectas de calibração, registando-se variações de sensibilidade pouco significativas. O mesmo já não poderia ser dito relativamente aos ritmos de amostragem, para os quais se verificou uma alteração significativa sempre que se variava o valor de caudal da solução transportadora. Por esta razão, optou-se, para os iões cobre e cádmio, pelos sistema de fluxo no qual se injectava um volume de 200 μL e a solução transportadora fluía com um caudal de 8,0 mL min^{-1} . Para o catião Pb (II) pelo sistema com um volume de injeção de 500 μL e um caudal de 8,0 mL min^{-1} e no caso de Ag(I) o máximo de sensibilidade analítica era obtido quando o volume injectado era de 200 μL e o caudal 4,0 mL min^{-1} (Fig. 13).

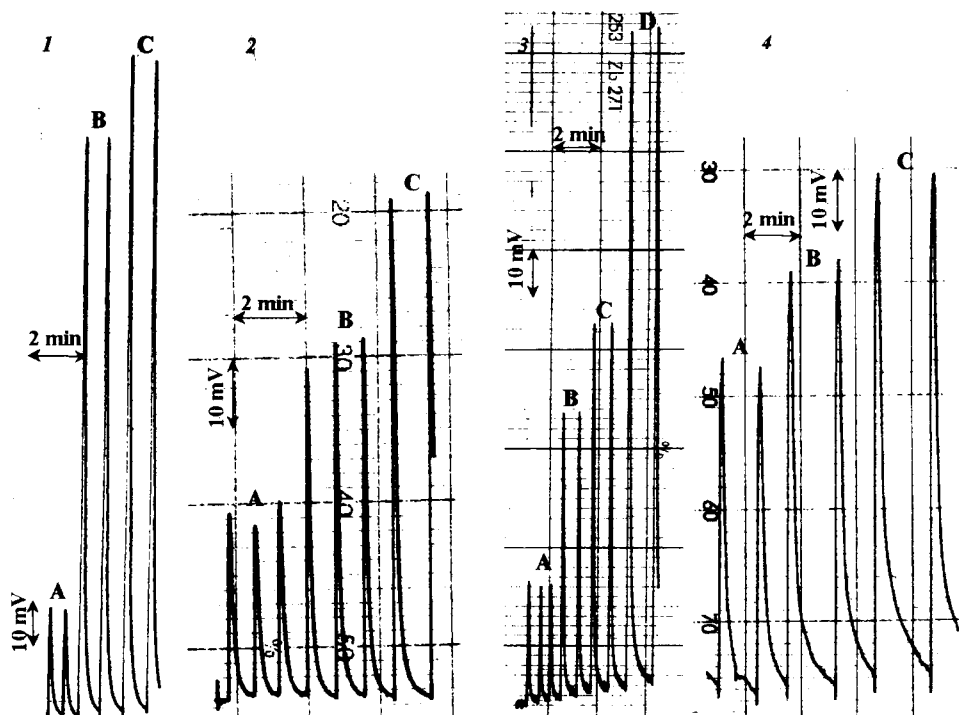


Figura 13 – Registos gráficos obtidos com os sistemas de detecção de dupla membrana sensíveis a :

Legenda :

1 – prata (I) (A – $1,0 \times 10^{-4}$; B – $7,5 \times 10^{-3}$; C – $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$);

2 – cobre (II) (A – $2,5 \times 10^{-4}$; B – $5,0 \times 10^{-4}$; C – $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$)

3 – cádmio (II) (A – $1,0 \times 10^{-4}$; B – $5,0 \times 10^{-4}$; C – $1,0 \times 10^{-3}$; D – $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$)

4 – chumbo (II) (A – $2,0 \times 10^{-3}$; B – $5,0 \times 10^{-3}$; C – $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$)

Tabela VIII. Variação do declive da recta de calibração (mV década^{-1}) e ritmo de amostragem com o volume de injeção / caudal para os sistemas de detecção de dupla membrana sensíveis a catiões.

<i>Volume/caudal</i> ($\mu\text{L/mL min}^{-1}$)	<i>Cobre*</i>	<i>Cádmio*</i>	<i>Chumbo*</i>	<i>Prata*</i>
100/8,0				
Declive	58,7 $\pm$ 2,5	48,9 $\pm$ 1,2	37,3 $\pm$ 0,10	111,4 $\pm$ 0,60
R. Amostr.	210-260	150-305	60-160	145-230
100/6,0				
Declive	60,0 $\pm$ 2,1	49,6 $\pm$ 1,5	36,6 $\pm$ 0,40	112,6 $\pm$ 1,2
R. Amostr.	180-240	140-280	55-145	125-200
100/4,0				
Declive	59,6 $\pm$ 1,8	51,9 $\pm$ 1,2	37,3 $\pm$ 1,6	114,3 $\pm$ 0,90
R. Amostr.	120-160	120-250	35-110	90-150
200/8,0				
Declive	62,0 $\pm$ 1,0	54,6 $\pm$ 1,0	39,9 $\pm$ 0,20	114,0 $\pm$ 0,90
R. Amostr.	200-250	150-300	60-160	135-220
200/6,0				
Declive	60,4 $\pm$ 1,7	49,9 $\pm$ 1,1	41,9 $\pm$ 1,2	113,8 $\pm$ 2,3
R. Amostr.	175-230	120-270	50-140	120-210
200/4,0				
Declive	61,9 $\pm$ 0,5	47,5 $\pm$ 1,2	43,3 $\pm$ 1,8	116,1 $\pm$ 0,50
R. Amostr.	110-155	105-240	35-100	120-200
500/8,0				
Declive	60,1 $\pm$ 2,6	52,9 $\pm$ 2,1	46,5 $\pm$ 0,1	113,8 $\pm$ 1,4
R. Amostr.	185-230	125-275	60-150	110-190
500/6,0				
Declive	61,1 $\pm$ 2,4	52,9 $\pm$ 1,2	44,0 $\pm$ 0,80	114,4 $\pm$ 0,80
R. Amostr.	170-210	110-260	40-110	90-170
500/4,0				
Declive	59,3 $\pm$ 0,50	54,5 $\pm$ 2,2	45,7 $\pm$ 2,40	114,3 $\pm$ 1,0
R. Amostr.	95-125	90-235	20-105	75-150

*Valores médios de um mínimo de cinco determinações.

3.2.3 - Estudo das características operacionais dos SDD e de SDDM sensíveis a catiões

Após optimização das montagens SDD e SDDM sensíveis às espécies catiónicas estudadas, efectuou-se o traçado das correspondentes curvas de calibração, por injeções sucessivas de soluções de ião primário com diferentes concentrações e com força iónica ajustada. Para todos eles determinaram-se as características de resposta dos sistemas de detecção cujos valores se resumem na Tabela IX.

a) Parâmetros de calibração

O limite inferior de resposta linear foi avaliado efectuando-se ensaios em triplicado, utilizando-se dois pares de unidades tubulares distintas. Em todos os casos era utilizada uma solução de ião primário de concentração igual a 1×10^{-6} mol L⁻¹ e ajustador de força iónica constituído por KNO₃ de concentração 0,1 mol L⁻¹ (NaClO₄ na avaliação dos detectores sensíveis a Pb (II)), como transportador.

Para os dois sistemas de detecção sensíveis a catião Cu (II) os valores de LIRL encontrados eram idênticos entre si e ao definido pelo sistema de um só eléctrodo [21], enquanto que para o catião Cd (II) se obteve uma melhoria muito acentuada, com os dois sistemas, relativamente ao valor anteriormente citado na literatura [21]. A melhoria verificada para o Cd (II) reflecte-se em todos os parâmetros de calibração avaliados, o que faz supor que a preparação da membrana destes detectores tenha sido mais bem sucedida do que anteriormente [21]. No SDD sensível a Ag (I) o LIRL subiu ligeiramente relativamente ao valor encontrado com o SDDM respectivo ($3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹). A diferença registada, relativamente aos correspondentes detectores anteriormente avaliados [21], não é, no entanto, significativa, e estará provavelmente relacionada com o processo de preparação do sensor constituinte da membrana. Também, sem razão específica aparente, no sistema tipo “soma” sensível a Pb (II), foi registada uma ligeira

melhoria do valor do LIRL quando comparados com o descrito em [21] para unidades sensíveis à mesma espécie catiónica.

Os SDD avaliados, sensíveis a catiões, proporcionavam valores de declive da recta de calibração de 51,5; 47,5 e 102,8 mV decada⁻¹ para os sistemas sensíveis a Cu (II), Cd (II) e Ag (I), respectivamente. Tal como para os aniões, os resultados encontrados representam uma melhoria significativa relativamente aos declives obtidos com as mesmas unidades associadas a um eléctrodo de referência convencional [21], embora não tenha sido possível obter uma duplicação de sinais como consequência da maior dispersão da amostra ao nível do segundo detector. No entanto, o aumento de declive registado foi, para os três sistemas de detecção, superior a 90 % do valor correspondente à soma dos declives individuais característicos de cada unidade constituinte do SDD.

Quando o mesmo tipo de membrana sensora era utilizada em SDDM, realça-se um acréscimo muito significativo da sensibilidade analítica, com resultados de 62,0; 54,6; 46,5 e 116,1 mV decada⁻¹ respectivamente para Cu (II), Cd (II), Pb (II) e Ag (I).

Tal como descrito anteriormente [21], também aqui os declives de calibração decrescem tendencialmente do cobre para o cádmio e para chumbo, sem que para o efeito se encontre uma razão química válida.

Tal como acontecia com as espécies aniónicas estudadas, os SDDM sensíveis aos quatro catiões permitiam a obtenção de valores de sensibilidade analítica significativamente superiores aos SDD respectivos.

Tabela IX. Características operacionais de funcionamento dos sistemas de detecção de sensibilidade aumentada sensíveis a cátions e os respectivos sistemas de detecção de membrana simples

<i>Sistema</i> <i>Detecção</i>	<i>Declive</i> <i>(mV dec⁻¹)</i>	<i>LIRL</i> <i>(mol L⁻¹)</i>	<i>Patamar</i> <i>pH</i> <i>(X=1x10⁻³ mol L⁻¹)</i>	<i>Ritmo</i> <i>amostr.</i> <i>(amostras h⁻¹)</i>	<i>Repetitib.</i> <i>(mV)</i>	<i>Estabilid.</i> <i>(mV dia⁻¹)</i>
Cobre						
<i>SDD</i>	51,5		4,2-6,3	120-150	±0,5	±1,5
<i>SDDM</i>	62,0	5x10 ⁻⁵	3,0-12,0	200-250	±0,6	±1,0
<i>DMS</i>	29,6		2,5-6,9	100-300	±0,4	±0,4
Cádmio						
<i>SDD</i>	47,5	5x10 ⁻⁵	1,8-8,4	120-300	±0,5	±1,5
<i>SDDM</i>	55,3	5x10 ⁻⁵	1,8-8,0	150-300	±0,6	±1,0
<i>DMS</i>	25,7	2x10 ⁻⁴	1,6-8,2	35-100	±1,0	±1,3
Chumbo						
<i>SDD</i>	---	---	---	---	---	---
<i>SDM</i>	46,5	1x10 ⁻⁴	3,7-5,8	60-150	±1,9	±2,0
<i>DMS</i>	24,3	2x10 ⁻⁴	2,5-5,6	45-120	±0,9	±2,0
Prata						
<i>SDD</i>	102,8	3,3x10 ⁻⁵	1,8-9,0	120-150	±0,5	±1,5
<i>SDDM</i>	116,1	3,0x10 ⁻⁵	1,8-9,6	120-200	±0,6	±0,7
<i>DMS</i>	57,3	1,5x10 ⁻⁵	2,5-8,4	160-300	±0,2	±1,0

SDD - sistema de detecção diferencial.

SDDM - sistema de detecção dupla membrana.

DMS - detectores membrana simples.

b) Ritmo de amostragem, estabilidade e repetitibilidade

Os valores do ritmo de amostragem determinados para ambos os sistemas de detecção, e expressos na Tabela IX, mostram que, tal como para o caso dos que eram sensíveis a aniões, e pelas razões aí apontadas, houve um decréscimo na frequência de análise registada para os catiões Cu (II) e Ag (I), embora essa redução fosse menos acentuada nos SDDM. Para os catiões Cd (II) e Pb (II) verificou-se, porém, uma melhoria bastante significativa deste parâmetro, que no caso do cádmio, mais uma vez, pode estar relacionado com as boas características operacionais das membranas preparadas relativamente às anteriormente descritas [21].

A estabilidade dos potenciais, avaliada ao longo de um dia de trabalho (Tabela IX), efectuando calibrações sucessivas por um período de cerca de 8 h mostram, para os sistemas diferenciais, variações de potencial inferiores a $\pm 1,5$ mV, valor este também superior ao encontrado no sistema de detecção com uma membrana. Os valores de estabilidade encontrados nos SDDM são, em todos os casos, melhores do que os obtidos nos SDD respectivos, tal como se tinha verificado no estudo das espécies aniónicas. Curiosamente os valores de estabilidade do Pb (II) ao longo de um dia de trabalho foram semelhantes aos referidos em [21].

Os ensaios de repetitibilidade foram efectuados segundo o procedimento descrito no Cap. II, tendo-se obtido desvios padrão relativos de cerca de $\pm 0,5$ mV para todos os sistemas diferenciais estudados e de $\pm 0,6$ mV, para os sistemas com detectores de membrana dupla sensíveis aos catiões cobre, cádmio e prata, valores que são comparáveis aos obtidos anteriormente com eléctrodos que incluíam o mesmo tipo de membrana [21]. No que diz respeito a este parâmetro constata-se um comportamento muito semelhante ao encontrado com os sistemas de detecção sensíveis a aniões, para os SDD e SDDM respectivos.

Tendo em conta os valores de repetitibilidade e estabilidade apresentados pelos sistemas sensíveis a cobre e cádmio, verificou-se só haver necessidade de renovação da superfície sensora por polimento das unidades, em dias alternados. Para os eléctrodos sensíveis à prata a etapa de polimento e condicionamento poderia ser efectuada com menor periodicidade, dado que as suas características de funcionamento se mantinham por longos períodos de tempo (superiores a uma semana). Os detectores sensíveis a chumbo, pela facilidade de oxidação das suas membranas, obrigavam a polimentos frequentes e períodos de condicionamento de algumas horas.

c) Avaliação da influência do pH

A avaliação da influência do pH na resposta dos sistemas de detecção foi efectuada também pelo traçado dos diagramas de Reilley. Para o efeito, procedeu-se à injeção sucessiva de uma solução de concentração constante em ião primário ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), com força iónica fixada com KNO_3 (perclorato de sódio, na resposta a Pb(II)) e HNO_3 , sendo os ensaios efectuados em triplicado.

Os resultados encontrados, representados na Tabela IX, mostram que nos SDD sensíveis a cádmio e prata o intervalo de pH encontrado era semelhante ao descrito anteriormente [21], enquanto que para o Cu (II) se verificou um encurtamento muito significativo da amplitude desse patamar, quer na zona ácida quer na alcalina.

Os resultados obtidos com os SDDM eram em tudo semelhantes aos descritos anteriormente com os respectivos detectores de uma membrana [21]. Apenas nos sistemas sensíveis a Pb (II) , se registou um ligeiro encurtamento da zona ácida, obtendo-se um patamar de pH operacional de 3,7 a 5,8 unidades.

O patamar obtido nos SDDM sensíveis a Cd (II) e Ag (I) foram semelhantes aos encontrados com os correspondentes SDD, o que está de acordo com o esperado, atendendo ao facto deste parâmetro ser fundamentalmente dependente das características intrínsecas da própria membrana sensora. Neste tipo de eléctrodos, sensíveis a espécies catiónicas, para valores de pH inferiores a 2 unidades a membrana sofre um ataque pelo H^+ , com formação de HS^- e S^{2-} , resultando numa variação de potencial registado pelos eléctrodos. Para valores elevados de pH os iões metálicos

presentes na amostra são complexados pelos iões OH^- o que conduz a um decréscimo do sinal analítico registado.

Uma das formas mais frequentemente descritas para obviar as limitações impostas pelo pH contemplam o recurso a soluções tampão metálicas, utilizando tampões de p. ex. Cu/EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) ou Cu/NTA (ácido nitriloacético), com os quais se poderá suprimir as interferências de H^+ e OH^- , ampliando o patamar operacional de resposta do ESI [25, 32-34].

d) Coeficientes de selectividade potenciométricos

Foram também realizados estudos de avaliação dos coeficientes de selectividade potenciométricos (K^{pot}) para os sistemas sensíveis a Cu (II), Cd (II) e Pb (II). Nestes tipos de eléctrodos as interferências de catiões, particularmente metais pesados, são muito comuns, pela possibilidade de formação de sais insolúveis com o anião sulfureto constituinte da membrana sensora.

Os valores de K^{pot} foram determinados recorrendo ao método das soluções misturadas, com força iónica ajustada, fixando-se a concentração de ião primário e variando-se a concentração do interferente. Também neste caso se efectuou o estudo contemplando as mesmas espécies químicas anteriormente estudadas [21], visando uma comparação dos resultados obtidos. Os ensaios foram realizados em triplicado, com dois pares de unidades tubulares e os resultados encontrados estão representados na Tabela X. A referida tabela inclui igualmente os valores teóricos calculados com base na relação dos respectivos K_{ps} (Capítulo II).

Tabela X. Coeficientes de selectividade potenciométricos K^{pot} dos sistemas de detecção de sensibilidade aumentada sensíveis a catiões.

Tipo eléctrodo	Interferente (y)			
	Cobre [*]	Cádmio [*]	Chumbo [*]	Prata [*]
ião primário (x)				
Cobre				
SDD		$2,5 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-3}$	3,9
SDDM		$2,0 \times 10^{-4}$	$1,1 \times 10^{-3}$	1,0
DMS		$2,0 \times 10^{-4}$	$8,0 \times 10^{-4}$	3,0
Teórico ^{**}		$8,0 \times 10^{-10}$	$3,0 \times 10^{-9}$	$1,0 \times 10^{14}$
Cádmio				
SDD	8,4		1,0	16
SDDM	8,0		1,0	17
DMS	$1,0 \times 10^2$		1,0	20
Teórico ^{**}	$1,0 \times 10^9$		3,0	$1,0 \times 10^{23}$
Chumbo				
SDD	---	---		---
SDDM	31	$2,2 \times 10^{-1}$		25
DMS	30	$7,0 \times 10^{-2}$		20
Teórico [*]	$4,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^{-1}$		$4,0 \times 10^{22}$

SDD - sistema de detecção diferencial.

SDDM - sistema de detecção de dupla membrana.

DMS - detectores membrana simples.

*Valor médio de 3 determinações efectuadas com 2 pares de detectores distintos.

** Valor teórico calculado a partir de relação $K_{ps}(XS)/K_{ps}(YS)$, ref [28]

Os valores de K^{pot} encontrados foram em tudo semelhantes, quer se tratasse de um sistema de detecção sequencial ou de dupla membrana, de acordo com o que se esperava. Comparativamente com os valores para o mesmo parâmetro registados anteriormente [21], verificou-se não haver diferença significativa nos valores de K^{pot} excepto na interferência provocada pelo catião cobre (II), na resposta do SDD e SDDM sensíveis a Cd (II), onde se registou uma diminuição acentuada. Na resposta do sistema de detecção sensível a Cu (II), os valores obtidos confirmam não ocorrer interferências significativas dos catiões cujos sulfuretos têm valores de K_{ps} superiores aos sulfuretos de cobre (II), caso dos catiões Pb (II) e Cd (II). Pelo contrário, quando o valor da constante de solubilidade (K_{ps}) do sulfureto do ião interferente é menor que o do ião primário presente na mistura sensora, estes comportam-se como interferentes, precipitando na superfície das membranas sensoras, embora, mais uma vez, os valores de K^{pot} experimentais sejam inferiores aos previstos a partir da razão dos respectivos produtos de solubilidade [28]. É o caso dos catiões cobre e prata, que são importantes interferentes no funcionamento dos detectores sensíveis a cádmio (II) e chumbo (II).

III - 4 - Conclusões

A avaliação comparativa das características de funcionamento dos sistemas de detecção de sensibilidade aumentada estudados mostrou que não existiam diferenças significativas nos seus comportamentos. Os resultados obtidos com os dois tipos de sistemas de detecção permitem, contudo, um ganho efectivo na sensibilidade analítica, maior sempre que se tratava de sistemas com detectores com dupla membrana (SDDM). Relativamente aos detectores construídos com membranas semelhantes e incorporados em FIA conjuntamente com unidades de referência convencionais, a alteração das características que marcadamente se destaca é o aumento de declive das rectas de calibração, que chega a atingir um valor próximo do dobro do anteriormente obtido.

Muito embora tenham surgido na literatura, para sistemas de detecção diferenciais [12-15, 20], indicações da melhoria dos valores de LIRL e repetibilidade

do sinal analítico, comparativamente com os sistemas de detecção tradicionais (incluindo eléctrodo de referência) não foi neste trabalho registada qualquer diferença significativa. Enquanto alguns autores [12-15, 20] explicavam estas melhorias pela maior exactidão na determinação da soma dos máximos de dois picos, de sinal contrário, comparativamente com a medição de um máximo de um só pico relativamente a uma linha de base com ruído ou deslizante, neste caso, por se tratarem de unidades que, por si só já apresentavam boas características de funcionamento, não era previsível que o mesmo acontecesse.

Deve-se destacar ainda que, relativamente aos sistemas de detecção convencionais, houve, sobretudo para os SDD, uma variação nalguns casos significativa, dos valores relativos ao estudo da influência do pH. Este facto pode ser devido à influência do pH no estabelecimento do potencial de referência, que dever-se-ia manter constante ao longo dos ensaios realizados, mas pelo facto de um dos eléctrodos se encontrar conectado à entrada de referência do potenciómetro poder conduzir a um estabelecimento de malhas eléctricas que sejam responsáveis por uma perturbação dessa mesma estabilidade.

Os SDDM, além de permitirem a obtenção de ritmos de amostragem muito elevados e próximos dos observados nos sistemas de fluxo convencionais, caracterizavam-se por uma grande estabilidade mecânica, sendo facilmente adaptáveis a diferentes técnicas potenciométricas, de forma em tudo semelhante às realizadas com unidades convencionais.

Por sua vez os sistemas de detecção sequencial, embora não atingindo um ganho de sensibilidade efectivo de 100%, relativamente aos SDDM, mostraram-se muito mais económicos, pois além de permitirem prescindir de um eléctrodo de referência convencional, não necessitavam de qualquer instrumentação adicional de soma de potenciais. Além disso possibilitavam a utilização de qualquer unidade tubular já existente, sem necessidade de construção de detectores específicos, e a eliminação do eléctrodo de referência comercial suprimia o estabelecimento de potenciais de junção líquida.

Poder-se-á concluir que, quando os detectores avaliados apresentam boas características funcionais, o recurso aos sistemas de sensibilidade aumentada apenas contribui para uma melhoria significativas deste parâmetro. Quando os detectores de membrana simples têm características de resposta menos boas (ex. cádmio e chumbo) o

uso de sistemas de detecção de membrana dupla são particularmente vantajosos, contribuindo para uma melhoria das suas características de resposta.

Os sistemas estudados apresentam como principal aliciente a possibilidade de utilização em aplicações analíticas quando as concentrações em estudo são muito próximas ou quando se situam em valores próximos do LIRL.

O desenvolvimento de sistemas de detecção de sensibilidade aumentada poderá ser extensivo a outras espécies químicas, bem como a outros tipos de membranas sensoras, e, sobretudo no caso dos SDDM, põe-se a hipótese de se poder incorporar mais do que duas membranas iguais ou diferentes, permitindo a análise uni ou multiparamétrica.

Referências Bibliográficas

- [1] P.L. Bailey, *Analysis with Ion-Selective Electrodes*, Heyden & Son Lda., London, **1976**.
- [2] R. Stepak, *Frezenius' Z. Anal. Chem.*, **1983**, 315, 629.
- [3] A. Parczewski e R. Stepak, *Frezenius'Z. Anal. Chem.*, **1983**, 316, 29.
- [4] K. Suzuki, K. Tohda e T. Shirai, *Anal. Lett.*, **1987**, 20, 1773.
- [5] A. Parczewski, *Talanta*, **1987**, 34, 586.
- [6] A. Parczewski, *Talanta*, **1988**, 35, 473.
- [7] A. Karocki, K. Madej e A. Parczewski, *Chem. Anal. [Warsaw]*, **1989**, 34, 383.
- [8] R.A.S. Lapa, J.L.F.C. Lima e M.S.H. Reis, *Il Farmaco*, **1993**, 48, 1605.
- [9] R.A.S. Lapa, J.L.F.C. Lima, E. Barrado e H. Vela, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **1997**, 66, 71.
- [10] W. Frenzel, *Analyst*, **1988**, 113, 1039.
- [11] K. Cammann, *Frezenius'Z. Anal. Chem.*, **1988**, 329, 691.
- [12] D.B. Hibbert, P.W. Alexander, S. Rachmawati e S.A. Caruana, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 1015.
- [13] J.A. Borzitsky, A. Dvinin, O.M. Petrukhin e Y.I. Urosov, *Analyst*, **1993**, 118, 859.
- [14] L.M.B.C. Álvares-Ribeiro e A.A.S.C. Machado, *Analyst*, **1997**, 122, 1435.
- [15] P.W. Alexander, T. Dimitrakopoulos e D.B. Hibbert, *Field Anal. Chem. Techol.*, **1996**, 1, 31.
- [16] I. Rizov e L. Ilcheva, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 311, 175.
- [17] H. Muller e V. Muller, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 180, 30.

- [18] H. Muller e J. Kramer, *Frezenius'Z. Anal. Chem.*, **1989**, 335, 210.
- [19] R.M. Liu, D.J. Liu e A.L. Sun, *Analyst*, **1992**, 117, 1335.
- [20] F. Zuther, B. Ross e K. Camman, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 313, 83.
- [21] I.M.P.L.V.O. Ferreira, *Dissertação de Doutoramento. Construção, avaliação e aplicação de detectores potenciométricos tubulares para FIA baseados em membranas cristalinas homogéneas*, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, **1994**.
- [22] D. Midgley e K. Torrance, *Potentiometric Water Analysis*, John Wiley and Sons, New York, **1978**.
- [23] J. Ruzicka e C.G. Lamm, *Anal. Chim. Acta*, **1971**, 54, 1.
- [24] G.M.N. Heijne, W.E. van der Linden e G.D. Boef, *Anal. Chim. Acta*, **1977**, 89, 287.
- [25] J. Ruzicka e E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1973**, 63, 115.
- [26] G.M.N. Heijne, W.E. van der Linden e G.D. Boef, *Anal. Chim. Acta*, **1978**, 100, 193.
- [27] L. Sekerka e J.F. Lechener, *Anal. Chim. Acta*, **1977**, 80, 1.
- [28] J. Lurie, *Handbook of Analytical Chemistry*, p. 105, MIR, Moscow, **1975**.
- [29] H.A. Klasens e J. Goossen, *Anal. Chim. Acta*, **1977**, 88, 41.
- [30] M. Trojanowicz, *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 114, 293.
- [31] J.D. Czaban e G.A. Rechnitz, *Anal. Chem.*, 1973, 45, 471.
- [32] E.H. Hansen, C.G. Lamm e J. Ruzicka, *Anal. Chim. Acta*, **1972**, 59, 403.
- [33] J. Pick, K. Tóth e E. Pungor, *Anal. Chim. Acta*, **1972**, 61, 169.
- [34] E.H. Hansen e J. Ruzicka, *Anal. Chim. Acta*, **1974**, 72, 365.

CAPÍTULO IV

Desenvolvimento de montagens FIA, utilizando detectores potenciométricos de AgCl/Ag₂S de sensibilidade acrescida, para a determinação directa de cloreto em águas.

IV - 1 - Introdução

O anião cloreto é um dos iões inorgânicos maioritariamente presente nas águas naturais e residuais. O seu teor na água é extremamente variável e fortemente dependente da natureza dos terrenos atravessados pelos cursos de água. Assim, a sua concentração poderá variar, nas zonas áridas, devido a uma lixiviação superficial na época de chuvas fortes; nas zonas costeiras, devido à infiltração da água do mar nos sistemas de abastecimento; e nas zonas industriais, devido à contaminação provocada pelas águas residuais utilizadas [1].

Os grandes inconvenientes da presença de altos teores de cloreto em águas resultam fundamentalmente do sabor desagradável que podem comunicar à água, da possibilidade de promoverem a corrosão das canalizações e reservatórios, particularmente os de aço inoxidável, de contribuírem para a diminuição do oxigénio dissolvido presente na água, e, quando usadas com finalidade de rega, poderem ser limitantes para a produção de certas culturas agrícolas [1].

As normas portuguesas [2] indicam como valor máximo recomendado de cloreto em água destinada a consumo humano, uma concentração de 25 mg L^{-1} , e recomendam o valor de 200 mg L^{-1} , como concentração aproximada a partir da qual podem ocorrer efeitos nocivos. Esta legislação propõe ainda métodos analíticos de referência para a determinação de cloreto em água, nomeadamente a titulação pelo método de Mohr ou a espectrometria de absorção molecular [2]. A American Society for Testing and Materials (ASTM) [3] sugere três métodos analíticos para a determinação deste mesmo parâmetro em águas, tendo em conta quer a sua natureza quer o teor neste anião. São eles, a titulação mercurimétrica, aplicada a águas residuais de natureza industrial, o método colorimétrico, indicado para águas com teores de cloreto muito baixos e de grande pureza, e a titulação com nitrato de prata, recomendado para águas naturais e residuais com teores de cloreto superiores a 5 mg L^{-1} . Por sua vez, nos Standard Methods [4] propõem-se adicionalmente a cromatografia iónica e o método potenciométrico, por titulação argentimétrica, sendo este último

apontado como particularmente útil na análise de águas turvas ou coradas, nas quais a mudança de cor de um indicador seja de difícil visualização.

Actualmente, é aliás comum o uso de eléctrodos selectivos de ião na determinação analítica de distintas espécies químicas em água [5]. A determinação potenciométrica do anião cloreto apresenta inúmeras vantagens relativamente aos métodos convencionais anteriormente referidos [2, 3], quer pela possibilidade, já referida, de aplicação a amostras turvas e coradas, quer pelo grande intervalo de concentrações onde é possível realizar as análises sem perda de sensibilidade analítica [6]. Além disso, a associação da potenciometria a sistemas FIA possibilita que o procedimento analítico se torne totalmente automatizado o que, para além de diminuir o tempo de análise, contribui ainda para a obtenção de processos analíticos simplificados.

O aumento da sensibilidade analítica da medição potenciométrica é, como amplamente discutido no Capítulo III, uma forma importante de melhorar a precisão dos resultados experimentais obtidos e, conseqüentemente, a sua exactidão. Nesse sentido, têm sido propostas algumas metodologias alternativas baseadas na detecção potenciométrica [7, 8] dirigidas para a determinação do anião cloreto na água. Assim, Stepak [7] refere uma metodologia convencional, baseada na titulação potenciométrica com AgNO_3 , para determinação de anião cloreto em amostras muito diluídas, utilizando oito células convencionais colocadas em série. O aumento de sensibilidade obtido permitia que as medidas pudessem ser feitas com um erro diminuído, numa zona de concentrações próxima do LIRL do eléctrodo. Brynn Hibbert [8], por sua vez, sugere a determinação deste mesmo anião na água, recorrendo a um sistema de três células inseridas num sistema de fluxo segmentado, utilizando detectores de 1ª espécie, de configuração convencional, também ligados em série. Neste trabalho, o recurso ao fluxo segmentado permitia reduzir a elevada dispersão experimentada pela amostra, resultante da incorporação de detectores convencionais com um elevado volume morto. Qualquer uma das situações referidas [7, 8] obrigava, no entanto, ao uso de um número elevado de eléctrodos de referência (oito no primeiro caso e três no segundo). Isto implicava uma grande complexidade e instabilidade mecânica das montagens, com uma difícil manipulação e automatização das mesmas. Além disso a estabilidade dos sinais analíticos era dificultada já que o potencial final estava dependente da estabilidade do potencial correspondente às diferentes unidades de referência.

A possibilidade de poder conferir uma configuração tubular às unidades potenciométricas tornou as montagens FIA mais estáveis, do ponto de vista mecânico, com muitas vantagens, particularmente em relação aos dois sistemas citados [7, 8]. Além de permitir uma fixação rígida e estável ao sistema, a utilização de detectores tubulares, caracterizados por um pequeno volume morto e pela manutenção das características hidrodinâmicas do fluxo, torna-se particularmente importante em sistemas diferenciais, já que permite que a amostra, após passagem pelo primeiro detector, chegue aos seguintes, colocados em linha, com um mínimo de alteração do perfil de concentração da amostra.

Nesse sentido procurou-se desenvolver dois sistemas FIA de sensibilidade aumentada. Um deles incorporava duas unidades sensíveis a anião cloreto, colocadas sequencialmente. No outro, o detector potenciométrico eram constituído por duas membranas, também sensíveis a anião cloreto, acopladas no mesmo corpo do detector, para a determinação deste anião em águas. Desta forma pretendia-se, com um eléctrodo com boas características operacionais (Capítulo III), testar as diferenças de resultados obtidas com sistemas diferenciais ou tipo “soma” em análises práticas concretas.

IV - 2 - Parte experimental

2.1 Aparelhagem e eléctrodos

Os eléctrodos tubulares foram construídos segundo a metodologia descrita no Capítulo II. Como detectores foram usados eléctrodos selectivos de ião, de membrana simples ou de duas membranas, em que o sensor era constituído por uma mistura de $\text{AgCl}/\text{Ag}_2\text{S}$, na proporção molar de 1:1. As características operacionais destes sistemas de detecção (SDD e SDDM) encontram-se descritas no Capítulo III. As unidades sensoras, depois de construídas, eram polidas e condicionadas, em contacto com uma solução de NaCl , de concentração igual a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, durante algumas horas.

Na montagem FIA que utilizava o eléctrodo de duas membranas, o sistema de detecção era constituído pelo eléctrodo de configuração tubular, incorporado num

suporte de perspex duplo também esquematizado no Capítulo II (Fig. 9), e pelo eléctrodo de referência, de AgCl / Ag.

As duas montagens FIA utilizadas na determinação do anião cloreto em águas foram estabelecidas usando-se o equipamento modular anteriormente descrito (Capítulo II).

Para a determinação de cloreto em águas, pelo método de referência [4], foi utilizado um sistema de titulação automática, descrito no Capítulo II (Fig 1). Utilizou-se um eléctrodo indicador de membrana cristalina homogénea sensível ao catião prata, de configuração convencional [9], associado a um eléctrodo de referência de dupla junção, da marca Orion, modelo 90-00-02.

2.2 Reagentes e soluções

As soluções padrão de cloreto, utilizadas nas duas montagens FIA foram preparadas por diluição rigorosa da solução padrão de NaCl, de concentração igual a $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, obtida por pesagem rigorosa de cloreto de sódio previamente seco na estufa, até peso constante.

Na realização dos ensaios de referência utilizou-se como reagente titulante uma solução de Ag (I), obtida a partir de um padrão comercial (Titrisol, Merck, ref. 9990) de concentração $0,10000 \text{ mol L}^{-1}$.

2.3 Preparação das amostras

As amostras de água a analisar, provenientes de poços, minas, rede de abastecimento público e engarrafadas, eram intercaladas nas montagens FIA sem serem sujeitas a qualquer tratamento prévio.

Para a realização do método de referência, as amostras eram acidificadas com HNO_3 e seguidamente tituladas potenciometricamente. Para tal media-se um volume de $10,0 \text{ mL}$ de amostra, acidificada com $0,25 \text{ mL}$ de HNO_3 de concentração $0,5 \text{ mol L}^{-1}$,

para um vaso contendo uma barra magnética, e colocado sobre um agitador magnético. Após a introdução do par de eléctrodos referidos, indicador e de referência, e sua estabilização, procedia-se à titulação do cloreto presente nas amostras recorrendo-se ao titulador automático citado.

2.4 Método analítico de referência

Para avaliar a qualidade dos resultados obtidos com as metodologias FIA desenvolvidas, efectuou-se a sua comparação com os valores fornecidos pelo procedimento de referência, para um conjunto de amostras de água de proveniências distintas.

Utilizou-se como metodologia comparativa o procedimento proposto por Standard Methods, baseado na titulação potenciométrica do anião cloreto com o catião prata [4]. Nesta volumetria foi usado, para detecção do ponto final da titulação, um eléctrodo de membrana cristalina homogénea sensível ao catião prata [9], de configuração convencional, e um eléctrodo de referência, de dupla junção, de AgCl/Ag da Orion, modelo 90-00-02. O valor da concentração de cloreto nas amostras foi calculado a partir da determinação do ponto de inflexão da curva de titulação, pelo cálculo da primeira e segunda derivadas.

2.5 Montagens FIA utilizadas

Como ficou referido anteriormente, tendo em conta os bons resultados obtidos na avaliação dos dois tipos de sistemas de detecção construídos sensíveis a cloreto (SDD e SDDM, descritos no Capítulo III), justificou-se o desenvolvimento de montagens FIA onde aqueles fossem incorporados. A aplicação dos dois tipos de sistemas de detecção de sensibilidade aumentada à análise de amostras reais permitiria deduzir qual dos dois seria mais vantajosamente aplicado em análise de rotina laboratorial.

Assim, foram então construídas duas montagens FIA monocanal, esquematizadas nas Fig.1 e 2, nas quais as amostras e soluções padrão eram inseridas, através de uma válvula de injeção, num canal transportador, onde fluía uma solução de NaCl, de concentração $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, e KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Na montagem diferencial, a concentração de cloreto presente nas amostras era determinada, por intermédio de um sistema de detecção constituído por dois eléctrodos tubulares de membrana simples, sensíveis a cloreto, colocados sequencialmente a uma distância definida entre si. Na segunda montagem proposta, a determinação do cloreto era efectuada por intermédio de um sistema de detecção constituído por um detector potenciométrico tubular de duas membranas, inseridas no mesmo corpo do eléctrodo, igualmente sensíveis a anião cloreto.

