Maria da Conceição Branco da Silva de Mendonça Montenegro
Licenciada em Farmácia (U.P.)

CONSTRUÇÃO, AVALIAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES PARA ESPÉCIES ORGÂNICAS COM INTERESSE FARMACÊUTICO

Universidade do Porto

PORTO, 1991

Maria da Conceição Branco da Silva de Mendonça Montenegro
Licenciada em Farmácia (U.P.)

CONSTRUÇÃO, AVALIAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES PARA ESPÉCIES ORGÂNICAS COM INTERESSE FARMACÊUTICO.

Dissertação para Doutoramento
na Faculdade de Farmácia da
Universidade do Porto

Universidade do Porto

PORTO, 1991

RESUMO

Neste trabalho descreve-se, de um modo pormenorizado, a construção e avaliação de eléctrodos selectivos de iões com membrana de condutor móvel imobilizada em PVC e aplicada directamente sobre um suporte condutor de grafite, sensíveis a monocarboxilatos alifáticos saturados, benzoato, salicilato, 5,5-dietilbarbiturato, 5-etil-5-fenilbarbiturato, tiamina e piridoxina.

Para a construção dos eléctrodos sensíveis a espécies aniónicas, usou-se como sistema extractor sais de amónio quaternário de cadeia longa e como solventes mediadores, alternativamente o dibutilftalato e o ortonitrofeniloctiléter, conforme cada caso o justificava. Para os eléctrodos sensíveis a espécies catiónicas, usaram-se como extractores iónicos o tetrafenilborato ou o tetra-p-clorofenilborato dissolvidos em dibutilftalato ou ortonitrofeniloctiléter, como solventes mediadores.

Os ensaios de avaliação efectuados para todas as unidades construídas, constavam da determinação dos parâmetros gerais das curvas de calibração, da velocidade de resposta, do efeito do pH nos valores de potencial, do tempo de vida dos eléctrodos e reprodutibilidade dos valores de potencial ao longo de um dia de trabalho e ao longo do tempo de vida e da determinação dos valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos em relação a diversos interferentes.

Após avaliação dos eléctrodos preparados, e nos casos em que, para a mesma espécie, eram utilizados sistemas sensores diferentes, seleccionaram-se os que apresentavam melhores características de funcionamento, utilizando-os posteriormente no doseamento potenciométrico das respectivas espécies primárias, em fórmulas farmacêuticas vulgarmente comercializadas em Portugal. Os valores obtidos nos ensaios potenciométricos, foram comparados com metodologias sugeridas na farmacopeia dos Estados Unidos da América

ou na farmacopeia Britânica.

A versatilidade da construção utilizada na preparação dos eléctrodos selectivos, justificou a construção de detectores potenciométricos tubulares para salicilato, vitamina B_1 e B_6 com características que permitiam a sua incorporação em montagens para análises por injecção em fluxo (FIA). Estes detectores foram avaliados quanto às suas características intrínsecas, em sistemas FIA de baixa dispersão.

Foram também estabelecidas montagens automáticas baseadas na análise por injecção em fluxo dedicadas à determinação de salicilato, vitaminas B_1 e B_6, em formulações farmacêuticas, comparando-se igualmente os resultados obtidos com as metodologias de referência descritas em farmacopeias para aqueles compostos.

ABSTRACT

In this work it is described in detail the construction and evaluation of ion selective electrodes with a mobile carrier conductive membrane immobilized in PVC, and directly applied on a graphite conductive support. Electrodes sensitive to saturated aliphatic monocarboxilates, benzoate, salicylate, 5,5-diethylbarbiturate, 5-ethyl-5phenylbarbiturate, thiamine and pyridoxine were prepared.

In the construction of electrodes sensitive to anionic species, long chain quaternary ammonium salts were used as extractor system and dibutylphtalate or o-nitrophenyl octyl ether were employed as solvent mediators. In the preparation of electrodes sensitive to cationic species the ionic extractors system were tetraphenylborate or or (2-chlorophenyl) borate, dissolved in dibuthylphtalate or o-nitrophenyl octyl ether which were the solvent mediators.

In order to assess the characteristics of the constructed units, it was calculated the correspondent calibration curve general parameters, response time, effect of pH on the potential values, lifetime and the potentiometric selectivity coefficients to several interferents.

After the evaluation of the constructed electrodes, when different sensor systems were used, those which presented better characteristics were selected and used in the determination of the correspondent primary ions in pharmaceutical products commercialized in Portugal. The results thus obtained were compared with methodologies suggested by the U.S.P. or the British Pharmacopeias.

The versatility of the electrodes preparation justified the construction of tubular potentiometric detectors sensitive to salicylate, vitamins B_1 and B_6 with characteristics that allow their incorporation in flow injection analysis

(FIA) manifolds. Their intrinsic characteristics were evaluated in low dispersion manifolds.

Flow injection manifolds were established in order to perform automatically the determination of salicylate, vitamins B_1 and B_6 in pharmaceutical products, and the results obtained were also compared with the respective reference methods.

Agradecimentos

À Faculdade de Farmácia agradeço o ter-me aceite como membro do seu grupo docente e o apoio concedido para a dispensa de serviço docente que permitiu a realização desta dissertação.

Ao Instituto Nacional de Investigação Científica a concessão de uma bolsa para doutoramento e todo o apoio financeiro, sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Alberto Moreira Roque da Silva, manifesto o meu muito e sincero reconhecimento pela amizade e confiança que em mim sempre depositou ao propôr-me o trabalho universitário que tenho vindo a desenvolver e também ao proporcionar-me todas as facilidades que contribuiram para a minha formação académica.

Ao Prof. Dr. José Luís Fontes da Costa Lima agradeço em primeiro lugar ter aceite supervisionar todo o trabalho que realizei e o contributo do seu enorme saber para a minha preparação científica. Também gostaria de lhe agradecer toda a confiança que em mim deposita, a atribuição das diversas tarefas de que sempre me incumbiu e que ajudaram na minha formação, o estímulo que sempre imprimiu a todos os trabalhos efectuados e, ainda, a amizade demonstrada, o ânimo que sempre me transmitiu e a PACIÊNCIA com que sempre me aturou, sem os quais não teria sido possível a realização desta dissertação.

A todos os meus colegas, Drª Aida, Drª. Isabel, Salete, Beatriz, Alberto, Rui, Agostinho, Lúcia, António, Paula, Meró, Nuno e Isabel, eu gostaria de manifestar o meu apreço por todas as ajudas prestadas, a simpatia e o apoio nas "horas mais amargas" bem como todas as "idiosincrasias" que tanto contribuiram para a minha felicidade e bem estar no laboratório. Uma referência especial ao António que, durante os quatro meses de escrita da tese, sentado ao meu lado, numa situação semelhante, manifestou sempre uma boa

disposição e espírito de ajuda estando sempre presente com uma palavra amiga.

Ao Joseph, pelas horas de trabalho laboratorial partilhadas a ensaiar os "meus" sensores, nos "seus" detectores tubulares e pelo fluxo de informação que permitiu e permitirá melhorar os eléctrodos desenvolvidos.

Ao Julian, pela amizade e boa disposição com que sempre me comunicou a sua experiência.

À Belmira, pela imensa ajuda prestada na execução do trabalho laboratorial de rotina.

À D. Teresa e ao Sr. Monteiro, por terem acedido a todos os meus pedidos.

Ao Sr. Diogo, pela contribuição dada na fase de impressão deste trabalho.

Aos meus Pais, pela educação que me proporcionaram, pelos sacrifícios que sempre fizeram e pelo exemplo com que sempre me brindaram.

Ao Miguel, pela compreensão demonstrada e pelo incentivo que, no dia a dia sempre me transmitiu. Aos meus filhos, Susana e Miguel, por me terem feito sentir a importância de todo o meu trabalho.

A toda a minha família em geral, pelo carinho e apoio manifestado ajudando-me a superar todas as dificuldades e crises.

A todos quantos, inadvertidamente, foram esquecidos, o meu muito obrigado.

INDICE

INTRODUÇÃO GERAL I

1 - Enquadramento e Objectivos Gerais do Trabalho II

2 - Organização da Tese IV

1 - ALGUNS ASPECTOS DA EVOLUÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA POTENCIOMETRIA COM ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES. 1

1.1 - Aspectos Gerais. 2

1.2 - Breve Introdução Histórica. 3

1.3 - Eléctrodos de Membrana não Cristalina, de Condutor Móvel. 9

1.4 - Eléctrodos sem Solução de Referência Interna. 16

1.5 - Eléctrodos de Condutor Recoberto. 21

1.6 - Eléctrodos para Fins Específicos. 27

1.6.1 - ISFET´s. 27

1.6.2 - Microeléctrodos. 28

1.6.3 - Microcélulas potenciométricas. 29

1.6.4 - Detectores potenciométricos para análise por injecção em fluxo. 30

1.7 - Eléctrodos Selectivos com Aplicação ao Doseamento de Produtos Farmacêuticos. 33

1.8 - Referências Bibliográficas. 36

2 - ASPECTOS GERAIS DA PARTE EXPERIMENTAL 45

2.1 - Meios Experimentais Usados. 46

2.1.1 - Aparelhagem. 46

2.1.2 - Eléctrodos. 48

2.1.3 - Montagens FIA utilizadas. 49

2.1.4 - Reagentes e soluções. 52

2.2 - Construção dos Eléctrodos de Configuração Convencional. 53

2.2.1 - Preparação do corpo do eléctrodo. 53

2.2.2 - Preparação do suporte condutor e sua aplicação no corpo do eléctrodo. 56

2.2.3 - Preparação dos sistemas sensores. 59

2.2.4 - Preparação das membranas para a construção dos eléctrodos. 60

2.2.5 - Aplicação das membranas no suporte condutor. 60

2.2.6 - Recuperação dos corpos dos eléctrodos. 62

2.3 - Construção dos Módulos Sensores de Configuração Tubular. 63

2.3.1 - Preparação do corpo do módulo sensor tubular. 63

2.3.2 - Aplicação do suporte condutor no módulo tubular. 65

2.3.3 - Aplicação da membrana sensora nos módulos tubulares. 66

2.3.4 - Preparação dos detectores potenciométricos. 67

2.3.5 - Recuperação do corpo dos módulos tubulares. 68

2.3.6 - Modo de fixação do eléctrodo de referência. 68

2.3.7 - Detector tubular com eléctrodo de referência incorporado (detector em monobloco). 69

2.3.8 - Preparação do eléctrodo de referência utilizado na construção do detector em monobloco. 72

2.4 - Metodologias de Avaliação dos Eléctrodos Selectivos de Iões de Construção Convencional. 73

2.4.1 - Determinação do limite inferior de resposta linear, limite prático de detecção e declive das rectas de calibração. 74

2.4.2 - Comportamento dos eléctrodos ao longo do tempo. 80

2.4.3 - Tempo de vida dos eléctrodos. 81

2.4.4 - Velocidade de resposta. 82

2.4.5 - Dependência do potencial dos eléctrodos selectivos com o pH das soluções. 83

2.4.6 - Coeficientes de selectividade potenciométricos. 84

2.5 - Metodologias para a Avaliação das Características de Funcionamento dos Detectores Tubulares. 89

2.5.1 - Limite inferior de resposta linear, limite prático de detecção e declive. 90

2.5.2 - Estabilidade e reprodutibilidade dos potenciais. 92

2.5.3 - Tempo de resposta. 93

2.5.4 - Avaliação da influência do pH. 93

2.5.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos. 96

2.6 - Processos e Cálculos Usados nas Determinações Potenciométricas, em Formulações Farmacêuticas com Eléctrodos Convencionais. 97

2.6.1 - Ensaios por potenciometria directa. 97

2.6.2 - Ensaios pelo método da adição. 97

2.7 - Referências Bibliográficas. 99

3 - ELÉCTRODOS SENSÍVEIS A ALGUNS MONOCARBOXILATOS ALIFÁTICOS SATURADOS. 100

3.1 - Introdução. 101

3.2 - Parte experimental. 104

3.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos. 104

3.2.2 - Reagentes e soluções. 104
3.2.3 - Preparação dos sistemas sensores para os diferentes eléctrodos. 105
3.2.4 - Construção dos eléctrodos selectivos sensíveis aos diferentes monocarboxilatos. 107
3.3 - Resultados e sua Discussão. 109
3.3.1 - Parâmetros das curvas de calibração. 109
3.3.2 - Velocidade de resposta dos eléctrodos. 116
3.3.3 - Tempos de vida dos eléctrodos e reprodutibilidade da resposta. 117
3.3.4 - Efeito do pH sobre os valores de potencial dos eléctrodos construídos (Diagramas de Reilley). 126
3.3.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos. 131
3.6 - Conclusões. 142
3.7 - Referências Bibliográficas. 143

4 - ELÉCTRODOS SENSÍVEIS AO ANIÃO BENZOATO 145

4.1 - Introdução. 146
4.2 - Parte Experimental. 149
4.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos. 149
4.2.2 - Reagentes e soluções. 149
4.2.3 - Preparação dos sistemas sensores e membranas. 150
4.2.4 - Construção dos eléctrodos. 152
4.2.5 - Preparação das amostras de formulações farmacêuticas cujo conteúdo em benzoato se visava determinar. 152
4.3 - Resultados e sua Discussão. 154
4.3.1 - Parâmetros das curvas de calibração 154
4.3.2 - Tempos de vida dos eléctrodos e reprodutibilidade de resposta 161
4.3.3 - Velocidade de resposta dos eléctrodos. 165

4.3.4 - Efeito do pH no valor de potencial dos eléctrodos. 169
4.3.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos. 173
4.3.6 - Doseamento de anião benzoato em xaropes medicinais. 177
4.4 - Conclusões. 179
4.5 - Referências Bibliográficas. 180

5 - ELÉCTRODOS SENSÍVEIS AO ANIÃO SALICILATO 182

5.1 - Introdução. 183
5.2 - Parte Experimental. 188
5.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos. 188
5.2.2 - Reagentes e soluções. 188
5.2.3 - Preparação do sistema sensor e das membranas para a construção dos eléctrodos. 189
5.2.4 - Construção dos eléctrodos de salicilato. 190
5.2.5 - Preparação das amostras das formulações farmacêuticas cujo conteúdo em ácido salicílico e acetilsalicílico se pretendia determinar. 190
5.3 - Resultados e sua Discussão. 193
5.3.1 - Parâmetros das curvas de calibração. 193
5.3.2 - Reprodutibilidade dos potenciais e tempo de vida dos eléctrodos 197
5.3.3 - Velocidade de resposta dos eléctrodos . 201
5.3.4 - Efeito do pH no valor de potencial dos eléctrodos. 203
5.3.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos. 206
5.3.6 - Doseamento de salicilato em formulações farmacêuticas. 209
5.4 - Conclusões. 211
5.5 - Referências Bibliográficas. 212

6 - ELÉCTRODOS SENSÍVEIS AOS ANIÕES
5,5-DIETILBARBITURATO E 5-ETIL-5-FENILBARBITURATO 215

6.1 - Introdução. 216
6.2 - Parte Experimental. 219
6.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos. 219
6.2.2 - Reagentes e soluções. 219
6.2.3 - Preparação dos sistemas sensores e membranas.dos eléctrodos. 220
6.2.4 - Preparação dos eléctrodos. 222
6.2.5 - Preparação das amostras de formulações farmacêuticas cujo conteúdo em ácido 5-etil-5-fenilbarbitúrico se visava determinar. 222
6.3 - Resultados e sua Discussão. 224
6.3.1 - Parâmetros das curvas de calibração dos eléctrodos. 224
6.3.2 - Velocidade de resposta dos eléctrodos. 232
6.3.3 - Tempos de vida e reprodutibilidade de resposta 236
6.3.4 - Efeito do pH nos valores de potencial dos eléctrodos. 241
6.3.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos. 245
6.3.6 - Doseamento de 5-etil-5-fenilbarbiturato em formulações farmacêuticas. 250
6.4 - Conclusões. 252
6.5 - Referências Bibliográficas. 253

7 - ELÉCTRODOS SENSÍVEIS AOS CATIÕES
TIAMINA (VITAMINA B_1) E PIRIDOXINA (VITAMINA B_6) 255

7.1 - Introdução. 256
7.2 - Parte Experimental. 260
7.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos. 260
7.2.2 - Reagentes e soluções. 260

7.2.3 - Preparação dos sistemas sensores, das membranas. e dos eléctrodos. 261
7.2.4 - Preparação das amostras de formulações farmacêuticas cujo conteúdo em vitamina B_1 e B_6 se visava determinar 265
7.2.4.1 - Fórmulas injectáveis e xaropes, contendo vitamina B_1. 265
7.2.4.2 - Comprimidos contendo tiamina e piridoxina. 266
7.3 - Resultados e sua Discussão. 267
7.3.1 - Parâmetros das curvas de calibração. 267
7.3.2 - Reprodutibilidade dos potenciais e tempos de vida dos eléctrodos. 281
7.3.3 - Velocidade de resposta dos eléctrodos. 289
7.3.4 - Efeito do pH no valor de potencial dos eléctrodos. 290
7.3.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos. 295
7.3.6 - Doseamento de tiamina e piridoxina em fórmulas farmacêuticas. 305
7.4 - Conclusões. 308
7.5 - Referências Bibliográficas. 309

8 - DETECTOR POTENCIOMÉTRICO TUBULAR SENSÍVEL AO ANIÃO SALICILATO 311

8.1 - Introdução. 312
8.2 - Parte Experimental. 315
8.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos. 315
8.2.2 - Reagentes e soluções. 315
8.2.3 - Preparação do sistema sensor, membranas e detectores potenciométricos tubulares. 316
8.2.4 - Montagens FIA utilizadas. 317
8.2.5 - Preparação das amostras de formulações cujo conteúdo

em anião salicilato se visava determinar por FIA. 326
8.3 - Resultados e sua Discussão. 327
8.3.1 - Parâmetros de calibração dos detectores de salicilato. 327
8.3.2 - Velocidade de resposta do sistema FIA. 332
8.3.3 - Reprodutibilidade de resposta dos detectores. 332
8.3.4 - Tempo de vida dos detectores tubulares. 335
8.3.5 - Efeito do pH nos valores de potencial dos detectores 336
8.3.6 - Coeficientes de selectividade potenciométricos. 338
8.3.7 - Doseamento de salicilato em formulações farmacêuticas. 340
8.4 - Conclusões. 342
8.5 - Referências Bibliográficas. 343

9 - DETECTORES POTENCIOMÉTRICOS TUBULARES SENSÍVEIS AOS CATIÕES TIAMINA E PIRIDOXINA 345

9.1 - Introdução. 346
9.2 - Parte Experimental. 348
9.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos. 348
9.2.2 - Reagentes e soluções. 349
9.2.3 - Preparação dos sistemas sensores e membranas dos eléctrodos tubulares. 349
9.2.4 - Construção dos detectores potenciométricos tubulares. 350
9.2.5 - Montagens FIA utilizadas 350
9.2.6 - Preparação das amostras das formulações para o doseamento automático por FIA. 359
9.3 - Resultados e sua Discussão. 360
9.3.1 - Características de resposta dos detectores potenciométricos tubulares. 360
9.3.2 - Velocidade de resposta do sistema FIA. 368
9.3.3 - Reproductibilidade de resposta. 368
9.3.4 - Efeito do pH nos valores de potencial dos detectores 369

9.3.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos. 373

9.3.6 - Doseamento por FIA de vitamina B_1 e B_6 em formulações farmacêuticas. 376

9.4 - Conclusões. 379

9.5 - Referências Bibliográficas. 380

10 - CONCLUSÕES GLOBAIS 381

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

1- Enquadramento e Objectivos Gerais do Trabalho.

No fim da década de 60, apareceram comercializados os primeiros eléctrodos selectivos de iões, renovando-se, a partir dessa altura, o interesse pelas determinações potenciométricas, que até aí envolviam quase exclusivamente eléctrodos de segunda espécie, sensíveis a halogenetos e o eléctrodo de vidro, sensível ao protão, usado nas medidas de pH.

Rapidamente se tornou vasta a aplicação de eléctrodos selectivos de iões para os mais diversos fins, nomeadamente: em análises de águas e análises ambientais, em análises clínicas, quer de forma convencional quer integrados em autoanalisadores, em análises de fluidos biológicos incluindo a análise "in situ" com microeléctrodos, no controlo industrial realizado ao nível laboratorial, ou no controlo contínuo de processos de fabrico.

Embora iniciado na década de 70, foi a partir dos trabalhos realizados nos inícios dos anos 80 que ficou nítida a utilidade do uso dos eléctrodos selectivos de iões, sensíveis a compostos orgânicos de interesse farmacêutico. Contudo, as unidades desenvolvidas, não satisfaziam na maioria dos casos, os requesitos desejáveis para poderem ser usadas em processos de rotina, muitas vezes por pessoal não especializado. Em suma, eléctrodos que a nível do controlo laboratorial, pudessem ser encarados com a mesma ligeireza com que

hoje se usa os vulgarmente designados " eléctrodos de pH ".

As deficiências mais relevantes evidenciavam-se ao nível da composição do sistema sensor e do processo de construção que os eléctrodos utilizavam, originando eléctrodos de baixa selectividade, de reduzido tempo de vida.

Esta situação originou o desenvolvimento do trabalho (de que esta dissertação contém uma parte dos resultados), no sentido de implementar eléctrodos selectivos de iões, sensíveis a compostos orgânicos de interesse farmacêutico, visando tanto quanto possível obviar algumas das deficiências referidas. Avaliou-se igualmente a possibilidade, de se usarem as unidades construídas, no doseamento de formulações farmacêuticas, comparando a qualidade dos resultados e eventuais vantagens desta técnica de doseamento, relativamente às metodologias de referência propostas nas farmacopeias.

O processo de construção utilizado, apresentava, além das vantagens referidas, a capacidade de ser facilmente moldável, sendo possível atribuir-lhe as formas mais variadas, como, por exemplo, uma configuração tubular. Isto, fez com que, adicionalmente, se tivesse avaliado a possibilidade dos mesmos sistemas sensores e do mesmo processo de imobilização, poder servir de base à construção de detectores tubulares para serem incorporados em sistemas de análise por injecção em fluxo.

Adicionalmente, há que referir que usando os sistemas sensores desenvolvidos nesta dissertação, outros detectores tubulares foram construídos para aplicação a sistemas FIA e à análise de produtos farmacêuticos. Embora não sejam incluídos neste trabalho os resultados com eles obtidos, serão invocados no texto, na forma de referências bibliográficas, sempre que forem relevantes para a discussão.

2 - Organização da Tese.

O presente trabalho está organizado por capítulos, num total de dez, em que no primeiro se faz uma análise crítica da evolução dos eléctrodos selectivos, tal como hoje são entendidos, nomeadamente dos eléctrodos sensíveis a compostos orgânicos de interesse farmacêutico. A análise do estado do conhecimento, e as referências aos problemas que ainda não encontraram solução adequada, servem para caracterizar a área onde o trabalho desenvolvido nesta dissertação, foi enquadrado.

No segundo capítulo, referem-se os materiais e os métodos genericamente usados na realização do trabalho.

Nos capítulos 3 a 7, apresentam-se os resultados referentes à construção e avaliação de eléctrodos selectivos de iões, sensíveis a monocarboxilatos alifáticos (propionato, acetato, formiato, monocloroacetato, dicloroacetato e tricloroacetato); benzoato; salicilato; barbituratos (5,5-dietilbarbiturato e 5-etil-5-fenilbarbiturato); e vitaminas (tiamina e piridoxina).

Em todos os casos, avaliou-se a qualidade de resposta dos eléctrodos às espécies a que eram sensíveis, designadamente, as características das curvas de calibração (limite inferior de resposta linear, limite prático de detecção, declive e estabilidade de resposta), a velocidade de resposta, a influência do pH na resposta dos eléctrodos, a extensão das interferências, e ainda o tempo de vida que, em média, e em condições normais de funcionamento, se poderá esperar dos eléctrodos construídos.

Paralelamente, para todos os eléctrodos construídos, comparavam-se, sempre que possível, os resultados obtidos, com os recolhidos da literatura para outros eléctrodos sensíveis às mesmas espécies.

Esta avaliação comparativa, visou dimensionar a extensão dos avanços proporcionados pelo trabalho desenvolvido. Contudo, foi por vezes limitada pela forma equívoca de que se revestia a apresentação dos resultados.

Visando a identificação inequívoca das condições experimentais em

que os resultados referenciados em cada capítulo foram obtidos, indicam-se aí os correspondentes detalhes experimentais. Este procedimento tornou inevitável algumas repetições ligeiras que se entenderam ser aceitáveis.

Nos capítulos 4 a 7 (todos menos os dos carboxilatos alifáticos) faz-se a avaliação da utilidade analítica dos eléctrodos construídos, usando-os na determinação daqueles compostos orgânicos em formulações farmacêuticas comercializadas em Portugal. A qualidade dos resultados fornecidos e as vantagens do seu uso, são comparadas com ensaios efectuados pelos processos de referência sugeridos em farmacopeias.

A uniformidade utilizada na organização dos capítulos referentes à construção, avaliação e utilização dos eléctrodos selectivos de configuração convencional, teve como objectivo facilitar a visão de conjunto proporcionada por resultados paralelos que ciclicamente são apresentados ao longo do texto.

Nos capítulos 8 e 9, apresentam-se os resultados referentes à construção e avaliação de detectores tubulares para FIA, baseados nos sistemas sensores utilizados para a construção de eléctrodos de configuração convencional, sensíveis a salicilato, tiamina e piridoxina .

A ligação entre todo o trabalho realizado é apresentada no fim da presente dissertação, na forma de conclusões globais, que somente referem aspectos muito gerais dos resultados apresentados e discutidos parcelarmente em todos os capítulos.