Para a optimização da montagem FIA com detecção potenciométrica diferencial foram variados determinados parâmetros nomeadamente, o volume de injeção, a velocidade de fluxo e o comprimento do tubo de ligação entre os eléctrodos tubulares. Da mesma forma, na montagem FIA incorporando o detector de duas membranas, o estudo de optimização foi realizado variando o volume de injeção e caudal. Para cada um desses parâmetros, avaliou-se a sua influência nos valores do declive das rectas de calibração registadas, na zona de resposta linear que era possível obter, na reprodutibilidade dos ensaios, na altura do sinal analítico e no ritmo de amostragem proporcionado pelos sistemas.

Com o objectivo de avaliar o desempenho dos dois tipos de sistemas de detecção implementados, procedeu-se à sua caracterização, efectuando calibrações sucessivas, de modo a avaliar o intervalo de concentração onde era obtida uma relação linear entre a altura do sinal analítico e o logaritmo da concentração de cloreto.

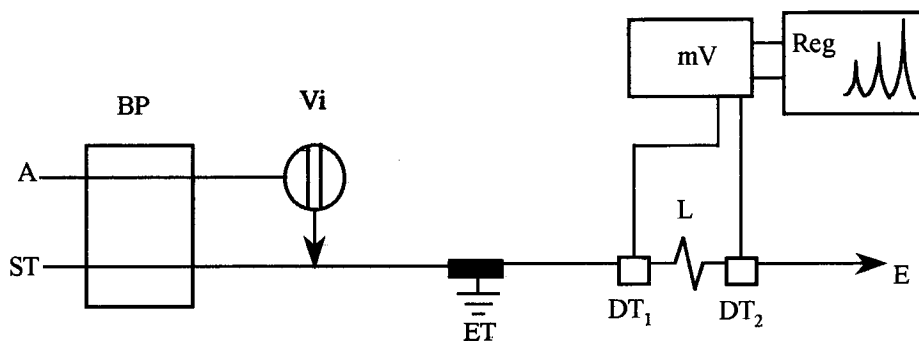


Figura 1 - Montagem FIA com detecção potenciométrica diferencial para a determinação de cloreto em águas.

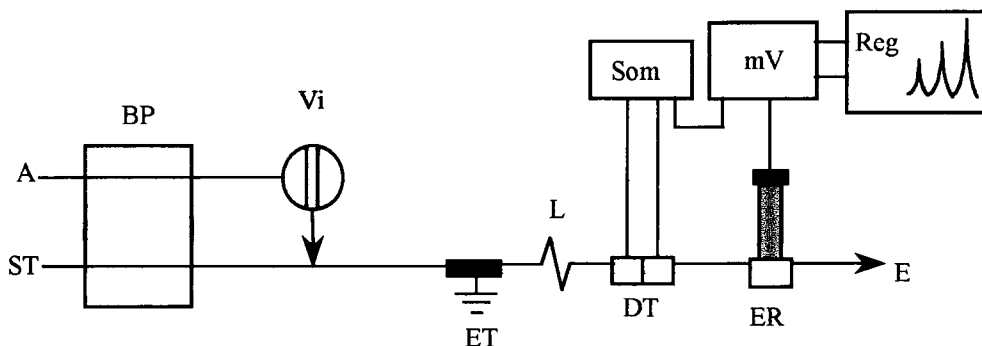


Figura 2 - Montagem FIA com detecção potenciométrica, usando um detector de duas membranas para a determinação de cloreto em águas.

Legenda: BP - bomba peristáltica; A - amostra (200 μL); ST - solução transportadora de $\text{NaCl} + \text{KNO}_3$ (8,1 mL min^{-1}); Vi - válvula de injeção; L - tubo de ligação; ET - eléctrodo terra; DT - detector potenciométrico sensível a cloreto; ER - eléctrodo de referência; Som - somador; mV - decimilivoltímetro; Reg - registador; E - esgoto.

IV - 3 - Resultados e sua discussão

Tendo em conta as boas características de resposta dos sistemas de detecção implementados, sensíveis a cloreto, sobretudo no que se refere à sensibilidade analítica, relativamente às unidades sensíveis à mesma espécie descritas anteriormente [9], foram desenvolvidas montagens que permitissem efectuar determinações directas de cloreto em diferentes tipos de águas, com distintos níveis de concentração.

Em ambas as montagens foi utilizada uma solução de NaCl como transportador, com o objectivo de reduzir a extensão da solubilização da membrana sensora, melhorar a estabilidade da linha de base e diminuir o tempo de retorno do sinal analítico a esta. O valor deste parâmetro era, contudo, limitante para a gama de concentração de cloreto a determinar. Atendendo a que a concentração de cloreto em águas naturais normalmente varia entre 5 e 500 mg L⁻¹, havia a necessidade de otimizar as montagens para que permitissem trabalhar nessa gama de concentrações. Optou-se então, para a solução transportadora de NaCl, pela concentração de $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, valor que, como referido no capítulo anterior, proporcionava a obtenção de uma resposta linear para determinação de cloreto no intervalo de concentrações de $5,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ (aproximadamente 2 a 3550 mg, expresso em cloreto).

A solução transportadora era ainda adicionada de um electrólito de concentração relativamente elevada, uma solução de KNO₃ com uma concentração de cerca de 0,1 mol L⁻¹, que actuava simultaneamente como ajustador de força iónica e promovia um bom contacto eléctrico entre os eléctrodos.

No sistema de detecção diferencial, como foi destacado no capítulo anterior, o parâmetro da montagem mais limitante na resposta analítica é a distância que separa os dois detectores. A escolha do comprimento do tubo de ligação entre os eléctrodos teria que ser feito tendo em conta o possível efeito de sobreposição dos sinais analíticos correspondentes a cada eléctrodo, bem como o efeito de dispersão sofrido pela amostra, particularmente ao nível do segundo eléctrodo. Assim, muito embora a redução desta distância conduzisse a um aumento significativo do ritmo de amostragem, haveria que

garantir a obtenção de dois sinais perfeitamente diferenciados com alturas o mais semelhantes possível. Procedeu-se a estes estudos fazendo variar a distância entre os eléctrodos, entre 150 e 350 cm, e o volume de injeção, entre 100 e 200 μL . Verificou-se que distâncias inferiores a 150 cm conduziam a uma sobreposição dos sinais analíticos obtidos, para os volumes de injeção de 100 e 200 μL . Por sua vez, distâncias iguais a 350 cm causavam uma grande dispersão do sinal analítico correspondente ao segundo detector e, conseqüentemente, um decréscimo de sensibilidade. O caudal, com influência quer no grau de dispersão sofrido pela amostra, quer no ritmo de amostragem, foi estudado no intervalo de 2,0 a 8,1 mL min^{-1} . Verificou-se que o seu incremento pouco alterava o valor de declive obtido. Assim, com base nos resultados obtidos, escolheram-se como valores óptimos, o volume de injeção de 200 μL , um tubo de ligação de 250 cm de comprimento intercalado entre os dois detectores potenciométricos e uma velocidade de fluxo de 8,1 mL min^{-1} .

No sistema tipo “soma”, procedeu-se igualmente à optimização do sistema de detecção, por variação do volume de injeção, entre 100 e 500 μL , e dos caudais entre 4,0 e 8,1 mL min^{-1} . Verificou-se, contudo, que estes dois parâmetros pouco alteravam o valor do declive da recta de calibração obtida, embora tivessem uma grande influência nos ritmos de amostragem atingidos. Os resultados obtidos com volumes de injeção superiores a 200 μL , além de não proporcionarem um acréscimo da sensibilidade analítica, contribuíam para um acentuado decréscimo da frequência de amostragem. Por sua vez, o aumento do valor de caudal da solução transportadora permitia um ganho acentuado no ritmo de amostragem obtido. Optou-se, portanto, por um volume de injeção de 200 μL e uma velocidade de fluxo de 8,1 mL min^{-1} . Para evitar uma desnecessária dispersão da amostra o comprimento do tubo de ligação entre a válvula de injeção e o detector foi fixado em 30 cm, o menor valor possível imposto pelas ligações a efectuar entre os diferentes componentes da montagem.

A eliminação de interferências eléctricas nos dois sistemas, particularmente as introduzidas pela funcionamento da bomba peristáltica, foi conseguida pela intercalação de um “eléctrodo de ligação à terra”, colocado entre a válvula de injeção e o detector

potenciométrico (Fig. 1 e 2). Nas duas montagens o “eléctrodo terra” era colocado imediatamente antes do primeiro detector.

Os sistemas FIA com as características seleccionadas permitiam a determinação de anião cloreto num largo intervalo de concentrações, de 2 a 3550 mg L⁻¹, proporcionando registos analíticos semelhantes aos que se apresentam nas Fig. 3 e 4.

A repetitibilidade dos sinais analíticos foi determinada de acordo com o procedimento referido no Capítulo II, fazendo 16 injeções sucessivas de soluções padrão de NaCl de concentrações $1,0 \times 10^{-4}$, $5,0 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. Os valores de desvio padrão relativo encontrados proporcionaram resultados com variações inferiores a $\pm 0,5$ mV, para o sistema de detecção diferencial, e $\pm 0,6$ mV, para o sistema que incorporava o eléctrodo de dupla membrana.

A estabilidade dos sistemas de detecção, ao longo de oito horas de trabalho, foi também avaliada, traçando várias curvas de calibração, e procedendo-se ao cálculo da variação do potencial para diferentes níveis de concentração, na zona de resposta linear dos sistemas de detecção. Verificou-se que os valores de potencial não variavam mais do que 1,5 mV dia⁻¹, para o sistema diferencial, e 1,0 mV dia⁻¹ para os ensaios efectuados com o sistema tipo “soma”. A maior variação verificada ao longo do tempo com sistema diferencial é facilmente explicada pelo facto de se utilizarem duas unidades tubulares distintas, com características necessariamente diferentes e com aplicações anteriores diversas.

Os dois sistemas de sensibilidade aumentada assim optimizados proporcionavam elevados ritmos de amostragem, que oscilavam entre 120 e 150 amostras h⁻¹, quando o sistema de detecção era diferencial, e 200 a 250 amostras h⁻¹ para o sistema de detecção de dupla membrana.

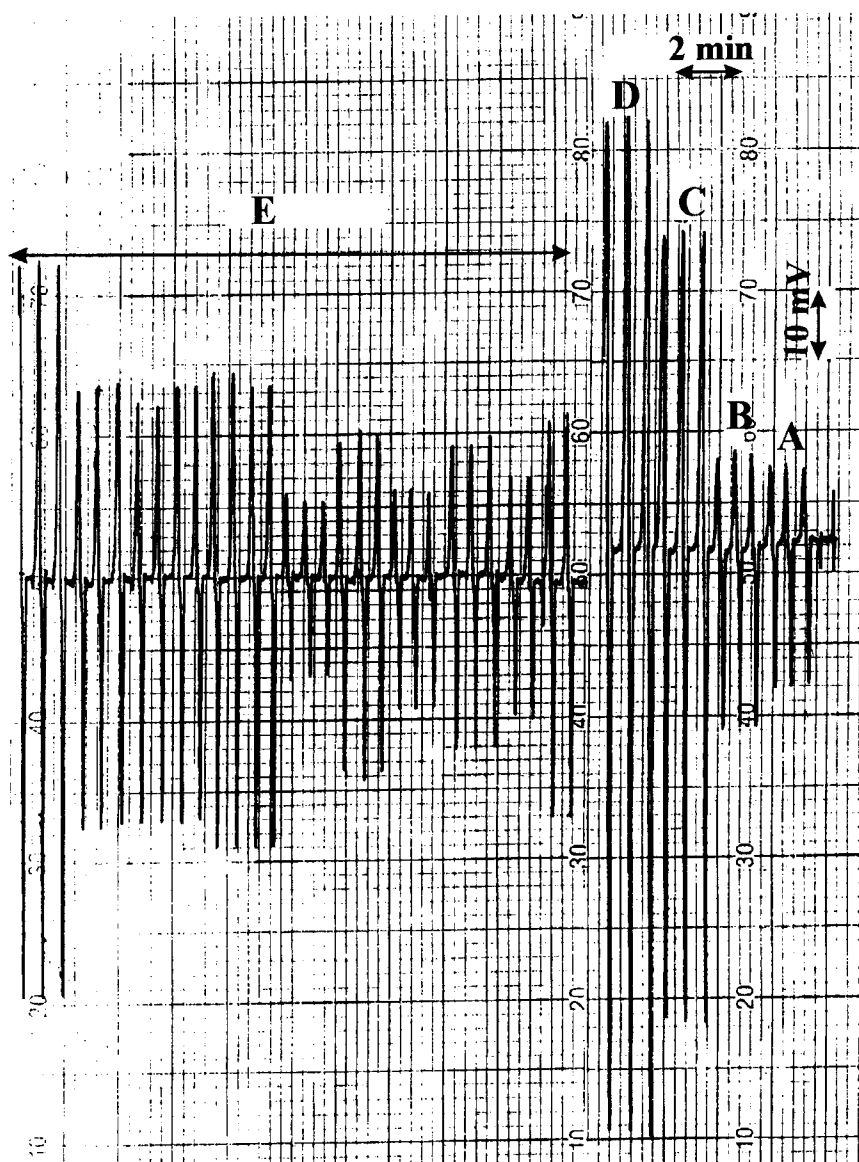


Figura 3 - Registo gráfico obtido com o sistema de detecção potenciométrico diferencial, correspondente à intercalação de um conjunto de soluções padrão e diferentes amostras de água.

Legenda : Padrões utilizados A - $7,5 \times 10^{-5}$; B - $1,0 \times 10^{-4}$; C - $5,0 \times 10^{-4}$;

D - $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e E - amostras de água.

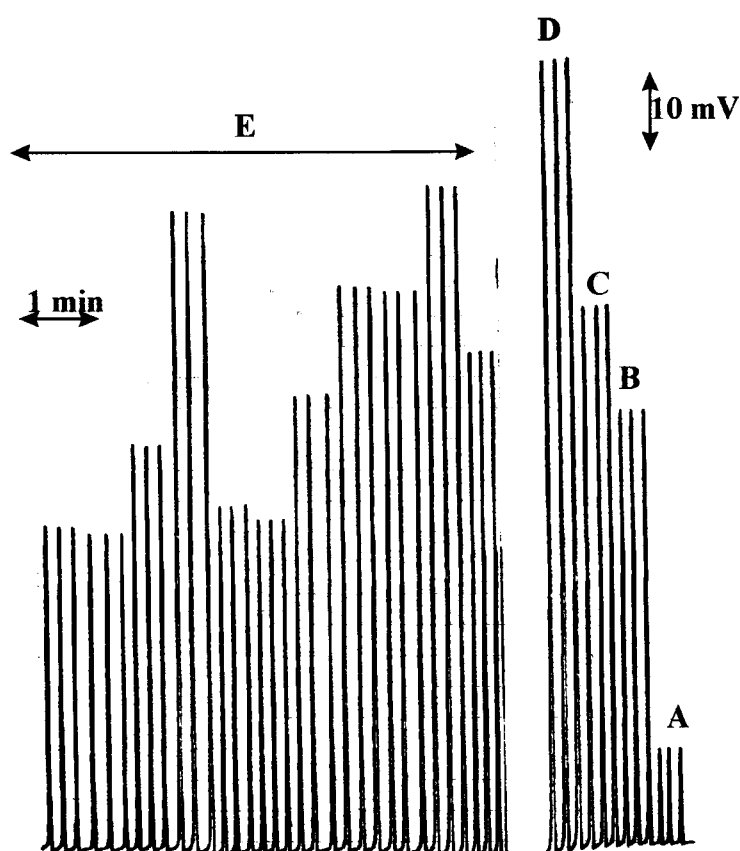


Figura 4 - Registo gráfico obtido com o sistema de detecção potenciométrico de dupla membrana, correspondente à intercalação de um conjunto de soluções padrão e diferentes amostras de água.

*Legenda : Soluções utilizadas A – $5,0 \times 10^{-5}$; B – $5,0 \times 10^{-4}$; C – $1,0 \times 10^{-3}$;
D – $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e E - amostras de águas.*

IV - 4 - Determinação de cloreto em águas

A utilidade analítica das montagens referidas foi avaliada efectuando o doseamento de anião cloreto, em diferentes amostras de água destinada a consumo. Procedeu-se inicialmente a uma calibração dos sistemas FIA injectando-se, em triplicado, diferentes padrões de NaCl, com concentrações que variavam entre $5,0 \times 10^{-5}$ e $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. A avaliação dos sinais analíticos obtidos foi baseada na medição da altura de pico, e sua conversão em valores de potencial. A determinação analítica das amostras foi efectuada por medição das respectivas alturas do sinal analítico e interpolação na curva de calibração correspondente.

Efectuaram-se análises dos teores de cloreto em 20 amostras de águas de consumo, provenientes de poços, minas, abastecimento público e águas minerais engarrafadas. Encontram-se resumidos, nas Tabelas I e II, os resultados referentes às determinações efectuadas sobre as amostras, utilizando os dois tipos de montagens FIA descritas, bem como os resultados decorrentes da aplicação do método de referência [4] sobre as mesmas amostras.

A qualidade dos resultados obtidos pelos sistemas FIA propostos (C_F) foi avaliada relativamente aos resultados obtidos pelo procedimento (C_R), como se representa nas Fig. 5 e 6, estabelecendo-se uma regressão linear, cujos parâmetros e respectivos limites de confiança, para uma probabilidade de 95%, são, para o sistema de detecção potenciométrico diferencial :

$$C_F = -0,876 (\pm 1,80) + 1,02 (\pm 3,0 \times 10^{-2}) C_R \text{ mg L}^{-1} \quad (r = 0,9994)$$

e, para o sistema de detecção de dupla membrana

$$C_F = -0,468 (\pm 1,2) + 1,01 (\pm 2,3 \times 10^{-2}) C_R \text{ mg L}^{-1} \quad (r = 0,9996)$$

Tabela I. Resultados obtidos na determinação de cloretos em águas, pela metodologia FIA com detecção potenciométrica diferencial e pelo método de referência.

<i>Amostra</i>	<i>FIA</i> (mg L ⁻¹) ^a	<i>REF</i> (mg L ⁻¹) ^b	<i>DR</i> %
1	52,4 ±0,20	53,3 ±0,90	-1,7
2	32,7 ±0,50	33,0±0,70	-0,91
3	42,6 ±2,1	43,5 ±2,6	-2,1
4	156 ±3,1	153 ±2,9	2,0
5	6,12 ±0,30	5,90 ±0,10	3,7
6	42,6 ±0,50	43,7 ±0,30	-2,5
7	25,6 ±0,40	25,2 ±0,40	1,6
8	65,1 ±0,50	63,0 ±0,60	3,3
9	58,5 ±0,30	61,2 ±0,40	-4,4
10	11,9 ±0,10	11,4 ±0,10	4,4

^a Valores médios e correspondentes desvios padrão de seis determinações efectuadas sobre a mesma amostra pela metodologia FIA.

^b Valores médios e correspondentes desvios padrão de três determinações efectuadas sobre a mesma amostra pela metodologia de referência [4].

Tabela II. Resultados obtidos na determinação de cloretos em águas, pela metodologia FIA com detecção potenciométrica empregando eléctrodos de dupla membrana e pelo método de referência.

<i>Amostra</i>	<i>FIA</i> (mg L ⁻¹) ^a	<i>REF</i> (mg L ⁻¹) ^b	<i>DR</i> %
1	35,1 ± 0,20	36,2 ± 0,10	-3,0
2	108 ± 3,4	107 ± 1,1	0,93
3	53,1 ± 1,6	54,4 ± 1,2	-2,4
4	54,7 ± 0,90	55,4 ± 0,90	-1,3
5	26,2 ± 0,50	25,6 ± 0,20	2,3
6	11,6 ± 0,20	11,2 ± 0,20	3,6
7	12,8 ± 0,30	12,9 ± 0,20	-0,78
8	92,2 ± 3,3	89,8 ± 1,1	2,7
9	18,5 ± 0,40	18,6 ± 0,10	-0,54
10	10,7 ± 0,40	10,7 ± 0,40	0

^a Valores médios e correspondentes desvios padrão de seis determinações efectuadas sobre a mesma amostra pela metodologia FIA.

^b Valores médios e correspondentes desvios padrão de três determinações efectuadas sobre a mesma amostra pela metodologia de referência [4].

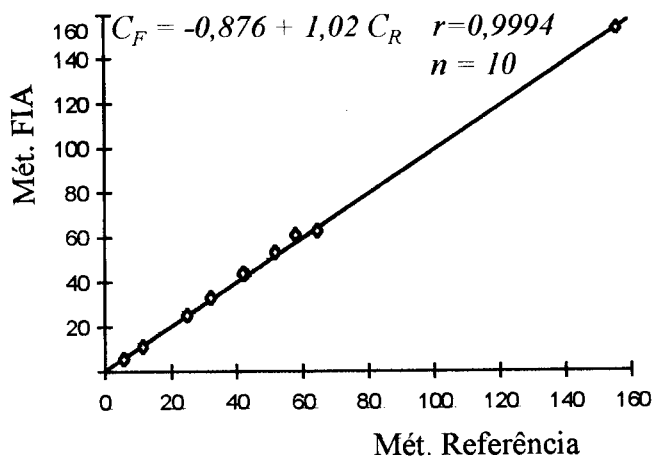


Figura 5 - Avaliação comparativa dos resultados obtidos no doseamento de cloreto em águas pela metodologia FIA, baseada na detecção potenciométrica diferencial, e pelo procedimento de referência.

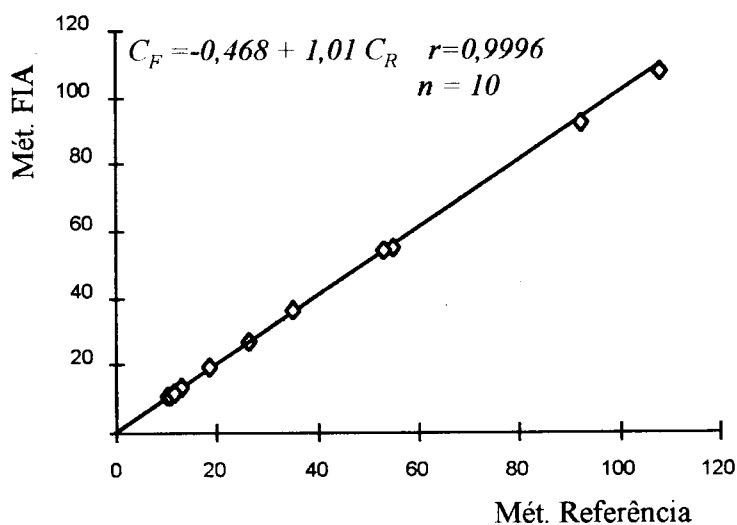


Figura 6 - Avaliação comparativa dos resultados obtidos no doseamento de cloreto em águas, pela metodologia FIA tipo "soma" e pelo procedimento de referência.

A comparação entre os resultados analíticos obtidos, recorrendo aos métodos propostos e ao procedimento de referência, em ambos os casos, não demonstra diferenças significativas, o que revela o bom acordo entre as duas metodologias FIA relativamente ao procedimento de referência.

Foi também efectuado o teste *t* de Student, bilateral e emparelhado, na análise comparada dos resultados para ambos os sistemas, originando valores de $t = 0,062$ e $t = 0,321$, para o sistema de detecção diferencial e para o de dupla membrana, respectivamente. Para um nível de confiança de 95% ($t_{0,025} = 2,228$) [10] confirma-se a hipótese nula, podendo considerar-se estatisticamente equivalentes os resultados fornecidos pelos dois métodos FIA propostos relativamente ao método de referência.

A precisão dos sinais analíticos foi determinada fazendo 12 injeções sucessivas de amostras de água, com concentrações iguais a 65,1 e 35,1 mg L⁻¹, utilizando o sistema diferencial e de soma, respectivamente. Obtiveram-se para as concentrações indicadas, um desvio inferior a 0,6 % para qualquer uma das metodologias propostas. O valor encontrado é significativamente melhor que o obtido em trabalhos anteriores (1,5 e 6,9 %) [8].

Os resultados analíticos obtidos por qualquer das duas metodologias propostas não revelam diferenças significativas entre si, quer em relação à precisão analítica, quer pela comparação com os resultados obtidos pela metodologia usada como referência. No entanto, constata-se que o valor de ordenada na origem obtido no sistema tipo soma aproxima-se um pouco mais do valor ideal, zero, e que o valor de *r* é ligeiramente melhor.

Qualquer dos dois sistemas, diferencial ou soma, poderá ser utilizado na determinação deste parâmetro analítico nas águas, embora os ritmos de amostragem obtidos com o sistema tipo soma sejam significativamente superiores aos obtidos com o sistema diferencial.

IV - 5 - Conclusões

O sistema de detecção tipo soma permitia a obtenção de ritmos de amostragem mais elevados e determinações com maior sensibilidade analítica, relativamente ao sistema diferencial. Por sua vez o sistema diferencial apresentava como grandes vantagens o facto de tornar desnecessário o uso de um eléctrodo de referência convencional, e era mais económico, pelo facto de não ser necessário um dispositivo electrónico para soma de potenciais.

Os sistemas desenvolvidos constituem uma boa alternativa ao método usado como referência [4], não só pelos altos ritmos de amostragem passíveis de serem obtidos, de 120 a 150 amostras h^{-1} no caso do sistema diferencial e 200 a 250 amostras h^{-1} para o sistema incorporando um eléctrodo de duas membranas, relativamente a 15-20 amostras h^{-1} no caso do método de referência. Realça-se igualmente a inocuidade, baixo custo e diminuto consumo dos reagentes utilizados (menos de 0,1 mg NaCl por determinação). Além de disso os métodos propostos são económicos e facilmente automatizáveis.

Das 20 amostras analisadas, cerca de 70 % apresentavam teores de cloreto acima do valor máximo recomendado pela Norma Portuguesa [2] para águas de consumo, o que se poderá explicar, para algumas das águas analisadas, pela proximidade do local de recolha da faixa costeira, bem como da forte poluição nas imediações de alguns poços e minas cujas águas foram utilizadas neste estudo.

Referências Bibliográficas

- [1] J. Rodier, L'Analyse de l'eau., 7th Edition, Dunod Technique, Paris, **1984**.
- [2] Diário da República, I série, nº 176, 1/8/1998, 3676.
- [3] ASTM - American Society for Testing and Materials, part 31, D 512-67 Philadelphia, USA, **1979**.
- [4] Standard methods for the examination of water and wastewater, American Public Health Association, 19th Edition, Washington, USA, **1995**.
- [5] D. Midgley e K. Torrance, Potentiometric Water Analysis, John Wiley and Sons, New York, USA, **1978**.
- [6] K. Cammann, Fresenius Z. Anal. Chem., **1988**, 329, 691.
- [7] R. Stepak, Fresenius Z. Anal. Chem., **1983**, 315, 629.
- [8] D. Brynn Hibbert, P.W. Alexander, S. Rachmawati e S.A. Caruana, Anal. Chem., **1990**, 62, 1015.
- [9] I.M.P.L.V.O. Ferreira, Dissertação de doutoramento, Construção, avaliação e aplicação de detectores potenciométricos tubulares para FIA baseados em membranas cristalinas homogéneas. Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, **1994**.
- [10] D. McCormick e A. Raoch, Measurements, Statistics and Computation, John Wiley and Sons, Chichester (UK), **1987**.

CAPÍTULO V

Desenvolvimento de uma montagem FIA utilizando um detector potenciométrico de Ag_2S de sensibilidade aumentada, para a determinação de cloreto em vinhos.

V - 1 - Introdução

O vinho é o produto da fermentação alcoólica do sumo das uvas e constitui um alimento natural de grande complexidade. A sua composição depende fortemente da composição das uvas, aliada ainda às alterações introduzidas pelas etapas de fermentação, tratamentos enológicos subsequentes e maturação. Consequentemente, o vinho constitui uma matriz quimicamente complexa, que contém mais de 650 constituintes, já identificados [1].

O cloreto é, juntamente com o tartarato, sulfato e o fosfato, um dos principais aniões constituintes do vinho [2]. A sua presença no vinho é essencialmente de origem endógena, tratando-se de um anião sempre existente nas uvas. Algumas operações tecnológicas empregues em Enologia, nomeadamente o uso de colunas de troca aniónica usadas na estabilização do tartarato, o recurso a aditivos contendo cloretos e a sua adição fraudulenta [3], podem também fazer variar o seu teor no produto final.

O intervalo de concentrações em que o cloreto existe no vinho é muito variável, sendo fortemente dependente da constituição dos solos, em especial da sua proximidade da zona marítima. Este pode ultrapassar 1 g L^{-1} , expresso em cloreto de sódio, nos vinhos originários de zonas costeiras, embora na maior parte dos casos seja inferior a 50 mg L^{-1} [4]. A Office International de la Vigne e du Vin (OIV) [5] não estabelece, portanto, qualquer limite legal para este parâmetro, precisamente devido à diversidade de origens que os vinhos podem ter e à inocuidade deste analito. Contudo a determinação do seu teor é aconselhada para caracterização da matriz em estudo.

O método de referência para a determinação de cloreto no vinho, proposto pela OIV [5], consiste numa titulação potenciométrica dos vinhos acidificados, empregando como titulante uma solução de nitrato de prata e como detector um eléctrodo de AgCl / Ag .

A necessidade de automatizar as metodologias de rotina, com o objectivo de diminuir a manipulação das amostras, bem como a exposição do operador quer em relação a elas quer a reagentes nocivos e tóxicos utilizados, aumentar a frequência de amostragem e reduzir os custos de análise, tem conduzido ao aparecimento de diversos

procedimentos alternativos aos métodos de referência convencionais, destacando-se a análise por injeção em fluxo (FIA).

Encontram-se descritas várias metodologias que recorrem a sistemas FIA para a determinação do anião cloreto no vinho. Martinez-Jimenez sugere um processo indirecto de determinação de cloreto e iodeto, por espectrofotometria de absorção atómica [6]. Este sistema baseava-se num processo de precipitação em fluxo proporcionando, contudo, um baixo ritmo de amostragem (10 amostras h^{-1}). A separação analítica de diferentes elementos presentes nos vinhos, nomeadamente, Cl^- , CO_3^{2-} , NO_3^- , PO_4^{3-} e aniões orgânicos, por HPLC, e posterior determinação usando a espectrometria de UV/VIS e a condutimetria, foi igualmente outro princípio seguido para determinação de anião cloreto em vinhos [7].

A potenciometria, dada a sua grande versatilidade, facilidade de operação e baixo custo [8], pode ser vista como uma alternativa válida aos métodos anteriormente referidos. Os processos descritos que recorrem à detecção potenciométrica para a determinação do cloreto em vinhos têm como base titulações potenciométricas [9-11]. É descrito um processo automático de titulação diferencial a corrente zero, usando dois eléctrodos de fio de prata electro-oxidados numa solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ [9]. Lima e colaboradores descrevem a utilização de um eléctrodo tubular de prata, de 2ª espécie, de $\text{Ag}_2\text{S}/\text{Ag}$ [10], enquanto Ferreira e colaboradores descrevem também a utilização de uma unidade tubular, mas de membrana cristalina homogénea, sensível à prata [11].

Na determinação potenciométrica de cloreto em vinhos, os eléctrodos de 2ª espécie, apesar da facilidade de construção, caracterizam-se pelo facto de o seu potencial ser fortemente dependente dos constituintes da matriz, estando portanto sujeitos a interferências, sendo o seu uso normalmente limitado a sistemas onde exista necessariamente uma fase preliminar de separação da mesma. O trabalho descrito com este tipo de detector [10], permitia a determinação de cloreto num intervalo de concentração de 5 a 500 mg L^{-1} , com um ritmo de amostragem de 60 a 120 amostras h^{-1} . O uso de eléctrodos de membrana cristalina obviavam as dificuldades enunciadas, provando ser uma alternativa mais adequada, principalmente em matrizes complexas, pela selectividade e pela velocidade de resposta elevadas que apresenta, proporcionando sistemas com uma alta frequência de amostragem [11].

Foi nesse sentido que se desenvolveu um sistema baseado na análise por injeção em fluxo, incorporando detectores tubulares de membrana cristalina homogénea, para ser

utilizado na análise de vinhos. Uma vez que a diminuição do erro da determinação analítica pode ser conseguida, por diminuição do nível de ruído da determinação ou aumento da sensibilidade da medição potenciométrica, que condicionam a precisão dos resultados, optou-se, na montagem FIA estabelecida, por esta última estratégia. Assim, com base nas boas características operacionais demonstradas pelos sistemas de detecção potenciométricos de sensibilidade aumentada, cujo desenvolvimento foi descrito no Capítulo III, utilizou-se, neste caso, um eléctrodo tubular incorporando duas membranas sensoras sensíveis à prata. No caso particular dos detectores potenciométricos de duas membranas a sua sensibilidade acrescida, proporcional ao declive de cada membrana, mostra-se particularmente atraente pela possibilidade que oferece de se poder associar a diferentes técnicas potenciométricas, de maneira em tudo semelhante às realizadas com unidades convencionais. Em titulações potenciométricas, um aumento de sensibilidade traduzir-se-ia então numa melhor definição da variação de potencial na proximidade do ponto de equivalência, sendo o uso de detectores potenciométricos de dupla membrana cristalina de sensibilidade acrescida uma boa ferramenta analítica.

As titulações em FIA, também denominadas de “pseudo-titulações” [12], dado que o que se obtém é uma equivalência de concentrações de titulante e titulado e não de quantidades / número de moles equivalentes, como acontece nas volumetrias clássicas, foram propostas por Ruzicka [13], sendo realizadas em sistemas de grande dispersão. Os sistemas FIA permitem proporcionar um gradiente de concentração, gerado pela reprodutibilidade do tempo e pela dispersão controlada da amostra [14].

Assim, neste trabalho descreve-se o desenvolvimento e aplicação de uma montagem FIA, de elevada dispersão, baseada na detecção potenciométrica, utilizando um sistema de detecção de sensibilidade aumentada constituído por um eléctrodo tubular de duas membranas, sensíveis a Ag (I), associado a um eléctrodo de referência convencional. A análise de cloretos em vinhos era efectuada após a reacção da solução transportadora de prata com o cloreto, presente nas amostras de vinho.

V - 2 - Parte experimental

2.1 Aparelhagem e eléctrodos

Na preparação dos eléctrodos tubulares, para serem usados em FIA, seguiu-se a metodologia descrita no Capítulo II. O detector utilizado consistia num eléctrodo selectivo de ião, de membrana dupla, em que o sensor era constituído por Ag_2S , cujas características operacionais se encontram descritas no Capítulo III. As unidades sensoras, depois de construídas, eram condicionadas em contacto com uma solução de prata (I) com concentração igual a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Sempre que necessário, os eléctrodos eram polidos com um fio de algodão humedecido, revestido de óxido de alumínio ou papel de polimento de pó de óxido de alumínio.

O sistema de detecção era constituído pelo eléctrodo de configuração tubular, incorporado num suporte de perspex descrito no Capítulo II, e pelo eléctrodo de referência. Este último, de AgCl/Ag (ORION 90-00-02), de dupla junção, continha uma solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, como solução de referência externa.

A montagem FIA utilizada na determinação do anião cloreto em vinhos, foi estabelecida usando as unidades modulares descritas no Capítulo II. A câmara de mistura usada consistia num bloco de perspex com uma cavidade cujo diâmetro interno de base era igual a 10 mm, com uma altura regulável (descrita no Cap. II). No interior desta cavidade era introduzida uma barra magnética, com um comprimento de cerca de 7 mm. Esta câmara de mistura era colocada sobre um agitador magnético, utilizado para manter e regular a agitação da solução.

A determinação do volume interno da câmara de mistura foi feita enchendo-a com uma solução de HCl de concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Depois de se esvaziar o seu conteúdo para um matraz e lavar o seu interior várias vezes com água bidesionizada, recolheram-se as águas de lavagem no mesmo recipiente, titulando-as em seguida com solução de NaOH , de concentração conhecida. O valor do volume interno foi fixado em $290 \mu\text{L}$.

O método de referência para a determinação de cloreto em vinhos foi efectuado no sistema titulador descrito no Capítulo II. Utilizou-se um eléctrodo indicador de

membrana cristalina homogênea sensível ao catião prata, de configuração convencional [15], associado a um eléctrodo de referência de dupla junção, da marca Orion, modelo 90-00-02.

2.2 Reagentes e soluções

As soluções padrão de cloreto foram preparadas por diluição rigorosa da solução padrão de NaCl, de concentração igual a 0,10 M, obtida por pesagem rigorosa de cloreto de sódio previamente seco na estufa, até peso constante.

A solução de nitrato de prata (I) foi preparada a partir do respectivo sólido e padronizada com a solução de cloreto de sódio, por titulação potenciométrica convencional.

Na realização dos ensaios de referência utilizou-se, como titulante, uma solução de Ag (I) obtida a partir de um padrão comercial (Titrisol, Merck, ref. 9990) de concentração 0,10000 mol L⁻¹.

2.3 Preparação das amostras

As amostras de vinho eram intercaladas no sistema FIA sem serem sujeitas a qualquer tratamento prévio.

Para a realização do método de referência as amostras eram acidificadas com HNO₃ e seguidamente tituladas. Para tal media-se 5,0 mL de amostra, a qual era acidificada com 0,25 mL de HNO₃ de concentração 0,5 mol L⁻¹, para um vaso contendo uma barra magnética, e colocado sobre um agitador magnético. Após a introdução do par de eléctrodos, indicador e de referência, procedia-se à titulação do cloreto presente nas amostras utilizando-se o titulador automático descrito anteriormente.

2.4 Método analítico de referência

Para avaliar a qualidade dos resultados obtidos pelo sistema FIA proposto, fez-se a determinação do teor de cloreto nas amostras pelo método de referência. O método de referência preconizado pela OIV [5] para o doseamento de cloreto em vinhos, é um método potenciométrico que recorre a uma titulação potenciométrica, com catião prata (I) em meio ácido, utilizando como eléctrodo indicador um eléctrodo sensível a prata.

O valor da concentração de cloretos foi obtido a partir da avaliação do ponto de inflexão da curva de titulação, por cálculo do valor da primeira e segunda derivadas.

2.5 Montagem FIA utilizada

Foi utilizada uma montagem FIA monocal de grande dispersão, esquematizada na Fig.1, no qual as amostras e padrões eram inseridos num canal transportador, por intermédio de uma válvula de seis portas. O transportador era constituído por uma solução de nitrato de prata de concentração determinada, sendo posteriormente encaminhado para uma câmara de mistura. Nesta, ocorria a dispersão do segmento de amostra no transportador, conjuntamente com a precipitação do anião cloreto por reacção com o catião Ag (I). O perfil de concentração criado pelo decréscimo de Ag (I) na solução transportadora era monitorizado por um detector potenciométrico tubular, de duas membranas, sensível a Ag (I).

Por forma a obter-se o máximo de sensibilidade analítica, de reprodutibilidade e o mais curto tempo de análise possível, procedeu-se à optimização do sistema FIA estabelecido, estudando-se os parâmetros físicos e químicos que mais influenciavam a resposta do sistema de detecção. Assim, efectuaram-se calibrações sucessivas, de modo a ser obtida uma relação linear entre a largura de pico e o logaritmo da concentração de cloreto, para uma zona de concentrações que permitisse abranger os teores de cloreto, normalmente presentes nos vinhos.

Para a optimização do sistema FIA foi estudada a influência da concentração da solução titulante, do volume de injeção, da velocidade de fluxo, do volume interno da câmara de mistura e do comprimento do reactor desta ao detector, na largura do sinal analítico. A avaliação da influência de cada um dos parâmetros referidos era efectuada tendo em conta o declive da recta de calibração e a zona de resposta linear alcançados, a reprodutibilidade dos ensaios, a largura do sinal transiente e o ritmo de amostragem proporcionados pelo sistema.

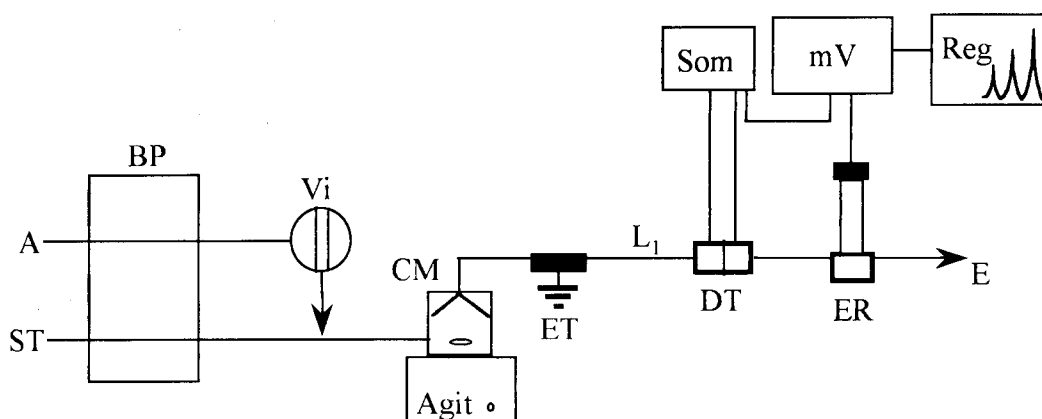


Figura 1 - Montagem FIA para a determinação de cloreto em vinhos.

Legenda: BP - bomba peristáltica; A - amostra (50 μ L); ST - solução transportadora, $\text{AgNO}_3 + \text{KNO}_3 + \text{HNO}_3$ (8,2 ml min^{-1}); Vi - válvula de injeção; CM - câmara de mistura; Agit - agitador magnético; L_1 - reactor (30 cm); ET - electrodo terra; DT - detector potenciométrico tubular sensível a prata; ER - electrodo de referência; Som - somador; mV - decimilivoltímetro; Reg - registador; E - esgoto.

V - 3 - Resultados e sua discussão

Tendo em conta as boas características operacionais dos sistemas de detecção de dupla membrana, sensíveis a catião prata (I), referidas no Capítulo III, nomeadamente um largo intervalo de resposta linear (3×10^{-5} a 1×10^{-1} mol L⁻¹), um declive de 116,1 mV década⁻¹, e uma reprodutibilidade analítica de cerca de $\pm 0,6$ mV, foi estabelecido e optimizado um sistema de fluxo que permitisse efectuar análises de diferentes tipos de vinho, cujos teores de anião cloreto variassem entre 10 e 800 mg L⁻¹, por titulação potenciométrica.

Os processos de titulação em FIA baseiam-se na intercalação do analito num canal transportador titulante, procedendo-se à monitorização do perfil de concentração (do reagente ou do produto). Este perfil, criado numa câmara de mistura, permite estabelecer uma relação linear entre o intervalo de tempo (largura de pico) e o logaritmo da concentração do analito. Nestes sistemas de alta dispersão é necessário conhecer o perfil de concentração do segmento da amostra quando atravessa o detector. Para tal é necessário utilizar reactores que proporcionem uma distribuição exponencial de concentrações no segmento de amostra, permitindo estabelecer uma equação que relacione a largura de pico com a concentração das soluções injectadas [13, 14].

Em termos de relação entre reagente, amostra e produto da reacção, para cada ponto da curva ascendente do sinal analítico corresponde-lhe um ponto idêntico, na zona descendente do pico. A análise destes pontos é tão reprodutível quanto a determinação do máximo do sinal analítico, e a criação deste gradiente de concentração da zona de amostra injectada, altamente controlável e reprodutível, é a chave principal para a realização de titulações em fluxo.

O parâmetro que mais influenciava a qualidade dos resultados analíticos era a concentração da solução titulante a usar. A fixação de um valor de concentração de ião primário, Ag (I), na solução transportadora, condicionava o valor da diferença de potencial a partir do qual o detector tubular efectuava as medidas, e estava limitado aos níveis de concentração de cloreto a determinar nas diferentes amostras de vinho. A esta solução titulante era adicionado KNO₃, de concentração 0,1 mol L⁻¹, usado para ajustar a

força iónica e para aumentar a condutividade entre os eléctrodos indicador e de referência. Era igualmente adicionado HNO_3 , com concentração igual a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, cuja função era prevenir a precipitação de óxidos e hidróxidos de prata, que ocorrem normalmente a pH alcalino. A concentração da solução titulante de Ag (I) foi estudada para os valores de $1,0 \times 10^{-5}$, $1,0 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (Fig. 2). Uma concentração de Ag (I) igual ou superior a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ condicionava as medidas a efectuar nas amostras em que a concentração de cloreto era baixa, resultando por isso em sinais analíticos praticamente indiferenciáveis para as amostras com teores de cloreto inferiores a $100,0 \text{ mg L}^{-1}$. Com o recurso a soluções titulantes de concentração inferior a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, para além de se observar uma maior instabilidade dos potenciais de linha de base, também se registava um retorno bastante lento do sinal analítico à linha de base e, consequentemente, um baixo ritmo de amostragem (Fig. 2 e 3). O valor de concentração de Ag (I) de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ permitia a obtenção de curvas de calibração com menor declive que o anterior, mas com uma relação ritmo de amostragem / sensibilidade muito mais favorável (Fig. 2 e 3). A optimização deste parâmetro era pois limitada quer pela gama de concentração de cloreto a determinar, quer pelo ritmo de amostragem proporcionado pelo sistema. A solução titulante de Ag (I) escolhida, de concentração igual a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, garantia, além de uma resposta linear no intervalo de concentrações de $10,0$ a $800,0 \text{ mg L}^{-1}$, uma boa reprodutibilidade dos resultados analíticos com um rápido retorno à linha de base (Fig. 3).

Tendo-se fixado a concentração da solução de Ag (I) no valor de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, efectuou-se o estudo da influência de diferentes volumes de injeção e caudais na largura e reprodutibilidade do sinal analítico. Foram estudados volumes de injeção de 25 , 50 , 75 e $100 \mu\text{L}$, para diferentes valores de caudais no intervalo de $4,5$ a $8,2 \text{ ml min}^{-1}$, como se representa nas Fig. 3, 4 e 5.

Valores de volume de injeção inferiores a $50 \mu\text{L}$ originavam curvas de calibração com baixa reprodutibilidade analítica enquanto que valores superiores a $50 \mu\text{L}$ conduziam a uma acentuada diminuição do ritmo de amostragem (Fig. 5) com desnecessário consumo de amostra.

Para um valor de caudal de $4,5 \text{ ml min}^{-1}$ (Fig. 3), qualquer volume de injeção estudado praticamente não conduzia a variações da sensibilidade analítica do sistema, proporcionando ritmos de amostragem baixos. Os ensaios realizados a uma velocidade

de fluxo de $6,5 \text{ ml min}^{-1}$ (Fig. 4) originaram curvas de calibração com menor valor de declive que os anteriores, enquanto que os efectuados com um caudal de $8,2 \text{ ml min}^{-1}$ apresentavam um ligeiro decréscimo de sensibilidade, mas um ganho acentuado no ritmo de amostragem (Fig. 4 e 5). Para este caudal os melhores valores de sensibilidade ocorriam para o volume de injeção de $50 \text{ }\mu\text{L}$. Como se previa o ritmo de amostragem aumentava com o valor do caudal e variava inversamente com o valor do volume de amostra injectado. Optou-se, portanto, pelo valor de $8,2 \text{ ml min}^{-1}$ e por um volume de injeção de $50 \text{ }\mu\text{L}$.

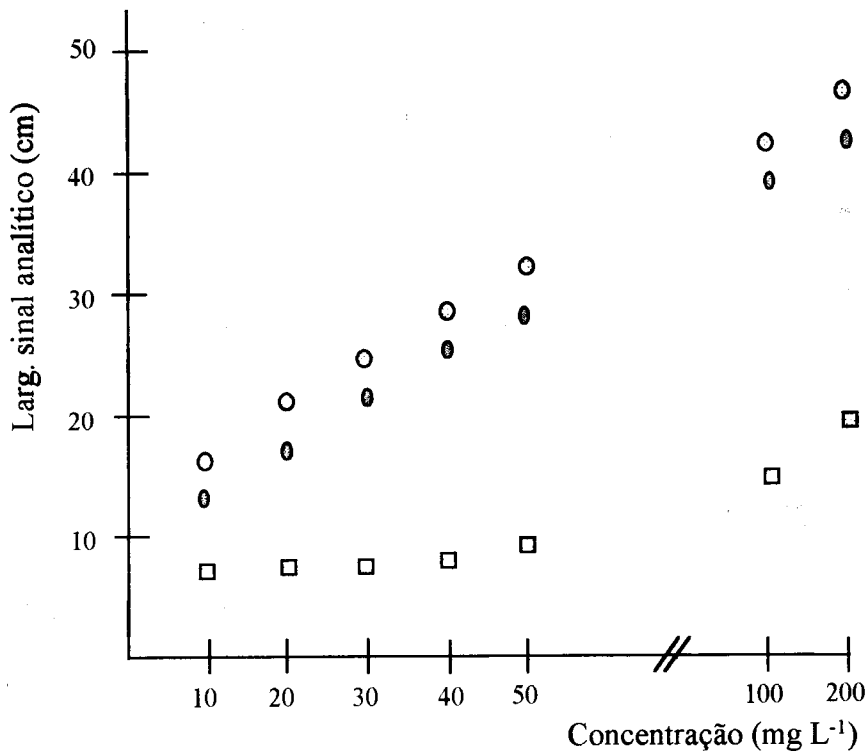


Figura 2 - Variação do sinal analítico com a concentração da solução de cloreto injectada, para diferentes concentrações da solução titulante de Ag (I).

Legenda: ○ - 1×10^{-5} ; ● - 1×10^{-4} e □ - $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

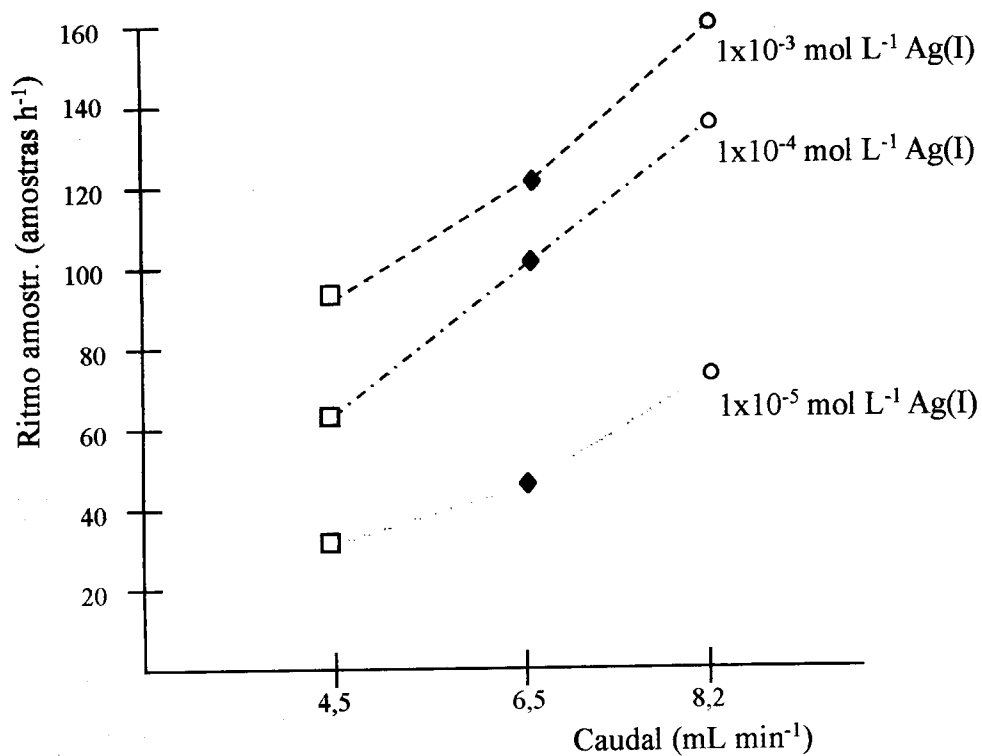


Figura 3 - Variação do ritmo de amostragem com diferentes valores de caudal para as solução de Ag (I) de concentração de 1×10^{-5} , 1×10^{-4} e $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

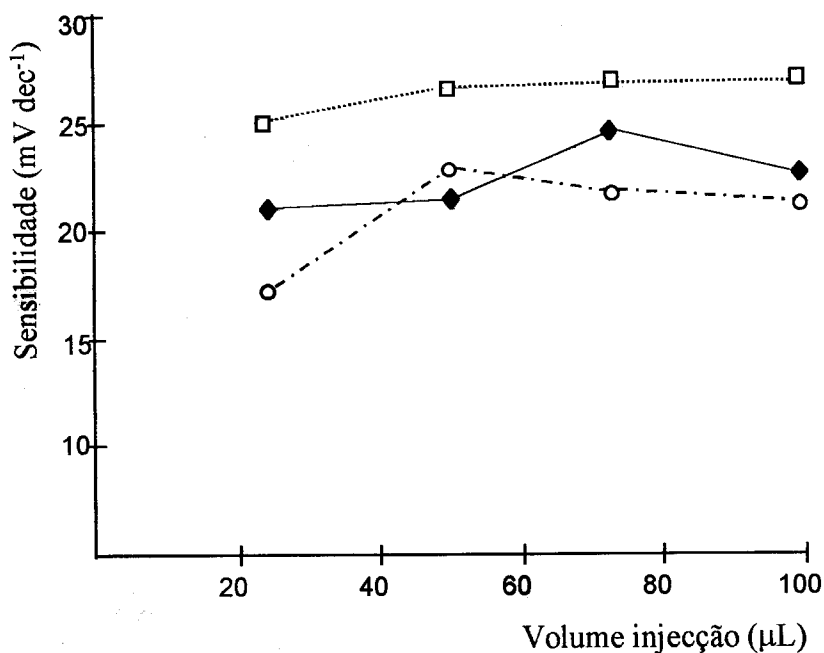


Figura 4 - Estudo da variação da sensibilidade analítica em função do caudal (□- 4,5; ◆ - 6,5 e ○ - 8,2 mL min⁻¹) quando injectados diferentes volumes de solução (25, 50, 75 e 100 μL).

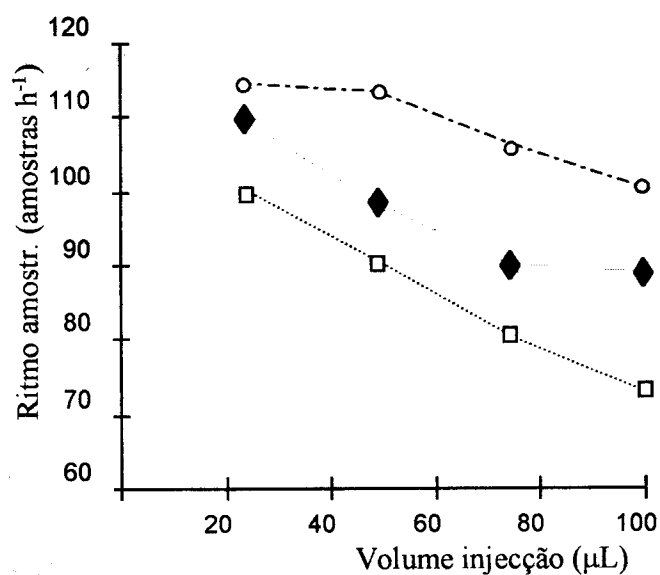


Figura 5 - Estudo da variação do ritmo de amostragem em função do caudal (□- 4,5; ◆ - 6,5 e ○ - 8,2 mL min⁻¹) para diferentes volumes de injeção (25, 50, 75 e 100 μL).

Em “pseudotitulações FIA” [12], a viscosidade das soluções tem uma grande influência no formato do sinal analítico obtido, nomeadamente na sua largura [16]. No caso particular dos vinhos, torna-se essencial a eliminação desse efeito, tendo em conta o conteúdo variável em açúcares e consequentemente a grande diversidade de teores alcoólicos dos diferentes tipos de vinhos (branco, tinto e licoroso). Estão descritos estudos comparativos resultantes da utilização de diferentes configurações de reactor, com o objectivo de actuarem como sistemas de gradiente, por forma a tentar-se eliminar a influência dos diferentes conteúdos em álcool na largura do sinal analítico [10]. São referidos, como sistemas reactores, um tubo de teflon esticado, enrolado ou preenchido com esferas de vidro (SBSR - single bead string reactor). Foi, no entanto, demonstrado que o efeito de matriz não era completamente eliminado por nenhum deles, mas sim pela utilização de uma câmara de mistura com agitação magnética [10]. Nesta, a solução sofre uma agitação mecânica, ocorrendo homogeneização numa direcção perpendicular ao fluxo, o que conduz a melhores resultados que os que decorrem do uso de um tubo enrolado ou um sistema SBSR de igual volume, dando origem a sinais analíticos com formato gaussiano e a curvas de calibração lineares (intervalo de tempo vs. log concentração). A utilização deste tipo de dispositivo é vantajosa para a aplicação a diferentes tipos de vinho, com distintos teores em álcool. Esta homogeneização torna-se particularmente importante quando se utilizam eléctrodos tubulares porque, neste tipo de detectores, o sinal decorre do processo electroquímico, termodinamicamente reversível, que ocorre na superfície da membrana.

O volume interno da câmara de mistura pode também influenciar o grau de dispersão da amostra. Para avaliar a sua influência testaram-se diferentes volumes internos da câmara de mistura, com os valores de 290, 335 e 535 μL . Concluiu-se que o seu valor pouca influência tinha relativamente ao formato do sinal analítico obtido. Dado que o aumento do volume era acompanhado por um ligeiro decréscimo no ritmo de amostragem, optou-se pelo menor volume interno possível (290 μL), valor este que não comprometia o movimento do agitador magnético no seu interior.

A distância da câmara de mistura ao detector foi também estudada para o intervalo de valores de 30 a 100 cm. Verificou-se que comprimentos superiores a 50 cm

conduziam a um decréscimo da sensibilidade analítica (mV decada^{-1}) com abaixamento do ritmo de amostragem. Optou-se, por isso, pelo menor valor possível, cerca de 30 cm, que correspondia ao comprimento mínimo imposto pelo estabelecimento das ligações entre os diferentes componentes do sistema FIA. Este comprimento favorecia um rápido retorno do sinal analítico à linha de base.

A altura de pico, a que é efectuada a medida da sua largura, condicionava também a sensibilidade da medição, sendo esta maior para valores de altura o mais próximos possível da linha de base. Foi fixada uma altura correspondente a 10 mV acima do valor correspondente à linha de base, valor máximo que permitia abranger toda a gama de concentrações das soluções padrão empregues, sem que a leitura fosse afectada por oscilações provocadas pelo ruído eléctrico da linha de base.

A eliminação de interferências eléctricas no sistema foi conseguida pela intercalação, na montagem FIA, de um contacto de terra que se situava entre a câmara de mistura e o detector (Fig. 1).

O sistema FIA com as características seleccionadas permitia a determinação de anião cloreto num intervalo de concentrações alargado, entre 10,0 e 800,0 mg L^{-1} , originando registos analíticos semelhantes ao que se apresentam na Fig. 6.

A repetitibilidade dos sinais analíticos foi determinada fazendo injeções repetidas de soluções padrão de cloreto, com concentrações iguais a 30,0 e 500,0 mg L^{-1} , tendo-se obtido valores de desvio padrão relativo com variações inferiores a 1%.

A estabilidade do sistema FIA ao longo de um dia de trabalho foi também avaliada, traçando várias curvas de calibração, e procedendo-se ao cálculo da variação do potencial para diferentes níveis de concentração na zona de resposta linear do sistema de detecção. Esta não apresentava desvios de potencial superiores a 1 mV ao longo de um dia de trabalho, o que evitava fazer calibrações repetidas por largos períodos de tempo.

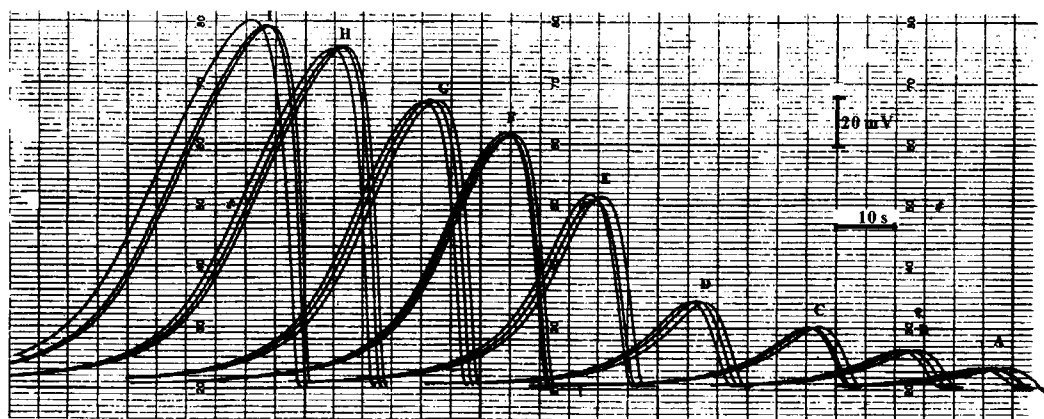


Figura 6 - Registo de uma calibração obtida com o sistema FIA proposto.

Legenda: Soluções padrão de cloreto intercaladas: A - 10; B - 20; C - 30; D - 40; E - 50; F - 100; G - 200; H - 500; I - 600 mg L⁻¹.

Quando havia uma diminuição na velocidade de resposta ou uma variação no limite de detecção registado pelo sistema de detecção, retirava-se o eléctrodo da montagem e procedia-se ao seu polimento e condicionamento. Este procedimento era efectuado cerca de uma vez por semana. Apesar de se tratar de um sistema de precipitação em linha, dado que a concentração de titulante era muito baixa ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) nunca ocorreram problemas de obstrução na tubagem da montagem FIA e/ou no interior da câmara de mistura.

O ritmo de amostragem, dependente do intervalo de concentrações onde se localizam as determinações, oscilava entre 90 a 200 amostras h⁻¹, valor este consideravelmente superior ao indicado por outros autores [10], que utilizavam igualmente um sistema de fluxo para a determinação de cloreto em vinhos.

V - 4 - Determinação de cloreto em vinhos

Com o sistema proposto conseguiam-se características adequadas à análise de anião cloreto, por titulação em linha, pelo que se efectuou a sua validação por aplicação a amostras reais de vinhos.

Após a optimização do sistema de fluxo descrito anteriormente, procedia-se à sua calibração, injectando, em triplicado, diferentes padrões de cloreto de sódio com concentrações que variavam entre 10,0 e 800,0 mg L⁻¹ (expresso em cloreto).

A aplicabilidade do sistema FIA descrito foi testada efectuando-se análises dos teores de cloreto em vinhos portugueses, nomeadamente 12 amostras de vinhos brancos, tintos e licorosos (Porto e Madeira). Na Tabela I, encontram-se resumidos, os resultados referentes às determinações efectuadas sobre as mesmas amostras, utilizando quer a metodologia FIA proposta quer a de referência.

A qualidade dos resultados obtidos pelo sistema FIA estabelecido (C_F) foi avaliada estabelecendo-se uma relação, cujos parâmetros da regressão linear, bem como os respectivos limites de confiança para uma probabilidade de 95%, são:

$$C_F = 0,841 (\pm 1,6) + 0,997 (\pm 1,1 \times 10^{-2}) C_R \text{ mg L}^{-1} \quad (r = 0,9999)$$

o que revela o bom acordo entre as duas metodologias (Fig. 7).

Foi também efectuado o teste t de Student, bilateral, emparelhado, na análise comparada dos resultados originando um valor de $t = 1,086$. Para um nível de confiança de 95% ($t_{0,025} = 2,201$) [17] confirma-se a hipótese nula, podendo considerar-se não existirem diferenças estatísticas significativas entre os resultados fornecidos pelos dois métodos.

Da análise dos valores acima citados, concluiu-se não existirem desvios significativos, em termos de exactidão, dos resultados fornecidos pelos dois métodos.

Para avaliar a precisão dos resultados obtidos no ensaio de amostras reais, com a montagem desenvolvida, injectou-se repetidas vezes ($n = 12$), amostras de vinhos com a concentração igual a 80,8, 115,0 e 259,5 mg L^{-1} . O desvio padrão relativo encontrado foi inferior a 0,6 % (Fig. 8).

Os valores de exactidão e precisão obtidos com o sistema implementado concorrem favoravelmente com os referidos em trabalhos anteriores [9 - 11], que referem a obtenção de um desvio relativo máximo de 6% [11]. Relativamente ao sistema de fluxo que empregava um eléctrodo de 2º espécie [10], conseguiu-se obter, além de uma melhor precisão analítica (referida como inferior a 2,3 %), uma frequência de amostragem significativamente mais elevada.

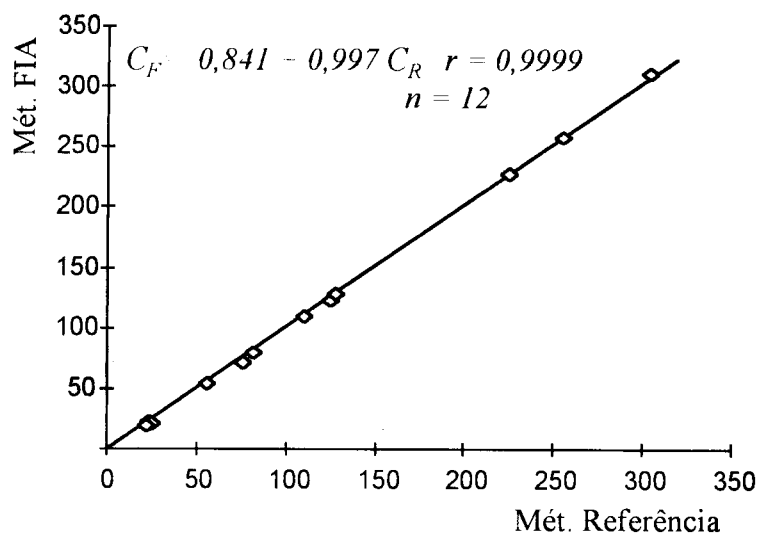


Figura 7 - Avaliação comparativa dos resultados obtidos no doseamento de cloreto em vinhos pela metodologia FIA e pelo procedimento de referência.

Tabela I. Resultados obtidos na determinação de cloretos em vinhos pela metodologia proposta e pelo método de referência.

<i>Amostra</i>	<i>FIA</i> (mg L ⁻¹)	<i>REF</i> (mg L ⁻¹)	<i>DR</i> (%)
1 [#]	29,0 ±1,1	30,5 ±1,0	-4,9
2 [#]	308 ±4,9	310 ±4,5	-0,64
3 [#]	29,7 ±0,80	29,2 ±1,1	1,7
4 [#]	26,8 ±1,5	26,7 ±1,6	0,37
5 ^{##}	115 ±1,6	114 ±1,1	0,88
6 ^{##}	86,6 ±2,4	84,9 ±2,1	2,0
7 ^{###}	80,8 ±1,3	77,4 ±1,1	4,4
8 ^{###}	61,2 ±2,1	60,9 ±2,2	0,49
9 ^{##}	129 ±3,1	128 ±3,1	0,78
10 ^{###}	230 ±2,2	229 ±2,3	0,44
11 ^{###}	132 ±1,1	133 ±1,1	-0,75
12 ^{###}	259 ±2,7	258 ±2,9	0,39

^a Valores médios e correspondentes desvios padrão de cinco determinações efectuadas sobre a mesma amostra para a metodologia FIA e de referência.

Tipo de vinho : [#] Vinho do Porto e Madeira; ^{##} vinhos tintos; ^{###} vinhos brancos.

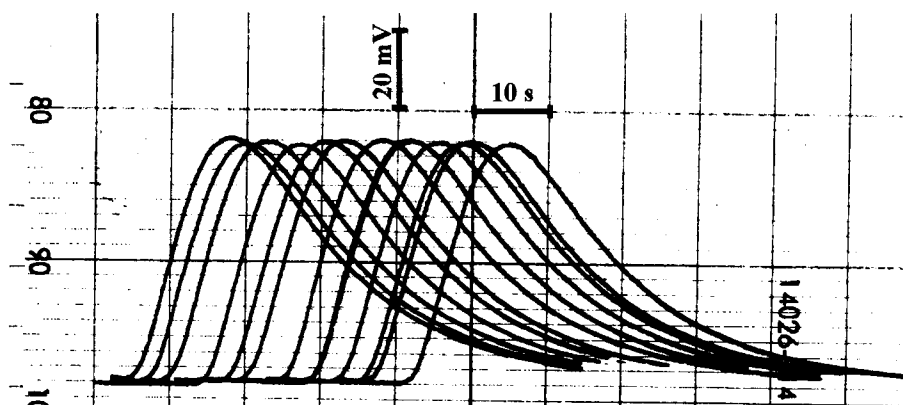


Figura 8 - Diagrama correspondente a um ensaio de repetitibilidade usando uma amostra de vinho de concentração 100 mg L^{-1} , expressa em anião cloreto.

V - 5 - Conclusões

As boas características operacionais do sistema de detecção potenciométrico usado, particularmente a boa sensibilidade e reprodutibilidade analíticas, permitiram a construção e desenvolvimento de um sistema FIA simples e mecanicamente estável que foi aplicado com sucesso à análise de vinhos, sem necessidade de qualquer etapa de preparação da amostra.

O sistema desenvolvido constitui uma boa alternativa ao método de referência [5], sendo mais simples e rápido, e aos métodos anteriormente descritos [6, 7, 9-11], não só pelos altos ritmos de amostragem que proporciona, como também pelo baixo consumo de amostras e reagentes. O sistema implementado proporciona um reduzido consumo de reagentes, com um gasto de cerca de $90 \mu\text{g}$ de solução titulante de prata por determinação.

O sistema estabelecido exige pouca manutenção, sendo facilmente aplicado a diferentes matrizes em ensaios de controlo de rotina deste parâmetro analítico.

Referências Bibliográficas

- [1] B. Rankine, Making good wine, A manual of winemaking practice for Australia and New Zealand, Pan Macmillan Publishers, Australia, **1989**.
- [2] C.S. Ough, Winemaking Basics, Food Products Press, The Haword Press Inc., N.Y, **1992**.
- [3] C.S. Ough e M.A. Amerine, Methods for analysis of must and wines, 2nd Edition, John Wiley and Sons, New York, **1987**.
- [4] J. Ribereau-Gayon, E. Peynaud, P. Sudraud e P. Ribereau-Gayon, Sciences et Techniques du Vin, Tome 1, Chapitre 12, Dunod, Bordas, Paris, **1976**.
- [5] OIV. Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse des Vins, 5th Ed., Office international de la vigne et du vin, 196, Paris, **1978**.
- [6] P. Martinez-Jimenez, M. Gallego e M. Valcárcel, Anal. Chim. Acta, **1987**, 193, 127.
- [7] M.C. Gennaro e P.L. Bertolo, J. Chromatogr., **1989**, 472, 433.
- [8] K. Cammann, Fresenius Z. Anal. Chem., **1988**, 329, 691.
- [9] A.A. Ramirez e C.J. Linares, Talanta, **1992**, 39, 1121.
- [10] J.L.F.C. Lima e A.O.S.S. Rangel, J. Food Compos. Anal., **1989**, 2, 356.
- [11] I.M.P.L.V.O. Ferreira, J.L.F.C. Lima e A.O.S.S. Rangel, Food Chem., **1994**, 50, 423.
- [12] K.K. Stewart, Anal. Chem., **1983**, 55, 931A.
- [13] J. Ruzicka, E.H. Hansen e H. Mosbaek, Anal Chim. Acta, **1977**, 92, 235.
- [14] B. Karlberg e G.E. Pacey, Flow injection analysis - A Practical Guide, Elsevier Science Publisher B.V, Amsterdam, **1989**.

- [15] I.M.P.L.V.O. Ferreira, Dissertação de doutoramento, Construção, avaliação e aplicação de detectores potenciométricos tubulares para FIA baseados em membranas cristalinas homogéneas. Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, **1994**.
- [16] J.S. Rhee e P.K. Dasgupta, *Mikrochim. Acta*, **1985**, 3, 49.
- [17] D. McCormick e A. Roach, *Measurement, statistics and computation*, John Wiley and Sons, Chichester (UK), **1987**.

CAPÍTULO VI

Desenvolvimento de uma montagem FIA utilizando um detector potenciométrico de duas membranas, sensível a iodeto, para a determinação de SO_2 em vinhos

VI - 1 - Introdução

A presença de dióxido de enxofre (SO_2) é essencial nos vinhos dado que tem uma forte acção inibitória sobre o desenvolvimento das leveduras e bactérias lácticas, actua como anti-oxidante, destrói as oxidases e intervém como melhorador gustativo, devido à sua reacção com o acetaldeído [1].

O SO_2 pode ser encontrado nos vinhos sob a forma livre e combinada, sendo o equilíbrio entre ambas fortemente dependente da temperatura. A fracção livre (H_2SO_3 , HSO_3^- e SO_3^{2-}) é directamente doseável no vinho acidificado, por reacção com uma solução de iodo. Da fracção combinada, parte encontra-se numa forma estável, por ligação com o acetaldeído, enquanto que a restante se encontra num estado pouco estável, constituindo uma reserva, que compensa o teor de SO_2 livre sempre que o equilíbrio se desloca por oxidação deste [2]. As fontes de SO_2 usualmente adicionadas ao vinho são sob a forma de metabissulfito de potássio, cilindros de dióxido de enxofre na forma liquefeita ou soluções do gás em água [3].

O controlo analítico do teor de SO_2 nos vinhos deve ser efectuado previamente à sua comercialização, quer pelas suas características de toxicidade, quer devido às alterações organolépticas e químicas que pode provocar nas bebidas. O seu efeito tóxico, pouco comum mas particularmente importante em indivíduos sensíveis a sulfitos, manifesta-se predominantemente por sintomas respiratórios - sensação de opressão, espirros, crises de tosse espasmódica - podendo, nos casos mais graves, conduzir a necrose brônquica. Pode também provocar complicações cardiovasculares, nomeadamente colapso e hipertrofia cardíaca [4]. Devido aos efeitos tóxicos citados, a US Food and Drug Administration (FDA) [5] estabeleceu, como limite máximo de SO_2 admitido em produtos alimentares, o valor de 10 mg Kg^{-1} .

Os limites máximos aceitáveis para o teor de dióxido de enxofre total, no momento da venda do produto ao consumidor, foram também estabelecidos pela Office International de la Vigne et du Vin (OIV) [6], e estão representados na Tabela I. A sua monitorização nos vinhos é, portanto, essencial para a verificação do teor em SO_2 total, tendo em conta a legislação vigente [2].

O método oficial proposto pela Comunidade Europeia (CE) [7] e pela OIV [6] para a determinação do SO₂ livre e total nos vinhos, baseia-se no arrastamento deste composto da matriz, utilizando uma corrente de azoto ou ar, e promovendo a sua fixação e oxidação numa solução neutra diluída de H₂O₂. O H₂SO₄ resultante é seguidamente doseado com uma solução padrão de NaOH, previamente titulada. Neste método, o SO₂ total é extraído do vinho por aquecimento deste, a 100° C. O aparelho utilizado na execução desta metodologia de referência obedece a parâmetros rigorosamente estabelecidos pela OIV [6], nomeadamente no que respeita às dimensões de todos os seus componentes e ao processo de refrigeração.

Tabela I. Valores máximos aceitáveis para o teor de SO₂ total em vinhos segundo a OIV.

<i>Limite máximo aceitável</i> <i>(mg L⁻¹)</i>	<i>Tipo de vinho</i>
175	vinhos tintos
300	vinhos tintos, brancos e rosados com teor em matérias reductoras > 4 g L ⁻¹
225	vinhos brancos e rosados
400	excepcionalmente certos vinhos brancos doces

A norma oficial portuguesa [8] propõe, alternativamente, um processo de doseamento mais rápido, baseado no método de Ripper. Este mesmo procedimento é igualmente proposto pela OIV [6], como alternativa ao método de oxidação / arrastamento, designando-o por “método rápido de ensaio”. Este método baseia-se

numa titulação iodométrica, na qual o SO_2 livre é doseado por oxidação com o iodo, enquanto o SO_2 combinado é posteriormente doseado por titulação iodométrica, após dupla hidrólise alcalina da amostra. O SO_2 total é obtido pela soma dos valores de SO_2 livre e SO_2 combinado determinados. Esta metodologia preconiza uma titulação correctiva, na qual a fracção livre do SO_2 é combinada com um excesso de etanal ou propanal, de forma a permitir quantificar e subtrair o teor de substâncias (que não sulfitos) oxidáveis pelo iodo em meio ácido. Apesar de tudo, o método é moroso e susceptível a erros decorrentes das etapas de manipulação das amostras.