CAPÍTULO 1

ALGUNS ASPECTOS DA EVOLUÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA POTENCIOMETRIA COM ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES

1 - ALGUNS ASPECTOS DA EVOLUÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA POTENCIOMETRIA COM ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES.

1.1 - Aspectos Gerais.

Neste capítulo tentar-se-à, de uma forma resumida, referir e comentar a evolução dos eléctrodos selectivos de iões, ao longo dos anos, no que respeita ao aparecimento de novas unidades sensíveis a diferentes espécies iónicas, às melhorias que se foram registando nas suas características de funcionamento, bem como às modificações introduzidas nos processos de construção, de modo a condicionar a sua aplicabilidade a diversas áreas do controlo, com particular relevo para a análise de produtos farmacêuticos.

Segundo as recomendações propostas pela IUPAC [1], os eléctrodos selectivos de iões, considerados como sensores electroquímicos cujo potencial depende linearmente do logaritmo da actividade de um determinado ião em solução, podem ser agrupados em eléctrodos primários ou eléctrodos sensibilizados. Correspondem, ao primeiro grupo, os eléctrodos cristalinos (de membrana homogénea e heterogénea) e os eléctrodos não cristalinos (de matriz rígida e de condutor móvel). No segundo grupo referido, incluem-se os eléctrodos sensíveis a gases bem como os de substracto de enzima.

Na medida em que o trabalho, cujo desenvolvimento se descreve nos

capítulos seguintes, diz respeito exclusivamente a eléctrodos de condutor móvel, justifica-se que se previligie a referência à evolução e desenvolvimento deste tipo de eléctrodos. Contudo, por razões de enquadramento, poderá, pontualmente, fazer-se referência a outro tipo de eléctrodos selectivos.

É, contudo, de vincar que não se pretende, com esta introdução, fazer uma referência exaustiva de todas as unidades descritas até ao momento na literatura mas sim, através de trabalhos considerados mais relevantes, procurar fornecer uma visão geral da situação actual de conhecimento nesta área, através da evolução surgida com os eléctrodos selectivos para iões e, consequentemente, da potenciometria como técnica analítica que os utiliza.

Efectivamente, o objectivo principal da descrição que se segue é descrever e tipificar o estado de conhecimento sobre eléctrodos selectivos de iões o qual justificou e condicionou o trabalho referido nesta dissertação.

1.2 - Breve Introdução Histórica.

Os sensores químicos, denominados eléctrodos selectivos de iões, tiveram, provavelmente, a sua origem nas primeiras investigações efectuadas, em 1875, por Sir William Thomson, que referiu e sugeriu, num artigo publicado sob o título de "Condução electrolítica em sólidos", ser o vidro um condutor electrolítico [2]. No entanto, segundo Koryta [3], a origem dos estudos sobre eléctrodos selectivos de iões deve considerar-se coincidente com pesquisas efectuadas em modelos constituídos por membranas biológicas.

Em 1906, a sugestão lançada por Sir William Thomson levou a que um botânico, Cremer [4], após investigações detalhadas efectuadas por Haber e colaboradores [5], demonstrasse que a força electromotriz, produzida por uma pilha galvânica cujos semi-elementos eram separados por uma fina membrana de vidro, era dependente da concentração hidrogeniónica das soluções que os

compunham.

Contudo, a descoberta do eléctrodo de vidro só ocorreu três anos após os trabalhos de Haber [5]. Mas, tiveram que passar mais de três décadas para que, com o aparecimento de voltímetros de alta impedância de entrada, comercializados pela Beckman Company [6], lhe fosse conferida toda a utilidade analítica que hoje lhes é reconhecida.

Mais tarde, Hughes [7], ao comparar o eléctrodo de vidro com o de hidrogénio, esboçou o desenvolvimento de outros eléctrodos selectivos a catiões, utilizando, para isso, vidros com diferentes composições.

Em 1934, Lengyel e colaboradores [8] aperceberam-se que a adição de Al_2O_3 e B_2O_3, a vidro baseado em silicato de sódio, tornavam o potencial deste eléctrodo dependente da concentração de outros catiões para além do protão. Os resultados apresentados evidenciaram uma variação de sensibilidade dos eléctrodos em relação aos diferentes catiões alcalinos, nomeadamente ao potássio e sódio.

Estas observações foram confirmadas, alguns anos mais tarde, por Eisenman e colaboradores [9], ao estudarem diferentes composições de vidro e por escolha criteriosa deste. Os referidos autores, provaram ser possível obter eléctrodos sensíveis a catião sódio, com elevada selectividade, e que podiam ser utilizados para medidas deste ião em materiais biológicos extracelulares. Foi a partir destes estudos que os mesmos autores [9], considerando o potencial do eléctrodo de vidro, puderam deduzir alguns princípios básicos que permitiram, mais tarde, prever o comportamento electroquímico de quaisquer tipos de membranas sensoras, incluindo aquelas que se baseavam em sistemas biológicos. A partir das teorias desenvolvidas estabeleceram a expressão que traduz a relação entre o potencial fornecido por um eléctrodo e a actividade das espécies nas soluções em que se encontram mergulhados, assim como aquela que relaciona a maior ou menor selectividade das membranas em relação a outros catiões presentes em solução, para além do ião principal.

Mas mesmo antes dos trabalhos de Eisenman sobre as características da resposta do eléctrodo de membrana de vidro a outros catiões que não o protão [9], foram feitas tentativas no sentido de procurar encontrar outros materiais sensores, para além do vidro, que pudessem eventualmente ser utilizados na construção de sensores potenciométricos. Entre os mais importantes, são de destacar os trabalhos realizados por Tendeloo [10,11] e Kolthof [12] que, ao preparem eléctrodos sensíveis a halogenetos, utilizaram pastilhas de halogenetos de prata, como material sensor.

A estas tentativas [10-12], seguiram-se outras, também desenvolvidas por Tendeloo e colaboradores [13,14] que, para preparem um eléctrodo sensível a catião cálcio, usavam oxalato de cálcio aglutinado numa membrana de parafina. As unidades resultantes apresentavam, contudo, uma utilidade analítica limitada pelas suas deficientes características de funcionamento e, por tal razão, tiveram pouco sucesso.

Todas as experiências, efectuadas nos dez anos que se seguiram ao aparecimento do eléctrodo de vidro, não originaram eléctrodos sensíveis a outras espécies, com qualidade comparável. Aliás, ainda hoje, é muitas vezes considerado como sendo o eléctrodo de melhor selectividade e maior aplicabilidade.

No princípio da década de 60, Pungor e colaboradores [15] construiram os primeiros eléctrodos selectivos, tal como hoje são entendidos, cujas membranas eram constituídas por halogenetos de prata (o material activo), misturado ou não com sulfureto de prata, dispersos numa matriz inerte de borracha de silicone. As boas características de funcionamento que apresentavam motivou a sua comercialização na Hungria, a partir de 1965.

Nos anos seguintes, Frant e colaboradores reactivaram o interesse pelas determinações potenciométricas ao desenvolverem eléctrodos sensíveis a fluoreto [16] e sais inorgânicos, tais como, cobre, chumbo e cádmio [17], com excelentes características de funcionamento.

O aparecimento no mercado do eléctrodo de fluoreto [16], originou, no

tempo, grande impacto uma vez que o seu uso permitia efectuar, com rapidez e qualidade, o doseamento de fluoretos em águas, permitindo ultrapassar as dificuldades associadas às determinações clássicas do mesmo anião, as quais eram muito lentas e laboriosas.

Em 1967, Ross [18] propôs o primeiro eléctrodo de membrana líquida, (como na altura foi denominado), sensível a cálcio, constituído por uma solução de permutador iónico (dodecilfosfato de cálcio) num solvente (di-n-octilfenilfosforato), suspensa numa membrana porosa de celulose. O aparecimento deste eléctrodo constituiu um marco na evolução dos eléctrodos de membrana não cristalina com condutor iónico móvel (permutador iónico móvel). O líquido permutador, que se encontrava suspenso na película de celulose, funcionava em contacto com uma solução aquosa, num mecanismo baseado no mesmo princípio de funcionamento das células de concentração com líquidos permutadores, referidas por Sollner [19] e Bonnern [20].

A construção do eléctrodo de cálcio [18], consistia na adaptação à extremidade inferior de um tubo de vidro de um outro, de celulose, que se enchia com o sensor iónico. O contacto iónico efectivava-se através de um reservatório de vidro, contendo uma solução aquosa de cloreto de cálcio em gel de agar-agar e um eléctrodo de cloreto de prata / prata, que funcionava como eléctrodo de referência interno (Fig. 1.2.1). Este processo de construção originou eléctrodos de boas características de funcionamento, muito embora apresentassem deficiências de origem mecânica que só mais tarde, com o aparecimento de novos processos de construção de eléctrodos, puderam ser superadas.

Foi a Orion Research Incorporated que, ao investir fortemente na construção, divulgação e comercialização dos eléctrodos selectivos de iões, nomeadamente nos sensíveis a fluoreto [16] e cálcio [18], contribuiu fortemente para a vulgarização da análise potenciométrica, evidenciando a sua utilidade no doseamento de espécies iónicas nas mais diversas matrizes.

Resultaram assim, no princípio da década de 70, inúmeras aplicações

deste tipo de eléctrodos que são referidas num artigo de revisão, publicado por Buck [21], onde se pode encontrar uma lista detalhada das suas utilizações em diversas amostras.

Nos anos imediatos, assistiu-se a um crescimento explosivo da investigação sobre eléctrodos selectivos, tendo surgido, a partir daí, inúmeras publicações referentes à construção de unidades sensíveis às mais diversas espécies iónicas, algumas das quais com características que justificaram a sua comercialização.

A generalização do uso de eléctrodos selectivos de iões conduziu, por parte dos seus utilizadores, ao reconhecimento de algumas deficiências que limitavam, muitas vezes, a sua aplicabilidade analítica. Este facto contribuiu para estimular a investigação nesta área, dirigindo-a, no sentido da obtenção de novos sistemas sensores, de outros processos de construção e aprofundamento do estudo dos respectivos mecanismos de funcionamento, nomeadamente os que condicionavam a selectividade dos eléctrodos.

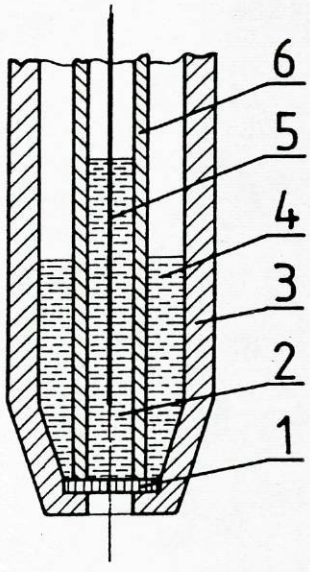


Figura 1.2.1 - Desenho esquemático para um eléctrodo de membrana líquida. (1)-membrana saturada de permutador iónico líquido; (2)-electrólito de referência interno; (3)-corpo do eléctrodo, em material plástico; (4)-solução de permutador iónico líquido; (5)- eléctrodo de referência interno; (6)-tubo de plástico interior onde está contida a solução e eléctrodo de referência internos.

1.3 - Eléctrodos de Membrana não Cristalina de Condutor Móvel.

Os estudos efectuados sobre o mecanismo de funcionamento dos diferentes tipos de eléctrodos permitiram concluir que as unidades, com membrana cristalina, apresentavam, relativamente às de membrana não cristalina, melhores características de funcionamento, sobretudo uma maior selectividade.

No entanto, a diversificação para diferentes espécies iónicas dos eléctrodos de membrana cristalina estava limitada pelas dificuldades de obtenção de substâncias que pudessem actuar como materiais electroactivos.

Essas limitações decorriam do facto de serem escassos os materiais cristalinos ou policristalinos que apresentavam características sensores e, adicionalmente, fossem aglutináveis por prensagem, viabilizando a construção de eléctrodos de membrana homogénea, ou ainda que pudessem ser ser suspensos em materiais inertes para a constituição de eléctrodos de membrana heterogénea.

Estas limitações contribuiram para que alguns investigadores dirigissem a sua atenção para outras áreas correspondentes à preparação de novos sistemas sensores ou aprefeiçoamento dos processos de construção dos eléctrodos já existentes.

Nesta área é exemplar o trabalho, realizado por Bentner [22], ao transpôr para as membranas de eléctrodos selectivos de iões o comportamento de sistemas biológicos de composição semelhante [22], posteriormente rentabilizados na preparação de sistemas sensores [23-25].

A grande variedade de substâncias permutadoras do tipo referido [23-25] permitiu que a construção de eléctrodos se tenha diversificado, justificando-se assim o facto de a maioria das unidades, descritas na literatura até ao momento, serem de membrana não cristalina e de condutor móvel, de

que o eléctrodo de cálcio, referido anteriormente [18], é o primeiro exemplo.