O processamento de um maior número de amostras exigiu o recurso a métodos automáticos, que permitissem minimizar os tempos de análise e seus custos, relativamente aos laboriosos e morosos métodos clássicos, anteriormente citados. Por esta razão foram propostos vários sistemas de análise por injeção em fluxo, para a determinação deste parâmetro em vinhos, que permitiam efectuar análises em tempos mais curtos, com menor manipulação e baixo consumo, quer de amostra quer de reagentes.

Os sistemas de fluxo descritos incluem como processos de detecção a espectrofotometria [9-18], coulombimetria [19], amperometria/voltametria [20-27], quimioluminiscência [28, 29] e potenciometria [30, 31].

São vários os sistemas de fluxo, destinados ao doseamento de sulfitos nos vinhos, que referem a p-rosanilina como reagente de desenvolvimento de cor (reacção de West-Gaeke) para detecção espectrofotométrica [9-14]. Estes procedimentos apresentam como principal desvantagem a sua difícil aplicabilidade a vinhos tintos, aconselhando-se para isso uma separação preliminar da matriz por um sistema de difusão de gás [12, 14] ou um sistema de paragem de fluxo (stopped-flow) [9, 13]. O p-aminoazobenzeno (PAAB) [15], o verde de malaquite [16, 17] e o ácido dinitroditiobenzóico (DTNB) [18] são também reagentes de desenvolvimento de cor vulgarmente referidos. Estes sistemas, assim como os que utilizam detecção amperométrica/voltamétrica [20-27] permitem, de uma forma geral, trabalhar em gamas de concentração muito estreitas [11, 13, 16, 17, 22, 23, 26, 27] e proporcionam sistemas com ritmos de amostragem bastante reduzidos [10, 12-17, 20, 21, 23, 26] (10-60 amostras h^{-1}). A quimioluminiscência [28, 29], apesar das boas características analíticas que proporciona, obriga normalmente à utilização de reagentes de grande toxicidade.

A detecção potenciométrica apresenta como vantagens, relativamente aos sistemas anteriormente citados, o baixo custo e a facilidade de operação numa gama alargada de concentrações, sem perda de sensibilidade analítica, além de proporcionar uma boa selectividade e precisão analíticas. As duas montagens referidas na literatura [30, 31] descrevem a utilização de unidades de difusão de gases, o que lhes permitia um acréscimo de selectividade, particularmente por eliminação da interferência do anião cloreto, usualmente presente neste tipo de matriz. No trabalho descrito por Marshall [30] foi utilizado um eléctrodo convencional de sulfureto de mercúrio (II) / cloreto de mercúrio (I), enquanto que Badr [31] refere a utilização de um eléctrodo convencional, de condutor móvel, com solução de referência interna, sensível a sulfito. Porém, as montagens referidas, porque usam detectores potenciométricos num arranjo em cascata [30] ou eléctrodos com solução de referência interna [31], tornam-se mecanicamente instáveis e de difícil implementação em processos de rotina laboratorial. Além disso é referido um intervalo operacional de concentrações relativamente estreito ($0,1$ a 10 mg L^{-1}) [30], comparativamente com os teores de SO_2 usualmente presentes nos vinhos, para além de ritmos de amostragem baixos (cerca de 20 amostras h^{-1}) [30, 31].

A difusão de gás é um processo que permite remover da amostra o analito, para um canal aceitador, por forma a torná-lo livre de interferências químicas e físicas. A sua inclusão em FIA, como etapa preliminar associada à detecção potenciométrica, contribui consequentemente para um aumento da selectividade desta, obviando assim uma das suas limitações. Induz, porém, a uma redução da sensibilidade analítica; esta desvantagem pode, no entanto, ser ultrapassada pelo recurso a detectores potenciométricos de sensibilidade acrescida, que pela inclusão de duas membranas sensoras no mesmo corpo do eléctrodo, proporcionam valores de declive de calibração duplos dos obtidos com eléctrodos convencionais.

No Capítulo III foi referida a construção e desenvolvimento de sistemas de detecção de sensibilidade aumentada sensíveis a anião iodeto. Estes eram constituídos por eléctrodos tubulares de duas membranas cristalinas homogéneas, e porque apresentavam boas características operacionais, nomeadamente alta sensibilidade analítica e grande estabilidade, justificavam a sua aplicação. Nessa base desenvolveu-se um sistema FIA simples e de custos reduzidos para a análise de SO_2 em vinhos que

incluía a intercalação de uma unidade de difusão de gás e permitia a determinação deste parâmetro químico por um processo iodométrico, baseado no método de Ripper [6, 8].

VI - 2 - Parte experimental

2.1 Aparelhagem e eléctrodos

Como detector foi usado um eléctrodo tubular de duas membranas cristalinas homogéneas, sensíveis a iodeto, cujo sensor era constituído por uma mistura de $\text{AgI}/\text{Ag}_2\text{S}$ (na proporção molar de 1:1), estando a sua construção e avaliação descrita no Capítulo III.

A montagem FIA utilizada na determinação do SO_2 em vinhos foi estabelecida usando o equipamento modular anteriormente descrito. As unidades de difusão de gás utilizadas consistiam num duplo bloco de perspex com uma cavidade talhada em cada um dos blocos constituintes do difusor, com 2 mm de largura e 0,5 ou 1 mm de profundidade, e com diferentes comprimentos de difusão (3,5, 7,0 e 10,5 cm). Estas unidades incorporavam uma membrana de difusão, microporosa, hidrofóbica, composta por politetrafluoretileno (PTFE), que era substituída sempre que se verificava perda de reprodutibilidade analítica, o seu colapso ou ruptura.

2.2 Reagentes e soluções

A solução de Na_2SO_3 , de concentração $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, era preparada por pesagem rigorosa do sólido, e doseada diariamente por titulação iodométrica de acordo com o procedimento referido em [7], sendo mantida no frigorífico entre utilizações. As soluções padrão de SO_2 eram preparadas diariamente a partir da solução anterior, por diluição rigorosa, e estabilizadas com uma solução de glicerina 0,05 % (v/v). As soluções padrão usadas nas calibrações eram mantidas em balões de vidro, cobertos

com papel de alumínio e mergulhados em gelo, durante o período de realização dos ensaios. A sua possível degradação foi avaliada ao longo de cinco horas de trabalho, por injeção sucessiva de três soluções padrão de sulfito com concentrações iguais a $5,0 \times 10^{-4}$, $1,0 \times 10^{-3}$ e $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, no sistema de fluxo com detecção potenciométrica. Verificou-se que, quando mantidas nas condições referidas, não ocorria praticamente alteração das concentrações das soluções ensaiados, conforme se demonstra com os resultados representados na Fig. 1.

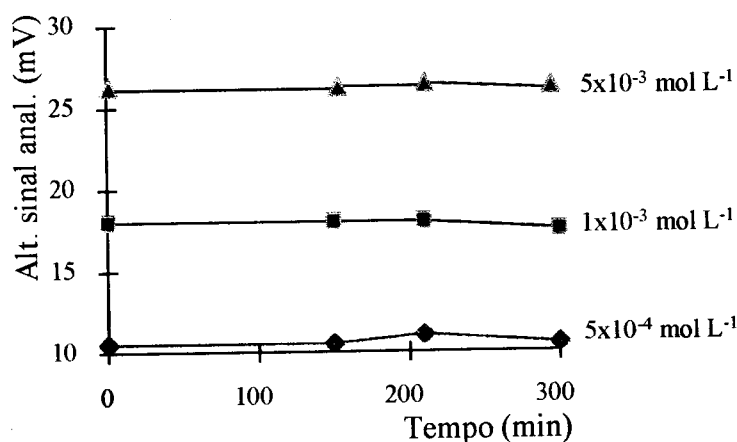


Figura 1 - Variação da altura do sinal analítico correspondente à injeção de três padrões de SO_2 , de concentrações $5,0 \times 10^{-4}$, $1,0 \times 10^{-3}$ e $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, ao longo de 5 horas de trabalho.

A solução de iodo usada como titulante, foi preparada diariamente, de acordo com as indicações referidas em [32]. Para isso procedeu-se à dissolução de 12,5 g de iodeto de potássio, num volume mínimo de H_2O , e adição de 6,35 g de iodo, pesado

em vidro de relógio e manuseado com uma espátula de madeira. Esta solução era titulada com uma solução padrão de tiosulfato de sódio, de concentração $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, e mantida num frasco rolhado de vidro escuro em local fresco e ao abrigo da luz.

A adição de iodeto a soluções aquosas de iodo tinha como objectivo diminuir a pressão de vapor da solução aquosa pura de iodo e, consequentemente, reduzir a sua perda por volatilização, assim como aumentar a solubilidade do iodo, por formação de I_3^- .

Para utilização no sistema FIA, a solução reagente de iodo, de concentração $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, era diluída numa solução tampão de ácido acético / acetato de sódio (pH 4,3 e força iónica 0,1) até perfazer um volume de 500 mL.

2.3 Método de referência

Os valores obtidos pela metodologia FIA foram comparados com os resultados obtidos pela aplicação do método rápido proposto pela OIV [6] (método oficial português [8]) na análise das mesmas amostras.

O método rápido de doseamento baseia-se no método de “Ripper” que, como foi referido, consiste numa titulação iodométrica do SO_2 presente no vinho.

A determinação da fracção livre baseia-se na titulação iodométrica directa em meio ácido, para reduzir a oxidação de polifenóis pela solução de iodo e permitir uma reacção quantitativa entre o sulfito e o iodo. Faz-se uma titulação correctiva sobre a mesma amostra, mas em que a fracção livre de SO_2 se combinou com um excesso de etanal ou propanal. Para a determinação do “ SO_2 combinado” efectua-se uma titulação iodométrica, em meio ácido, após dupla hidrólise alcalina da mesma amostra utilizada na determinação do SO_2 livre e onde este foi oxidado.

2.4 Preparação das amostras para doseamento por FIA e pelo método de referência

Na determinação do SO₂ livre procedia-se à intercalação da amostra no sistema FIA, sem a submeter a qualquer tratamento prévio, imediatamente após a abertura da garrafa.

Na determinação do SO₂ total seguiu-se um procedimento semelhante ao descrito pela norma oficial portuguesa [8], no qual se usava uma alíquota de 10,0 mL de amostra, a qual era alcalinizada com 1,6 mL de NaOH de concentração 4 mol L⁻¹ e com pH ajustado a cerca de 13 unidades. A amostra ficava em repouso durante 5 minutos e era seguidamente adicionada de 2,0 mL de H₂SO₄ (1:9 v/v) sendo imediatamente inserida na montagem FIA.

Na execução do método de referência para a determinação de SO₂ livre, a amostra (50,0 mL), adicionada de H₂SO₄, cozimento de amido e EDTA.Na₂, era titulada de imediato, após a abertura da garrafa. A mesma toma era depois sujeita a hidrólise alcalina dupla, por adição de uma solução de 8 + 20 mL de NaOH, de concentração 4 mol L⁻¹, e titulada, em duas etapas, com uma solução de iodo para determinação do SO₂ combinado.

2.5 Montagem FIA usada

Para a determinação de SO₂ em vinhos foi estabelecida uma montagem FIA, semelhante à representada na Fig. 2, na qual as amostras e soluções padrão eram inseridas numa solução transportadora (H₂O), por intermédio de uma válvula de seis portas, que convergia para um canal onde circulava uma solução de HNO₃. O SO₂ libertado em meio ácido difundia-se, através de uma membrana de PTFE inserida numa unidade de difusão de gás com 7,0 cm e uma profundidade de canal de 0,5 mm, para um canal aceitador, onde circulava uma solução de I₂ + KI. A variação da concentração de iodeto, causada pela reacção de oxidação do SO₂ era monitorizada pelo detector

potenciométrico tubular sensível a iodeto, colocado em linha com a unidade de difusão de gás.

O sistema FIA foi optimizado, efectuando-se calibrações sucessivas, de modo a ser obtida uma relação linear entre a altura do sinal analítico e o logaritmo da concentração de SO_2 , por forma a permitir realizar determinações numa gama alargada de concentrações, com um máximo de sensibilidade analítica e com uma alta frequência de amostragem.

Para a optimização da montagem FIA foi estudada a influência de diferentes parâmetros fisico-químicos e hidrodinâmicos, nomeadamente, a concentração da solução de I_2 , o pH da solução de HNO_3 , o percurso de difusão da unidade de difusão de gás, o volume de injeção da amostra, o comprimento do reactor e os valores dos caudais da solução transportadora e reagente, no declive da recta de calibração, intervalo de resposta linear, reprodutibilidade e ritmo de amostragem do sistema de fluxo.

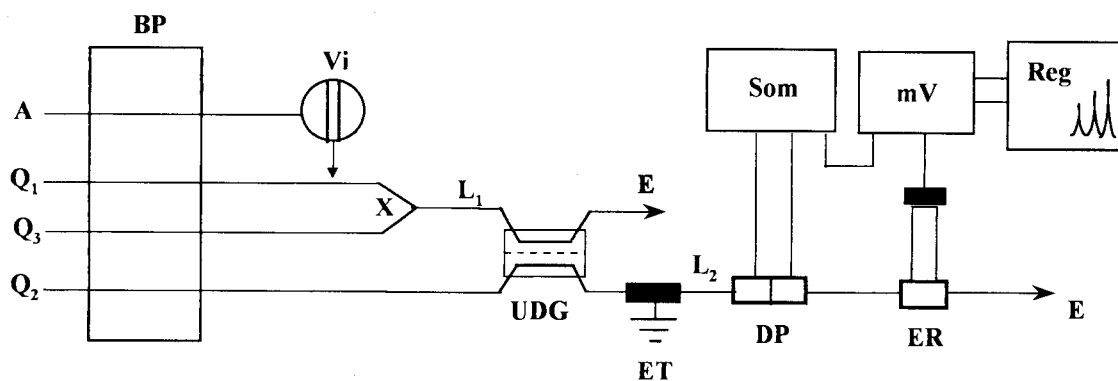


Figura 2 - Montagem FIA para a determinação de SO_2 em vinhos.

Legenda: BP - bomba peristáltica; A - amostra ($500 \mu\text{L}$); Q_1 - solução transportadora, H_2O ($2,1 \text{ mL min}^{-1}$); Q_2 - solução de $\text{I}_2 - \text{KI}$ ($4,5 \text{ mL min}^{-1}$); Q_3 - solução de HNO_3 ($2,3 \text{ mL min}^{-1}$); Vi - válvula de injeção; X - confluência; UDG - unidade de difusão de gás; L_1 e L_2 - reactores (50 e 35 cm); ET - electrodo terra; DP - detector potenciométrico sensível a iodeto; ER - electrodo de referência; Som - somador; mV - decimilivoltímetro; Reg - registador; E - esgoto.

VI - 3 - Resultados e sua discussão

O bom funcionamento do sistema de detecção de sensibilidade aumentada sensível a iodeto, referido no Capítulo III, nomeadamente o limite inferior de resposta linear apresentado, na ordem de $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, o declive de calibração de 112,4 mV década⁻¹ e a grande estabilidade, sugeriam a possibilidade de poder ser usado em aplicações analíticas. Por isso, desenvolveu-se e optimizou-se um sistema FIA que permitisse efectuar análises de diferentes tipos de vinho para determinação do SO₂ (Fig. 2).

Começou-se por estudar o valor da concentração da solução titulante, tendo em conta a intensidade do sinal analítico obtido, bem como os teores de SO₂ normalmente existentes nos vinhos (cerca de 3 a 200 mg L⁻¹). Foram efectuadas calibrações consecutivas injectando, em triplicado, soluções padrão de SO₂ de concentrações entre 3,2 e 180 mg L⁻¹. Foram estudadas soluções de iodo com concentrações que variaram entre $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (Fig. 3). Dado que é necessária a adição de iodeto de potássio para promover a solubilização do iodo [32], numa proporção de cerca de 2:1 (m/m), a presença deste anião condicionava o valor de potencial da linha de base, pelo que limitava o valor de concentração mínima que era possível ser detectado. Assim, soluções de concentração de iodo superiores a $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ não permitiam determinações em amostras em que a concentração de SO₂ era baixa, inferior a $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, resultando nestes casos sinais analíticos de pequena amplitude. Soluções de iodo de concentração inferior a $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, para além de provocarem instabilidade dos potenciais de linha de base e um retorno bastante lento do sinal analítico a este, inviabilizavam ainda o doseamento de amostras cujas concentrações de SO₂ eram elevadas. A optimização deste parâmetro foi pois efectuada de modo a que a solução de iodo fosse suficiente para promover a total oxidação de SO₂, por forma a permitir a sua determinação quantitativa, sem se ter que recorrer a tratamentos adicionais da amostra.

Atendendo a que os teores de SO₂ no vinho normalmente não excedem um valor de cerca de 200 mg L⁻¹, optou-se por usar uma solução de titulante, com concentração expressa em iodo, igual a $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, que permitia efectuar determinações numa

gama de concentração de 3,2 a 22,4 mg L^{-1} , zona esta onde estão contidos os teores de SO_2 livre normalmente presentes nos vinhos tintos. Sempre que a concentração de SO_2 era compreendida entre 22,4 e 180 mg L^{-1} , a concentração em iodo da solução usada como titulante era igual a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

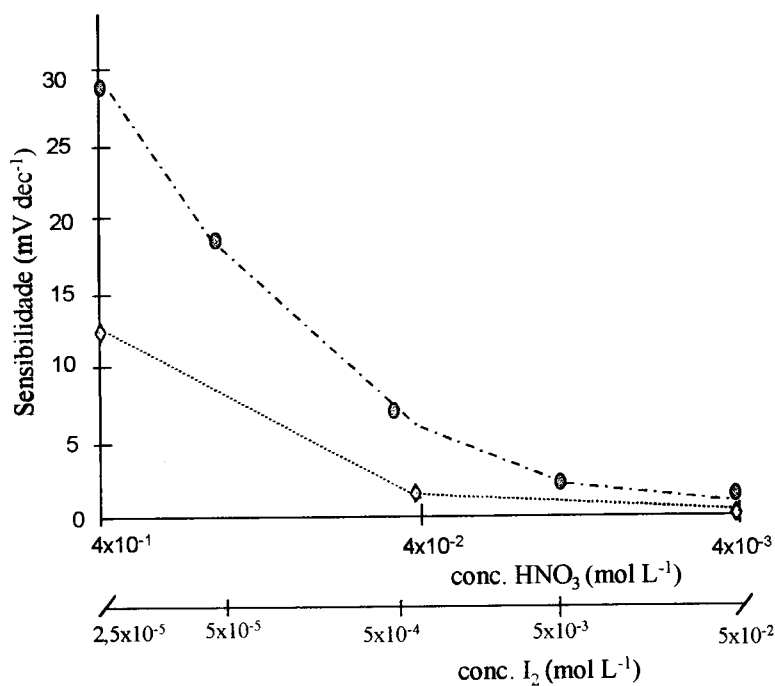


Figura 3 - Variações da sensibilidade analítica do sistema FIA relativamente à concentração de I_2 (●) e concentração de HNO_3 /pH (○).

O valor de pH, necessário para que a reacção do iodo com o sulfito fosse quantitativa [1, 3], sem que no entanto houvesse oxidação dos polifenóis do vinho pela solução de iodo, foi estudado, adicionando à amostra, por confluência, soluções de HNO₃ de concentração variável. A presença do HNO₃ era também necessária para promover a libertação do SO₂ da matriz e, conseqüentemente a sua difusão, pelo que foram testadas soluções deste ácido com concentrações iguais a $4,0 \times 10^{-1}$, $4,0 \times 10^{-2}$ e $4,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. Verificou-se que, para valores de concentração de HNO₃ iguais a 4×10^{-3} mol L⁻¹ praticamente não ocorria libertação de sulfito, enquanto que o abaixamento de pH conduzia aos melhores resultados de amplitude de sinal analítico, relacionados com um incremento da libertação do SO₂ (Fig. 3). Optou-se, por isso, por uma solução de HNO₃ de concentração igual a $4,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹.

Porque nas condições de difusão implementadas a solução de HNO₃ poderia igualmente conduzir à hidrólise indesejada de formas combinados de sulfito [33], foi efectuado um estudo do comportamento das soluções padrão de SO₂ adicionadas de um aldeído, p. ex. formaldeído, mimetizando-se, com soluções padrão, a reacção de formação de HMS (hidroximetanosulfonatos) que pode ocorrer nos vinhos. Utilizaram-se, como condições experimentais, parâmetros próximos dos implementados no sistema FIA proposto, ou seja, um valor de pH 5-6 e temperatura ambiente (cerca de 25 °C). Para isso, foram introduzidas na montagem FIA misturas de soluções equimolares de formaldeído e sulfito, em concentrações iguais a $1,0 \times 10^{-3}$ e $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹, imediatamente e passados cerca de 20 min após a sua preparação, não se registando qualquer sinal analítico. Nestas condições poder-se-ia concluir que a solução ácida, utilizada no interior da montagem para promover a libertação do SO₂ e condicionar a sua reacção de oxidação com a solução de iodo, não produzia qualquer hidrólise das formas combinadas de sulfito. Se fosse efectuada uma hidrólise alcalina, prévia à inserção destes padrões no sistema FIA, obtinha-se um sinal analítico correspondente à totalidade do SO₂ presente, exactamente tal qual se passava com a hidrólise alcalina no doseamento do SO₂ combinado.

Depois de definidos os parâmetros químicos da montagem FIA, procedeu-se à optimização do volume de injeção, comprimento do reactor e caudais, determinando-se a sua influência na amplitude do sinal transiente fornecido pelo sistema de detecção.

A eficiência de difusão, processo que resulta das diferenças das pressões parciais nos dois lados da membrana e da diferença de solubilidade do gás nas soluções dos canais dador e aceitador, é fortemente dependente dos parâmetros que actuam ao nível do transporte do gás. Alguns autores [34, 35] referem que a difusão em contra-corrente faz aumentar a sensibilidade correspondente ao sinal analítico (em cerca de 10%) desde que a velocidade de fluxo nos dois canais seja igual e reduzida, não sendo por isso necessário existir um diferencial de pressão entre os dois lados da membrana difusora. A profundidade do canal de difusão, bem como o seu comprimento, são também parâmetros que afectam a eficiência de difusão, pelo que a sua avaliação é também importante. Nalguns trabalhos são referidas etapas de concentração do analito recorrendo-se à difusão de gases, nos quais se utilizaram caudais diferentes nos dois canais dado que, recorrendo a paragem de fluxo ou a uma grande diminuição da velocidade de fluxo do canal aceitador, se conseguia uma maior concentração do gás em análise no canal aceitador [34, 35].

A influência da variação do volume de injeção na amplitude do sinal analítico foi avaliada conjuntamente com o estudo de diferentes comprimentos de percursos de difusão (Fig. 4). Foram estudados volumes de injeção variáveis, de 100 a 1000 μL , e três percursos de difusão diferentes (3,5; 7,0 e 10,5 cm), todos eles com uma profundidade de canal de difusão de 0,5 mm. Para todos os casos foram efectuadas calibrações sucessivas, em triplicado, na gama de concentração de 3,2 a 180 mg L^{-1} .

Percursos difusores com cerca de 3,5 cm de comprimento originaram, para os três volumes de injeção testados, desvios de linearidade acentuados, particularmente para as soluções de sulfito mais concentradas, dado que a extensão de difusão não era suficiente para toda a gama de concentração estudada. O coeficiente de correlação das curvas de calibração obtidas com esta unidade de difusão era pouco satisfatório, afastando-se do valor unitário, não permitindo efectuar determinações na gama de concentração de SO_2 usualmente encontrada nos vinhos.

Quando se utilizava um percurso difusor de 10,5 cm, obtinham-se curvas de calibração com menores valores de declive, relativamente aos sistemas com as unidades de 3,5 e 7,0 cm de comprimento, observando-se também desvios de linearidade, provavelmente devido a uma maior dispersão da amostra ao longo da membrana difusora causada pelo seu elevado volume morto. Este problema era particularmente

marcante para os padrões mais diluídos. Para além disso, o ritmo de amostragem ficava comprometido.

A unidade de difusão com um comprimento igual a 7,0 cm foi a que, nas diferentes calibrações efectuadas, originou melhores valores de coeficiente de correlação e reprodutibilidade dos sinais analíticos, em particular para um volume de injeção de 500 μL .

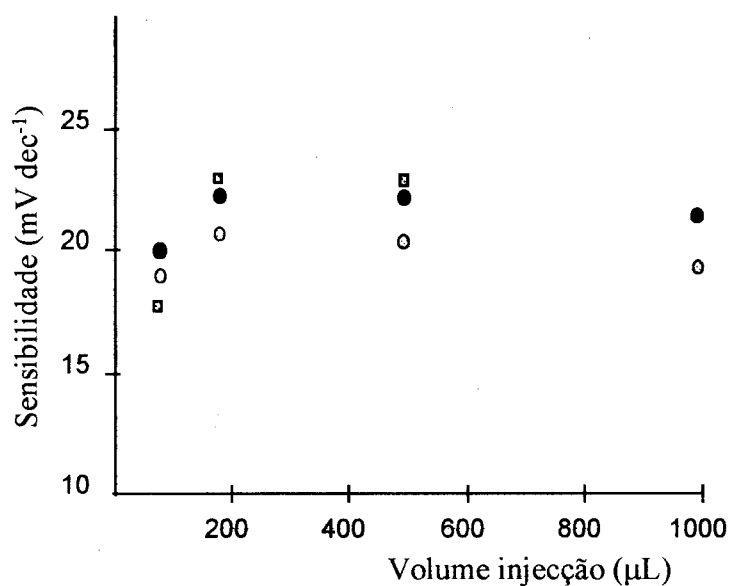


Figura 4 - Estudo da variação da sensibilidade do sistema FIA, em função do comprimento do percurso de difusão ($\blacksquare$ - 3,5 cm; $\bullet$ - 7 cm; $\circ$ - 10,5 cm), para diferentes volumes de injeção (100, 200, 500 e 1000 μL) e para um caudal fixado em 3,5 mL min^{-1} .

Com a unidade de difusão de 7 cm, o volume de injeção de 200 μL , apesar de originar curvas de calibração com um declive ligeiramente superior às obtidas com o volume de 500 μL , conduzia a um maior irreprodutibilidade dos sinais analíticos para concentrações de sulfito inferiores a 22,4 mg L^{-1} , comprometendo a determinação de SO_2 livre nos vinhos tintos. Por esta razão optou-se pela utilização de um volume de injeção de 500 μL , dado que permitia trabalhar em toda a gama de concentrações na qual o SO_2 está usualmente presente nos vinhos verdes e tintos, e por uma unidade de difusão de gás com um percurso de 7 cm.

Com o volume de injeção de 500 μL foi também testada uma unidade difusora com um percurso igual a 7 cm mas com uma profundidade de canal de 2 mm. Verificou-se neste caso que, a capacidade de difusão era fortemente comprometida, o que se explica por uma menor superfície de contacto da amostra com a membrana de PTFE, resultados que estão de acordo com o descrito anteriormente na literatura [35].

Na montagem FIA implementada (Fig. 2) a distância entre a confluência X e a unidade difusora de gases (L_1) foi também estudada, de forma a que o seu comprimento fosse suficiente para proporcionar uma boa mistura das soluções nela convergentes, sem contudo provocar uma grande diluição da amostra. O seu estudo foi efectuado para comprimentos variáveis entre 15 e 115 cm, conforme se representa na Fig. 5. O comprimento do reactor teria que ser suficiente para proporcionar uma libertação, o mais completa possível, do SO_2 , mas o mais curto possível por forma a não comprometer o ritmo de amostragem. Verificou-se que comprimentos superiores a 55 cm conduziam a um decréscimo da sensibilidade analítica com abaixamento do ritmo de amostragem, devido a uma grande dispersão da amostra no sistema. Para valores inferiores a 35 cm o reactor não era suficiente para garantir a reacção das soluções convergentes. Optou-se por isso por um reactor com um comprimento igual a 50 cm.

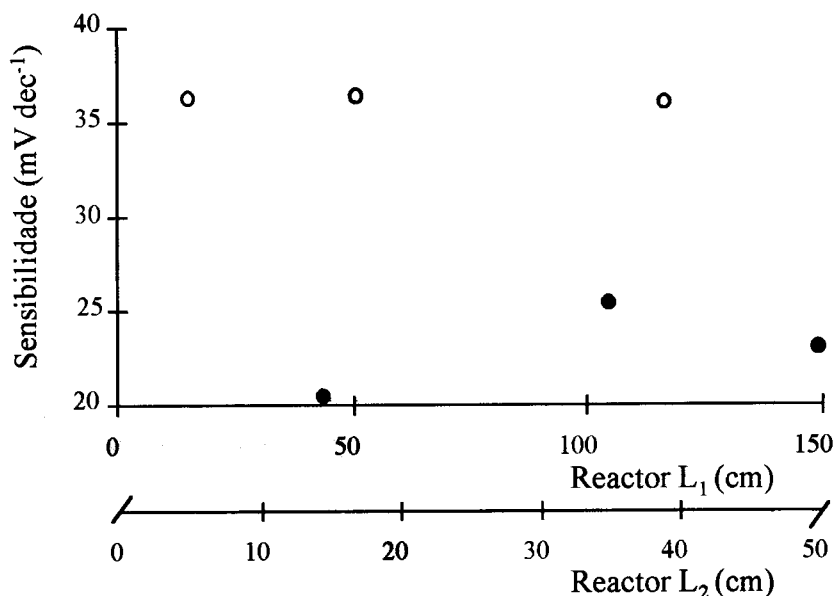


Figura 5 - Variação da sensibilidade analítica com o comprimento dos reactores para um volume de injeção de 500 μL .

Legenda : ○ - comprimento do reactor L_1 ; ● - comprimento do reactor L_2 .

Foi também otimizado o comprimento do reactor situado entre a unidade de difusão de gás e o detector (L_2), tendo-se variado essa distância entre 15 e 50 cm (Fig. 5). Verificou-se que, distâncias inferiores a 35 cm conduziam a uma oxidação incompleta do SO_2 libertado, com consequente irreprodutibilidade do sinal analítico e baixa sensibilidade, o que prova não haver mistura completa entre a amostra e a solução de iodo. Distâncias superiores a 35 cm provocavam uma desnecessária dispersão da amostra, com perda de sensibilidade analítica. Por esta razão foi escolhido para o reactor L_2 um comprimento equivalente a 35 cm, como situação de compromisso entre a progressão da reacção de oxidação e o efeito de dispersão sobre o iodeto resultante dessa reacção.

Uma vez estabelecidos os parâmetros anteriormente indicados, efectuaram-se estudos de avaliação da influência dos caudais na altura do sinal analítico (Fig. 6).

Foram efectuadas calibrações, em triplicado, na gama de concentração de 3,2 a 180 mg L^{-1} . Decidiu-se manter os caudais $Q_1 + Q_3$ e Q_2 iguais [34, 35], por forma a evitar-se deformações da membrana de difusão e, consequentemente, prolongar o seu tempo de vida. Fez-se, portanto, variar os caudais de $Q_1 + Q_3$ e Q_2 entre 2,0 e 5,0 mL min^{-1} . Obteve-se um máximo de sensibilidade analítica, associado um bom ritmo de amostragem, para um valor de 4,5 mL min^{-1} . A relação dos valores de caudal de Q_1 e Q_3 foi então optimizada, de forma a que a dispersão sofrida pela amostra fosse pequena, e que a quantidade de HNO_3 presente fosse suficiente para promover a libertação total do SO_2 e sua difusão através da membrana de teflon. Para além disso, a escolha da velocidade de fluxo era também feita tendo em conta o ritmo de amostragem proporcionado. Optou-se então pelos valores de 2,1 mL min^{-1} para Q_1 e 2,3 mL min^{-1} para Q_3 .

A eliminação de interferências eléctricas no sistema foi conseguida pela intercalação na montagem FIA de um contacto de terra ("eléctrodo terra"), colocado entre a unidade de difusão de gás e o detector.

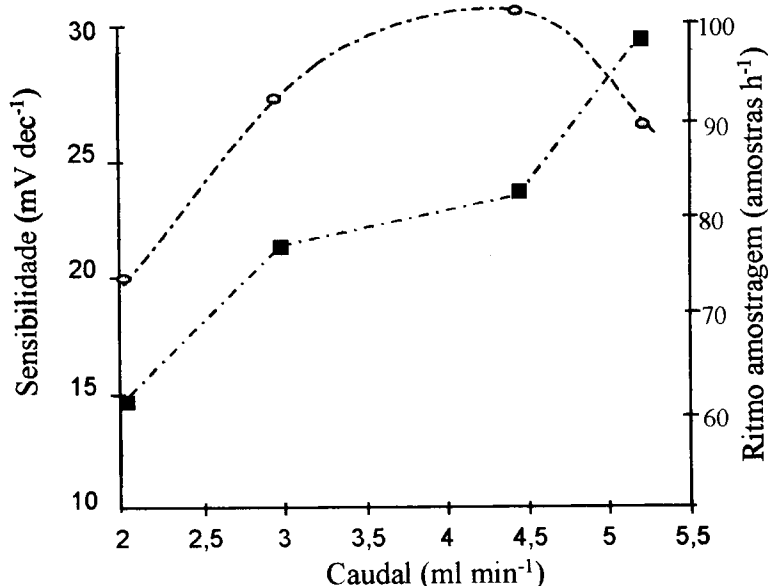


Figura 6 - Variação da sensibilidade analítica relativamente aos diferentes valores de velocidade de fluxo ($Q_1 + Q_3$ e Q_2), para um percurso de difusão de 7 cm e um volume de injeção de 500 μL (○). Variação do ritmo de amostragem com os diferentes valores de caudal estudados (■).

O sistema FIA com as características seleccionadas permitia a determinação de SO_2 num intervalo de concentração entre 3,2 a 180 mg L^{-1} , com uma boa sensibilidade analítica. Desta forma, obtiveram-se registos analíticos semelhantes aos representados na Fig. 7.

A repetitibilidade do sistema FIA implementado foi avaliada efectuando 12 injeções sucessivas de uma solução padrão de concentração intermédia (64,0 mg L^{-1}). Os valores de desvio padrão relativo encontrados originaram resultados com variações inferiores a 1,5 %.

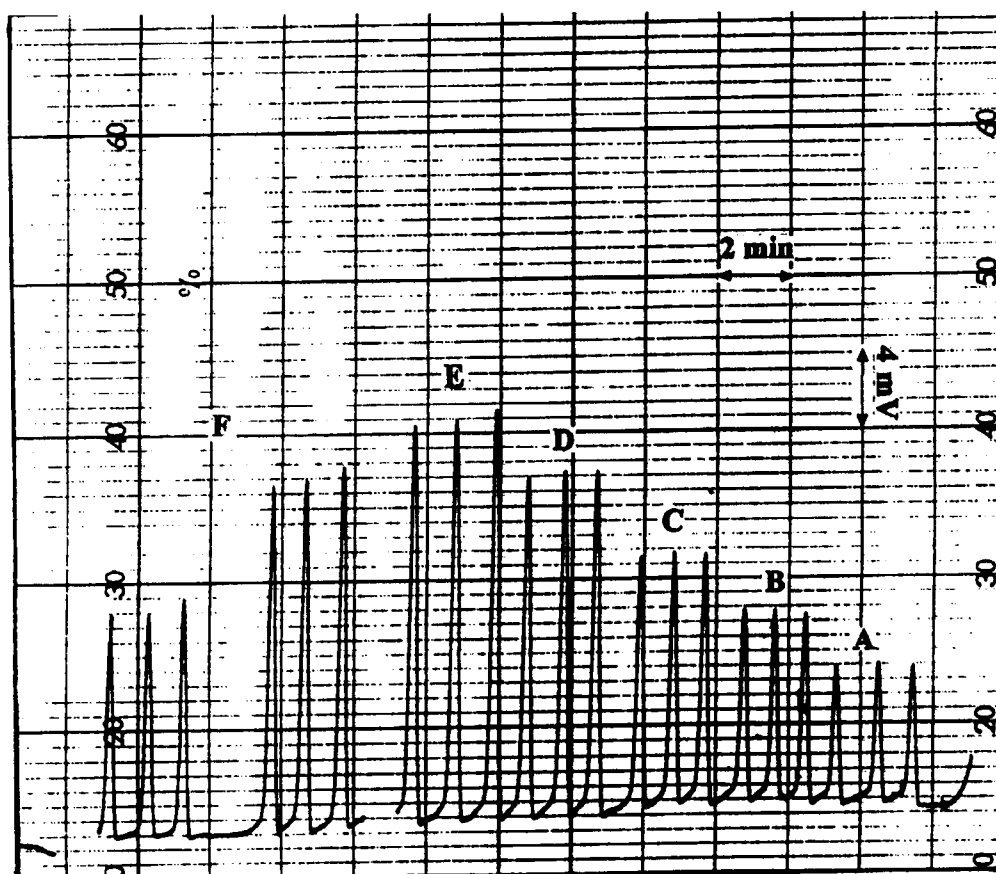


Figura 7 - Registo de uma curva de calibração típica efectuada com padrões de SO_2 e duas amostras diferentes de vinho.

Legenda : Soluções padrão de SO_2 injectadas : A - 32,0; B - 44,8; C - 64,0; D - 96,0; E - 128,0 mg L^{-1} ; F - amostras de vinho.

A estabilidade do sistema FIA ao longo de um dia de trabalho foi avaliada traçando várias curvas de calibrações e procedendo-se ao cálculo da variação do potencial para diferentes níveis de concentração, na zona de resposta linear do sistema. Verificou-se, para a gama de concentrações entre 3,2 e 180 mg L⁻¹, uma variação inferior a 1,5 mV dia⁻¹.

O ritmo de amostragem proporcionado pelo sistema implementado variava entre 75 amostras h⁻¹, para as amostras mais concentradas, e 100 amostras h⁻¹ para as amostras com menor teor em SO₂.

VI - 4 - Determinação do SO₂ em vinhos

O sistema FIA implementado foi aplicado à determinação do teor em SO₂ livre e total, em 30 amostras reais de vinho tinto e branco, comercializados no mercado português.

Procedeu-se à calibração do sistema pela injeção, em triplicado, de diferentes soluções padrão de SO₂, com concentrações entre 3,2 e 24,0 mg L⁻¹ para a determinação de SO₂ livre em vinhos tintos, e entre 32,0 e 180 mg L⁻¹ na determinação de SO₂ total, em vinhos brancos e tintos e SO₂ livre em vinhos brancos.

A avaliação quantitativa dos sinais analíticos obtidos foi baseada na medição da altura de pico e sua conversão em valores de potencial (mV).

Nas amostras de vinho verde branco fez-se a determinação do SO₂ total pela metodologia proposta e pelo método oficial português [8]. Os valores obtidos com a metodologia proposta para a determinação de SO₂ total, em 20 amostras de vinhos brancos, foram comparados com os obtidos pelo método de referência. Para cada amostra fez-se a média de duas determinações realizadas sobre duas tomas, tendo-se obtido os resultados representados na Tabela II.

Tabela II. Resultados obtidos na determinação de SO₂ total, em 20 amostras de vinhos verdes brancos, pelo método FIA (FIA) e pelo método de referência (REF)

<i>Am.</i>	<i>FIA</i> (mg L ⁻¹)	<i>REF</i> (mg L ⁻¹)	<i>DR</i> (%)	<i>Am.</i>	<i>FIA</i> (mg L ⁻¹)	<i>REF</i> (mg L ⁻¹)	<i>DR</i> (%)
1	152,9±1,0	148,8±1,5	2,8	11	179,5±1,0	177,6±1,0	1,1
2	110,7±6,6	116,8±2,3	-5,2	12	103,2±1,0	103,2±1,1	0
3	103,2±1,7	109,6±1,7	-5,8	13	115,9±3,0	110,4±4,5	5,0
4	93,80±1,0	91,20±1,0	2,9	14	83,4±3,5	84,8±4,5	-1,7
5	106,5±6,0	107,2±2,3	-0,65	15	137,3±1,0	137,6±1,2	-0,22
6	104,3±3,0	107,2±2,3	-2,7	16	86,40±1,1	88,80±1,2	-2,7
7	101,9±1,0	104,7±1,1	-2,7	17	139,9±1,0	139,2±1,0	0,50
8	158,9±1,0	157,6±1,1	0,82	18	116,4±1,0	116,0±1,2	0,34
9	111,4±0,50	113,6±0,10	-1,9	19	55,60±1,0	54,40±1,1	2,2
10	142,8±1,0	149,6±1,1	-4,5	20	41,60±2,0	40,00±2,3	4,0

Os resultados apresentados são a média e desvio padrão, de duas determinações efectuadas sobre a mesma amostra, pela metodologia FIA proposta e procedimento de referência [8].

Foi estabelecida uma recta de regressão do tipo $C_F = C_0 + S C_R$ entre os resultados obtidos pela metodologia proposta (C_F) e pelo método de referência (C_R) (Fig. 8). A comparação dos dois métodos revela um bom acordo entre si, o que é demonstrado pelos valores de

$$C_F = -0,476 (\pm 5,8) + 0,999 (\pm 4,9 \times 10^{-2}) C_R \text{ mg L}^{-1} \quad r = 0,995.$$

sendo o valor de C_0 muito próximo de zero e o valor de declive muito próximo do unitário.

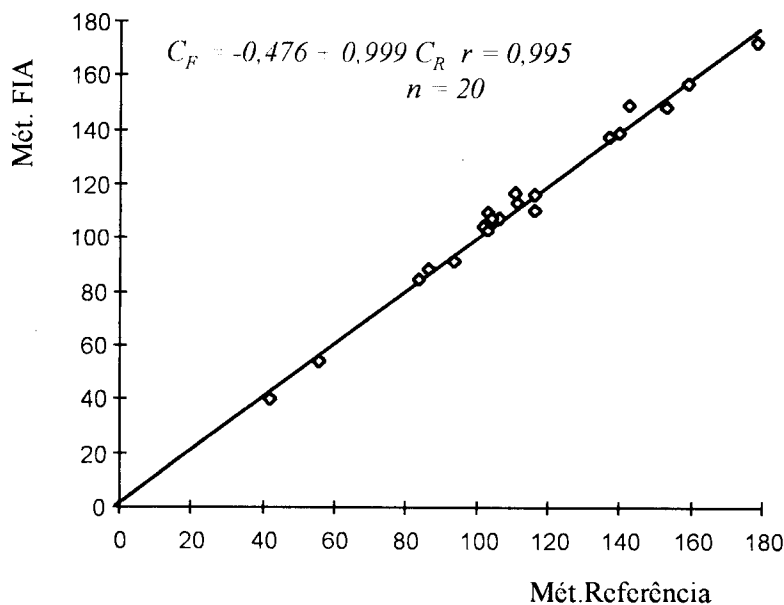


Figura 8 - Avaliação comparativa dos resultados obtidos no doseamento do SO_2 total em vinhos verdes pela metodologia FIA e pelo método de referência.

O cálculo do valor de t de Student, bilateral, emparelhado, na análise comparada dos resultados obtidos pelas duas metodologias, proporcionou um valor de $t = 0,855$. Para um nível de confiança de 95% ($t_{0,025} = 2,093$) [36] confirmou-se a hipótese nula, podendo-se considerar estatisticamente equivalentes os resultados obtidos pela metodologia proposta e método de referência.

A determinação do teor em SO_2 livre pela metodologia FIA proposta, em 6 amostras de vinho branco, foi comparada com os valores obtidos com o método de referência, como se representa na Tabela III, tendo-se encontrado um desvio relativo inferior a 9%. A determinação foi efectuada num só ensaio, para qualquer das duas metodologias, como consequência da rápida perda do analito por volatilização após abertura da garrafa.

Os valores encontrados pelo método de referência foram, em todos os casos, inferiores aos teores obtidos com o sistema FIA. Esta diferença deve-se ao facto de o ensaio em FIA ter sido sempre efectuado imediatamente após a abertura da garrafa, sendo realizado num período de tempo mais curto (inferior a 2 min) relativamente ao tempo de execução do método de referência. Além disso decorreu sempre um certo intervalo de tempo até à execução do método de referência. As diferenças encontradas nos resultados obtidos pelos dois métodos são, portanto, aceitáveis.

Tabela III. Resultados obtidos na determinação de SO_2 livre em 6 amostras de vinhos verdes brancos pelo método FIA (FIA) e pelo método de referência (REF)

<i>Amostra</i>	<i>FIA</i> [*] (mg L ⁻¹)	<i>REF</i> [*] (mg L ⁻¹)	<i>DR</i> (%)
1	40,6	38,4	5,7
2	37,0	35,2	5,1
3	43,6	41,6	4,8
4	103	94,4	9,1
5	80,7	76,8	5,1
6	107	99,2	7,9

^{*}Os resultados apresentados correspondem a uma determinação pela metodologia FIA proposta e procedimento de referência [8].

A determinação do SO_2 total pelo procedimento de referência, em amostras de vinho tinto, é considerada pouco exacta, pelo facto destes vinhos conterem altos teores de taninos e matérias corantes [3]. Além disso, é de muito delicada execução, dada a dificuldade em se conseguir visualizar a variação de cor do indicador em torno do ponto de equivalência. Esta, aliás, é uma das grandes limitações apontada a este método. Por forma a obviar esta dificuldade experimental, tentou-se efectuar a titulação numa câmara escura usando uma lâmpada de vapor de sódio, possibilitando assim observar-se, não uma mudança de cor, mas sim a passagem de transparente a opaco, segundo a metodologia proposta por Curvelo-Garcia [2]. No entanto, este tipo de opção conduziu frequentemente a resultados pouco precisos, determinados pela grande imprecisão associada à definição do ponto final da titulação iodométrica. Neste caso e por essa razão, a exactidão da metodologia FIA foi avaliada por recurso a ensaios de recuperação.

Assim, foram avaliadas apenas 4 amostras de vinho tinto. Os ensaios de recuperação das amostras foram efectuados adicionando 0,35 mL de uma solução de Na₂SO₃ de concentração 0,10 mol L⁻¹ a 50,0 mL de amostra em análise.

Como se refere na Tabela IV, os valores de recuperação encontrados variaram entre 96,1 e 101,6%.

A determinação do teor de SO₂ livre, em vinhos tintos, foi também efectuada pela metodologia FIA proposta. No entanto não foram realizados ensaios de recuperação, em virtude de não ser possível a sua determinação pelo método de referência, pelas limitações apontadas anteriormente, e de não fazer sentido executarem-se ensaios de recuperação sobre amostras nas quais a volatilização do SO₂ livre condicionava o teor de analito inicialmente presente. Os resultados obtidos são também apresentados na Tabela IV.

Tabela IV. Resultados obtidos na determinação de SO₂ livre e total em quatro amostras de vinhos tintos.

<i>Amostra</i>	<i>SO₂ livre</i> (mg L ⁻¹)	<i>SO₂ total</i> [*] (mg L ⁻¹)	<i>Recuperação</i> ^{**} (%)
1	14,2	134±2,2	102
2	13,0	69,8±1,1	98,1
3	8,90	39,7±1,6	96,1
4	5,20	51,5±2,1	98,0

^{*} Média e desvio padrão de duas determinações efectuadas sobre a mesma amostra.

^{**} Adição de 0,35 mL de uma solução de Na₂SO₃ 0,1 mol L⁻¹ a 50 mL de amostra.

A metodologia FIA implementada para a determinação de SO_2 em vinhos permite a obtenção de um ritmo de amostragem de 75 a 100 amostras h^{-1} , muito superior ao conseguido pelo método de referência, que apenas permitia efectuar cerca de 10-15 amostras h^{-1} [6, 8].

A avaliação da precisão dos resultados analíticos foi estimada efectuando 12 injeções sucessivas de amostras de concentração igual a 64,0 e 139,9 mg L^{-1} tendo-se obtido valores de desvio padrão relativo inferiores a 1,7 %. Os valores de precisão encontrados competem favoravelmente com os indicados por outros autores [10-14, 16-18, 23, 26, 28] para a determinação de SO_2 em vinhos. São por eles indicados valores de precisão variáveis entre 2 e 14 %. Quando se comparam os resultados obtidos nos trabalhos descritos em [21, 24, 29, 30] encontram-se valores semelhantes aos obtidos neste trabalho.

VI - 5 - Conclusões

A técnica FIA, para o doseamento de SO_2 em vinhos, revelou-se simples, prática e rápida.

O sistema FIA proposto mostrou-se muito versátil permitindo a determinação de SO_2 em vinhos brancos e tintos, numa gama alargada de concentrações (3,2 a 180 mg L^{-1}) sem perda de sensibilidade e reprodutibilidade analíticas.

Os vinhos analisados encontravam-se todos dentro do intervalo de valores permitidos pela legislação comunitária.

Esta metodologia apresenta como grandes vantagens, relativamente aos métodos de referência [6, 8], um alto ritmo de amostragem, que proporciona 75 a 100 amostras h^{-1} , a não especificidade da aparelhagem a utilizar, um aumento da selectividade analítica e a fácil aplicação a vinhos fortemente corados, sem necessidade de proceder a tratamentos específicos da amostra.

A utilização de detectores potenciométricos de dupla membrana permite efectuar determinações analíticas com maior exactidão, factor essencial na determinação de teores muito baixos de analito (nomeadamente na determinação de SO₂ livre).

O sistema proposto apresenta também como vantagem adicional um baixo consumo de reagentes, com um gasto de iodo inferior a 30 mg determinação⁻¹, além de que é facilmente automatizável, permitindo o seu uso em análises de rotina laboratoriais.

Referências Bibliográficas

- [1] J. Ribereau-Gayon, E. Peynaud, P. Sudraud e P. Ribereau-Gayon, *Sciences et Techniques du Vin*, Tome 1, Chapitre 12, Dunod, Bordas, Paris, **1976**.
- [2] J. Curvelo-Garcia, *Controlo de qualidade dos vinhos - Química Enológica- Métodos analíticos*, Instituto da Vinha e do Vinho, Lisboa, **1988**.
- [3] C.S. Ough e M.A. Amerine, *Methods for analysis of musts and wines*, John Wiley and Sons, New York, **1987**.
- [4] R. Fabre e R. Truhaut, *Précis de Toxicologie*, Tome I et II, Société d'Édition d'Enseignement Supérieur, Paris, **1971**.
- [5] Food Registration, 51, 1310, 25012, **1986**.
- [6] OIV. *Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse des Vins*, 5th Ed., Office International de la vigne et du vin, Paris, 196, **1978**.
- [7] Off. J. Eur. Commun., 3rd October, **1990**, 125.
- [8] Norma Portuguesa, NP 2220/87.
- [9] E.H. Hansen e J. Ruzicka, *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 114, 19.
- [10] Z. Zhi, A. Rios e M. Valcárcel, *Analyst*, **1995**, 120, 2013.
- [11] P. Richter, M.D. Luque de Castro e M. Valcárcel, *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 283, 408.
- [12] P. Linares, M.D. Luque de Castro e M. Valcárcel, *Anal. Chim. Acta*, **1989**, 225, 443.
- [13] F. Lazaro, M.D. Luque de Castro e M. Valcárcel, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 950.
- [14] F. Falcone e K.C. Maxwell, *J. Agric. Food Chem.*, **1992**, 40, 1355.

- [15] J. Bartroli, M. Escalada, C. Jorquera e J. Alonso, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 2532.
- [16] J.J. Sullivan, T.A. Hollingworth, M.M. Wekell, V.A. Meo, H.H. Saba, A. Etemad-Moghadam, C. Eklund, J. Phillips e B.H. Gump, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **1990**, 73, 35.
- [17] J.J. Sullivan, T.A. Hollingworth, M.M. Wekell, V.A. Meo, A. Etemad-Moghadam, J. Phillips e B.H. Gump, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **1990**, 73, 223.
- [18] A. Maquiera, F. Casamayor, R. Puchades e S. Sagrado, *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 283, 401.
- [19] G.N. Chen, *Fenxi-Huaxue*, **1995**, 23, 292.
- [20] M.O. Rezende e H.A. Motolla, *Analyst*, **1994**, 119, 2093.
- [21] N.T.K. Thanh, L.G. Decnop-Weever e W.T. Kok, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1994**, 349, 469.
- [22] T.J. Cardwell, R.W. Cattrall, G.N. Chen, P.J. Iles, I.C. Hamilton e G.R. Scollary, *Electroanalysis (NY)*, **1991**, 3, 859.
- [23] T.J. Cardwell, R.W. Cattrall, G.N. Chen, G.R. Scollary e I.C. Hamilton, *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.*, **1993**, 76, 1389.
- [24] M. Granados, S. MasPOCH e M. Blanco, *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 179, 445.
- [25] G. Etherington, *Lab. Pract.*, **1990**, 39, 127.
- [26] J. Krausova e J. Jedlickova, *Prum. Potravin*, **1990**, 41, 40.
- [27] K. Matsumoto, H. Matsubara, H. Ukeda e Y. Osajima, *Agric. Biol. Chem.*, **1989**, 53, 2347.
- [28] J.L. Burguera e M. Burguera, *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 214, 429.
- [29] Y.L. Huang, J.M. Kim e R.D. Schmid, *Anal. Chim. Acta*, **1992**, 266, 317.
- [30] G.B. Marshall e D. Midgley, *Analyst*, **1983**, 108, 701.

- [31] I.H.A. Badr, M.E. Meyerhoff e S.S.M. Hassan, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 310, 211.
- [32] G.H. Jeffery, J. Basset, J. Mendham, R.C. Denney, *Oxidation and reduction processes involving iodine: iodometric titrations*. Vogel's textbook of quantitative chemical analysis, 5th Edition, Longman Scientific and Technical, Longman House, Burnt Mill, Harlow, England, **1988**.
- [33] U. Deister, R. Neeb, G. Helas e P. Warneck, *J. Phys. Chem*, **1986**, 90, 3213.
- [34] B. Karlberg e G.E. Pacey, *Flow Injection Analysis - A practical guide*, Elsevier, Amsterdam, **1989**.
- [35] J.S. Canham, G. Gordon e G.E. Pacey, *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 209, 157.
- [36] D. McCormick e A. Raoch, *Measurements, Statistics and Computation*, John Wiley and Sons, Chichester (UK) **1987**.

Desenvolvimento de um sistema FIA, com detecção com sensibilidade acrescida, para determinação de catião cádmio em águas residuais, com etapa de separação e concentração em linha.

VII - 1 - Introdução

O cádmio é um metal pesado que aparece correntemente na natureza, associado ao zinco. Este elemento foi descoberto em 1817, mas a sua utilidade em processos industriais foi apenas reconhecida há cerca de 50 anos. Das suas características principais destacam-se a elevada resistência a processos corrosivos e as propriedades electroquímicas. Desde então, tem sido essencialmente utilizado em processos de galvanização e electrodeposição, como pigmento para tintas e plásticos e como material catódico para o fabrico de baterias de níquel-cádmio [1].

O cádmio (II) é uma espécie química de grande toxicidade, com manifestações orgânicas, quer agudas quer crónicas. O efeito crónico deve-se à sua acumulação, a nível hepático e renal. A sua toxicidade manifesta-se por doença pulmonar obstrutiva e enfisema, insuficiência renal, interferência com o metabolismo do cálcio, conduzindo a alterações ósseas, e ainda por efeitos cardiovasculares, particularmente hipertensão arterial [2]. Além disso, tem um longo tempo de semi-vida biológica, de 10 a 30 anos, e reconhecida carcinogenicidade [3].

Em 1972, foi estabelecido por um comité especializado da Food and Agricultural Association (FAO) e World Health Organization (WHO) um valor tolerável de ingestão semanal de 400 a 500 μg de Cd (II), o que representa um valor de cerca de 70 μg dia⁻¹ [4], alertando para a perigosidade deste elemento. As principais vias de exposição a este metal são os alimentos, a água, o ar e o tabaco [5].

O cádmio existente na água tem habitualmente a sua origem nas chuvas, nos efluentes industriais, particularmente os provenientes de galvanoplastias, ou eventualmente, na sua dissolução a partir de certas canalizações galvanizadas ou plastificadas [1]. A determinação do catião cádmio na água, quer com o objectivo de serem realizados estudos de âmbito geoquímico e de poluição ambiental, quer pela sua elevada toxicidade, torna-se portanto fundamental. A legislação portuguesa [6] estabeleceu para o cádmio total presente em águas residuais um valor máximo admissível de 0,2 mg L⁻¹. A avaliação quantitativa deste elemento tem sido maioritariamente efectuada por espectrofotometria de absorção atómica (EAA) [7], fundamentalmente devido aos limites de detecção alcançáveis por esta metodologia,

sendo aliás esta a base dos processos de referência estabelecidos quer pela norma portuguesa [6], quer pelo Standard Methods of Analysis [8].

A potenciometria, apesar de não permitir determinar níveis de concentração tão baixos quanto a EAA, oferece consideráveis vantagens relativamente a esta, particularmente o baixo custo e simplicidade do equipamento e a facilidade de instalação e de operação das suas montagens. No entanto, são poucas as referências na literatura a determinações potenciométricas convencionais deste metal [9-13]. Ito [9] refere a utilização de eléctrodos, de configuração convencional, sensíveis a Cd(II). Os eléctrodos descritos permitiam efectuar a determinação de Cd(II) com um limite de detecção na ordem de $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, sendo também referida a utilização de uma solução tampão mascarante, composta por salicilaldoxima, que permitia reduzir substancialmente a interferência provocada pelos catiões Cu(II), Pb(II), Fe(III), Ag(I) e Hg(II). Estes eléctrodos tinham, no entanto, os inconvenientes de possuírem solução de referência interna, e não se conheciam as suas características de resposta quando incorporados em sistemas FIP. Foram também propostas outras abordagens baseadas na detecção potenciométrica, utilizando-se titulações potenciométricas convencionais [10-12] e o método da adição padrão [13]. De forma a eliminar efeitos de interferência de matriz foram sugeridas etapas de separação/concentração, baseadas em extracção líquido-líquido com uma solução de ditizona em clorofórmio [10] ou cromatografia de troca iónica [12], ou ainda dupla titulação sobre a mesma amostra [11]. Os sistemas potenciométricos convencionais referidos permitiam a determinação de Cd(II) apenas para teores superiores ao limite inferior de resposta linear dos eléctrodos, os tempos de análise eram longos e os procedimentos laboratoriais complexos.

Por sua vez, as metodologias analíticas baseadas em sistemas de análise em fluxo, permitem não só aumentar a frequência de amostragem, como também melhorar as características operacionais dos diferentes tipos de detectores, particularmente no que diz respeito à selectividade analítica. As metodologias baseadas em fluxo possibilitam um tratamento adequado da amostra, em linha, permitindo não só eliminar interferências de elementos existentes na matriz, como também atingir um limite de detecção adequado ao sistema de detecção, por intercalação de unidades modulares apropriadas para a realização de etapas de separação de interferentes e concentração.

Assim, alguns dos procedimentos analíticos baseados em sistemas FIA, para determinação de Cd(II) frequentemente incluem passos de separação e pré-concentração, que servem para separar o analito de componentes potencialmente interferentes, e também para o concentrar para níveis que permitam a sua determinação [14]. Estes sistemas de pré-concentração em linha apresentam inúmeras vantagens relativamente aos processos de concentração convencionais / manuais [15], sendo de destacar o baixo consumo de amostra (10-100 mL, relativamente a 500-1000 mL em “batch”), a rapidez do processo (5 - 25 amostras h⁻¹) e a minoração de contaminações, atendendo a que a etapa de concentração decorre em circuito fechado, no interior do sistema FIA.

São vários os sistemas de fluxo que descrevem a utilização de EAA [15-28] como processo de detecção, por vezes associada a ICP [15, 18] ou geração de hidretos [21], acoplando sistemas de concentração com resinas quelantes [16-19, 22, 25], processos de precipitação / concentração [20, 26] ou pré-concentração electroquímica [27].

Apesar das vantagens anteriormente referidas decorrentes do uso de detectores potenciométricos, a selectividade limitada dos eléctrodos selectivos de ião de membrana cristalina sensíveis a Cd (II), especialmente em relação ao Cu (II) e Pb (II), é provavelmente a razão principal da escassa aplicação analítica destas unidades [29]. A melhoria deste parâmetro pode, no entanto, ser conseguida pela utilização de soluções com pH e mascarantes de interferentes adequados [9, 29] ou, com etapas de separação / concentração em linha, por exemplo por recurso à formação de complexos. Dado que as reacções de complexação são normalmente muito selectivas, a combinação da complexação com a troca iónica permite a separação de catiões com propriedades químicas similares [30]. A formação de complexos aniónicos de catiões oferece ainda a possibilidade de separação de diferentes catiões por intermédio de permutadores aniónicos. Por esta razão, algumas das separações de iões metálicos mais bem sucedidas foram realizadas utilizando-se resinas aniónicas, nas quais se retiveram complexos aniónicos de metais [31]. A formação de complexos halogenados de metais, do tipo $[MX_4]^{2-}$, carregados negativamente e consequentemente retidos em resinas aniónicas, tem sido, no entanto, pouco explorada e as referências na literatura referem como processos de detecção a espectrofotometria de UV/Vis [32-35], a espectrofotometria

de absorção e emissão atómica [22 - 24] e a quimioluminiscência [36]. Nos trabalhos referidos, recorreu-se à formação de clorocomplexos [32-34, 36], bromocomplexos [23] e iodocomplexos [35] do metal, para promover a sua separação dos interferentes e retenção em resinas aniónicas.

As características favoráveis da detecção potenciométrica, quando usada em sistemas de fluxo [37], permitiam eliminar o efeito de Schlieren, frequentemente referido nos sistemas com detecção espectrofotométrica [32-35], particularmente em montagens com etapa de concentração em linha, e obviar a necessidade de ciclos de lavagem entre as diferentes amostras [38]. Os sistemas de detecção sensíveis a Cd (II), descritos no Capítulo III, apresentavam características adequadas para serem incorporados em sistemas FIA, já que possuíam uma sensibilidade acrescida, o que permitia trabalhar em zonas de concentração muito baixas com maior rigor, e um LRL melhorado relativamente às unidades convencionais [39]: Tendo em conta o exposto, construiu-se um sistema FIA para a determinação deste catião em águas residuais.

Para se poder determinar este catião em concentrações inferiores ao limite inferior de resposta linear do eléctrodo, bem como aumentar a selectividade do sistema relativamente a outras espécies catiónicas, recorreu-se à intercalação de uma etapa de pré-concentração e separação, por formação de clorocomplexos de Cd (II) e introdução de uma resina de troca iónica.

VII - 2 - Parte experimental

2.1 Aparelhagem e eléctrodos

Na preparação dos eléctrodos tubulares, para serem usados em FIA, seguiu-se a metodologia descrita e representada graficamente, pela Fig. 8, do Capítulo II. Os detectores utilizados consistiam de eléctrodos selectivos de ião, de membrana dupla, cujo sensor era constituído por uma mistura de CdS / Ag₂S, na proporção molar 1:10. Utilizou-se um dispositivo electrónico para soma dos potenciais correspondentes a cada uma das membranas sensoras (Capítulo II). As características operacionais destes

sistemas de detecção encontram-se descritas no Capítulo III. As unidades sensoras, depois de construídas, eram polidas e condicionadas em contacto com uma solução de cádmio com concentração igual a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

O eléctrodo de referência, de AgCl/Ag (ORION 90-00-02), de dupla junção, continha uma solução de KNO_3 de concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como solução de referência externa.

A montagem FIA utilizada na determinação do catião cádmio em água foi estabelecida usando-se o equipamento modular referido no Capítulo II. O sistema usado para intercalação das amostras e soluções padrão e reagentes consistia num injector - comutador, igualmente descrito no Capítulo II.

Como método de referência para a determinação de Cd (II) foi utilizada a espectrofotometria de absorção atómica, com recurso a um espectrofotómetro Pye Unicam, modelo SP9.

2.2 Reagentes e soluções

A solução mãe de cádmio era preparada por diluição de uma solução de CdCl_2 de concentração 1000 mg L^{-1} (Titrisol[®] Merck Art. 9960) em água. As soluções padrão eram preparadas diariamente por diluição da solução anterior.

A solução complexante e a solução eluente eram obtidas a partir das respectivas soluções concentradas e padronizadas, sempre que necessário, com padrões primários.

A resina de troca iónica AG[®]1-X8, constituída por grupos funcionais de amónio quaternário ligados a uma rede formada por um co-polímero (divinilbenzeno estireno) foi preparada por empacotamento do permutador básico (AG[®]1-X8, 200-400 mesh (45-106 μm), na forma de cloreto, BIO-RAD Lab.) num tubo de teflon de dimensões 2 cm x 1,85 mm d.i.. Para fixação da resina no interior do tubo utilizaram-se, nas suas extremidades, tampões de esponja de polietileno ou lã de vidro. A resina era condicionada por passagem de uma solução de NaCl de concentração $1-2 \text{ mol L}^{-1}$ através da coluna, durante cerca de 10 minutos. O tempo de vida médio de uma coluna

era de cerca de 1 semana, procedendo-se à sua substituição sempre que se observava um decréscimo acentuado da amplitude do sinal analítico.

Nos estudos de eliminação da interferência do catião cobre usou-se uma resina catiónica quelante, Chelex-100, de granulometria 200-400 mesh, BIO-RAD Lab, com dimensões de cerca de 3 cm x 1,85 mm d.i.. Esta resina era composta por co-polímeros de divinilbenzeno estireno contendo iões iminodiacetato, que actuavam como grupos quelantes, por ligação a iões metálicos polivalentes. O seu condicionamento era efectuado por passagem de uma solução de HNO_3 de concentração 1 mol L^{-1} durante cerca de 5 minutos. O seu tempo de vida médio era de cerca de 8 horas.

2.3 Preparação das amostras

As amostras de águas residuais provenientes de efluentes de tanques industriais foram filtradas por papel de filtro, sempre que apresentavam partículas em suspensão, e inseridas posteriormente na montagem FIA.

Na determinação do teor de cádmio pelo método de referência efectuou-se uma diluição das amostras de forma a que a sua concentração se situasse no intervalo de aconselhado para o espectrofotómetro utilizado, ou seja, de $0,028$ a 2 mg L^{-1} .

2.4 Método de referência

Para avaliar a qualidade dos resultados obtidos com a metodologia FIA desenvolvida, efectuou-se a sua comparação com os valores fornecidos pelo processo de referência, para uma série de amostras de água. Para isso utilizou-se a espectrofotometria de absorção atómica de chama [8] como método de referência. O valor da concentração de cádmio nas diversas amostras foi obtido por interpolação do valor de absorvência na curva de calibração respectiva.

2.5 Montagem FIA utilizada

Foi utilizada uma montagem FIA, esquematizada na Fig. 1, na qual a solução a analisar recebia, por confluência, a solução complexante (RC), composta por NaCl preparado em HCl. Na posição 1 do comutador (P.1), o complexo $[\text{CdCl}_4]^{2-}$ formado passava pela resina permutadora aniónica, colocada na alça do comutador, durante um período de 180 segundos, sendo retido por esta. Após comutação (P.2), a eluição era efectuada, em contra-corrente, por intermédio de uma solução de NaNO_3 (El) promovendo a libertação do analito retido na coluna (R_1), e encaminhando-o para o sistema de detecção. A detecção era efectuada por intermédio de um sistema de detecção de dupla membrana cristalina homogénea de CdS / Ag_2S . Após a leitura do sinal analítico, e retorno deste à linha de base, voltava-se à posição 1 do comutador, iniciando-se um novo ciclo de determinações.

Com o objectivo de se obter uma montagem que permitisse registos analíticos o mais sensíveis possível, numa gama de concentrações também o mais alargada possível e com o máximo de reprodutibilidade, por forma a realizar determinações de Cd(II) em níveis habitualmente presentes nas águas residuais, efectuou-se a optimização do sistema FIA, por calibrações sucessivas. Para o efeito teve-se em linha de conta as concentrações e caudais dos reagentes, tipo e dimensão da coluna de troca iónica, distâncias entre os diversos componentes da montagem e tempos de comutação.

Os resultados obtidos em cada etapa de optimização da montagem foram também verificados, procedendo-se paralelamente a ensaios em “batch”. Estes ensaios visavam permitir tirar conclusões sobre o decurso dos processos químicos que ocorriam nas diferentes etapas do método implementado, nomeadamente na formação do complexo, na retenção deste na coluna de troca iónica e no processo de eluição, de uma forma independente entre si. Os ensaios foram efectuados em três etapas. Na primeira fez-se fluir soluções padrão de cádmio, preparadas em NaCl, por uma coluna de troca

aniónica, com características e dimensões semelhantes à utilizada no sistema FIA, colectando essas soluções à saída da coluna. Nesta etapa pretendia-se estudar a concentração mais adequada de solução de NaCl, usada como complexante, para a formação do complexo aniónico de cádmio (II) de forma a garantir uma retenção o mais completa possível do metal. Numa segunda etapa procedeu-se à determinação do teor em Cd (II) dessas mesmas soluções, por EAA. Numa terceira etapa procedeu-se à intercalação das soluções obtidas na primeira etapa num sistema de fluxo monocanal, esquematizado na Fig. 2. Estas duas últimas etapas permitiam verificar se os resultados espectrofotométricos coincidiam com os potenciométricos, e retirar informação sobre os possíveis estados iónicos em que se encontrava o cádmio presente.

Determinou-se igualmente, por EAA, o teor de catião cádmio nas soluções provenientes dos “esgotos” resultantes da intercalação de soluções padrão no sistema FIA esquematizado na Fig. 1. Desta forma poder-se-ia concluir se ocorriam perdas de cádmio para o esgoto, que conseqüentemente não passava para o sistema de detecção.

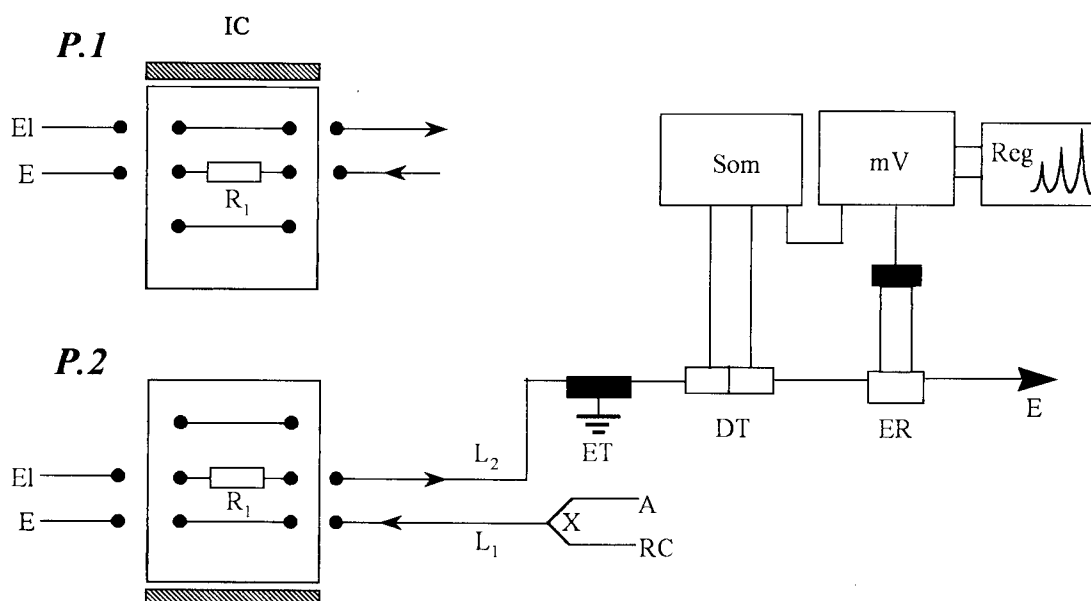


Figura 1 - Montagem FIA para a determinação de cádmio em amostras de águas residuais.

Posições do injetor/comutador: 1 - posição de enchimento; 2 - posição de eluição

Legenda: A - amostra; RC - sol. complexante de NaCl + HCl (2,7 ml min⁻¹);

El - solução eluente de NaNO_3 ($3,0 \text{ ml min}^{-1}$); **IC** - injector / comutador; **R₁** - resina de troca iónica; **L₁** e **L₂** - reactores; **ET** - eléctrodo terra; **DT** - detector potenciométrico de cádmio; **ER** - eléctrodo de referência; **Som** - somador; **mV** - decimilivoltímetro; **Reg** - registador; **E** - esgoto; **X** - confluência.

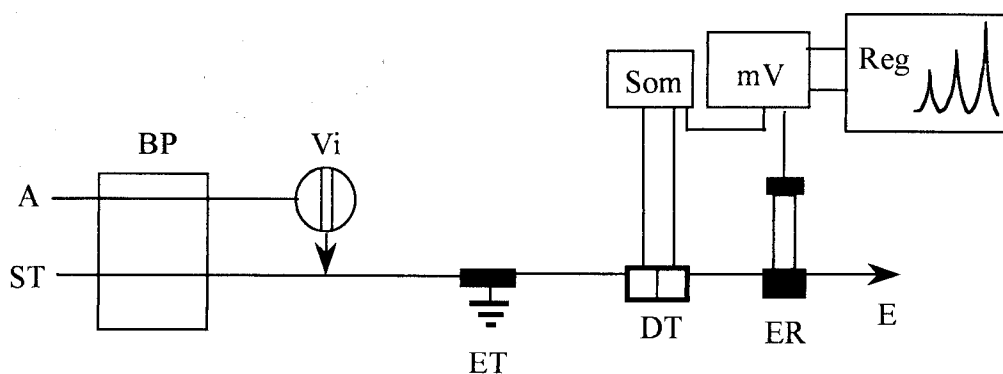


Figura 2 - Montagem FIA monocanal para a optimização das etapas do sistema de determinação de cádmio em amostras de águas residuais.

Legenda: *A* - amostra (200 μL); *ST* - solução transportadora (KNO_3 de concentração 0,1 mol L^{-1}); *ET* - eléctrodo terra; *DT* - detector potenciométrico de cádmio; *ER* - eléctrodo de referência; *Som* - somador; *mV* - decimilivoltímetro; *Reg* - registador; *E* - esgoto; *Vi* - válvula de injeção; *BP* - bomba peristáltica.

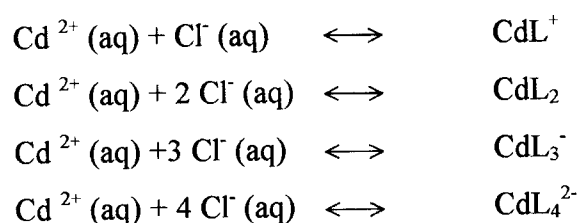
VII- 3 - Resultados e sua discussão

Tendo em conta as boas características operacionais dos detectores potenciométricos sensíveis a cádmio, cuja descrição e avaliação é referida no Capítulo III, particularmente o intervalo de resposta linear (5×10^{-5} - 1×10^{-1} mol L⁻¹), a grande sensibilidade analítica (55,3 mV década⁻¹) e amplo patamar de pH operacional (1,8-8,0), desenvolveu-se uma montagem FIA que, com este sistema de detecção, permitisse efectuar determinações de Cd (II) para níveis de concentração abaixo do limite inferior de resposta linear do eléctrodo.

Como foi referido, com objectivo de aumentar a selectividade da metodologia proposta neste trabalho, além da intercalação de uma resina de troca iónica, para concentrar o metal existente na amostra, promoveu-se uma etapa de formação de um complexo aniónico de Cd (II).

Este catião forma complexos estáveis com os halogenetos em soluções aquosas [40], ocorrendo diminuição da tendência de formação de complexos com a diminuição do peso molecular do halogeneto, ou seja, no sentido iodeto > brometo > cloreto [41]. Neste trabalho optou-se pelo uso de anião cloreto como complexante, tendo por base dois factores: por um lado a existência intrínseca do cloreto na amostra, como elemento maioritário nas águas residuais (relativamente ao brometo e iodeto), o que faz com que uma fracção de catião Cd (II) quando presente em soluções aquosas salinas, exista na forma de tetraclorocadmiato [42]; por outro a elevada estabilidade química das soluções de cloreto, comparativamente com, por exemplo, as soluções de iodeto.

O cádmio forma complexos com o anião cloreto segundo as seguintes reacções [43].