Grande parte dos eléctrodos, conseguidos com estes sistemas sensores, usavam um processo de construção semelhante ao dos eléctrodos de membrana líquida, comercializados pela firma Orion, e os seus autores utilizavam inclusivamente, o corpo do eléctrodo comercial para ensaiarem os sensores que sintetizavam.

Este processo de construção originava unidades com deficiências mecânicas, nomeadamente dificuldades de montagem do eléctrodo, que era pouco prática, pois, com frequência, apareciam bolhas gasosas que se fixavam no extremo do eléctrodo, tornando instáveis os valores de potencial fornecidos. Também havia dificuldades de limpeza da zona sensora determinando o arrastamento de pequenas partículas de solução em que o eléctrodo era utilizado, e passava a existir grande sensibilidade à agitação das soluções em que os eléctrodos eram imersos. Além disto, a baixa reprodutibilidade dos valores dos potenciais fornecidos e do grande consumo de sensor era de considerar.

Apesar das desvantagens resultantes deste tipo de construção, muitos autores continuam, ainda hoje, a usar esta metodologia na preparação de unidades sensíveis às mais variadas espécies catiónicas e aniónicas. Embora algumas delas apresentem características de funcionamento razoáveis, a sua utilidade analítica encontra-se limitada, pela falta de reprodutibilidade e curto tempo de vida, características de funcionamento dependentes do processo de construção.

A tentativa de obtenção de eléctrodos de melhores características de funcionamento, nomeadamente eléctrodos mais selectivos, justificou que certos autores tivessem procurado, nos condutores não iónicos, a resolução de alguns problemas que as unidades desenvolvidas até ao momento apresentavam.

A descoberta, em 1964, por Moore e colaboradores [26] de que um antibiótico (valinomicina) com boa especificidade para determinados catiões alcalinos, foi aproveitada por uma equipa de investigadores [27-31] para

demonstrar que compostos deste tipo podiam formar complexos com catiões metálicos, com constantes de formação consideravelmente diferentes [27,29,31], sugerindo, desta forma, a sua utilização como materiais sensores para a construção de eléctrodos selectivos a iões, capazes de determinar um deles em presença de quantidades significativas dos restantes.

Um exemplo deste tipo de eléctrodos é a versão comercial, apresentada por Pioda e colaboradores [32], sensível a catião potássio e constituída por uma solução de valinomicina em difeniléter, suspensa num filtro Millipore (tipo MF, Millipore Filter Corp. Bedford, Mass, USA).

O modo de funcionamento destes eléctrodos, inicialmente mal compreendido, originou que fossem considerados "sistemas exóticos" e sem viabilidade prática [33]. No entanto, avaliações cuidadas das respectivas características de funcionamento revelaram as suas qualidades, nomeadamente uma elevada selectividade para iões potássio relativamente a sódio (superior a 10.000:1) [34], e também para outras quinze espécies catónicas [35]. Estas constatações ajudaram a impôr os eléctrodos, baseados em condutores neutros, e a implantar o seu uso, reconhecendo-os como detectores potenciométricos de excelentes potencialidades analíticas.

Apesar de ser possível construir eléctrodos de condutor neutro mais selectivos do que os de condutor iónico, a sua generalização, a diferentes espécies iónicas, estava condicionada pela pequena variedade de agentes complexantes não iónicos que pudessem vir a ser utilizados como materiais sensores. Como consequência, apenas foram desenvolvidas unidades, de boas características de funcionamento, para catiões, sendo as mais significativas sensíveis a potássio [27,33,36], césio [37], amónio [27,36,38], cálcio [39.40] e bário [41,42].

No entanto, os estudos referentes a este tipo de agentes sensores (condutores neutros) têm prosseguido, cabendo essencialmente a uma equipa de investigadores suiços [43] a síntese de novos agentes complexantes (ionóforos) e a sua aplicação na construção de unidades de membrana não

cristalina, com o objectivo de melhorar as características de selectividade dos eléctrodos anteriormente descritos ou de tentar implementar novos eléctrodos selectivos.

É, contudo, de vincar que os trabalhos que mais influenciaram a evolução dos eléctrodos selectivos de iões, sobretudo os de condutor iónico carregado, foram os correspondentes à imobilização do sensor iónico em películas inertes de PVC [44-47], à preparação de sistemas sensores com base em permutadores iónicos mais selectivos, como por exemplo cálcio [48], e à utilização de novos processos de construção, visando a eliminação de eléctrodo e solução de referência interna [49,50]. Este último aspecto, porque está fortemente relacionado com o conteúdo desta dissertação, será referido mais adiante, em separado.

Já em 1967 se assistiram às primeiras tentativas de imobilização, efectuadas por Shatkay [51], que construiu um eléctrodo sensível a cálcio, impregnando, em PVC, uma solução sensora constituída por teoniltrifluoracetona, solubilizada em tributilfosfato.

Contudo, foram os trabalhos de Moody e Thomas, nos anos 70 [44-47], que marcaram claramente o início da imobilização do sistema sensor em PVC ao prepararem eléctrodos sensíveis a ião cálcio [44] e nitrato [45,46], utilizando como sensores iónicos substâncias já anteriormente usadas na construção de eléctrodos com sensor na forma líquida.

Para a preparação deste tipo de eléctrodos, Moody e Thomas [52] misturavam uma solução do permutador iónico e do respectivo solvente mediador, com determinada percentagem de PVC, préviamente dissolvido em tetrahidrofurano. Esta solução era vertida dentro de um anel de vidro (Fig. 1.3.1 A), aberto nas duas extremidades e colocado sobre uma superfície lisa, também de vidro, resultando após evaporação do solvente (tetrahidrofurano), uma película com cerca de 2 mm de espessura (Fig. 1.3.1 B). Esta membrana era cortada em pequenos discos (Fig. 1.3.1 C) que numa fase posterior eram adaptados à parte terminal inferior de um tubo de PVC (Fig. 1.3.1 C). O tubo

de PVC era fixado à extremidade do corpo do eléctrodo (tubo de vidro) que se enchia com uma solução de referência cuja função era estabelecer o contacto iónico entre a membrana sensora e um eléctrodo de referência interno nela mergulhado (Fig. 1.3.1.D). O eléctrodo de referência utilizado era constituído por um fio de prata, ao qual se depositava electrolíticamente cloreto de prata.

Os primeiros estudos efectuados com eléctrodos construídos pelo processo de Moody e Thomas, evidenciaram, desde logo, haver vantagens significativas neste tipo de construção [45,47,54,55], nomeadamente a resistência física das membranas, economia de material sensor, estabilidade. e tempo de vida das unidades, como consequência de uma menor perda de sensor iónico pela membrana.

Algumas dúvidas, levantadas inicialmente por Buck [53] relativamente ao mecanismo de funcionamento destes eléctrodos, foram, mais tarde, esclarecidas por Carmack e colaboradores [56] ao prepararem eléctrodos com sensor imobilizado numa membrana de PVC, sensíveis a cloreto [56], resultando como conclusão que este processo de construção era uma boa alternativa para a preparação de eléctrodos cujo sensor tinha anteriormente sido usado na forma líquida.

Embora a imobilização de sistemas sensores na forma líquida, em PVC, tenha sido considerada como um dos marcos mais importantes na história da evolução dos eléctrodos selectivos de iões, pelas melhorias provocadas no funcionamento global das unidades, contribuindo para facilitar a sua aplicação analítica [57], nem por isso foram menos importantes os estudos fundamentais efectuados em relação aos diferentes parâmetros que influenciavam as características de resposta dos eléctrodos quer fossem preparados com o sensor iónico imobilizado em matrizes inertas, quer se apresentassem na forma líquida.

Destacam-se, nesta área, os trabalhos efectuados por alguns autores [58,59] sobre mecanismos que envolviam os processos de extracção ao nível

das membranas e também sobre o papel desempenhado pelos diferentes componentes daquelas na selectividade dos eléctrodos.

Em relação aos eléctrodos que incorporam membranas com o sensor iónico imobilizado, são de destacar os estudos efectuados, com vista a avaliar as propriedades gerais das unidades [60], a influência dos solventes mediadores nas características de selectividade dos eléctrodos [61] e a influência de diferentes matrizes imobilizadoras [62].

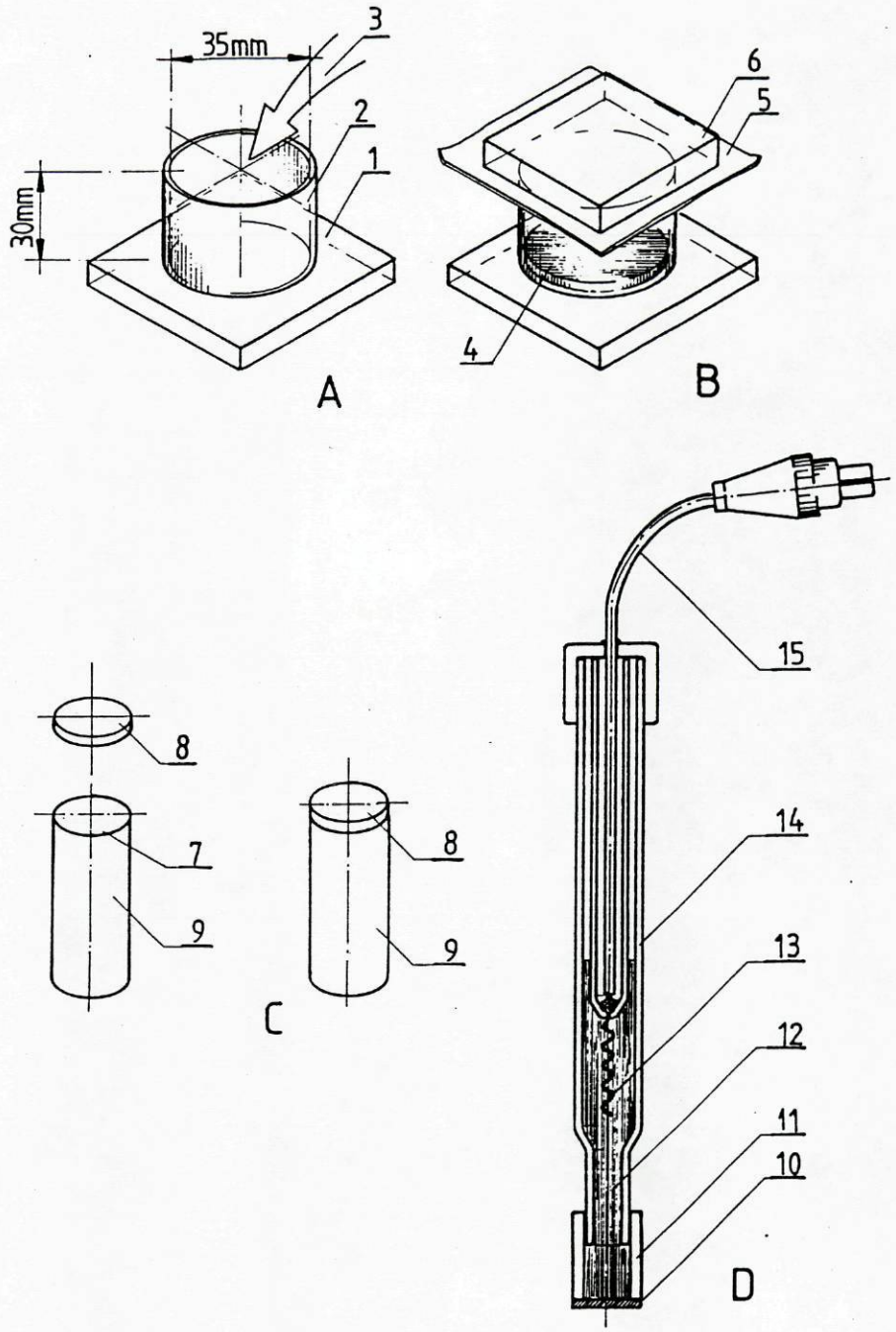


Figura 1.3.1 - Fases de preparação de um eléctrodo com solução de referência interna. (A) e (B)- preparação da membrana com o sensor imobilizado em PVC que após fixação a um tubo de PVC (C) e posterior adaptação ao corpo do eléctrodo (D) origina a unidade com solução de referência interna: (1)- placa de vidro; (2)-anel de vidro; (3)-solução constituída pelo permutador iónico, solvente mediador e PVC, em tetrahidrofurano; (4)-membrana plástica após evaporação do tetrahidrofurano; (5)-papel de filtro; (6)-peso, (7)-superfície lisa de um tubo de PVC; (8)-discos pequenos cortados da membrana "mãe"; (9)-extremidade inferior do tubo de PVC; (10)-membrana de PVC; (11)-tubo de PVC; (12)-solução de referência interna; (13)-eléctrodo de prata recoberto com cloreto de prata; (14)-corpo do eléctrodo em vidro; (15)-cabo condutor blindado.

1.4 - Eléctrodos sem Solução de Referência Interna.

Embora fossem reconhecidas grandes vantagens ao processo de construção desenvolvido por Moody e Thomas [44-47], o desejo de simplificar ainda mais a preparação de eléctrodos selectivos de iões levou a que vários grupos de investigadores tentasse implementar um novo processo de construção para eléctrodos onde fosse eliminada a solução de referência interna das unidades.