As diferentes estabilidades e cinética de formação dos complexos metálicos, bem como a selecção de uma concentração adequada de reagente complexante e de um permutador iónico conveniente, permitem separar o Cd (II) dos restantes elementos metálicos, como já foi anteriormente demonstrado por outros autores [31-36]. Na Fig. 3 pode-se observar os diferentes coeficientes de distribuição ($\log \chi$) referentes a cobre (II), cádmio (II) e chumbo (II), em função da concentração de anião cloreto, numa resina permutadora aniónica do tipo da utilizada neste trabalho [31]. Desta forma, tendo em conta os diferentes coeficientes de distribuição, bem como a dependência da concentração em cloreto para a formação dos respectivos complexos, pretendeu-se conseguir eliminar a interferência de outros metais. A utilização de uma resina aniónica, concentrações adequadas de Cl^- e relações favoráveis de caudais e reactores, permitiriam estabelecer condições experimentais para formação e retenção do complexo $[\text{CdCl}_4]^{2-}$, havendo eliminação dos outros catiões metálicos (particularmente o Cu (II) e o Pb (II)) para o esgoto.

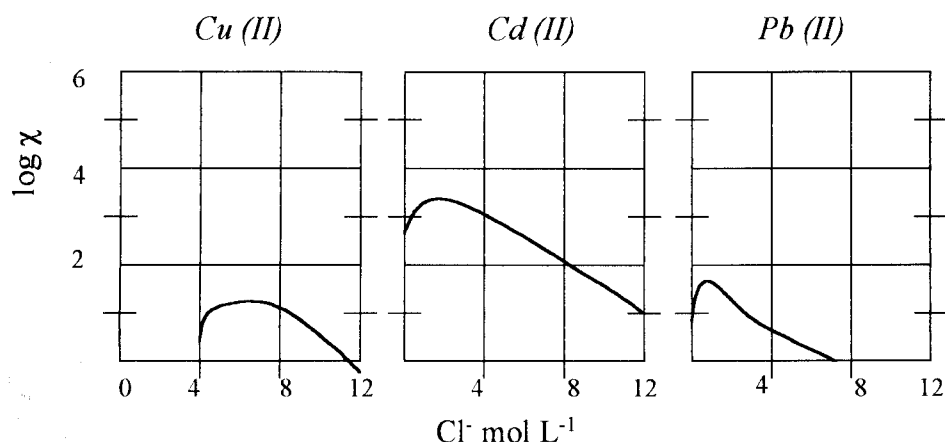


Figura 3 – Coeficientes de distribuição ($\log \chi$) referentes a cobre (II), cádmio (II) e chumbo (II) numa resina permutadora aniónica Dowex 1-X8, em função da concentração de anião cloreto [31].

A concentração de anião cloreto (RC) necessária à completa formação do complexo $[\text{CdCl}_4]^{2-}$ foi estudada para um intervalo de concentração de 0,01 a 2,0 mol L^{-1} , usando soluções de diferente composição: NaCl, HCl e NaCl preparada em HCl. Optou-se por não testar soluções de cloreto de concentração superior a 2,0 mol L^{-1} , quer para evitar a formação de clorocomplexos com outros cátions metálicos [31-32, 44] (nomeadamente com o catião Cu(II), Zn, Co, Fe e Mn), quer porque, para elevadas concentrações de cloreto, este poderia passar também a actuar como eluente do complexo de cádmio retido, conduzindo a perdas do metal para o esgoto, com consequente diminuição da sensibilidade analítica. A presença de um meio ácido, estabelecido por intermédio de uma solução de HCl, já anteriormente referida por outros autores [32-34], revelou-se importante na formação do complexo, tendo-se verificado que, na sua ausência, havia um grande decréscimo da amplitude de sinal analítico registado. As variações na sua concentração, para valores entre $1,0 \times 10^{-3}$ e $1,0 \times 10^{-1}$ mol L^{-1} , não provocavam alterações significativas na altura do sinal analítico, pelo que se escolheu a concentração de $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} . Estes estudos foram efectuados, em triplicado, na montagem FIA esquematizada na Fig. 1.

Todas as soluções testadas como complexante na montagem FIA (Fig. 1) foram igualmente avaliadas em “batch” por determinação, por EAA, do teor de Cd(II) existente na solução, após passagem por uma coluna de troca iónica com características similares à usada na montagem FIP. Verificou-se que, para valores de solução de cloreto de sódio inferiores a 0,40 mol L^{-1} , não havia completa retenção do analito na resina, registando-se a presença de cádmio na solução encaminhada para o esgoto. O valor de concentração de 0,45 mol L^{-1} foi o valor mínimo que se mostrou suficiente para garantir a complexação quantitativa de cádmio, o que está de acordo com os valores apresentados por outros autores [34]. Como reagente complexante optou-se então por uma solução de NaCl de concentração 2,0 mol L^{-1} , preparada em HCl $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} , tendo em conta que esta sofreria diluição no ponto de confluência (X) com a amostra (A) (Fig. 1). O valor de cloreto pretendido, cerca de 0,45 mol L^{-1} , era conseguido ajustando adequadamente a relação dos dois caudais (A e RC).

Estabeleceu-se uma razão teórica de caudais de 1 : 3,5, para o canal de solução complexante (RC) e de amostra (A), respectivamente, valor este que garantia uma

diluição de cerca de 22 % da solução complexante (RC) ao nível da confluência. Desta forma obtinha-se uma concentração de cloreto suficiente para que ocorresse uma total complexação do Cd (II) intercalado (concentração de cloreto de cerca de $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ no ponto de confluência) e adicionalmente estabelecia-se uma situação de compromisso evitando que ocorresse um grande consumo de amostra e uma elevada dispersão da mesma.

Um dos parâmetros mais relevantes do sistema estudado prende-se com a dimensão da coluna de troca iónica e com a granulometria das partículas suas constituintes. Embora o tamanho da coluna seja fundamental para o sucesso da etapa de concentração, comprimentos elevados podem, contudo, não ser convenientes por implicarem grande consumo de permutador iónico, aumentarem a pressão hidrodinâmica do sistema e favorecerem a dispersão da amostra, com consequente diluição, durante a etapa de eluição. A capacidade de resolução de uma coluna está também condicionada pela granulometria do material de empacotamento que a constitui, sabendo-se que o uso de partículas com menor granulometria permite a utilização de colunas de troca iónica de menores dimensões. Optou-se neste caso por uma resina com granulometria de 200-400 mesh. Estas dimensões garantiam uma boa eficiência de separação e permitiam a construção de uma coluna de dimensão suficientemente reduzida para que não houvesse um grande acréscimo de pressão.

Foram testadas diferentes dimensões para a coluna de troca iónica, variando-se o seu comprimento para valores entre 2 e 10 cm, como se representa na Fig. 4. Para isso intercalaram-se diferentes soluções padrão de cádmio ($1,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), na montagem esquematizada na Fig. 1, e registaram-se os respectivos sinais analíticos. Verificou-se que comprimentos superiores a 5 cm produziam pressões hidrodinâmicas muito elevadas no interior do sistema, variações abruptas de caudal, e o aparecimento de picos “negativos”, provavelmente resultantes da grande dispersão sofrida pela amostra na etapa de eluição. No intervalo de comprimentos de 2 a 5 cm não se verificavam alterações significativas na altura do sinal analítico e a sobrepressão do sistema era substancialmente reduzida, pelo que se optou, para este parâmetro, pelo comprimento mais reduzido possível (2 cm).

Esta opção foi também validada por estudos efectuados em “batch”, após passagem de 20,0 ml de solução de cádmio, de concentração $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, pela

coluna, e determinação do teor de Cd(II) nessa mesma solução, imediatamente após essa passagem. Para realizar estes estudos escolheu-se para a solução padrão de cádmio uma concentração intencionalmente elevada, para que pudesse ser considerada uma concentração extrema relativamente aos valores de Cd(II) habitualmente existentes nas amostras. Desta forma garantia-se que, se não ocorresse saturação para este nível de concentração, não ocorreria certamente para teores de Cd (II) mais baixos. A concentração de Cd (II) determinada na solução recolhida à saída da coluna, por EAA, era desprezável, provando que a resina, com as dimensões de 2 cm x 1,85 mm, tinha uma elevada capacidade de retenção.

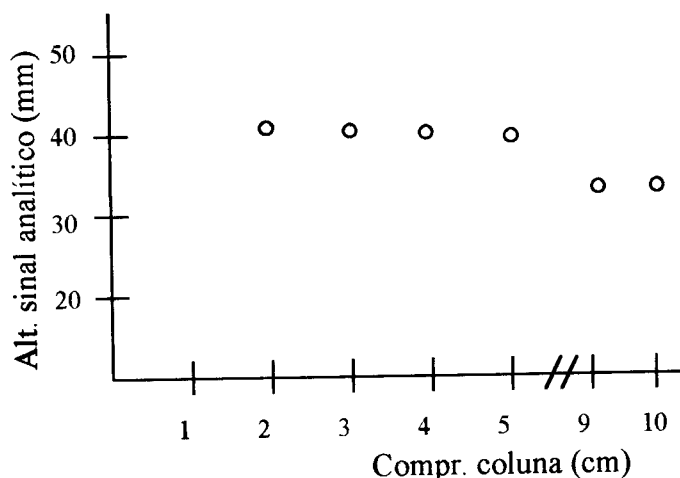


Figura 4 - Variação da altura do sinal analítico com o comprimento da coluna de permuta iónica (1,85 mm d.i.), por passagem de uma solução padrão $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} de Cd(II) preparada em cloreto.

Fixadas as condições que determinam a fase de pré-concentração da amostra fizeram-se estudos sobre a composição da solução eluente. Estudaram-se diferentes eluentes (El), designadamente soluções de NaCl, NaNO₃, NaNO₂, KNO₃ ou H₂O. Verificou-se que o processo de eluição obtido com soluções diluídas de NaCl (para valores de concentração entre 1×10^{-4} e 1×10^{-3} mol L^{-1}), ou apenas com H₂O, conduzia a

uma etapa de eluição lenta e incompleta. Adicionalmente, a eluição por intermédio de H_2O exigia a intercalação de uma solução ajustadora de força iónica através de uma segunda confluência, situada antes do detector, conduzindo por esse facto à dispersão da amostra eluída e consequentemente à diminuição da sensibilidade analítica. A escolha de soluções eluentes compostas pelos iões NO_3^- (Fig. 5 B-F) e NO_2^- (Fig. 5 A), deve-se à maior afinidade destes aniões para o tipo de resina aniónica escolhida (selectividade relativa de 65 e 24, respectivamente [45]) comparativamente com o cloreto (selectividade relativa de 22 [45]). Estas soluções produziam respostas diferentes, consoante o contra-ião presente; a solução de NaNO_3 proporcionava uma eluição mais rápida e reprodutível do que a que resultava da eluição com as soluções de NaNO_2 e KNO_3 . A solução de NaNO_2 originava um sinal analítico que não regressava ao valor de potencial correspondente à linha de base, o que poderá ser explicado pela formação de nitritocomplexos de cádmio [46] responsáveis pela diminuição do teor de Cd (II) livre em solução.

Dos eluentes estudados foi escolhida a solução de NaNO_3 porque proporcionava uma rápida eluição e sinais analíticos com melhores características de reprodutibilidade. Periodicamente (1 vez por dia ou sempre que se notava irreprodutibilidade dos sinais analíticos) procedia-se a um condicionamento da coluna de troca iónica com uma solução de cloreto, dado que a constante passagem da solução eluente contribuía para uma conversão desta à forma de nitrato.

Foram então testadas concentrações variáveis deste composto químico, entre 0,10 e 2,0 mol L^{-1} , na presença e ausência de HNO_3 (Fig. 5), dado que estudos anteriores [32-34, 36] sugeriam uma melhoria do processo de eluição quando este decorria em meio ácido. Verificou-se que a concentração de anião nitrato não era, no entanto, determinante no processo de eluição, dado que praticamente não ocorria alteração na amplitude do sinal analítico com a variação da concentração deste.

Por sua vez, a opção por uma solução ácida (NaNO_3 em HNO_3) (Fig 5 (c)) obrigava à intercalação de um sistema tampão por forma a evitar gradientes de pH na resposta do detector potenciométrico, o que conduziria à consequente dispersão do analito. Foi pois seleccionada como eluente uma solução de NaNO_3 de concentração 1,0 mol L^{-1} , concentração esta suficiente para permitir a eluição total do cádmio retido, servindo simultaneamente como solução ajustadora da força iónica.

Mais uma vez, os estudos efectuados, quer por EAA quer usando o sistema de fluxo esquematizado na Fig. 2, com determinação da razão da concentração de Cd(II) intercalado relativamente à concentração de Cd (II) presente na solução após eluição, comprovaram que a etapa de eluição para a solução escolhida ocorria correctamente, com um rendimento próximo dos 100%.

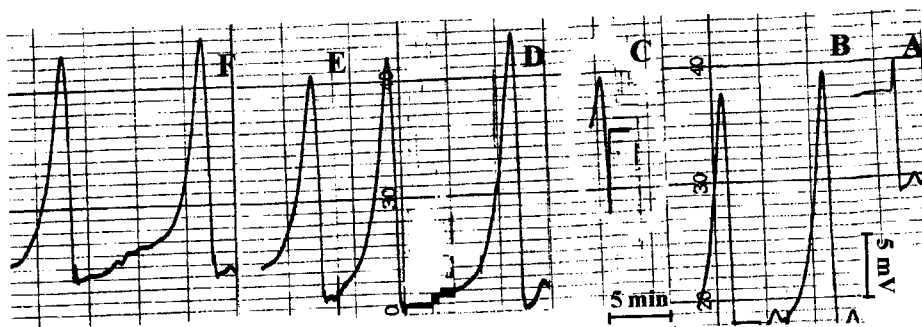


Figura 5 - Registos analíticos resultantes da eluição com diferentes soluções.

Legenda : Solução padrão de cádmio $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$,

Eluentes - A - NaNO_2 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$; B - NaNO_3 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$;

C - NaNO_3 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ + HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; D - NaNO_3 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$;

E - KNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$; F - NaNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

Dado que o permutador iónico era constituído por partículas com uma granulometria muito pequena, e por forma a evitar o empacotamento gradual e consequentemente a sua obstrução, realizou-se a eluição em contra-corrente.

Os caudais usados em sistemas de concentração em linha devem ser estabelecidos de modo a não comprometer a cinética da troca iónica, nem variar drasticamente a pressão do sistema, por forma a garantir uma retenção quantitativa do analito.

No estudo do caudal do canal amostra (A) + reagente clorocomplexante (RC) foi tida em conta não só a pressão imposta pelo valor escolhido mas também a razão dos caudais, que condicionava a diluição da solução complexante (RC) que deveria ser mantida num valor de concentração próximo de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Este factor é de relevante importância porque, embora seja necessário assegurar que, para as concentrações de cádmio em análise, a solução de cloreto seja suficiente para complexar todo o cádmio existente, é necessário também garantir a menor dispersão da amostra, assim como o seu consumo mínimo. Como tal optou-se, como se referiu, por uma relação teórica de caudais de 3,5 : 1.

Relativamente ao caudal da solução eluente, o seu valor foi estabelecido por forma a garantir uma eluição completa do complexo, que se traduzia numa sensibilidade elevada, permitindo contudo a obtenção de um ritmo de amostragem razoável.

Os caudais do canal amostra + reagente clorocomplexante, bem como da solução eluente, foram estudados para valores entre $0,75$ e $3,75 \text{ mL min}^{-1}$, como se representa nas Fig. 6, 7 e 8. Verificou-se que este parâmetro tinha, fundamentalmente, influência sobre a pressão hidrodinâmica exercida no interior do sistema e no ritmo de amostragem, sem alteração significativa na capacidade de retenção e eluição das soluções. Para valores de caudal elevados, superiores a $3,1 \text{ mL min}^{-1}$ ocorria gotejamento de solução nas extremidades da resina devido a uma excessiva pressão; optou-se por isso por um caudal da solução complexante total de $2,7 \text{ mL min}^{-1}$, sendo de $0,6 \text{ mL min}^{-1}$ para RC e $2,1 \text{ mL min}^{-1}$ para o canal da amostra (concentração de Cl^- aproximada de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ na zona de confluência) e de $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ para o canal eluente (El).

Efectuaram-se igualmente estudos em "batch", para avaliação da influência dos caudais no desenvolvimento das etapas de complexação e eluição. Para o efeito, utilizaram-se duas bombas peristálticas, uma mantendo o caudal fixo e a outra proporcionando caudais variáveis. Desta forma, poder-se-ia fixar o caudal da solução complexante, enquanto se estudava a variação do caudal do eluente e vice-versa. As soluções de cádmio testadas eram preparadas em $\text{NaCl } 0,50 \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$; os eluatos eram posteriormente injectados no sistema de fluxo monocal (Fig. 2),

determinando-se a amplitude do sinal analítico obtido em função dos valores de uma curva de calibração previamente estabelecida. Desta forma comprovou-se que, com os caudais implementados, não ocorria perda de analito para o esgoto, sendo os valores de caudal seleccionados adequados aos processos de concentração e eluição.

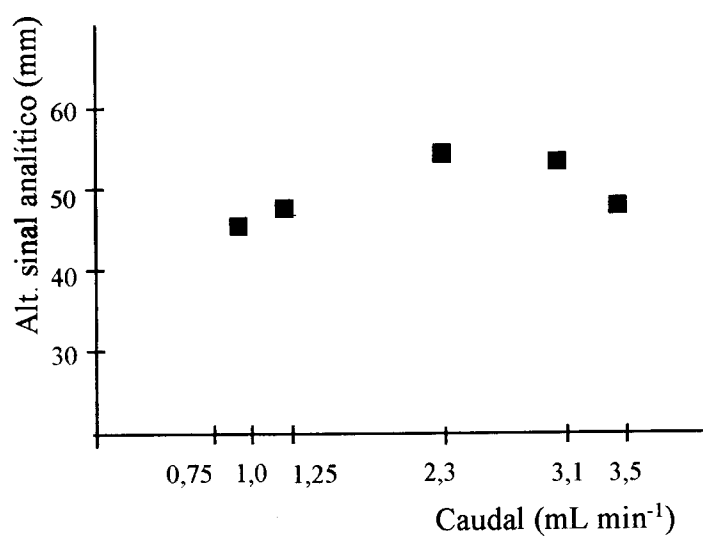


Figura 6 - Estudo da variação da altura de sinal analítico em função do caudal.

Legenda: □- caudal da solução complexante + amostra, para um caudal de solução eluente fixado em 1,75 mL min⁻¹.

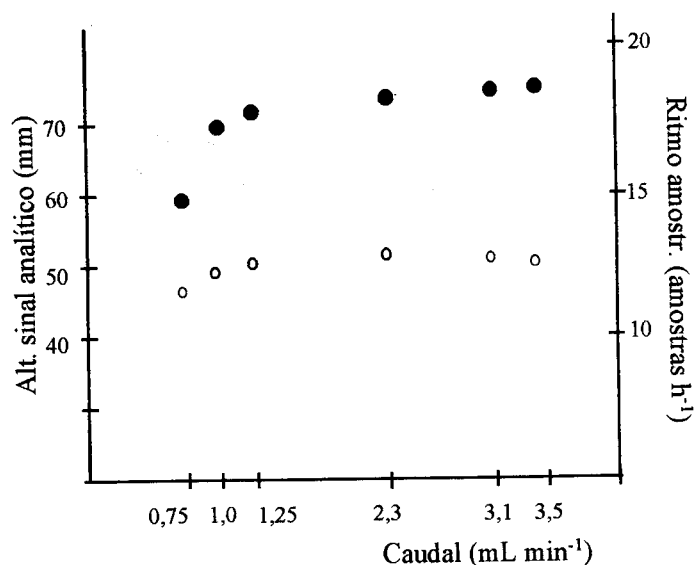


Figura 7 - Estudo da variação da altura de sinal analítico e do ritmo de amostragem em função do caudal.

Legenda: ● - variação do ritmo de amostragem com diferentes valores de caudal da solução eluente;
○ - caudal da solução eluente, para um caudal de solução complexante + amostra fixado em $2,7 \text{ mL min}^{-1}$.

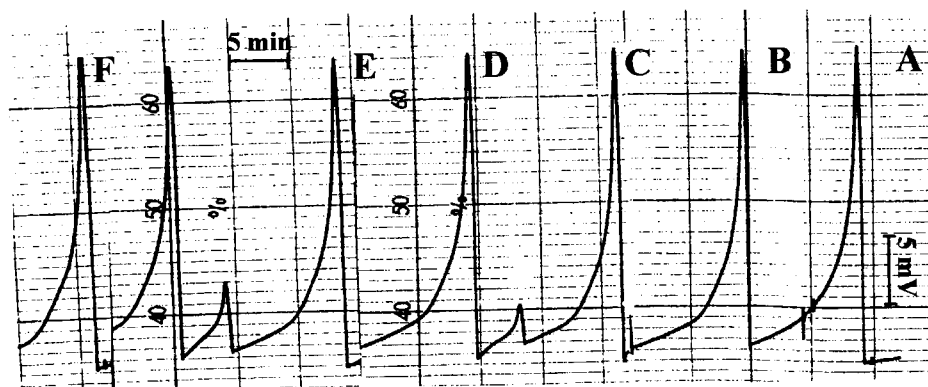


Figura 8 – Registos dos sinais analíticos obtidos quando, para um caudal de solução complexante + amostra fixado em $2,7 \text{ mL min}^{-1}$, por variação do caudal da solução eluente de NaNO_3 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (solução padrão de Cd(II) $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$).

Legenda: A - $0,75$; B - $1,0$; C - $1,4$; D - $2,2$; E - $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ e F - solução de NaNO_3 2 mol L^{-1} com caudal $3,0 \text{ mL min}^{-1}$.

O tempo de enchimento da coluna foi também estudado para o valor de caudal fixado em $2,7 \text{ mL min}^{-1}$. Verificou-se que, para intervalos de tempo de 30 a 180 segundos, o Cd(II) era quantitativamente retido, enquanto que para valores superiores a 240 segundos ocorria perda de cádmio, dado que o cloreto presente em RC passava a actuar, conjuntamente com o nitrato, também como eluente. Foi escolhido um tempo de enchimento de 180 s, valor este que estabelecia um compromisso entre o ritmo de amostragem e a sensibilidade do sistema (Fig.9 e 10).

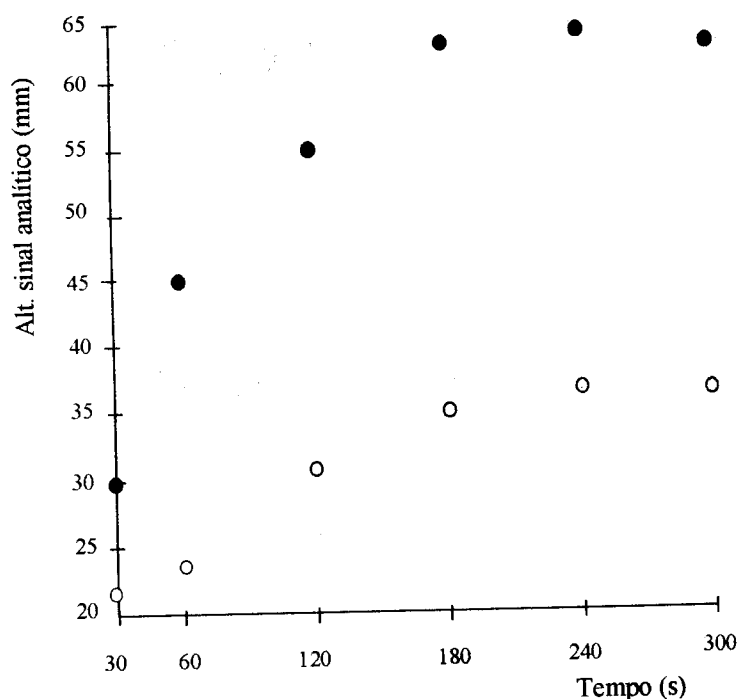


Figura 9 - Estudo da variação da altura do sinal analítico em função do tempo de enchimento da coluna de troca iónica, nas condições de caudal fixadas anteriormente.

Legenda: ● - solução padrão de Cd(II) de $112,4 \text{ mg L}^{-1}$ ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$),
○ - solução padrão de Cd(II) de $11,2 \text{ mg L}^{-1}$ ($1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$).

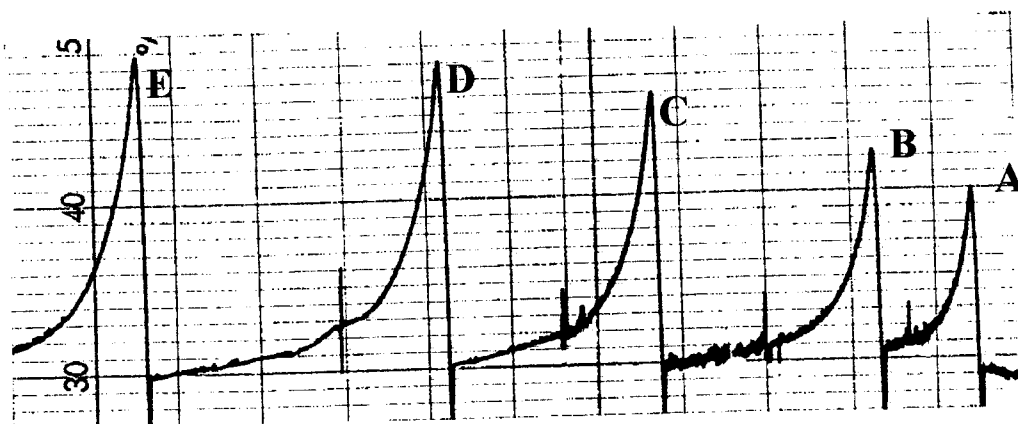


Figura 10 - Registos analíticos referentes a uma solução padrão de Cd(II) de 11,2 mg L⁻¹, em função do tempo de enchimento da coluna de troca iónica, nas condições de caudal fixadas anteriormente.

Legenda : Tempos de enchimento A - 30; B - 60; C - 120; D - 180 e E - 210 s.

O comprimento do reactor L₁, situado entre a confluência X e a coluna permutadora (Fig. 1), foi estudado tendo em conta a extensão e cinética da reacção de formação do clorocomplexo metálico. Foram testadas diferentes dimensões desse reactor para valores entre 5 e 100 cm. Optou-se pelo comprimento de 30 cm visto que, para distâncias mais curtas não ocorria a complexação completa de Cd (II), e comprimentos superiores a 30 cm, além de favorecerem o aumento da dispersão da amostra, não traziam qualquer benefício na extensão da reacção, conduzindo a um desnecessário abaixamento do ritmo de amostragem, como se pode verificar nos resultados apresentados na Fig. 11.

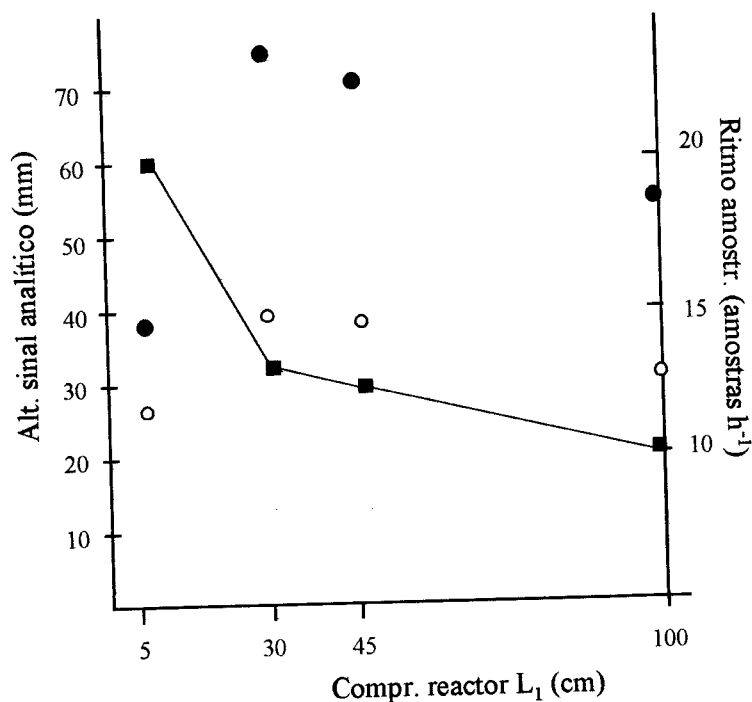


Figura 11 - Estudo da variação da altura do sinal analítico em função do comprimento do reactor (● - solução padrão de Cd(II) de concentração 1000 mg L^{-1} ; ○ - solução padrão de Cd(II) de concentração $56,2 \text{ mg L}^{-1}$).

Variação do ritmo de amostragem com a dimensão de L_1 (■).

O comprimento do reactor L_2 (Fig. 1) foi também estudado, para valores entre 15 e 100 cm, de acordo com o gráfico representado na Fig. 12. A distância escolhida foi a menor distância operacionalmente conseguida, que permitia uma ligação estável entre os diferentes componentes da montagem FIA, evitando-se a dispersão da amostra e tentando conseguir-se um ritmo de amostragem o mais elevado possível.

A eliminação de interferências eléctricas no sistema implementado foi conseguida pela intercalação, imediatamente antes do detector potenciométrico, de um contacto de terra ("eléctrodo terra").

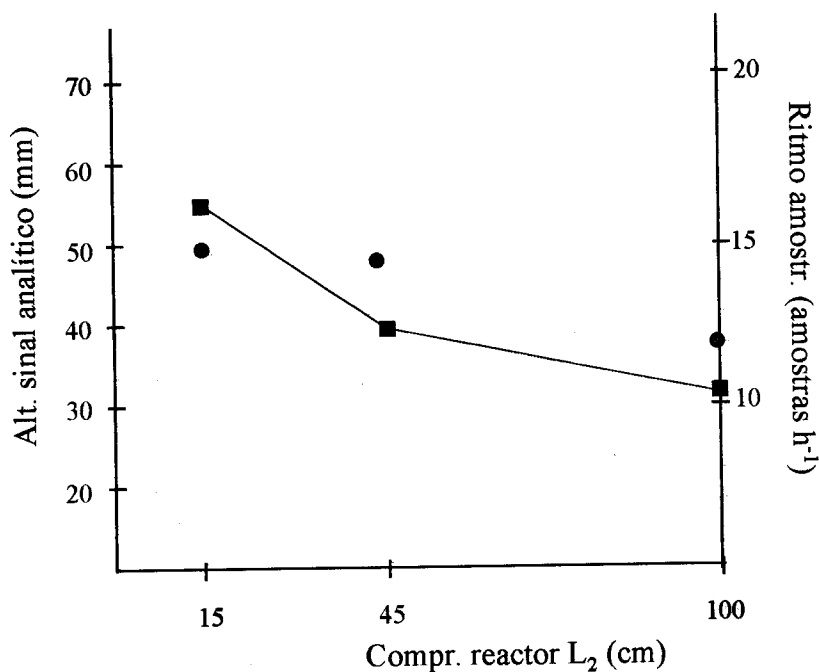


Figura 12 - Estudo da variação da altura do sinal analítico (●) e do ritmo de amostragem (■) em função do comprimento do reactor L_2 , para a solução padrão de Cd(II) de concentração 1000 mg L^{-1} .

A repetitibilidade dos sinais analíticos foi determinada fazendo doze injeções sucessivas de soluções padrão de cádmio com concentração igual a $0,11$ e $0,56 \text{ mg L}^{-1}$, tendo-se obtido valores de desvio padrão relativo com variações inferiores a $1,5 \%$.

O sistema FIA otimizado proporcionava um ritmo de amostragem de $15\text{-}20$ amostras h^{-1} , permitindo proceder a determinações analíticas numa gama alargada de concentrações de cádmio de $0,056$ e $56,2 \text{ mg L}^{-1}$.

Avaliação do grau de extensão de interferência do catião cobre e chumbo.

Os principais catiões cujo grau de interferência é significativo na resposta do eléctrodo sensível a cádmio usado são o cobre e o chumbo (valores de K^{pot} de 8,4 e 1, respectivamente), como foi referido no Cap. III. Uma vez que é comum a presença destes iões em conjunto com o cádmio, em águas residuais, impõe-se uma avaliação da sua influência nos resultados analíticos.

Foram efectuados estudos de avaliação da interferência destes iões no sistema desenvolvido, para um intervalo de concentração de ião interferente de $1,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Foram propostas duas abordagens para eliminação das interferências dos catiões referidos; a primeira consistia na execução de ciclos de lavagem da coluna permutadora com H_2O , antes da comutação para a etapa de eluição, de forma a eliminar a amostra remanescente no volume intersticial da resina, enquanto o catião cádmio, sob a forma de clorocomplexo, permanecia adsorvido nos seus locais activos; a segunda abordagem consistia na inserção de uma resina de troca catiónica (Chelex-100), imediatamente após a coluna $\text{AG}^{\text{®}}$ 1-X8 (Fig. 13), de forma a promover a retenção dos catiões não complexados com o cloreto (fundamentalmente o Cu (II) e Pb (II)).

Para efectuar estes estudos foram intercaladas soluções puras de cádmio (de concentrações no intervalo de 0,056-56,2 mg L^{-1}) e soluções de cádmio adicionadas de Cu (II) e Pb (II) com concentrações variáveis, no intervalo acima referido. Verificou-se que, para qualquer uma das abordagens, quer pelos ciclos de lavagem, quer pela inserção da coluna quelante, o teor de Cd (II) não sofria alteração. Por sua vez os dois catiões interferentes responderam de forma distinta perante cada uma das alternativas propostas. No caso do cobre, dada a sua alta afinidade para a resina Chelex-100 (selectividade de 126 relativamente à afinidade do catião Zn(II), tomado como referência [45]), conseguiu-se eliminar totalmente a sua passagem para o sistema de detecção, por retenção na resina quelante, mesmo para concentrações na ordem dos $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, valor suficientemente alto relativamente ao existente nas amostras ensaiadas. Desta forma conseguia-se, mesmo para teores de interferente 10 a 100 vezes

superiores ao teor de Cd (II) presente, uma eliminação praticamente total do Cu (II) existente. Os ciclos de lavagem eram menos eficazes para concentrações na ordem de grandeza referida, ocorrendo passagem de Cu (II) para o sistema de detecção.

O chumbo (II) apresentava uma baixa afinidade para a resina Chelex-100 (selectividade de 3,88 relativamente à afinidade do catião Zn(II) [45]), sendo fracamente retido por esta mas, por sua vez, era completamente eliminado para esgoto pela lavagem com H₂O, com ciclos de duração entre 30 a 60 s. Desta forma para concentrações de Pb (II) 10 a 100 vezes superiores à de Cd(II) conseguia-se uma eliminação do interferente na ordem dos 100%.

Concluiu-se portanto que, segundo a origem das águas a analisar, conseguia-se por um ou outro processo eliminar a interferência dos dois catiões citados, sem que qualquer deles conduzisse a alterações do teor de catião Cd (II) determinado.

Já depois da conclusão deste trabalho surgiram na literatura duas abordagens diferentes para a eliminação de interferentes químicos [9, 29]. Ito [9] propôs uma metodologia baseada na detecção potenciométrica, que recorria à utilização de uma solução tampão mascarante com salicilaldoxima, de pH 6,15 em TISAB, que permitia reduzir substancialmente a interferência dos catiões Cu (II), Pb (II), Fe (III), Ag (I) e Hg (II). Por sua vez, Trojanowicz [29] propunha diversas alternativas de mascarantes químicos e permuta iónica para eliminar as interferências provocadas por Fe (III), Cu (II) e Pb (II), nomeadamente efectuando uma redução com hidroxilamina, complexação com neocuproina e retenção por um permutador aniónico (Amberlite IRA 400 na forma de sulfato ou cromato), respectivamente.

Embora a solução implementada neste trabalho apresente certas limitações relativamente às referências citadas [9, 29] apresenta, no entanto, algumas vantagens, nomeadamente o facto de se tratar de uma montagem simples, sem necessidade de criar um canal adicional para inserção da solução mascarante, permitindo inclusivamente, numa fase posterior do trabalho, determinar igualmente o catião Cu (II) por eluição do metal retido na resina quelante. Desta forma o sistema poderia ser utilizado para uma determinação biparamétrica dos metais Cd (II) e Cu (II).

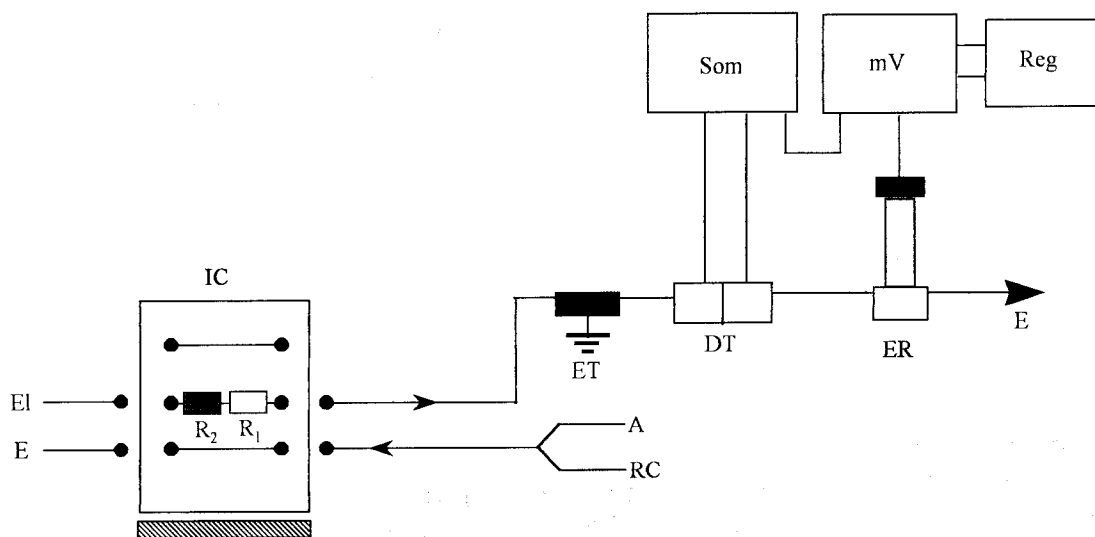


Figura 13 - Sistema FIA para a determinação de cádmio em amostras de águas residuais, com inclusão da resina quelante para eliminação da interferência do catião Cu(II).