Foi na sequência de trabalhos efectuados por Freiser e colaboradores sobre os mecanismos envolvidos nos processos de extracção, em eléctrodos com sensor na forma líquida, baseados em sais de amónio quaternário [62,63], que surgiram as primeiras unidades denominadas eléctrodos de fio recoberto (coated wire electrodes) [65], sensíveis a catião cálcio. O processo de construção, proposto por Freiser, apresentava nítidas semelhanças com a metodologia desenvolvida por Date [64] para preparar um eléctrodo sensível a anião sulfureto, revestindo um disco de cobre com uma fina película de PVC, embebida de sulfureto de cobre (II).

Para a preparação deste tipo de eléctrodos, os autores [65] mergulhavam um fio de platina, préviamente soldado a um cabo condutor, numa solução de PVC em tetrahidrofurano ou ciclohexanona, contendo também o material electroactivo solubilizado, o número de vezes suficiente até se formar, por evaporação do solvente, uma película que recobria o fio condutor. Por fim, a parte metálica não recoberta e a zona de soldadura exposta era isolada com uma película de fita plástica de grande aderência (Fig. 1.4.1).

Uma avaliação comparativa das características fundamentais dos eléctrodos de cálcio de fio recoberto e de um eléctrodo comercial da Orion (Orion 92-20-02), para a mesma espécie catiónica, permitiram concluir que o

processo de construção utilizado era vantajoso [66,67] no que respeitava à simplicidade de construção e capacidade de miniaturização. Estes resultados motivaram a preparação de outros eléctrodos, com configuração semelhante, mas sensíveis a outras espécies catiónicas e aniónicas, nomeadamente a detergentes aniónicos [68], fenobarbital [69], aminoácidos [70], potássio [71], ferro III [72], sais de amónio quaternário de elevado peso molecular [73], cloro e iodomercurato (II) [74] e clorocuprato (II) [75].

Contudo, este tipo de construção foi inicialmente encarada com certa desconfiança, admitindo, vários autores [76-78], tratar-se de uma "montagem impossível", (impossible device) em virtude de, contrariamente ao que sucedia com os eléctrodos de construção clássica, (solução e eléctrodo de referência internos), não ser evidente a existência de um processo termodinâmicamente reversível na interface da película de PVC em contacto directo com a platina.

Uma explicação possível, para a existência de um sistema próprio de referência interna nos eléctrodos de fio recoberto, (criado naturalmente no acto de construção), foi apresentada por Cattrall e colaboradores [79], efectuando ensaios com eléctrodos de fio recoberto, sensíveis a cálcio, usando como sensores iónicos ésteres de ácidos alquilfosfóricos e confirmados depois por Hulanicki [80].

Alguns anos mais tarde, Heidecke e colaboradores [81], ao construírem eléctrodos selectivos para catião cálcio e potássio, recobrindo discos de platina com a membrana sensora, observaram uma dependência do potencial das unidades construídas em relação à pressão parcial de oxigénio na solução em que estavam imersos. A partir destas experiências, passou a aceitar-se que neste tipo de eléctrodos existia um sistema constituído por platina e oxigénio (difundido através da membrana), e que actuaria como eléctrodo de referência interna. Assim, é justificável o mau funcionamento deste tipo de unidades quando o seu uso se processa em atmosferas isentas de oxigénio.

Em virtude deste tipo de eléctrodos apresentarem uma assimetria na sua configuração, os seus princípios de funcionamento afastam-se, um pouco,

dos que foram estabelecidos para os eléctrodos com solução de referência interna.

Assumindo, portanto, a existência de um processo de permuta que ocorre na interface metal / membrana e que contribui para a manutenção de um potencial interno constante, a resposta do eléctrodo fica determinada pelo potencial de fronteira entre a membrana e a solução externa, não ocorrendo, por essa razão, nenhum processo de difusão através da mesma pelo facto de não existir um gradiente de concentração [82].

No estado actual do conhecimento sobre este tipo de eléctrodos, admite-se que o seu funcionamento depende largamente das propriedades da membrana. Se uma unidade deste tipo apresenta boas características de funcionamento, pode esperar-se o mesmo comportamento quando construídos de forma a incluirem na sua configuração um eléctrodo e solução de referência interna. O inverso pode eventualmente conduzir a piores resultados [82].

Para eléctrodos de fio recoberto, além das vantagens que decorrem directamente do processo de construção, nomeadamente a simplicidade de preparação [65], trabalhos posteriores revelaram que a eliminação da solução de referência interna das unidades conduzia a um aumento de estabilidade das mesmas e, sobretudo, a um aumento de selectividade [70] quando os valores destas duas características eram comparados com os obtidos com eléctrodos de solução e eléctrodo de referência internos. Contudo, o aumento de selectividade observado é considerado por alguns investigadores como o resultado de um comportamento fortuito [83].

A vulgarização do processo de construção dos denominados eléctrodos de fio recoberto originou que inúmeras unidades com sensor iónico imobilizado em PVC fossem preparadas, utilizando, como suportes de membrana, diferentes materiais sólidos condutores para além da platina, usada na preparação da primeira unidade deste tipo [65]. Na Tabela 1.4.1 são indicados alguns exemplos deste tipo de unidades, não referindo, no entanto, os seus autores [77,84-91] as razões concretas que levaram à selecção do

material que constitui o fio que é recoberto.

Tabela 1.4.1- Alguns exemplos de eléctrodos sem solução de referência interna, de fio recoberto com sensor iónico imobilizado em PVC.

Material activo	*Condutor*	*Sensível a*	*Referências*
Valinomicina	fio de prata	K^+	[77]
Aliquat em n-decanol	fio de cobre	Cl^-,NO_2^-,NO_3^-	
		I^-, e ClO_4^-	[84]
Aliquat em n-decanol	fio de cobre	NO_3^-,	[85]
Solventes plastificantes (vários)	fio de alumínio	BF_4^-	[86]
Dinonilnaftalenosufonato	fio de cobre	Dodeciltrimetilamónio	
em dioctilftalato		e tributilamónio	[87, 88]
Tetrafenilborato de potássio	fio de platina	K^+	[89]
Antazolina-tetrafenilborato	fio de cobre	Antazolina	[90]
Tetrafenilborato de sódio	fio de alumínio	BPh_4^-	[91]
em 2,4-dinitrofeniloctileter			

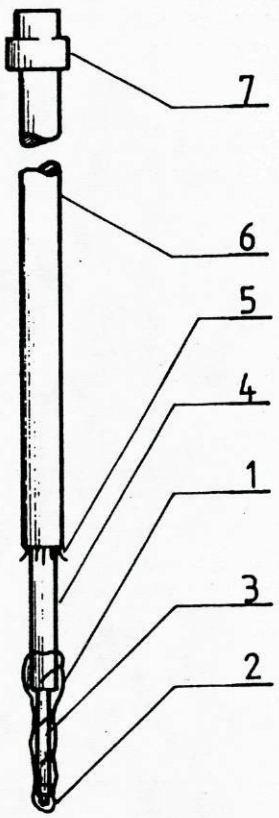


Figura 1.4.1 - Desenho esquemático para um eléctrodo de fio recoberto: (1)-fita plástica aderente; (2)-membrana de PVC; (3)-condutor interno; (4)-isolador interno; (5)-condutor externo; (6)-cabo coaxial; (7)-adaptador tipo BNC.

1.5 -Eléctrodos de Condutor Recoberto.

O processo de construção de eléctrodos de fio recoberto considerado simples, expedito e fornecedor de unidades de boas características de funcionamento, apresentava, no entanto, algumas desvantagens que decorriam da necessidade de se usarem volumes relativamente elevados de sensor iónico (nalguns casos bastante dispendioso), para efectuar o recobrimento do fio condutor, da necessidade de utilização de um grande volume de amostra para a imersão total do eléctrodo, assim como de dificuldades no isolamento eficaz e rígido da zona não recoberta. A análise destes problemas levou ao aparecimento de outro tipo de unidades,com um princípio de funcionamento análogo, e que são por nós designadas por eléctrodos de condutor recoberto para os distinguir dos que apresentam a configuração inicialmente proposta por Freiser [65]. Na Tabela 1.5.1 faze-se referência a alguns eléctrodos deste tipo.

Tabela 1.5.1- Alguns exemplos de eléctrodos de condutor recoberto com sensor iónico imobilizado em PVC.

Material activo	*Condutor*	*Sensível a*	*Referências*
Orion 92-00-01	disco de grafite	cálcio	[92]
Butilrodamina B em dioctilftalato	bastão de grafite	tálio (III)	[93]
Tetrabutilamóniododecilsulfato ou hexadeciltrimetilamóniopentano-1-sulfonato	bastão de grafite	surfactantes iónicos	[94]
Sulfatiazole ou sulfadimetetoxine ousulfadimetoxina de cetiltrioctilamónio	disco de cobre	sulfatiazole sulfametoxina e sulfadimetoxina	[95]
Tetrafenilborato de berberina em dibutilftalato	disco de grafite	berberina	[96]
Iodeto de cetiltrioctilamónio	disco de grafite	iodeto	[97]

Mais recentemente foi proposta, por Lima e Machado, uma outra variante de construção para eléctrodos de condutor recoberto [98-100] com origem num trabalho anterior dos mesmos autores e que visava a preparação de eléctrodos de membrana cristalina [101]. O processo desenvolvido veio contribuir para associar as vantagens fornecidas pelos chamados eléctrodos de fio recoberto com as de simplicidade e economia de preparação, desejável para estas unidades, além de permitir obter alguns melhoramentos nas características de funcionamento dos eléctrodos.

Para a construção destes eléctrodos, em que o suporte da membrana

era uma resina condutora com base de prata [98-100], os autores procediam ao depósito de uma solução sensora, imobilizada em PVC, sobre o suporte condutor, constituído por uma resina de prata (EPOTEK 410) que se encontrava aplicado na extremidade inferior de um tubo de metacrilato que constituía o corpo do eléctrodo (Fig. 1.5.1).

A facilidade de preparação dos eléctrodos era aliciante, já que permitia tornar este tipo de metodologia acessível à maioria dos laboratórios. Para além disso, como se concluiu mais tarde, permitia, ao contrário das unidades com solução de referência interna e das de fio recoberto, uma adaptação para se poderem construir eléctrodos de diferentes configurações, permitindo a sua adaptação a situações concretas em análise.

Por razões de economia, em trabalhos posteriores a resina condutora com base de prata foi substituída por misturas de resina epoxídica não condutora ou perspex com pó de grafite [102,103]. Este processo de construção era semelhante ao descrito anteriormente [98-100], baseando-se genericamente na aplicação do suporte da membrana ao extremo de um tubo de perspex, conferindo-lhe a forma de um cilindro com 1 cm de altura, o qual era feito contactar, no interior, com um condutor blindado (Fig. 1.5.1 A). Nesse suporte era talhada uma cavidade cilíndrica de cerca de 1 mm de altura, o que permitia uma espessura de membrana que por um lado fosse duradoura e por outro não travasse em demasiado a cinética de permuta que iria ocorrer na interface da mesma com a solução, onde era aplicada, gota a gota, a solução sensora (Fig. 1.5.1B). A operação de gotejamento era repetida o número de vezes necessárias até ao preenchimento da cavidade (Fig. 1.5.1 C) (ver promenores de preparação no Cap. 2).

Este modo de construção dos eléctrodos permitiu a preparação de um número significativo de unidades sensíveis quer a espécies aniónicas quer catiónicas das quais se apresenta um resumo na Tabela 1.5.2.

Uma das vantagens decorrentes deste processo de construção era o elevado tempo de vida que os eléctrodos apresentavam relativamente aos que usavam solução e eléctrodo de referência internos [44-47].

Tabela 1.5.2- Eléctrodos de condutor recoberto, com sensor iónico imobilizado em PVC com um tipo de construção semelhante à proposta por Lima e Machado [100-105].

Material activo	*Condutor*	*Sensível a*	*Referências*
Orion- 92-07-02	resina epoxi (prata)	NO_3^-	[9]
Orion 92-20-02	resina epoxi (prata)	Ca^{2+}	[98]
Tetra-p-clorofenilborato de potássio	resina epoxi (prata)	K^+	[99]
Perclorato de trioctilmetilamónio	resina epoxi (prata)	ClO_4^-	[100]
Valinomicina	resina epoxi (prata)	K^+	[102]
Valinomicina	resina epoxi (prata) ou perspex com pó de grafite	K^+	[103]
Bis-di-[4-(1,1,3,3-tetrametil-butilfenil] fosfonato de cálcio	resina epoxi (prata) ou perspex com pó de grafite-	Ca^{2+}	[103,104]
Nitrato de tetraoctilamónio	resina epoxi (prata)	NO_3^-	[105]
Mono, di e tricloroacetato de trioctilmetilamónio	resina epoxi (prata)	Mono, di e tricloroacetato	[106]
Salicilato de trioctilamónio	resina epoxi (prata)	Salicilato	[107]
Antarox CO-880	resina epoxi (prata)	Ba^{2+}	[108]
5,5-dietilbarbiturato de tetraoctilamónio	resina epoxi (grafite)	5,5-dietilbarbiturato	[109]
Benzoato de tetraoctil-amónio	resina epoxi (grafite)	Benzoato	[110]
5-etil-5-fenilbarbiturato de tetraoctilamónio	resina epoxi (grafite)	5-etil-5 fenil barbiturato	[111]
Tetrafluorborato de tetraoctilamónio	resina epoxi (grafite)	BF_4^-	[112]
1,1,1-tris-[(1'-(2'-oxa-4'-oxo-5'-aza-5' metil) dodecanil] propano de sódio	resina epoxi (grafite)	Na^+	[113]
N,N'-Di-[(11-etoxicarbonil undecil]-N,N',4,5 tetrame-til- 3,6-dioxaoctao-diamida de cálcio e bis-di-[4-(1,1,3, 3-tetrametilbutil) fenil] fosfo nato de cálcio e bis-di(n-decil) fosfato de cálcio	resina epoxi (grafite)	Ca^{2+}	[114]

O primeiro trabalho, onde foram registados alguns indícios de que a aplicação do sensor iónico directamente sobre o suporte condutor fornecia unidades com tempo de vida mais prolongado, comparativamente com as que utilizavam solução e eléctrodo de referência internos [106], dizia respeito à construção de eléctrodos sensíveis a carboxilatos. No entanto, os resultados que na altura foram obtidos, não permitiram tirar conclusões definitivas já que, para a preparação das unidades, era utilizado um sistema sensor constituído por um mediador de deficientes características plastificantes.

Um trabalho realizado posteriormente, com eléctrodos sensíveis a catião bário e com experimentação desenhada expressamente para evidenciar este efeito [108], permitiu confirmar de forma inequívoca, em definitivo, o aumento significativo do tempo de vida dos eléctrodos quando se usava a membrana depositada directamente sobre um condutor constituído por uma resina epoxi com base de grafite.

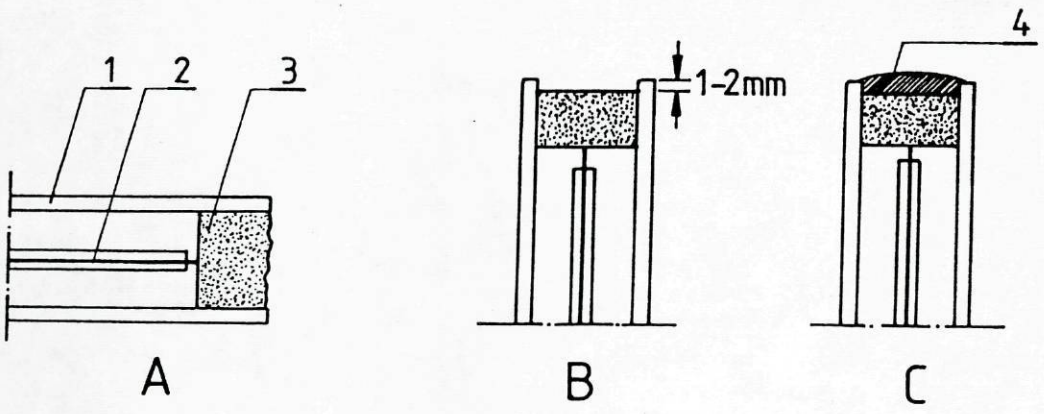


Figura 1.5.1 - Fases de preparação de eléctrodos de condutor recoberto, segundo a metodologia proposta por Lima e Machado. (A)-preparação do corpo do eléctrodo; (B)-Preparação da superfície condutora onde será depositada a membrana sensora; (C)-eléctrodo com a membrana de PVC aplicada; (1)-tubo de metacrilato; (2)-cabo condutor blindado; (3)-resina epoxídica com base de prata; (4)-membrana de PVC.

1.6- Eléctrodos para Fins Específicos.

À medida que as determinações potenciométricas com eléctrodos selectivos de iões se foram impondo como metodologia analítica, observou-se um aumento da procura de soluções para problemas cada vez mais específicos. O desejo manifestado por inúmeros biólogos, que pretendiam aplicar os eléctrodos selectivos a determinações de espécies iónicas em materiais intracelulares e fluídos biológicos, foi possível concretizar-se com o aparecimento de eléctrodos com o sensor imobilizado e também com o desenvolvimento dos eléctrodos sem solução de referência interna.

Em resposta a esta situação, os desenvolvimentos verificados nesta área ultrapassaram, em muito, a adaptação das configurações convencionais, alterando-as completamente, procurando, desta forma, o ajuste mais perfeito possível a cada situação concreta.

Para ilustrar o grau de conhecimento nesta área, far-se-á, seguidamente, uma referência à preparação e utilização de ISFET´s, microeléctrodos para realizar medidas directas em fluídos biológicos, microcélulas potenciométricas para doseamentos em amostras de soro de reduzido volume e detectores potenciométricos para análises por injecção em fluxo (FIA).

1.6.1 - ISFET´s

Estes sensores potenciométricos, denominados por alguns autores como "dispositivos de estado sólido" [115-117],eram constituídos por um condutor electrónico, semicondutor, no qual era depositado directamente o material activo da membrana, imobilizado em PVC.

Este tipo de montagem, proposta inicialmente por Bergveld em 1972

[118], permitia a obtenção de unidades de reduzidas dimensões sem no entanto apresentarem características que justificassem a sua vulgarização. A obtenção de unidades, sensíveis a catião potássio [119], de resposta linear mais restrita e tempos de vida inferiores relativamente a outras, sensíveis ao mesmo ião mas com eléctrodo e solução de referência internos [120], impedia a sua utilização em processos de monitorização contínua de fluídos biológicos. E mesmo nos casos em que, para obviar estas dificuldades, alguns autores se propuseram utilizar compostos plastificantes da membrana com elevado grau de lipofilia [121] ou como matriz imobilizadora do sensor iónico uma laca de origem natural "Urushi" [122], os resultados obtidos não eram suficientemente significativos para permitirem uma aplicação destes dispositivos em análises de rotina.

Para além disso as dificuldades de preparação das unidades, dificuldades de adesão das membranas e elevadas variações de sensibilidade dos ISFET´s [123,124], fez com que a maioria dos investigadores dirigisse os seus esforços no sentido de construirem outro tipo de eléctrodos mais simples e com melhores resultados práticos.

1.6.2 - Microeléctrodos.

A construção de eléctrodos de tamanho reduzido e configuração adequada que permitissem realizar medidas "in vivo" em materiais biológicos, mantendo-os no seu ambiente natural, levou ao aparecimento dos denominados microeléctrodos.

Este tipo de unidades, que permitiam realizar medidas de actividades iónicas importantes, em áreas como a biofísica e a fisiologia, forneciam resultados muito mais realistas [125-127] do que aqueles que eram conseguidos com eléctrodos de configuração convencional.

Os microeléctrodos, inicialmente descritos na literatura, eram preparados colocando o permutador iónico na forma líquida no interior de um tubo de vidro de extremo muito fino, cujas dimensões podiam ser cerca de 1 μm, e completando a construção com um sistema convencional de solução e eléctrodo de referência interno [43,107,108].

Contudo, esta metodologia de construção [43,128,129] que originava eléctrodos frágeis, impedindo a sua utilização em fluidos musculares, possuia igualmente dificuldades de funcionamento, ligadas à instabilidade mecânica que se traduzia numa resistência à pressão externa, proveniente da utilização do sensor de forma líquida, bem como dificuldades de montagem por ser demasiado laboriosa.

Naturalmente que, com o aparecimento das técnicas imobilizadoras do sensor iónico em matrizes inertes, assim como dos chamados eléctrodos de fio recoberto, grande parte das dificuldades, anteriormente referidas, foram ultrapassadas. E um exemplo disso são os trabalhos recentemente surgidos na literatura [130], relativos à preparação de um eléctrodo sensível a cálcio em que o sensor é imobilizado em PVC e aplicado directamente sobre um contacto sólido. Este tipo de unidades constituem uma boa alternativa para os microeléctrodos que usavam o sensor na forma líquida e são particularmente adequados para serem usados em medidas de actividade iónica em fluidos músculares.

1.6.3 - Microcélulas potenciométricas.

A imobilização do sensor iónico em PVC, a eliminação da solução de referência interna ao eléctrodos convencionais e ainda a variante de construção nos eléctrodos de condutor recoberto, proposta por Lima e Machado [98-100], permitiu que fossem construídos outros tipos de unidades

(microcélulas) com aplicação nas determinações de catião cálcio [131] e potássio [132], em reduzidos volumes de soro sanguíneo e urina.

Os eléctrodos referidos permitiam realizar medidas daqueles catiões em amostras sem [131] ou com agitação [132], sem haver necessidade de utilização de grandes volumes, que era vantajosa especialmente no caso do soro sanguíneo.

Embora o aperfeiçoamento das técnicas de construção de eléctrodos de condutor recoberto pudesse favorecer a preparação de unidades deste tipo com melhores características de funcionamento, mais nenhum trabalho nesta área apareceu descrito na literatura, tanto quanto se julga saber.

1.6.4 - Detectores potenciométricos para análises por injecção em fluxo.

O tipo de construção dos eléctrodos de condutor recoberto, proposto por Lima e Machado, conjuntamente com o aumento do tempo de vida das unidades resultante do modo como eram construídas, e a elevada velocidade de resposta que a maioria dos eléctrodos apresentava [98-100,102-114] pode ser aproveitado na construção de eléctrodos com diferente configuração para serem aplicados à análise automática de diferentes compostos iónicos. Esta técnica, denominada por análises por injecção em fluxo (FIA), tem vindo, desde os anos 70, a despertar o interesse de alguns investigadores [133], utilizando, a maioria dos seus autores, a espectroscopia de absorção molecular na região de comprimentos de onda correspondentes ao ultravioleta e visível, como sistema de detecção.

Foi Ruzicka quem, ao aperceber-se da utilidade analítica deste procedimento, evidenciou também a possibilidade da potenciometria com eléctrodos selectivos de iões de forma a poder vir a ser usada como processo

de detecção em FIA [134-136].

Os arranjos em cascata, propostos pelo mesmos autores [134,135], eram mecânicamente instáveis, não sendo constante o percurso ao longo da membrana, o que originava grandes oscilações dos potenciais fornecidos pelo sistema [137], e o aparecimento de um certo volume morto no detector e de bolhas de ar no sistema [138-141]. Estes problemas eram agravados quando a detecção era biparamétrica [134], processo de detecção que implicava acomodar dois eléctrodos, indicadores e o eléctrodo de referência, num sistema de detecção de fim de linha.

Estas dificuldades contribuiram para que a análise por injecção em fluxo, com detecção potenciométrica, fosse objecto de apenas uma percentagem reduzida (cerca de 14%) dos trabalhos realizados [142] e que o seu uso, em laboratórios de controlo, fosse práticamente inexistente.

Contudo, várias vantagens devem ser reconhecidas à utilização de eléctrodos selectivos de iões como detectores para FIA, nomeadamente a simplicidade e o baixo custo da aparelhagem utilizada, a constância de sensibilidade numa alargada gama de concentrações, a ausência , na maioria dos casos, de necessidade de pré-tratamento da amostra [143] assim como a independência do sinal analítico da cor e turvação da mesma [139,144].

No entanto, a sua utilização tem sido condicionada por razões de natureza mecânica apresentadas pelos próprios detectores. Esta situação foi ultrapassada pela construção de eléctrodos com configuração do tipo "sandwich" [145], detectores tubulares de membrana cristalina [137] e de sensor imobilizado em PVC, para potássio [143], amónio [141,144], cálcio [146,147] e nitrato [148], apesar de alguns dos processos de construção referidos serem na generalidade complexos, nomeadamente nos casos em que a construção incluia a utilização de eléctrodos e solução de referência internos.

Ao serem incorporados em montagens FIA resultavam sistemas simples, mecânicamente estáveis e capazes de serem usados, sem dificuldades, em análises de rotina, situação que não se tornava possível com a maioria das células de fluxo de configuração em cascata [134,135].

O aparecimento de detectores potenciométricos de configuração tubular em FIA permitiu também que a detecção potenciométrica deixasse de ser, inevitavelmente, um processo de fim de linha, podendo estes detectores ser incorporados em montagens capazes de realizar determinações sequênciais, isto é, em que a amostra atravessa o detector tubular onde é realizada uma medida e é encaminhada para outro detector que pode ser ou não potenciométrico.

A utilidade dos detectores tubulares foi evidenciada realizando determinações sequênciais em águas, tais como a determinação sequencial de cálcio (por potenciometria) e magnésio (por espectofotometria de absorção atómica) [146] e de cálcio, conjuntamente com nitrato [149], utilizando dois detectores potenciométricos. Em qualquer dos casos as montagens estabelecidas permitiam efectuar cerca de 240 determinações / hora.