Legenda: A - amostra; RC - solução complexante de NaCl + HCl; EI - solução eluente de NaNO₃; IC - injetor/ comutador; R₁ - resina de troca iónica (AG[®]1-X8); R₂ - resina quelante (Chelex-100); ET - eléctrodo terra; DT - detector potenciométrico de cádmio; ER - eléctrodo de referência; Som - somador; mV - decimilivoltímetro; Reg - registador; E - esgoto.

VII - 4 - Determinação de cádmio em águas residuais

Utilizando a montagem FIA com detecção potenciométrica, representada na Fig. 1, foi possível obter características analíticas adequadas ao estudo de amostras reais, pelo que se procedeu ao doseamento do catião Cd (II) em diferentes amostras de águas. A aplicabilidade do sistema FIA descrito foi testada efectuando-se análises dos teores de cádmio em 12 amostras de águas residuais provenientes de efluentes e tanques industriais, particularmente de galvanoplastias. As calibrações dos sistemas FIA foram efectuadas pela injeção, em triplicado, de diferentes soluções padrão de cádmio com concentrações que variavam entre 0,056 e 56,2 mg L⁻¹. A determinação analítica das amostras foi efectuada por medição das respectivas alturas do sinal analítico e interpolação na curva de calibração correspondente. Um fiograma característico, representativo dos resultados obtidos com o sistema implementado, encontra-se representado na Fig. 14.

Na Tabela I encontram-se resumidos os resultados referentes às determinações efectuadas sobre as amostras, quer pela metodologia FIA quer pelo procedimento de referência.

A qualidade dos resultados obtidos pelo sistema FIA implementado (C_F) foi avaliada relativamente aos resultados obtidos pelo método de referência (C_R). Estabeleceu-se uma relação cujos parâmetros da regressão linear bem como os respectivos limites de confiança, para uma probabilidade de 95 %, são:

$$C_F = -3,30 (\pm 1,5) + 1,09 (\pm 3,0 \times 10^{-2}) C_R \text{ mg L}^{-1} \quad (r = 0,9990)$$

o que revela o bom acordo entre as duas metodologias FIA relativamente ao procedimento de referência (Fig. 15).

Foi também efectuado o teste t de student na análise comparada dos resultados, originando valores de $t = 0,873$. Para um nível de confiança de 95% ($t_{0,025} = 2,201$) [47]

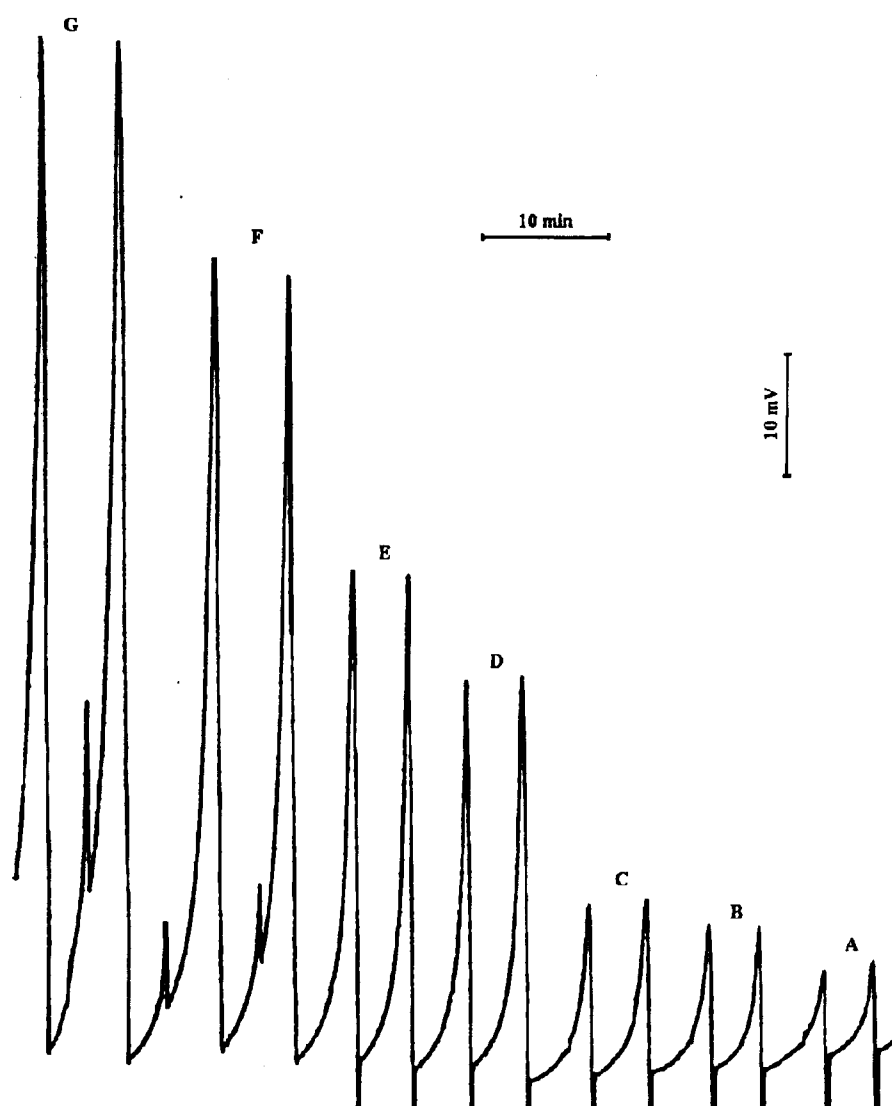


Figura 14 - Registo de uma calibração do sistema de detecção potenciométrico de dupla membrana correspondente à intercalação de um conjunto de soluções padrão.

Legenda: Soluções utilizadas : A - 0,056; B - 0,084; C - 0,11; D - 0,56; E - 1,12; F - 11,2 e G - 56,2 mg L⁻¹

Tabela I. Resultados obtidos na determinação de cádmio em águas residuais pela metodologia FIA com detecção potenciométrica e pelo método de referência (EAA).

<i>Amostra</i>	<i>FIA</i> (mg L ⁻¹) ^a	<i>REF</i> (mg L ⁻¹) ^b	<i>DR</i> (%)
1	47,1±0,90	47,4	-0,63
2	35,9±0,60	35,3	1,7
3	27,4±0,90	27,7	-1,1
4	37,6±0,20	38,3	-1,8
5	11,1±0,20	13,9	-20
6	19,1±0,10	20,0	-4,5
7	34,3±0,60	35,3	-2,8
8	96,9±1,2	91,6	5,8
9	45,0±0,70	42,2	6,6
10	35,8±0,30	35,4	1,1
11	35,8±0,10	35,3	1,4
12	67,6±1,2	64,6	4,6

^a Valores médios e correspondentes desvios padrão de três determinações efectuadas sobre a mesma amostra pela metodologia FIA.

^b Determinações efectuadas sobre a mesma amostra pela metodologia de referência [8].

confirma-se a hipótese nula, podendo considerar-se estatisticamente equivalentes os resultados fornecidos pelo método FIA relativamente ao método de referência.

A precisão dos resultados obtidos, para 10 injeções sucessivas de 2 amostras (de concentrações 23 e 54,8 mg L⁻¹) originaram desvios padrão relativos da amplitude do sinal analítico inferiores a 1,5%. Estes valores assemelham-se aos anteriormente descritos [18, 20, 26, 32-34] embora, relativamente a alguns casos [23, 25, 35, 36], se note uma melhoria muito considerável da precisão analítica da determinação.

Este sistema permite a determinação de cádmio para níveis de concentração duas décadas abaixo do limite inferior de resposta linear do detector usado, até um valor de 5×10^{-7} mol L⁻¹, possibilitando a determinação deste catião no intervalo de 0,056 a 56,2 mg L⁻¹. Comparativamente com a espectrofotometria de absorção atômica com chama (determinações no intervalo de concentração de 0,028 a 2,0 mg L⁻¹), o método potenciométrico proposto permite trabalhar numa gama muito mais alargada de concentrações e apresenta um limite de detecção de 0,011 mg L⁻¹.

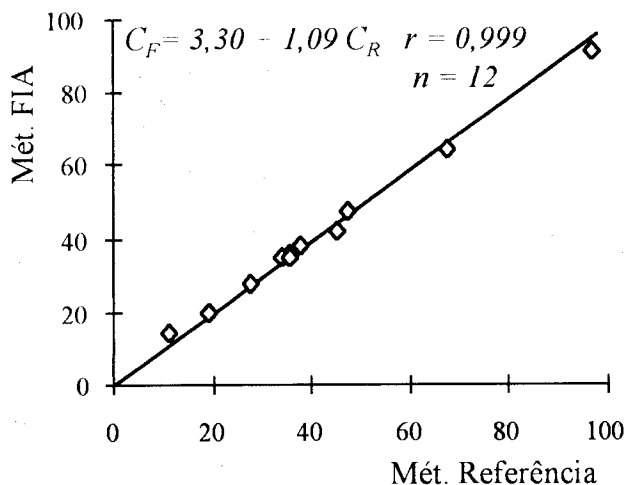


Figura 15 - Avaliação comparativa dos resultados obtidos no doseamento de cádmio (II) em águas residuais pela metodologia FIA e de referência.

VII - 5 - Conclusões

O sistema desenvolvido constitui uma boa alternativa aos métodos anteriormente descritos para a determinação potenciométrica de catião cádmio [9-13]. Este sistema FIA permite a determinação potenciométrica de cádmio para níveis de concentração inferiores ao limite inferior de resposta linear do eléctrodo, e a incorporação da resina de troca aniónica além do efeito de concentração do analito permitiu também aumentar a selectividade da metodologia, eliminando possíveis interferentes, nomeadamente os catiões cobre (II) e chumbo (II). O uso de detectores potenciométricos de duas membranas permitiu realizar as determinações analíticas com maior sensibilidade analítica, particularmente para teores de Cd (II) inferiores ao LIRL. Este método concorre favoravelmente com a EAA com chama, permitindo trabalhar numa gama de concentrações muito mais alargada e com um limite de detecção de $0,011 \text{ mg L}^{-1}$.

As águas analisadas apresentam teores de cádmio muito elevados, dado que provêm de efluentes e tanques industriais de galvanoplastias, sendo em todos os casos, muito superiores aos limites admitidos pelas normas portuguesas [6].

O método proposto é económico, quer pelo tipo de detector utilizado quer pelo baixo consumo de reagentes (220 mg NaCl e 770 mg NaNO₃ por determinação) sendo uma boa alternativa aos dispendiosos métodos espectrofotométricos [15-28, 32-35]. Além disso, é facilmente automatizável e implementável em qualquer laboratório de controlo analítico, necessitando de reduzida manutenção.

Referências Bibliográficas

- [1] J. Rodier, L'Analyse de l'eau., 7th Edition, Dunod Technique, Paris, **1984**.
- [2] Casarett & Doull's Toxicology : The Basic Science of Poisons. 5th Edition. McGraw-Hill, New York, **1996**.
- [3] Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Edition, McGraw-Hill, New York, **1996**.
- [4] WHO - World Health Organization, Evaluation of certain food additives and the contaminants mercury, lead and cadmium, WHO Tech. Rep. Ser., 505, **1972**.
- [5] L. Friberg, M. Piscator, G.F. Nordberg e T. Kjellstrom, Cadmium in the Environment, 3^a Edição, CRC Press, Inc., Florida, **1979**.
- [6] Decreto Lei nº 236/98- Diário da República, I série, nº 176, 1-8-**1998**.
- [7] B.F. Reis, C.E.S. Miranda e N. Baccan, Quím. Nova, **1996**, 19, 623.
- [8] Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th Edition, American Public Health Association, Washington, **1995**.
- [9] A. Ito, Y. Asano e H. Wada, Talanta, **1997**, 44, 697.
- [10] T. Gangaiah e G.P.K. Naidu, Proc. Indian Natl Sci. Acad., part A, **1988**, 54 A, 114.
- [11] J. Motonaka, S. Ikeda e N. Tanaka, Bunseki-Kagaku, **1984**, 33, 551.
- [12] W. Buchberger, P.R. Haddad e P.W. Alexander, J. Chromatogr., **1991**, 558, 181.
- [13] S. Lin, X. Wang, Y. Wang e Y. Zeng, Fenxi-Huaxue, **1987**, 15, 861.
- [14] J.F. Tyson, Spectrochimica Acta Rev., **1991**, 14, 169.
- [15] V. Porta, C. Sarzanini e E. Mentasti, Mikrochim. Acta, **1989**, III, 247.

- [16] S. Olsen, L.C.R. Pessenda, J. Ruzicka e E.H. Hansen, *Analyst*, **1983**, 108, 905.
- [17] Z. Fang, J. Ruzicka e E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1984**, 164, 23.
- [18] P. Hashemi e A. Olin, *Talanta*, **1997**, 44, 1037.
- [19] G.M. Greenway, S.M. Helms, I.K. Skhosana e S.J.L. Dolman, *Spectrochim. Acta*, part B, **1996**, 51B, 1909.
- [20] H. Chen, J. Jin e Y. Wang, *Anal. Chim. Acta*, **1997**, 353, 181.
- [21] H. Goenaga-Infante, M.L. Fernandez-Sanchez e A. Sanz-Medel, *J. Anal. At. Spectrom.*, **1996**, 11, 571.
- [22] Y. Liu e J. Ingle Jr., *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 525.
- [23] S. Tao, Y. Shijo, L. Wu e L. Lin, *Analyst*, **1994**, 119, 1455.
- [24] Q.H. Jin, H.Q. Zhang, F. Liang e Q. Jin, *J. Anal. At. Spectrom.*, **1995**, 10, 875.
- [25] Y. Liu e J. Ingle Jr., *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 520.
- [26] R.W. Min e E.H. Hansen., *Chem. Anal. [Warsaw]*, **1995**, 40, 361.
- [27] E. Bulska, M. Walcerz, W. Jedral e A. Hulanicki, *Anal. Chim. Acta*, **1997**, 357, 133.
- [28] M.M. Silva, M.A.Z. Arruda, F.J. Krug, P.V. Oliveira, Z.F. Queiroz, M. Gallego e M. Valcárcel, *Anal. Chim. Acta*, **1998**, 368, 255.
- [29] M. Trojanowicz, P.W. Alexander e D. Brynn Hibbert, *Anal. Chim. Acta*, **1998**, 370, 267.
- [30] J. Minczewski, J. Chwastowska e R. Dybziński, *Separation and Preconcentration Methods in Inorganic Trace Analysis*, Ellis Horwood, Chichester, **1976**.
- [31] C. Vandecastel e C. B. Block. *Modern methods for trace element determinations*, John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex, England, **1984**.

- [32] J.R. Ferreira, E.A.G. Zagatto, M.A.Z. Arruda e S.M.B. Brienza, *Analyst*, **1990**, 115, 779.
- [33] J.A. Gomes Neto, H. Bergamin Fº, E.A.G. Zagatto e F.J. Krug, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 308, 439.
- [34] J.A. Gomes Neto, H. Bergamin Fº, R.P. Sartini e E.A.G. Zagatto, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 306, 343.
- [35] Y. Hayashibe e Y. Sayama, *Analyst*, **1996**, 121, 7.
- [36] J.L. Burguera, M. Burguera e A. Townshend, *Anal. Chim. Acta*, **1981**, 127, 199.
- [37] K. Camman, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1988**, 329, 691.
- [38] Z. Fang, *Flow Injection Separation and Preconcentration*, VCH Publishers, Weinheim, **1993**.
- [39] I.M.P.L.V.O. Ferreira, *Dissertação de Doutoramento, Construção, avaliação e aplicação de detectores potenciométricos tubulares para FIA baseados em membranas cristalinas homogêneas*, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, **1994**.
- [40] Z. Marczenko, *Separation and Spectrophotometric Determination of Elements*, John Wiley and Sons, Chichester, **1985**.
- [41] S. Kallmann, H. Oberthin e R. Liu, *Anal. Chem.*, **1960**, 32, 58.
- [42] K. Grudpan e C.G. Taylor, *Analyst*, **1984**, 109, 585.
- [43] M. Webb, *The Chemistry, Biochemistry and Biology of Cadmium*, Elsevier, **1979**.
- [44] K.A. Kraus e G.E. Moore, *J. Am. Chem. Soc.*, **1953**, 75, 1460.
- [45] *Chelating Ion Exchange Resin Instructions Manual*, Bio-Rad Laboratories, 1414 Harbour Way South, Richmond, CA 94804.
- [46] J. Lurie, *Handbook of Analytical Chemistry*, MIR, Moscow, **1975**.

[47] D. McCormick e A. Raoch, *Measurements, Statistics and Computation*, John Wiley and Sons, Chichester, **1987**.

CAPÍTULO VIII

Desenvolvimento de uma montagem FIA, utilizando um detector potenciométrico de CuS / Ag₂S de sensibilidade aumentada, para determinação de Tetraciclina em produtos farmacêuticos.

VIII - 1 - Introdução

O crescente desenvolvimento da indústria farmacêutica tem conduzido a um esforço cada vez maior no sentido de assegurar métodos analíticos rigorosos, para o controlo de qualidade dos produtos farmacêuticos, com celeridade e custos reduzidos.

As tetraciclinas (TC) constituem uma das mais importantes famílias de antibióticos, caracterizando-se pelo seu largo espectro de acção anti-bacteriano sobre bactérias gram positivo e negativo, *mycoplasma*, treponemas, leptospiras, rickettsias, actinomicetes, *coxiella*, clamídias e plasmódiums [1]. Esta classe terapêutica é vulgarmente utilizada no tratamento de patologias humanas, sendo usada como droga de eleição para a cólera, febre recidivante e infecções causadas por *rickettsias*, *mycobacterium fortuitum e marinum* e *clamydium psittaci* e *trachomatis*. É ainda frequentemente utilizada em medicina veterinária, nutrição animal e em aditivos alimentares destinados a uso pecuário.

A tetraciclina (TCH), cuja estrutura química se representa na Fig. 1, é quimicamente a [4S-(4 α , 4a α , 5a α , 6 β , 12a α)] - 4 - dimetilamino - 1, 4, 4a, 5a, 11, 12a - octahidro-3, 6, 10, 12, 12a - pentahidroxi - 6 - metil - 1, 11 - dioxonaftaceno - 2 - carboxamida, sendo a oxitetraciclina (5-hidroxitetraciclina), OTCH, e a clortetraciclina (7-clortetraciclina), CTCH, seus derivados, providos de actividade terapêutica similar.

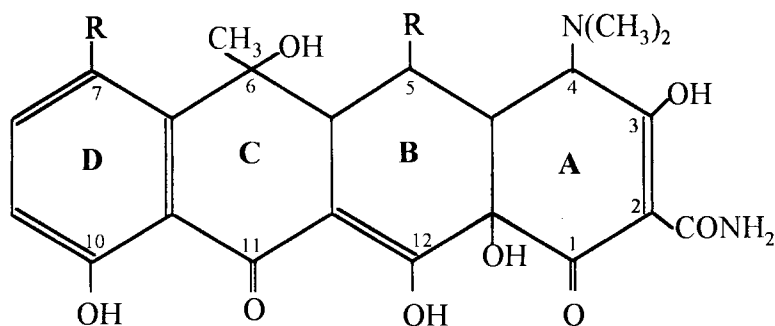


Figura 1 - Estrutura química da tetraciclina (TC)

O método biológico de avaliação da potência microbiológica é o mais comumente reconhecido como método oficial para a determinação de TC em formulações farmacêuticas [2-4]. No entanto, a grande morosidade da determinação, devido ao longo tempo de incubação que exige (18-24 horas), a dificuldade da sua implementação em laboratórios químicos, e o facto de lhe ser apontado uma baixa especificidade e pouca precisão, devido à variabilidade inerente à resposta biológica, têm conduzido ao aparecimento de sistemas de análise alternativos, mais expeditos, sendo na sua maioria baseados na detecção espectrofotométrica.

As tetraciclinas formam quelatos estáveis com alguns metais pesados [5]. Esta complexação é importante pois determina o mecanismo de acção destes fármacos no organismo e permite explicar também alguns efeitos deletérios que estes compostos farmacológicos possam ter nos tecidos mineralizados orgânicos, nomeadamente na pigmentação dos dentes em desenvolvimento e no comprometimento do crescimento ósseo [1].

A formação de vários complexos estáveis dos seus esqueletos hidronaftacenos, com o ferro (III) [6, 7], tungsténio [8-10], 4-aminofenazona e hexacianoferrato (III) [11, 12], cobre (II) [13-15], molibdato [10, 16, 17] e tório [18], têm sido aproveitados para fins analíticos, com subsequente doseamento de TC por espectrofotometria de UV/Vis. Estes sistemas têm, no entanto, como desvantagens, uma aplicação limitada a uma estreita gama de concentrações e a necessidade de se proceder a uma compensação na medição, devido à coloração intrínseca das próprias amostras.

A potenciometria [19-25] tem também sido sugerida para a determinação de compostos constituintes desta importante família farmacológica. A primeira referência a eléctrodos sensíveis a TC data de 1987 [19] e descreve a construção de eléctrodos de membrana plástica de TCH, OTCH e doxiciclina (DC), com solução de referência interna, usando tetrafenilborato de sódio como extractor iónico da membrana. A sua aplicabilidade estava comprometida pela falta de selectividade em relação a estes três antibióticos além de apresentar um tempo de vida relativamente curto. Posteriormente, em 1989 [20, 21], surgiram descrições de eléctrodos sensíveis a TCH [20], também de membrana plástica e com solução de referência interna, usando como pares iónicos o silicotungstato de tetraciclina, dipicrilaminato de tetraciclina e tetraciclinato de

cetiltrioctilamónio. Estes eléctrodos apresentavam boas características de funcionamento, com declives na ordem dos 58 mV década⁻¹ e limites de detecção de 1×10^{-5} mol L⁻¹, embora tivessem também um tempo de vida relativamente curto, de apenas cerca de 2 meses. Em 1994 é referida a construção de eléctrodos sensíveis a CTCH [22], usando diferentes pares iónicos, nomeadamente a CTCH com dipicrilaminato de amónia, tetrafenilborato de sódio, fosfomolibdato de sódio e tungstosilicato dissódico. Estes eléctrodos, também com solução de referência interna, apresentavam um tempo de vida de cerca de 1 semana e uma baixa selectividade relativamente à desoxiciclina.

Têm ainda sido feitas referências a sistemas potenciométricos que utilizavam eléctrodos de amónia [23] ou de CO₂ [24, 25], na realização de ensaios biológicos de avaliação de TC. Nestes estudos é descrito o desenvolvimento de métodos microbiológicos de determinação da potência antimicrobiana, baseados na inibição, por parte do antibiótico, da produção de amónia [23], ou do processo de respiração [24, 25] de uma suspensão de *E. coli*. Por estarem envolvidos ensaios microbiológicos, exigindo períodos de incubação longos (cerca de 2 horas) e recurso a tecnologia específica da área da microbiologia, estas metodologias são também pouco atractivas, sobretudo para análises de rotina.

A automatização, envolvendo instrumentação simples e económica, como é o caso da análise por injeção em fluxo (FIA), permite um grande número de análises num curto espaço de tempo, um baixo consumo de reagentes e amostras e a possibilidade de aplicação aos mais variados métodos de detecção.

Encontram-se referências a sistemas de análise por injeção em fluxo com determinação espectrofotométrica de complexos corados de tetraciclina, nomeadamente com Fe (III) [6, 7], WO₄²⁻ [8], 4-aminofenazona e hexacianoferrato (III) [11] e Cu(II) [13]. Estes sistemas apresentavam como principais desvantagens, a impossibilidade de aplicação numa gama de concentrações alargada e, em alguns casos, proporcionavam sistemas com ritmos de amostragem muito baixos, por exemplo 17 [6] e 70 amostras h⁻¹ [11]. Sistemas FIA com detecção amperométrica [26-28], apesar da grande sensibilidade analítica, proporcionavam também ritmos de amostragem relativamente baixos, na ordem dos 60 / 70 amostras h⁻¹ [26, 28]. A detecção em fluxo

por quimioluminescência também é apresentada como uma alternativa válida, empregando quer o par peróxido de hidrogénio / persulfato de potássio [29], quer o bromo [30], ou N-bromosuccinamida [31] como agentes oxidantes. São contudo metodologias bastante dispendiosas além de que requerem a utilização de oxidantes de grande toxicidade.

O uso de sistemas FIA com detecção potenciométrica para determinação de TC têm raramente sido propostos, apesar do benefício resultante da possibilidade de automatização e facilidade de operação. No único trabalho referido na literatura, até ao momento, usando este tipo de detecção, recorria-se à utilização de eléctrodos sensíveis a TC [32], de configuração convencional, baseados em membranas de condutor móvel, com selectividade para TCH, CTCH, OTCH, DC e metaciclina (MC). Os resultados por eles fornecidos apresentavam, contudo, uma precisão de cerca de 2,1 mV e uma variação de potencial superior a 4 mV após dois dias de trabalho.

A capacidade que certas moléculas orgânicas (contendo átomos tais como N ou O) têm de funcionar como dadores de pares de electrões, faz com que elas formem complexos com iões metálicos, podendo por isso ser determinadas por titulação com sais metálicos, e esta reacção poderá ser seguida com o eléctrodo selectivo de ião metálico apropriado [33].

Tendo em conta os resultados obtidos aquando da construção e avaliação de eléctrodos selectivos de ião sensíveis a Cu (II), apresentados no Capítulo III, sobretudo a elevada sensibilidade analítica proporcionada por aqueles que incorporavam uma dupla membrana, propôs-se para este trabalho a determinação potenciométrica indirecta de três TC, tetraciclina (TCH) oxitetraciclina (OTCH) e clortetraciclina (CTCH), utilizando um método simples, rápido, exacto e pouco dispendioso. Propõe-se a sua complexação com o catião cobre (II), recorrendo à análise por injeção em fluxo, monitorizando-se potenciometricamente o abaixamento da concentração do metal na solução complexante, empregando para isso eléctrodos tubulares de dupla membrana cristalina homogénea sensíveis a Cu (II), de alta sensibilidade.

VIII - 2 - Parte Experimental

2.1 Reagentes e Soluções

As soluções das tetraciclina (TC), obtidas na forma de cloridratos (Sigma), foram preparadas diariamente por pesagem rigorosa do respectivo sólido, e diluição numa solução de HCl de concentração $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. As soluções padrão de TC, usadas na avaliação e optimização do sistema FIA implementado, eram preparadas diariamente a partir das anteriores por diluição cuidadosa com água bidesionizada. Estas soluções eram mantidas, entre ensaios, ao abrigo da luz.

A solução de nitrato de cobre, usada como complexante, era preparada por pesagem rigorosa do respectivo sólido e padronizada por titulação potenciométrica, usando-se como solução titulante uma solução padrão de EDTA (Titriplex III de concentração $0,1000 \text{ mol L}^{-1}$, Merck 9992).

2.2 Aparelhagem e eléctrodos

O sistema FIA foi estabelecido usando o equipamento descrito no Capítulo II.

Na preparação dos eléctrodos tubulares, para serem usados em FIA, seguiu-se a metodologia descrita no Capítulo II. O eléctrodo selectivo de ião, de membrana dupla, tendo como sensor uma mistura de CuS / Ag₂S (proporção molar 1:1), tem o seu estudo e características operacionais indicadas no Capítulo III. As unidades sensoras, depois de construídas, eram mantidas em contacto com uma solução de cobre (II), de concentração igual a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, para condicionamento, para que estivessem aptas a serem utilizadas no momento da sua intercalação na montagem FIA. Sempre que necessário, os eléctrodos eram polidos com um fio de algodão humedecido revestido de óxido de alumínio, ou papel de polimento com pó de óxido de alumínio. Após o

polimento eram colocados em condicionamento, conforme o procedimento referido anteriormente.

O detector potenciométrico era constituído pelo eléctrodo de configuração tubular de dupla membrana, incorporado num suporte de perspex descrito no Capítulo II, e pelo eléctrodo de referência. Este último, de AgCl / Ag (ORION 90-00-02), de dupla junção, continha uma solução de KNO₃ de concentração igual a 0,1 mol L⁻¹ como solução de referência externa. Utilizou-se adicionalmente o dispositivo somador, referido no Capítulo II (Fig. 2), para soma dos potenciais correspondentes a cada uma das membranas sensoras.

O espectrofotómetro utilizado na realização do método de referência para determinação do teor de TC nas diferentes formulações farmacêuticas era um SP6 - 500 UV (Pye-Unicam).

2.3 Preparação das amostras

As amostras sólidas contendo TCH, sob a forma de cápsulas e drageias, eram pulverizadas em almofariz de porcelana e homogeneizadas, após determinação do peso médio de cada tipo de forma farmacêutica. Uma quantidade de pó equivalente a cerca de 125 mg de TCH era cuidadosamente pesada e transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 50,0 mL.

Nas pomadas oftalmológicas, pesou-se rigorosamente uma quantidade de pomada contendo cerca de 50 mg de princípio activo à qual foi adicionado 10,0 mL de uma solução de HCl 1×10^{-2} mol L⁻¹. Por forma a que ocorresse a dispersão e dissolução do princípio activo na solução aquosa, as amostras eram colocadas em banho de ultra-sons, aquecido a 37 °C. Procedia-se à transferência quantitativa do sobrenadante, após solidificação dos excipientes gordos, para um balão de 25,0 mL. Estas soluções apresentavam algumas partículas em suspensão, resultantes da presença dos excipientes utilizados na sua preparação. A sua granulometria não era, no entanto, suficiente para provocar qualquer obstrução na válvula de injeção ou no interior da própria montagem FIA pelo que não se justificava proceder à sua filtração. Para a sua determinação pelo

método espectrofotométrico, pelo contrário, teve que se filtrar a solução, usando-se para o efeito um filtro de 0,45 μm de acetato de celulose.

O colírio foi sujeito a homogeneização do conteúdo da embalagem. Uma quantidade de amostra equivalente a cerca de 25 mg de CTCH foi cuidadosamente transferida para um balão de 25,0 mL.

O pó veterinário analisado foi sujeito a homogeneização do conteúdo do pacote. Uma quantidade de pó equivalente a cerca de 500 mg de OTCH era cuidadosamente pesada e transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 100,0 mL.

Após o procedimento referido para cada um dos tipos de formulação, as amostras, antes de serem inseridas na montagem FIA, eram diluídas em H_2O bidesionizada, de forma a serem obtidas soluções de TC com concentrações situadas entre 7×10^{-4} e $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, valores enquadrados dentro da zona de resposta linear do sistema de detecção utilizado.

Para a realização da metodologia espectrofotométrica, em todas as formulações referidas, a quantidade de amostra correspondente a cerca de 20 / 25 mg de TC era rigorosamente pesada e quantitativamente transferida para um balão de 25,0 mL sendo diluída numa solução de HCl de concentração 0,01 N e, sempre que necessário, filtrada.

Na realização dos ensaios de recuperação efectuou-se a adição de 0,30-0,50 mL da solução da TC respectiva, de concentração $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, a 25,0 ou 50,0 mL da amostra, de forma a ser obtida uma concentração de TC de cerca de 7×10^{-3} - $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

2.4 Método de referência

Para avaliar a qualidade dos resultados obtidos pela metodologia FIA desenvolvida, fez-se a determinação dos teores de TC nas amostras pelo método espectrofotométrico baseado na Farmacopeia Helvética [34]. Dadas as limitações já assinaladas para o método microbiológico, indicado pelas Farmacopeias Britânica, Americana e Internacional [2-4], procurou-se usar um método de validação dos resultados FIA que pudesse ser executado paralelamente aos ensaios potenciométricos,

e ao mesmo tempo, utilizasse a instrumentação usualmente disponível num laboratório químico. Os ensaios de avaliação de potência anti-bacteriana, além de exigirem material específico da área da microbiologia, eram extremamente morosos, não se justificando a sua implementação uma vez que os resultados por eles fornecidos não rivalizam com os decorrentes do uso do método espectrofotométrico.

Para a execução do método referido, a preparação da amostra era feita por dissolução desta numa solução de HCl de concentração 0,01 N, procedendo-se, consoante o tipo de princípio activo a analisar, à determinação da absorvência de cada amostra a 245 nm (TCH), 254 nm (OTCH) e 280 nm (CTCH).

2.5 Montagem FIA utilizada

Para a determinação de TC em diferentes formulações farmacêuticas utilizou-se um sistema de análise por injeção em fluxo, com detecção potenciométrica semelhante ao esquematizado na Fig. 2. A amostra e padrões eram inseridos, por intermédio de uma válvula de injeção, numa solução transportadora, constituída por uma solução de KNO_3 de concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, adicionada de HNO_3 , que convergia para um canal onde circulava uma solução complexante de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$. O complexo formado, associado a um decréscimo da concentração de Cu (II), era monitorizado pelo detector potenciométrico sensível a Cu (II), cujas características operacionais foram anteriormente referidas no Capítulo III.

No sentido de avaliar a influência dos diferentes parâmetros físico-químicos na amplitude do sinal analítico, de forma a permitir efectuar a determinação do teor em TC numa gama alargada de concentrações, com o máximo de sensibilidade analítica e num espaço de tempo o mais curto possível, procedeu-se à optimização do sistema de fluxo. Assim, foram optimizados os diferentes parâmetros da montagem FIA nomeadamente, a concentração da solução de cobre (II), o pH da solução transportadora, os volumes de injeção, a dimensão dos reactores e os caudais.

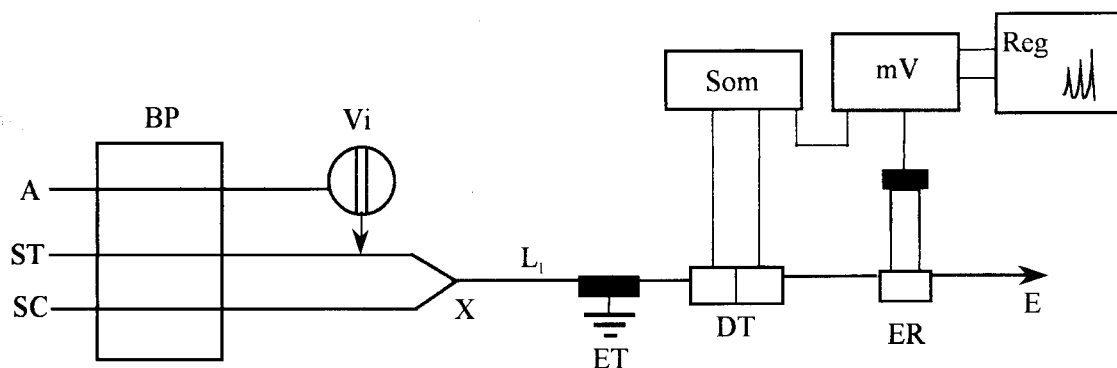


Figura 2 - Montagem FIA para a determinação potenciométrica de tetraciclina

Legenda: A - amostra; ST - solução transportadora ($\text{HNO}_3 + \text{KNO}_3$) ($4,0 \text{ mL min}^{-1}$); SC - solução complexante ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$) ($4,0 \text{ mL min}^{-1}$); BP - bomba peristáltica; Vi - válvula de injeção ($200 \mu\text{L}$); X - confluência; L_1 - reactor (35 cm); ET - eléctrodo terra; DT - detector tubular de duas membranas sensível a Cu (II); ER - eléctrodo de referência; Som- circuito somador; mV - decimilivoltímetro; Reg. - registador; E - esgoto.

VIII - 3 - Resultados e sua discussão

Tendo em conta as boas características operacionais apresentadas pelos eléctrodos de dupla membrana, sensíveis a Cu (II) (Capítulo III), desenvolveu-se e optimizou-se um sistema FIA que permitisse efectuar determinações do teor de TC em diferentes preparações farmacêuticas comercializadas.

A optimização da montagem FIA foi feita começando-se por estudar o valor da concentração da solução de Cu(II) mais adequado para o desenvolvimento da reacção de complexação. A fixação de um valor de concentração de ião primário na solução complexante condicionava o valor da diferença de potencial a partir do qual o detector tubular efectuava as medidas, e estava limitado aos níveis de concentração de TC a determinar. A solução complexante de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ foi avaliada num intervalo de concentrações entre $5,0 \times 10^{-5}$ e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (Fig. 3 e 4).

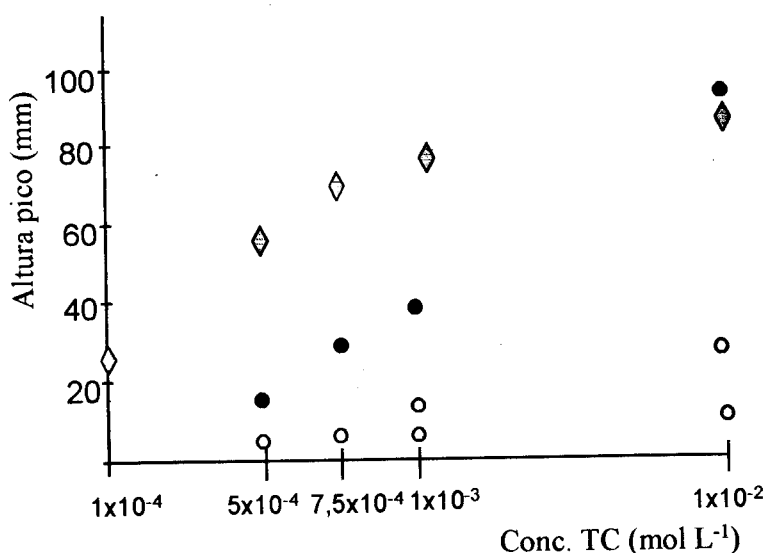


Figura 3 - Variação da altura do sinal analítico com a variação da concentração de solução complexante de Cu (II), para diferentes concentrações das TC em estudo.

Legenda : Concentração de titulante: ○ - Cu (II) $1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$; ● - Cu (II) $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e ◊ - Cu (II) $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Concentrações de Cu(II) superiores a $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ condicionavam as medidas a efectuar nas amostras em que a concentração de TC era inferior a $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, resultando em sinais analíticos muito pequenos para as amostras mais diluídas. Soluções complexantes de concentração inferior a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, para além de provocarem instabilidade do potencial de linha de base, também originavam um retorno bastante lento do sinal analítico a este e limitavam ainda a determinação de TC para valores de concentração superiores a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. A optimização deste parâmetro era pois limitada pela gama de concentração de TC a determinar e pela estabilidade do potencial da linha de base.