Mais recentemente, foi proposto um novo arranjo para as montagens FIA [150], com o objectivo de as simplificar (ver detalhes no Cap. 2), e que consistia em incorporar, num só bloco, o eléctrodo tubular e o eléctrodo de referência. Com este processo, para além de resultarem montagens mais simples, também se obtinham sistemas FIA mais económicos já que, ao contrário dos anteriormente propostos [137,143,148,147, 151], dispensavam o uso de um dispositivo adicional para alojar o eléctrodo de referência comercial.

O desenvolvimento na área de construção de detectores tubulares para aplicação em FIA, contribuiu para um alargamento desta técnica de análise à determinação de vários produtos com interesse no âmbito da medicina e farmácia que, conjuntamente com outras técnicas de detecção, constituem cerca de 32% da área de aplicação das análises por injecção em fluxo [152].

1.7- Eléctrodos Selectivos com Aplicação ao Doseamento de Produtos Farmacêuticos.

Na década passada, verificou-se um notável e renovado interesse na aplicação de técnicas electroquímicas, nomeadamente amperometria, condutimetria, coulombimetria, potenciometria e voltametria para a análise de drogas e produtos farmacêuticos. Esse interesse pode ser atribuído, em parte, ao aparecimento de instrumentação adequada, e mesmo a uma vulgarização crescente destas técnicas.

Entre as várias metodologias electroquímicas que têm sido aplicadas, destaca-se a potenciometria com eléctodos selectivos de iões, incrementada a partir dos anos 60/70, com o aparecimento de unidades com características de funcionamento que justificavam a sua aplicação analítica.

Esta técnica competia com as demais pelo facto de poder ser utilizada para a determinação de espécies iónicas isoladamente, numa vasta gama de concentrações, sem alteração de sensibilidade sobre amostras, para as quais não eram exigidas preparações prévias complicadas, e envolvendo apenas aparelhagem simples, económica e de fácil manutenção.

Durante a fase inicial do desenvolvimento dos detectores selectivos a iões, as unidades descritas na literatura diziam respeito, quase exclusivamente, a iões inorgânicos. A razão provém do facto de a maioria dos eléctrodos para espécies orgânicas, desenhados inicialmente [153], não oferecer características e configurações suficientemente adequadas para serem utilizados em análises de rotina.

Os eléctrodos construídos com estas substâncias sensoras provaram possuir caracteristicas suficientemente boas para poderem funcionar como instrumentos analíticos, e, o aprofundar do conhecimento àcerca dos processos de extracção que ocorriam ao nível das membranas, permitiu que se desenvolvessem novos sistemas sensores, com base em diferentes sistemas

extractores.

Como consequência, registou-se uma expansão da potenciometria com eléctrodos selectivos de iões que passou a ser utilizada, com frequência, na análise de diferentes produtos orgânicos [154,155], com particular relevo para os de uso farmacêutico [156].

É, sobretudo, na área da construção e aplicação de eléctrodos para análise de drogas e produtos com interesse em farmácia que se tem notado, nos últimos dez anos, um crescente aumento de publicações que se reflectem em revistas de especialidade, tais como Ion Selective Electrode Reviews [157-161], Analytica Chimica Acta [162-164] e Analytical Chemistry [165-167].e ainda em volumosos artigos de revisão [168-172] ou mesmo livros [173,174].

Os autores dos referidos trabalhos abordam a discussão dos eléctrodos sensíveis a compostos orgânicos farmacêuticos sobre vários aspectos, enquadrando-os em diferentes grupos tais como:

- compostos halogenados
- derivados hidroxílicos
- compostos carbonílicos
- ácidos carboxílicos e derivados
- bases nitrogenadas
- compostos azotados heterocíclicos
- derivados nitrogenados do ácido carbónico
- alcalóides
- compostos sulfurosos
- compostos orgânicos mercúrosos
- vitaminas
- antibióticos

Numa análise cuidada sobre a visão de conjunto, fornecida em algumas das monografias referidas anteriormente [168-174], detecta-se que grande parte dos autores que se dedicam à construção de novos eléctrodos selectivos

de iões introduz melhoramentos nas características de funcionamento de unidades já existentes. Todavia nem sempre o fazem considerando o seu uso concreto em determinações analíticas. Por outro lado, autores que se dedicam à aplicação à análise de produtos farmacêuticos, com unidades comercializadas ou com unidades não comercializadas mas já anteriormente referidas na literatura, nem sempre têm um domínio total sobre os problemas associados ao desenvolvimento e ao uso dos eléctrodos selectivos de iões.

Procurou-se atingir este objectivo geral construindo eléctrodos selectivos, para a análise de produtos farmacêuticos, com elevadas reprodutibilidade dos potenciais, selectividade, velocidade de resposta e tempo de vida, permitindo esperar uma generalização do seu uso. Estes objectivos foram atingidos, preparando novos sistemas sensores (permutadores iónicos e solventes mediadores) e desenvolvendo novos processos de construção.

Em qualquer das situações indicadas, efectuou-se a aplicação dos eléctrodos construídos à análise de produtos orgânicos, com interesse em farmácia, confrontando os resultados potenciométricos obtidos com os fornecidos por metodologias de referência para os diferentes iões orgânicos ensaiados.

Porque o tipo de construção dos eléctrodos utilizados permitia a preparação de unidades com diferentes configurações, tentou-se, numa fase final, construir eléctrodos que pudessem ser incorporados em sistemas de análise por injecção em fluxo para doseamento automático de compostos orgânicos com interesse em farmácia. Este problema que nunca tinha sido encarado por outros autores em relação a iões orgânicos, veio contribuir para evidenciar mais uma potencialidade dos eléctrodos selectivos de iões.

1.8-Referências Bibliográficas.

[1]-IUPAC, Analytical Chemistry Division, Comission on Analytical Nomenclature, Recommendations for Nomenclature of Ion-Selective Electrodes, *Pure Appl. Chem.*, **48**, 129 (1976).

[2]-T. Fujinaga, *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, **A 305**, 631 (1982).

[3]-J. Koryta, *Ann. Rev. Mater. Sci.*, **16** , 13 (1986).

[4]-M. Cremer, Z. *Biol.*, **47** , 562 (1906).

[5]-F. Haber e Z. Klemensiewicz, *Z. Phys. Chem. Leipzig*, **67**, 385 (1909).

[6]-Z. D. Czaban, *Anal. Chem.*, **57** , 345 A (1985).

[7]-W.S. Hughes, *J. Am. Chem. Soc.*, **44** , 2860 (1922).

[8]-B. Lengyel e E. Blum, *Trans. Faraday Soc.*, **30** , 461 (1934).

[9]-G. Eisenman e D.O. Rudin, J.U. Casby, *Science*, **126** , 831 (1957).

[10]-H. J. C. Tendeloo, *J. Biol. Chem.*, **113** , 333 (1936).

[11]-H.J.C. Tendeloo, *Rec. Trav. Chim.*, **55** , 227 (1936).

[12]-I. M. Kolthoff, H.L. Sanders, *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 416 (1937).

[13]-H.J.C. Tendeloo e A. Krips , *Rec. Trav. Chim.*, **76** , 703 (1957).

[14]-H.J.C. Tendeloo, A. Krips , *Rec. Trav. Chim.*, **76** , 946 (1957).

[15]-E. Pungor e H.E. Rokosinyi, *Acta Chim. Hung.*, **27** , 63 (1961).

[16]-M.S. Frant e J.W. Ross , *Science*, **154** , 3756 (1966).

[17]-P.L. Bailey, *Analysis With Ion-Selective Electrodes*, Heyden and Son, Londres (1976), pag. 8.

[18]-J.W. Ross, *Science* , **156**, 3780 (1967).

[19]-K. Sollner e G. M. Shaen, *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 1901 (1964).

[20]-O.D. Bonner e D. C. Lindsay, *J. Phys. Chem.*, **70**, 1140 (1966).

[21]-R.P. Buck, *Anal. Chem.*, **44** , 270 R (1972).

[22]-R. Bentner, *Am. J. Physiol.*, **31**, 343 (1913).

[23]-G. Eisenmam, J.P. Sandblom e J.W. Walker Jr., *Science*, **155**, 965 (1967).

[24]-J. P. Sandblom, G. Eisenmam e J.W. Walker Jr., *J. Phys. Chem.*, **71**, 3862 (1967).

[25]-J. P. Sandblom, G. Eisenmam e J.W. Walker Jr., *J. Phys. Chem.*, **71**, 3871 (1967).

[26]-C. Moore e B. C. Pressman, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **15**, 562 (1964).

[27]-Z. Stefanac e W. Simon, *Chimia*, **20**, 436 (1966).

[28]-L.A.R. Pioda, H-K. Wipf e W. Simon, *Chimia*, **22**, 189 (1968).

[29]-H-K. Wipf, L.A.R. Pioda, Z. Stefanac e W. Simon, *Helv. Chim. Acta*, **51**, 377 (1968).

[30]-B.T. Kilbourn, J.D. Dunitz, L.A.R. Pioda e W. Simon, *J. Mol. Biol.*, **30**, 559 (1967).

[31]-L.A.R. Pioda, H.A. Wachter, R.E. Dohner e W. Simon, *Helv. Chim. Acta*, **50**, 1373 (1967).

[32]-L.A.R. Pioda, V. Stankova e W. Simon, *Anal. Lett.*, **2**, 665 (1969).

[33]-W.E. Morf e W. Simon "Ion Selective Electrodes Based on Neutral Carriers" em *Ion Selective Electrodes in Analytical Chemistry*, H. Freiser (ed.), volume 1, Plenum Press (1980).

[34]-M.S. Frant e J. Ross, *Science*, **167**, 987 (1970).

[35]-S. Lal e G. Christian, *Anal. Lett.*, **3**, 11 (1970).

[36]-Z. Stefanac e W. Simon, *Mikrochem. J.*, **12**, 125 (1967).

[37]-K. Kimura, A. Tamura e T. Shono, *J. Electroanal. Chem.*, **105**, 335 (1979).

[38]-R. Scholer e W. Simon, *Chimia*, **24**, 372 (1970).

[39]-D. Ammann, E. Pretsch e W. Simon, *Tetrahedron Letters*, **24**, 2473 (1972).

[40]-D. Ammann, E. Pretsch e W. Simon, *Anal. Lett.*, **5**, 843 (1972).

[41]-R.J. Levins, *Anal. Chem.*, **43**, 1045 (1971).

[42]-R.J. Levins, *Anal. Chem.*, **44**, 1544 (1972).

[43]-D. Amman, W.E. Morf, P. Anker, P.C. Meier, E. Pretsch e W. Simon,

Ion Select. Electrode Rev., **5**, 3 (1983).

[44]-G.J.Moody, R.B. Oke e J.D.R. Thomas, *Analyst*, **95**, 910 (1970).

[45]-J.E.W. Davies, G.J.Moody, e J.D.R. Thomas, *Analyst*, **97**, 87 (1972).

[46]-J.E.W. Davies, G.J.Moody, e J.D.R. Thomas, *Lab. Practice*, **22**, 20 (1972).

[47]-G.J.Moody, e J.D.R. Thomas, *Chem. Ind.*, 17 de Agosto de 1974, pag. 644.

[48]-G.J.Moody, e J.D.R. Thomas, *Ion Select. Electrode Rev.*, **1**, 3 (1979).

[49]-J. Ruzicka e J.C. Tjell, *Anal. Chim. Acta*, **51**, 1 (1970).

[50]- H. Freiser, "Coated Wire Ion-Selective Electrodes", H Freiser(ed.), *Ion Selective Electrodes in Analytical Chemistry*, volume 2, Plenum Press, New York (1980).

[51]-A. Shatkay, *Anal. Chem.*, **39,** 1056 (1967).

[52]-A. Craggs, G.J. Moody, e J.D.R. Thomas, *J. Chem. Educ.*, **51**, 541 (1974).

[53]-R.P. Buck, *Anal Chem.*, **46**, 28R (1974).

[54]- H. J. Nielsen e E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **85**, 1 (1976).

[55]-O.H. Le Blanc e W.T. Grubb, *Anal. Chem.*, **48**, 1658 (1976).

[56]-G.D. Carmack e H.Freiser , *Anal. Chem.*, **47**, 2249 (1975).

[57]-G.J. Moody e J.D.R. Thomas, *Talanta*, **19** , 623 (1972).

[58]-S. Back e J. Sandblom, *Anal. Chem.*, **45**, 1680 (1973).

[59]-H. J. James, G.D. Carmack e H.Freiser , *Anal. Chem.*, **44**, 853 (1972).

[60]-G.J. Moody e J.D.R. Thomas, *2nd Symposium on Ion Selective Electrodes*, Matrafured (1976), pag. 41.

[61]-A. Craggs, L. Keil, G.J. Moody, e J.D.R. Thomas, *Talanta*, **22** , 907 (1975).

[62]-C. Coetzee e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **41**, 1128 (1969).