Optou-se assim por uma solução de cobre (II) de concentração igual a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, que permitia a determinação de TC para um intervalo de concentrações de cerca de 50 a 500 mg L^{-1} , e por uma concentração de $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, para a determinação de concentrações mais elevadas de princípio activo (superior a 350 mg L^{-1}).

Para qualquer um dos casos obteve-se uma elevada sensibilidade analítica, como se pode avaliar pelos resultados apresentados no gráfico da Figura 4.

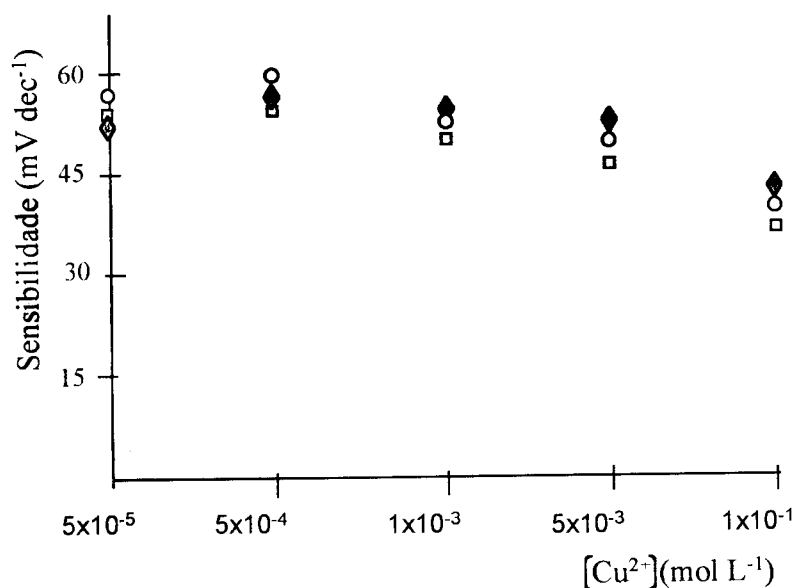


Figura 4 - Variação da sensibilidade analítica do sistema FIA com a variação da concentração de solução complexante de Cu (II) para as três TC em estudo

Legenda : ● - OTCH; □ - TCH; ○ - CTCH.

A solução transportadora, constituída por um electrólito, com a função de promover o contacto eléctrico entre o eléctrodo indicador e de referência, e simultaneamente funcionar como ajustador de força iónica, foi igualmente utilizada para avaliar a influência do pH na extensão da reacção de complexação. A solução ajustadora era constituída por nitrato de potássio de concentração igual a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, electrólito que não interferia na resposta do eléctrodo sensível a Cu (II). Os diferentes valores de pH, no intervalo de 1,0 - 9,7, foram estabelecidos por adição de uma solução de HNO_3 ou NaOH à referida solução de KNO_3 . Qualquer um destes iões e contra-iões não provocavam interferência na resposta do eléctrodo, como já tinha sido verificado nos ensaios de avaliação dos coeficientes de selectividade potenciométricos efectuados anteriormente (Cap. III e [35]). Verificou-se que a reacção de complexação era favorecida em meio ácido (Fig. 5), o que estará por certo ligado ao facto de ocorrer precipitação de cobre, sob a forma de óxidos e hidróxidos, para valores de pH superiores a 6.

Verificaram-se os melhores resultados de amplitude de sinal analítico, relacionados com uma maior extensão da reacção de complexação, para valores de pH de cerca de 2, para as três TC estudadas.

A escolha de um meio ácido foi ainda justificada pela maior solubilidade das TC neste meio, e para se prevenir a ocorrência de precipitações de cobre dentro do sistema, o que poderia conduzir a obstrução dos canais de ligação e consequente rebentamento.

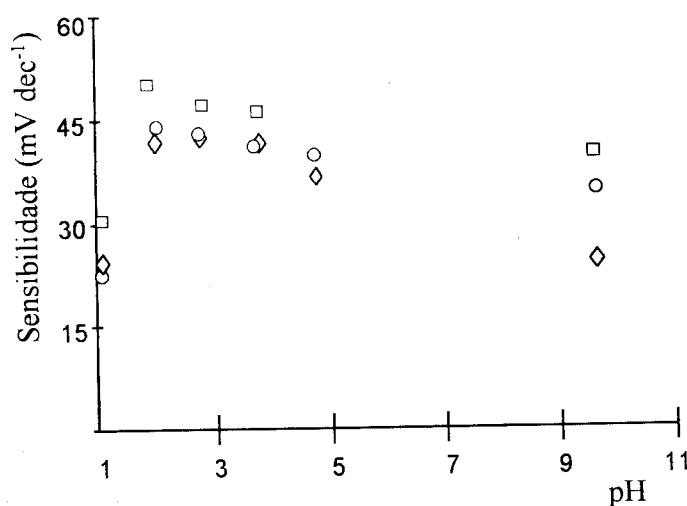


Figura 5 - Variação da sensibilidade do sistema de detecção proposto com o valor de pH da solução transportadora

Legenda : ◇ - OTCH; □ - TCH; ○ - CTCH.

Depois de definidos os parâmetros químicos do sistema, que se relacionavam directamente com a reacção de complexação, optimizou-se o volume de injeção, comprimento do reactor e caudais, determinando-se a sua influência na amplitude do sinal transiente fornecido pelo detector potenciométrico.

Foram estudados volumes de injeção de 100, 200, 500 e 1000 μL , como se representa na Fig. 6. O volume de injeção de 100 μL originava uma baixa sensibilidade analítica, comprometendo particularmente a determinação de baixas concentrações de TC (inferiores a 500 mg L^{-1}). Volumes de injeção superiores a 500 μL mostraram-se desaconselháveis, uma vez que a sua utilização não apresentava vantagens significativas no tocante à amplitude do sinal analítico (ocorrendo mesmo diminuição da sensibilidade para um volume fixado em 1000 μL). Para além disso, ficava comprometido o ritmo de amostragem, por haver necessidade de recorrer a um reactor de grandes dimensões para promover a completa reacção entre o Cu (II) e o analito. Desta forma, optou-se por um volume de injeção de 200 μL , valor este que permitia obter uma boa sensibilidade com uma boa reprodutibilidade analítica.

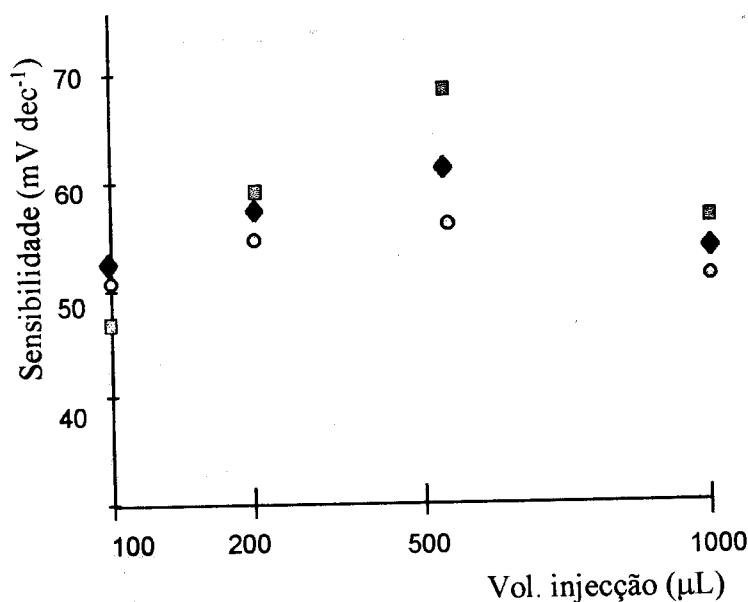


Figura 6 - Variação da sensibilidade do sistema de detecção com o volume de injeção.

Legenda : ● - OTCH; ■ - TCH; ○ - CTCH.

Seguidamente estudou-se o comprimento do reactor entre a confluência e o detector (L_1), de forma a que a sua dimensão garantisse um tempo de permanência da amostra em contacto com o reagente complexante, que permitisse que a reacção fosse completa, sem no entanto comprometer o ritmo de amostragem. O seu estudo foi efectuado para comprimentos variáveis (35, 100, 200, 235 e 300 cm) como se representa na Fig. 7. Verificou-se que comprimentos superiores a 100 cm conduziam a um decréscimo da sensibilidade analítica com abaixamento do ritmo de amostragem, devido a uma grande dispersão da amostra no sistema. O valor de 35 cm, comprimento mínimo imposto pelo estabelecimento das ligações entre os diferentes componentes da montagem, era suficiente para um bom desenvolvimento da reacção de complexação, proporcionando uma mistura completa entre as duas soluções, e traduzindo-se ainda numa boa estabilização da linha de base, permitindo obter uma boa reprodutibilidade dos sinais analíticos, com um elevado ritmo de amostragem.

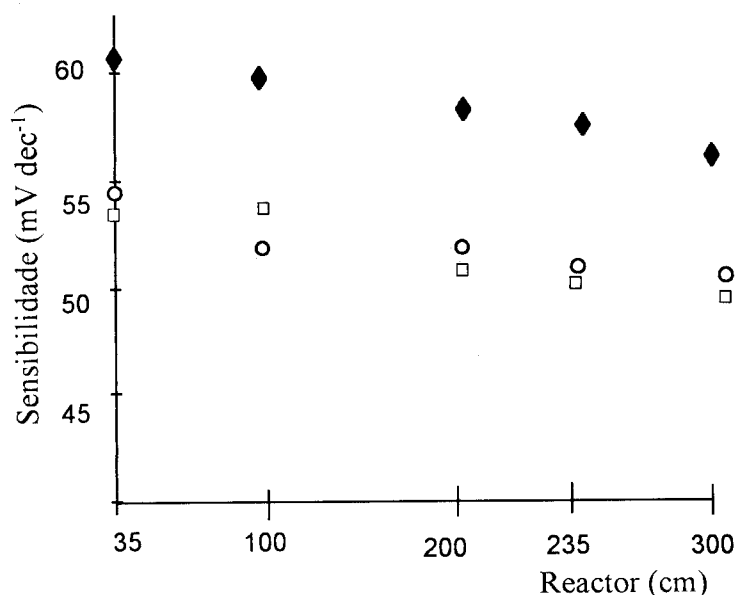


Figura 7 - Variação da resposta do sistema de detecção com a dimensão do reactor L_1 .

Legenda : ◆ - OTCH; □ - TCH; ○ - CTCH.

Uma vez estabelecido o comprimento do reactor a utilizar estudou-se a influência do caudal na amplitude do sinal analítico, fixando-se o mesmo valor nos canais ST e SC (Fig. 2). Para valores de caudal total iguais a 2,7, 3,2, 4,5, 7,0 e 8,0 mL min⁻¹, não se registou alteração significativa da amplitude do sinal analítico, pelo que se optou pelo caudal mais elevado, de 8,0 mL min⁻¹, o qual permitia a obtenção de curvas de calibração com uma boa sensibilidade analítica com um bom ritmo de análise.

Estudos de interferências

Com o objectivo de possibilitar a aplicação do sistema proposto ao ensaio de formulações farmacêuticas comerciais estudou-se o efeito de alguns excipientes, normalmente presentes no tipo de preparações estudadas, nos resultados analíticos.

A reacção de complexação pode ser alterada pela presença de diferentes compostos químicos que possam eventualmente reagir com o catião Cu (II) ou interferir na resposta do eléctrodo utilizado. Dado que, na maior parte dos casos, não era referida a listagem de excipientes usados em cada formulação, e na eventualidade de alguns compostos orgânicos e inorgânicos, usualmente utilizados nas etapas galénicas, poderem estar presentes nas formulações ensaiadas, foi feita a caracterização da interferência por eles provocada (Tabela I).

Com a excepção do NaCl nenhuma das substâncias avaliadas interferiam na determinação de TC pela metodologia proposta. Não se procedeu ao estudo de interferentes inorgânicos alcalinos e alcalino-terrosos na resposta do eléctrodo porque, do conhecimento que se tinha das características operacionais do eléctrodo (Capítulo III), só era previsível a interferência de catiões que formassem precipitados com o sulfureto presente na membrana sensora (p. ex. cádmio, chumbo e prata) e a presença destes, nas formulações estudadas, não era previsível.

Não se efectuou a avaliação de interferentes resultantes de sub-produtos de síntese das TC, dado que a natureza dessas substâncias é dependente do tipo de síntese realizada, etapa sobre a qual também não tínhamos qualquer informação. Seguiu-se o

mesmo critério relativamente à avaliação de possíveis produtos resultantes da degradação das TC resultantes da fase de armazenamento.

Tabela I. Avaliação da interferência de possíveis excipientes na resposta do sistema FIA estudado

<i>Interferente</i>	
<i>Glicose</i>	não interfere
<i>Frutose</i>	não interfere
<i>Sacarose</i>	não interfere
<i>Ureia</i>	não interfere
<i>Amido</i>	não interfere
<i>Polietilenoglicol</i>	não interfere
<i>PEG 4000</i>	não interfere
<i>NaCl</i>	interfere
<i>Na₂SO₃</i>	não interfere
<i>Perborato sódio</i>	não interfere

A eliminação de interferências eléctricas no sistema foi conseguida pela intercalação, na montagem FIA, de um contacto de terra colocado entre a confluência e o detector potenciométrico.

Com os parâmetros cuja optimização se referiu, o sistema FIA permitia a determinação de TC num intervalo de concentração entre cerca de $48,1 - 4,8 \times 10^3 \text{ mg L}^{-1}$ para TCH, $49,1 - 4,9 \times 10^3 \text{ mg L}^{-1}$ para OTCH e $51,5 - 5,1 \times 10^3 \text{ mg L}^{-1}$ para a CTCH, com uma boa sensibilidade analítica.

A estabilidade do sistema proposto, ao longo de um dia de trabalho, foi avaliada efectuando-se o traçado de seis curvas de calibrações num intervalo de cerca de 8 horas, e procedendo-se ao cálculo da variação do potencial para diferentes níveis de concentração de TC, na zona de resposta linear do sistema de detecção. Obtiveram-se para a TCH, OTCH e CTCH, respectivamente, uma variação inferior a $\pm 2,6, 1,1$ e $1,4 \text{ mV dia}^{-1}$.

A repetibilidade do sistema FIA implementado foi avaliada efectuando 16 injeções sucessivas de uma solução padrão de cada uma das três TC para um valor de concentração intermédia da zona de resposta linear do sistema de detecção. Os valores de desvio padrão relativo encontrados originaram variações inferiores a 0,5 % para qualquer das três TC estudadas (ver Fig. 8).

Com estes sistemas obtiveram-se registos analíticos semelhantes aos representados nas Fig. 8, 9 e 10, para cada um dos tipos de TC estudados.

O ritmo de amostragem registado variava entre $150 \text{ amostras h}^{-1}$, para as amostras mais concentradas, e $200 \text{ amostras h}^{-1}$, para as amostras de menor teor em princípio activo.

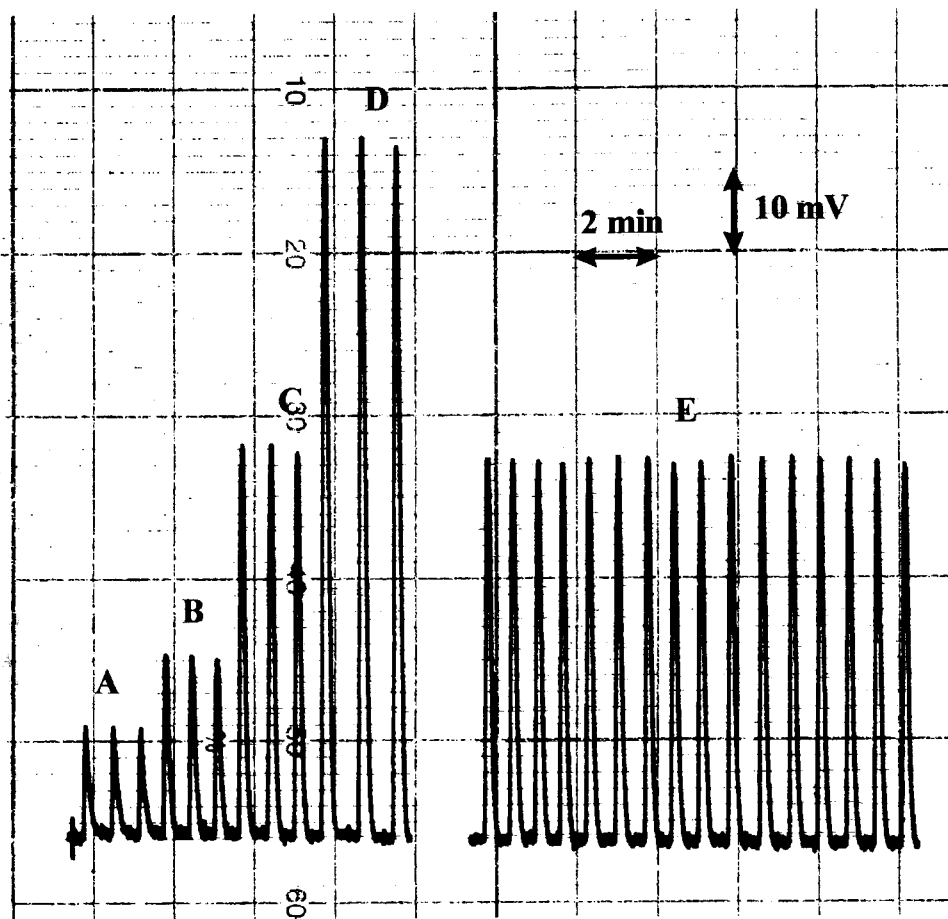


Figura 8 - *Fiograma representativo de uma calibração de OTCH e ensaio de repetitibilidade para um padrão (E) de OTCH.*

Legenda : Padrões injectados A - 5×10^{-4} ; B - $7,5 \times 10^{-4}$; C - 1×10^{-3} , D - $2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e E - $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

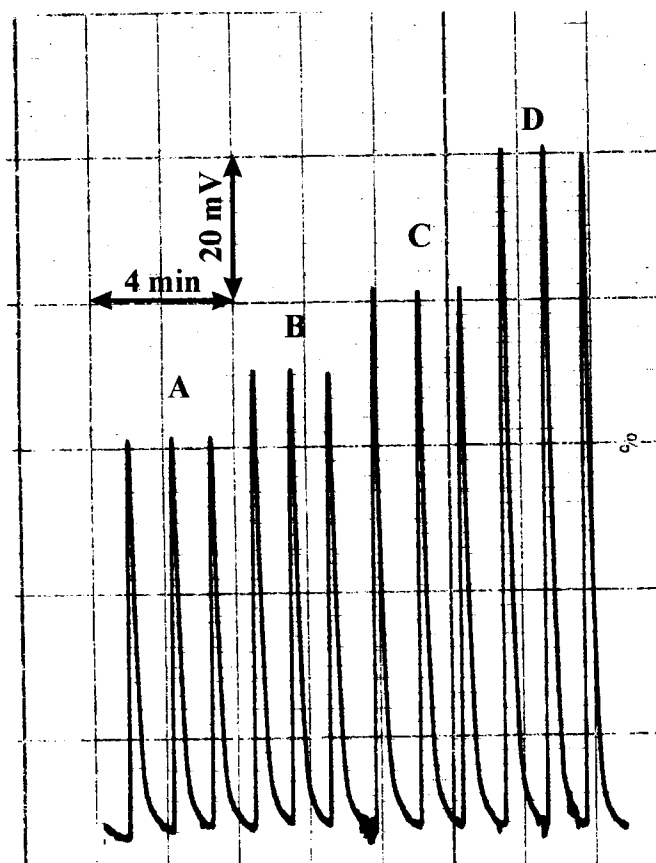


Figura 9 - Fiograma correspondente a uma curva de calibração de CTCH

Legenda : Padrões injectados A - 5×10^{-4} ; B - $7,5 \times 10^{-4}$; C - 1×10^{-3} e D - $2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

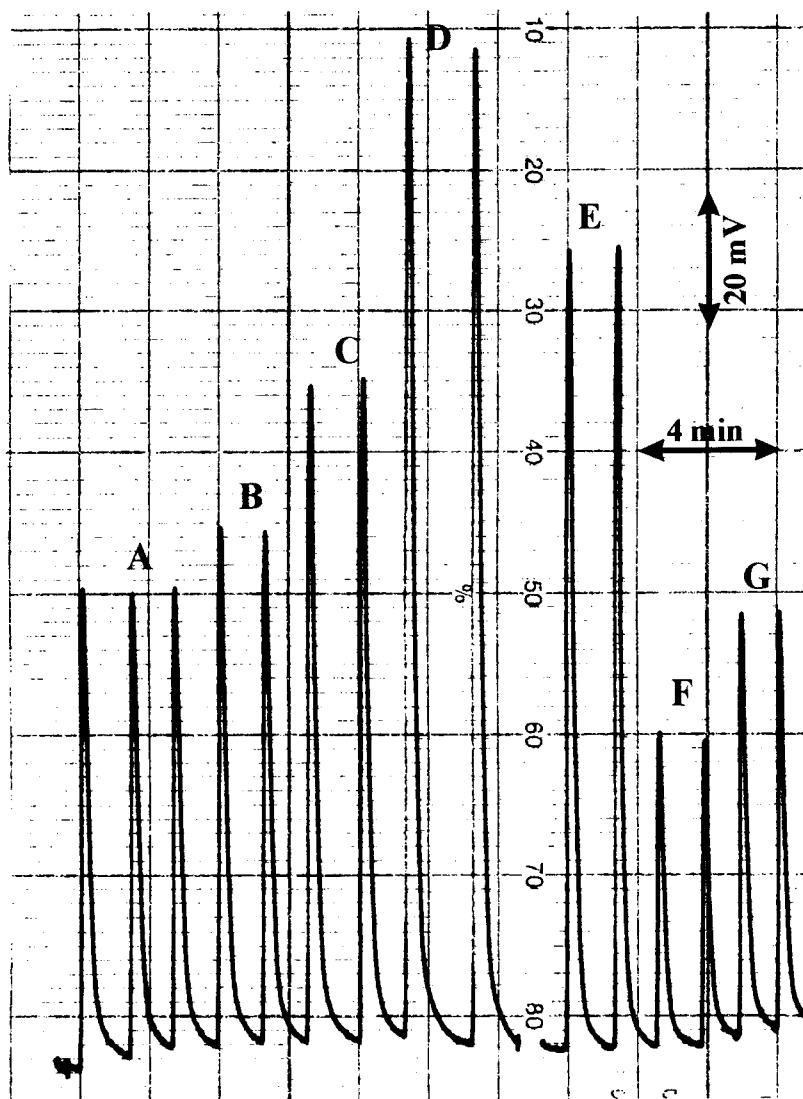


Figura 10 - Fiograma correspondente a uma curva de calibração de TCH.

Legenda: Padrões injectados A - 5×10^{-4} ; B - $7,5 \times 10^{-4}$; C - 1×10^{-3} e D - $2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; E, F - duas amostras diferentes de TCH; G - ensaio de recuperação da amostra F.

VIII - 4 - Determinação de TC em formulações farmacêuticas

Após o desenvolvimento do sistema FIA descrito anteriormente efectuou-se a sua calibração, pela injeção (em triplicado) de diferentes padrões de TCH, OTCH e CTCH, respectivamente, com concentrações entre 50 e 500 mg L⁻¹, para a determinação das formulações com menor teor em princípio activo, e entre cerca de 350 e 5,0x10³ mg L⁻¹ para a avaliação das amostras mais concentradas.

A avaliação quantitativa dos sinais analíticos obtidos foi baseada na medição da altura de pico e sua conversão em valores de potencial (mV).

A aplicabilidade do sistema FIA descrito foi então testada, efectuando-se a análise do teor de TC em diferentes formulações farmacêuticas disponíveis no mercado português. Os resultados obtidos, representados na Tabela II, foram comparados com os valores obtidos pelo método espectrofotométrico. A qualidade dos resultados foi também avaliada, determinando a percentagem de recuperação para todas as amostras, que originaram, como está indicado na Tabela II, valores muito próximos dos 100 %, indiciando uma boa exactidão analítica.

Os resultados obtidos pelos dois métodos são semelhantes, e para prová-lo, foi estabelecida uma regressão linear do tipo $C_F = C_0 + S C_R$ entre os resultados proporcionados pela metodologia proposta (C_F) e pelo método espectrofotométrico (C_R) (Fig. 11).

A comparação dos dois métodos revela um bom acordo entre si, o que é demonstrado pelos valores de

$$C_F = -1,71 (\pm 21) + 0,995 (\pm 3,9 \times 10^{-2}) C_R \text{ mg L}^{-1} \quad r = 0,9993$$

com um valor de declive muito próximos da unidade, uma ordenada na origem próxima de zero e um elevado coeficiente de correlação.

Tabela II. Determinação de TCH / CTCH / OTCH em formulações farmacêuticas pelo método FIA proposto e pelo método de referência.

<i>Preparação farmacêutica</i>	<i>FIA^a mg g⁻¹</i>	<i>REF^a mg g⁻¹</i>	<i>Recuperação(%)</i>
Terramicina (pó solúvel)	318 ± 0,01	328 ± 0,01 *	98,9
Terricil (pom. oftálmica)	5,30 ± 0,01	5,80 ± 0,01	99
Ciclobiótico (cápsulas)	849 ± 0,01	873 ± 0,01	101
Ciclobiótico (cápsulas)	761 ± 0,01	734 ± 0,01	104
Neociclina (cápsulas)	886 ± 0,01	892 ± 0,01	103
Hostaciclina (drageias)	550 ± 0,01	564 ± 0,01	104
Aureomicina (colírio)	19,8 ± 0,01	20,6 ± 0,02	99,7
Aurecil (pom. oftálmica)	43,0 ± 0,01	44,6 ± 0,02	99,3

Os resultados apresentados são a média e desvio padrão para quatro determinações efectuadas sobre 4 tomas de uma mesma amostra.

^a Resultados expressos em mg g⁻¹.

* Valor obtido recorrendo ao método da adição

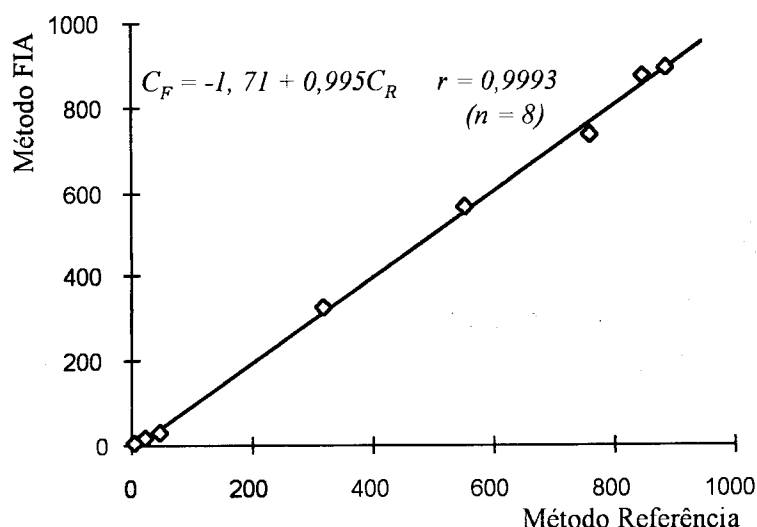


Figura 11 - Avaliação comparativa dos resultados obtidos no doseamento de TC pela metodologia FIA e pelo método de referência.

A avaliação da precisão analítica dos resultados obtidos pela metodologia potenciométrica foi efectuada pelo cálculo do desvio padrão relativo, após 12 injeções de uma amostra de cada TC, com concentrações iguais a 318 mg (OTCH), 441 mg (TCH) e 19,8 mg (CTCH). Os valores obtidos demonstraram uma boa precisão, com um desvio padrão relativo inferior a 0,4 %. A precisão encontrada com o método potenciométrico implementado representa uma melhoria significativa relativamente a algumas das metodologias anteriormente apontadas na determinação de TC por espectrofotometria, amperometria e quimioluminiscência [6, 7, 11 – 13, 19, 26, 28, 31], que apontavam valores de precisão com desvios superiores a 0,9 %.

A gama de concentrações passível de ser determinada pela metodologia proposta é também significativamente mais ampla que a citada pela maioria das referências anteriores [6, 7, 9, 11 - 16, 31] aplicadas na determinação de compostos desta família terapêutica, permitindo a avaliação de todas as formas comerciais existentes no mercado, sem ter que recorrer a etapas adicionais de diluição ou pré-concentração dos analitos.

Os bons resultados analíticos conseguidos devem-se particularmente às boas características operacionais do sistema de detecção potenciométrico sensível a Cu (II) anteriormente desenvolvidos (Cap. III). Destacam-se ainda as vantagens da detecção potenciométrica relativamente à espectrofotométrica, especialmente a possibilidade de aplicação a amostras fortemente coradas, e a elevada sensibilidade analítica, que contribuiu para a obtenção de resultados mais exactos e precisos, particularmente quando aplicados a situações em que os valores de concentração de analito eram muito próximos entre si.

Apesar de alguns dos métodos espectrofotométricos descritos permitirem efectuar determinações de teores de TC inferiores a 1 mg L^{-1} verificou-se, contudo, que o método potenciométrico proposto permitia determinar, com uma boa sensibilidade, qualquer uma das formulações existentes no mercado.

VIII - 5 Conclusões

A análise por injeção em fluxo, utilizada para o doseamento de TC em formulações farmacêuticas, revelou-se simples, prática e rápida de executar.

A análise automática das tetraciclina, baseada na detecção potenciométrica, mostrou-se um processo vantajoso, relativamente à detecção espectrofotométrica [6 - 18, 34], na medida em que era possível realizarem-se as determinações numa ampla zona de concentrações, independentemente da coloração e turvação das amostras. A utilização de um sistema potenciométrico de sensibilidade aumentada permitia a obtenção de resultados mais precisos e reprodutíveis que os anteriormente citados.

O sistema proposto permitia a determinação destes analitos com um alto ritmo de amostragem, 150 a 200 amostras h^{-1} , e com um baixo consumo quer de amostra (200 μL) quer de reagentes, com um consumo de apenas cerca de 13 μg de Cu (II) por determinação.

A opção pelo método analítico desenvolvido é justificada pelo facto de se tratar de um sistema simples, facilmente aplicável a diferentes tipos de formulações farmacêuticas sem requerer um complicado tratamento da amostra.

A aplicabilidade do sistema proposto poderá facilmente ser alargada, com ligeiras modificações da montagem FIA e dos seus parâmetros químicos, a outros antibióticos quimicamente similares às TC.

Referências Bibliográficas

- [1] Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th Edition, The Philadelphia College of Pharmacy and Science, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, USA, **1985**.
- [2] The British Pharmacopeia, HMSO, London, **1988**.
- [3] United States Pharmacopoeia XXII, US Pharmacopoeial Convention, Rockville, MD, **1990**.
- [4] Pharmacopée Internationale, 3^e Edition, Organisation Mondiale de la Santé, Genève, **1981**.
- [5] A. Albert e C.W. Reese, Nature [London], **1963**, 172, 201.
- [6] A.A. Alwarthan, S.A. Al-Tamrah e S.M. Sultan, Analyst, **1991**, 116, 183.
- [7] S.M. Sultan, F.E.O. Suliman, S.O. Duffuua e I.I. Abu-Abdoun, Analyst, **1992**, 117, 1179.
- [8] S.A. Al-Tamrah e A.A. Alwarthan, Anal. Lett., **1992**, 25, 1865.
- [9] M. Jelick-Stankov e D. Veselinovic, Analyst, **1989**, 114, 719.
- [10] D. Veselinovic e M. Jelick-Stankov, Mikrochem. Acta, **1989**, 1, 329.
- [11] R. Karlicek e P. Solich, Anal. Chim. Acta, **1994**, 285, 9.
- [12] M. Ayad, M. El-Sadek e S. Mostaffa, Anal. Lett., **1986**, 19, 2169.
- [13] J.L.L. Paz e J.M. Calatayud, J. Pharm. Biomed. Anal., **1993**, 11, 1093.
- [14] U. Saha, J. Assoc. Off. Anal. Chem., **1987**, 70, 686.
- [15] U. Saha, J. Assoc. Off. Anal. Chem., **1989**, 72, 242.
- [16] M. Jelick-Stankov, D. Veselinovic, D. Malesev e Z. Radovic, J. Pharmac. Biomed. Anal., **1989**, 7, 1565.

- [17] S. Sultan, *Analyst*, **1986**, 111, 97.
- [18] M. Basanti Rao, P.S. Ramamurthy e V. Suryanarayana Rao, *Indian Drugs*, **1996**, 33, 350.
- [19] A.F. Shoukry e S.S. Badawy, *Microchem. J.*, **1987**, 36, 1071.
- [20] S.Z. Yao, J. Shiao e L.H. Nie, *Talanta*, **1989**, 36, 849.
- [21] L. Nie, W. Ma, X. Xiang e S. Yao, *Yaxue-Xuebao*, **1989**, 24, 458.
- [22] R. Fuglein, C. Brauchle e N. Hampp, *Anal. Sci.*, **1994**, 10, 959.
- [23] D.L. Simpson e R.K. Kobos, *Anal. Chim. Acta*, **1984**, 164, 273.
- [24] D.L. Simpson e R.K. Kobos, *Anal. Lett.*, **1982**, 15, 1345.
- [25] D.L. Simpson e R.K. Kobos, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 1974.
- [26] J. Huamin e W. Erkang, *Fenxi-Huaxue*, **1989**, 17, 795.
- [27] W. Oungpipat, P. Southwell-Keely e P.W. Alexander, *Analyst*, **1995**, 120, 1559.
- [28] J. Huamin e W. Erkang, *Analyst*, **1988**, 113, 1541.
- [29] X.R. Zhang, W.R.G. Baeyens, A. Van Den Borre, G. Van Der Weken, A.C. Calokerinos e S.G. Schulman, *Analyst*, **1995**, 120, 463.
- [30] A.A. Alwarthan e A. Townshend, *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 205, 261.
- [31] S.A. Halvatzis, M.M. Timotheou-Potomia e A.C. Calokerinos, *Analyst*, **1993**, 118, 633.
- [32] W. Liu, H. Jiang e A. Du, *Yaoxue- Xuebao*, **1991**, 26, 391.
- [33] K. Vytras, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1989**, 7, 789.
- [34] *Pharmacopoea Helvetica*, Editio Septima, Département Fédéral de l'Intérieur, 3003 Berne, **1994**.
- [35] I.M.P.L.V.O. Ferreira, Dissertação de Doutorado. Construção, avaliação e aplicação de detectores potenciométricos tubulares para FIA baseados em membranas

cristalinas homogêneas. Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, 1994.

CAPÍTULO IX

Conclusões globais

Conclusões globais

Na elaboração desta dissertação optou-se por, nos diferentes capítulos, apresentar a discussão dos resultados e retirar as respectivas conclusões. Procurou-se desta forma realçar as conclusões específicas de cada caso considerado, justificando-se que, neste capítulo, somente se evidencie muito brevemente as conclusões de índole geral do trabalho desenvolvido.

O processo de construção dos eléctrodos utilizados, obtidos por prensagem a pressões elevadas, de misturas de sulfureto de prata com sulfuretos dos cátions ou sais de prata dos aniões, permitiu obter eléctrodos sensíveis a espécies inorgânicas, nomeadamente cloreto, brometo, iodeto, sulfureto, prata (I), cobre (II), cádmio (II) e chumbo (II). Este processo de construção, além de simples e económico, permitiu a obtenção de eléctrodos com boas características operacionais e com um tempo de vida, em muitos casos, superior a 6 anos.

A construção de eléctrodos de configuração tubular permitiu que fossem desenvolvidos sistemas de detecção de sensibilidade aumentada, mecanicamente estáveis e simples, nos quais o declive (mV década^{-1}) obtido era aproximadamente o dobro do conseguido com os sistemas de fluxo com detecção potenciométrica convencional. Os sistemas desenvolvidos, tipo diferencial e tipo soma, permitiam um ganho acentuado de sensibilidade, com manutenção das restantes características operacionais, relativamente aos sistemas de detecção empregando os eléctrodos correspondentes incorporados em sistemas FIA convencionais.

O aumento de sensibilidade conseguido com os sistemas de detecção potenciométricos implementados tornou possível a sua aplicação prática, concretamente na determinação dos respectivos iões primários em águas e vinhos, obtendo-se resultados mais exactos e precisos que os decorrentes da metodologia de referência aplicada. Permitiu também a implementação de montagens que possibilitavam a determinação de diferentes compostos, promovendo-se reacções químicas, a cujos produtos finais os ESI eram sensíveis, e reacções de complexação.

O doseamento potenciométrico mostrou-se favorável relativamente aos procedimentos de referência, uma vez que, exigindo instrumentação relativamente

económica e pouco sofisticada, era possível, em períodos de tempo significativamente mais curtos, executar um número elevado de determinações.

As montagens desenvolvidas eram mecanicamente estáveis, fáceis de implementar, utilizavam material e instrumentação analítica pouco complexa e tinham ainda como vantagem permitirem o processamento de um maior número de amostras. Adicionalmente, o consumo quer de reagentes quer de amostras era, em todos os casos pequeno, o que é particularmente relevante do ponto de vista económico e sobretudo ambiental.

O tipo de montagens implementadas poderia ainda ser utilizada por pessoal não especializado, evitando submeter as amostras a dosear a preparações morosas e monótonas, contribuindo para o decréscimo quer da manipulação, quer dos custos e tempo despendido na realização dos processos de controlo analítico.

A facilidade de substituição dos detectores potenciométricos tubulares por unidades sensíveis a outras espécies iónicas, nas montagens FIA desenvolvidas, permitia a determinação de diferentes espécies analíticas sem necessidade de recorrer a módulos ou aparelhos dispendiosos.

Finalmente concluiu-se que a associação da detecção potenciométrica a sistemas de análise por injeção em fluxo, pela facilidade de efectuar diferentes etapas de separação, conversão ou pré-concentração em linha, permite uma grande versatilidade de aplicações, sendo um processo alternativo de doseamento dos mais variados produtos na área hidrológica, alimentar e farmacêutica.