[63]-M. Matsui e H. Freiser, *Anal. Lett.*, **3**, 161, (1970).

[64]-H. Hirata e K. Date, *Talanta*, **17**, 883 (1970).

[65]-R. W. Cattral e H. Freiser, *Anal. Chem.*, 43, 1905 (1971).

[66]-H. Freiser, *Res. Dev.*, Dezembro 1976, pag. 28.

[67]-H. Freiser, *Ion Selective Electrodes in Analytical Chemistry*, volume 2, Plenum Press, Nova Iorque, (1980), pag. 85.

[68]-T. Fujinaga, S. Okazaki e H. Freiser, *Anal Chem*, **46**, 1842 (1974).

[69]-H.G. Carmack e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **49**, 1577 (1977).

[70]-H. James, G. Carmack e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **44**, 856 (1972).

[71]-R.W. Cattrall , S. Tribuzio e H. Freiser, *Anal. Chem.* , **46**, 2223 (1974).

[72]-R.W. Cattrall e C.-P. Pui, *Anal. Chem.* , **47**, 93 (1975).

[73]-C. R. Martin e H. Freiser, *Anal Chem.*, **52**, 562 (1980).

[74]- R.W. Cattrall e C-P Pui, *Anal. Chim. Acta*, **83**, 355 (1976).

[75]-R.W. Cattrall e C.-P. Pui, *Anal. Chem.* , **48**, 552 (1976).

[76]-J. Ruzicka, E.H. Hansen e J.C. Tjell, *Anal. Chim. Acta*, **67**, 155 (1973).

[77]-M.D. Smith, M.A. Genshaw e J. Greyson, *Anal. Chem.*, **45**, 1782 (1973).

[78]-A.K.Covington, *CRC Crit. Revs, Anal. Chem.*, **3**, 355 (1974).

[79]-R.W. Cattrall, D.M. Drew e I.C. Hamilton, *Anal. Chim. Acta*, **76**, 269 (1975).

[80]-A.Hulanicki e M. Trojanowicz, *Anal. Chim. Acta*, **87**, 411 (1976).

[81]-G. Herdecke, J. Kropf, G. Stork e J. G. Schindler, *Fresenius, Z. Anal. Chem.*. **303**, 364 (1980).

[82]-R.W. Cattrall e I.C. Hamilton, *Ion Selective Elect. Rev.*, **6**, 125 (1984).

[83]-G.J. Moody e J.D.R. Thomas, *Lab. Practice*, **27**, 285 (1978).

[84]-K. Suzuki, H. Ishiwada, T. Shirai e S. Yanagisawa, *Bunzeki Kagaku*, **30** 751 (1981).

[85]-K. Suzuki, H. Ishiwada, T. Shirai e S. Yanagisawa, *Bunzeki Kagaku*, **29**, 816 (1980).

[86]-K. Vytras, M.Remes e H. Kubesova-Svobodová, *Anal. Chim. Acta*, **124**, 91 (1981).

[87]-C.R. Martin e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **52**, 562 (1980).

[88]-L. Cunningham e H. Freiser, *Anal. Chim. Acta*, **132**, 43 (1981).

[89]-E. Hopirtean, C. Liteanu e E. Stefaniga, *Rev. Romm. Chim.*, **19**, 1651

(1974).

[90]-S.S. Badawy, A.F. Shoukry e M.M. Omar, *Anal. Chem.* **60**, 758 (1988).

[91]-K. Vytras, *Mikrochim. Acta*, **3**, 139 (1984).

[92]-A. Ansaldi e S.I. Epstein, *Anal Chem.*, **45**, 595 (1973).

[93]-D. Dan e Y. Dong. *Talanta*, **35**, 589 (1988).

[94]-C.J. Dowle, B.G.Cooksey e W.C.Campbell, *Anal. Proc.*, **25**, 78 (1988).

[95]-S.Z.Yao, J. Shiao e L-H Nie, *Talanta*, **34**, 977 (1987).

[96]-H. Chi e T.H. Zhou, *Yaoxue Huebao*, **18**, 278 (1983).

[97]-G.L. Shen, X.Y.Shi e R.Q. Yu, *Yaoxue Xuebao*, **22**, 841 (1987).

[98]-J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Analyst*, **111**, 799 (1986).

[99]-J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Portugalliae Electrochim. Acta*, **3**, 311 (1986).

[100]-S. Alegret, A. Florido, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Quim. Anal.*, **5**, 36 (1986).

[101]-J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, em Inexpensive ISE´s With Solid Sensor Coatings Applied to Electrically Condutive Epoxy, *Analytical Technics in Evironmental Chemistry*, J. Albaiges (ed.), Pergamon Press, Oxford, 1981.

[102]-J.M.C.S.Magalhães, E.F.R. Veludo, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Abstracts of the 30th IUPAC Congress, Symposium on New Electrochemical Sensors*, Comunicação 8PC11, Manchester (1985).

[103]-S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J..L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *2nd International Meeting on Chemical Sensors*, Comunicação 8/11, Bordéus (1986).

[104]-E.F.R. Veludo, J..L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Resumo das Comunicações ao I Encontro Galego-Português de Química (Águas Naturais e Residuais)* Comunicação 3.14, Santiago de Compostela (1985).

[105]-J.L.F.C. Lima A.A.S.C. Machado, A. Florido, S. Alegret e J.M. Paulis, *Quim. Anal.*, **4**, 145 (1985).

[106]-M.C.B.S.M. Montenegro, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Rev.*

Port. Quim., **26**, 197 (1984).

[107]-J.L.F.C. Lima , A.A.S.C. Machado, M.C.B.S.M. Montenegro e A. M. Roque da Silva, Rev. *Port. Farm.*, **237**, 11 (1987).

[108]-G.J. Moody, J.D.R. Thomas, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Analyst*, **113**, 1023 (1988)

[109]-J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro e A.M. Roque da Silva, *Portugalliae Electrochim. Acta*, **6**, 69 (1988).

[110]-J.L.F.C. Lima, M.C. B.S.M. Montenegro e A.M. Roque da Silva, Annalles Farmaceutiques Françaises, em impressão (1991)

[111]-J.L.F.C. Lima , M.C.B.S.M. Montenegro e A. M. Roque da Silva, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **8**, 701 (1990).

[112]-M.N.M.P. Alçada, J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro, B. Echevarria e R.P.Olmos, *Resumos das Comunicações ao IV Encontro Luso-Galego de Química*, Comunicação nº 01.2, Porto (1990).

[113]-R.M.S.G. Barbosa, J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro, *Resumos das Comunicações ao IV Encontro Luso-Galego de Química*, Comunicação nº 2.8, Vigo (1988)

[114]-R.A.S. Lapa, J.L.F.C. Lima, e A. M. R. da Silva, *IL Fármaco*, **45**, 901 (1990)

[115]-G.H. Fricke, *Anal. Chem.*, **52**, 259 R (1980).

[116]-M.E. Meyerhoff e Y.M. Fraticelli, *Anal. Chem.*, **54**, 24R (1982).

[117]-M.A. Arnold e M.E. Meyerhoff, *Anal. Chem.*, **56**, 20R (1984).

[118]-P. Bergveld, *IEEE Trans, BME* **19**, 342 (1972).

[119]-S.D. Moss, J. Janata e C.C. Johnson, *Anal. Chem.*, **47**, 2238 (1975).

[120]-G.J. Moody e J.D.R. Thomas, *Selective Ion-Sensitive Electrodes*, Merrow Ltd., Watford, England, 1971.

[121]-U. Oesch, A. Xu, Z. Brzozka, G. Suter e W. Simon, *Chimia*, **40**, 351 (1986).

[122]-S. Wakida, M Yamane e K. Hiiro, *Talanta*, **35**, 326 (1988).

[123]-R.B. Brown, R.J. Huber, D. Petelenz e J. Janata, *Proc. 3rd Int. Conf.*

Solid-State Sensors Actuactors, Philadelphia (1985), pag 125.

[124]-L.J.Kunze e S. Lindenbaum, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **7**, 947 (1989).

[125]-M. Lavallée, O.F. Schanne e N.C. Herbert, *Glass Microelectrodes*, Willey, New York (1969).

[126]-J. L. Walter e H. M. Brown, *Physiol. Rev.*, **57**, 729 (1977).

[127]-R.C. Thomas, *Ion Selective Intracellular Microelectrodes*, Academic Press, New York (1978).

[128]-H.M. Brown, J.P. Pemberton e J. D. Owen, *Anal. Chim. Acta*, **85**, 261 (1976).

[129]-E. Ujec, E.E.O. Keller, N. Kriz e V. Pavlik, J. Machek, *Bioelectrochem. Bioenergetics*, **7**, 363 (11980).

[130]-S.A.H. Khalil, G.J. Moody, J.D.R. Thomas e J.L.F.C. Lima, *Analyst*, **111**, 611 (1986).

[131]-J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Quim. Nova*, **10**, 137 (1987).

[132]-R.M.S.G. Barbosa, J.L.F.C. Lima, *Resumo das Comunicações ao 11º Encontro Anual da Sociedade Portuguesa de Química*, Comunicação AA-P 4.6, Lisboa (1988).

[133]-J.L. Burgera (ed.) , *Flow Injection Atomic Spectroscopy*, Marcel Dekker, Inc., New york (1989).

[134]-J. Ruzicka, E.A. Zagatto e E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **88**, 1 (1975).

[135]-E.H. Hansen, A.K. Ghose e J. Ruzicka, *Analyst*, **102**, 705, (1977).

[136]-E.H. Hansen, J. Ruzicka e A.K. Ghose, *Anal. Chim. Acta*, **100**, 151 (1978).

[137]-W.E. Van der Linden e R. Oostervink, *Anal. Chim. Acta*, **101**, 419 (1978).

[138]-P.L. Bailey, *Analysis with Ion-Selective Electrodes*, Heyden, Londres, (1980).

[139]-E. Pungor, Z. Feher, G. Navy, K. Toth, G. Horvai e M. Gratzl, *Anal. Chim. Acta*, **109**, 1 (1979).

[140]-G.B. Marshall e D. Midgley, *Analyst*, **108**, 701 (1983).

[141]-D.S. Papastathopoulos, E.P. Diamandis e T.P. Hadjiianou, *Anal. Chem.*, **52**, 2100 (1980).

[142]-M. Valcarcel e M.D.L. Castro, *Quim. Anal.*, **1**, 201 (1983).

[143]-M.E. Meyerhoff, P.M. Kovach, *J. Chem. Educ.*, **60**, 766 (1983).

[144]-M.E. Meyerhoff e Y.M. Fraticelli, *Anal. Lett.*, **14**, 415 (1981).

[145]-S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Anal. Lett*, **18**, 2291, (1985).

[146]-J. Alonso, J. Bartroli, J.M. Paulis, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Anal. Quim. Acta*, **179**, 503 (1986).

[147]-A.J. Frend, G.J. Moody, J.D.R. Thomas e B.J. Birch, *Analyst*, **108**, 1357 (1983).

[148]-S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J.M. Paulis, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Anal. Quim. Acta*, **164**, 147 (1984).

[149]-J.Alonso, J. Bartroli, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Resumo das Comunicações ao I Encontro Galego-Português de Química (Águas Naturais e Residuais)*, Comunicação 3.5, Santiago de Compostela (1985).

[150]-J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro e A.M.R. Silva, *J. Flow Injection Anal.*, **7**, 19 (1990).

[151]-M. Mascini e G. Palleschi, *Anal. Chim. Acta*, **100**, 215 (1978).

[152]-A.Sjodin e U. Sundqvist, *Int. Lab*, Jan/Fev, (1988), pag. 40.

[153]-C.J. Coetzee e H. Freiser, *Anal. Chem*,. **40**, 2071 (1968).

[154]-G.E. Baiulescu e V.V. Cosofret, *Application of Ion-Selective Membrane Electrodes in Organic Analysis*, Ellis Horwood, Chichester (1977).

[155]-T.S. Ma e S.S.M. Hassan, *Organic Analysis Using Ion-Selective Electrodes*, volumes 1 e 2, Academic Press, London (1982).

[156]-L. Campanella e M. Tromasseti, *Ion-Select. Electrodes Rev.*, **11**, 69 (1989).

[157]-G.J. Moody e J.D.R. Thomas, *Ion. Select. Electrode Rev.*, **6**, 209

(1984).

[158]-G.J. Moody e J.D.R. Thomas, *Ion. Select. Electrode Rev.*, **7**, 261 (1985).

[159]-G.J. Moody e J.D.R. Thomas, *Ion. Select. Electrode Rev.*, **8**, 209 (1986).

[160]-G.J. Moody e J.D.R. Thomas, *Ion. Select. Electrode Rev.*, **9**, 197 (1987).

[161]-G.F. Moody e J.D.R. Thomas, *Ion. Select. Electrode Rev.*, **10**, 231 (1988).

[162]-J. Koryta, *Anal. Chim. Acta*, **159**, 1 (1984).

[163]-J. Koryta, *Anal. Chim. Acta*, **183**, 1 (1986).

[164]-J. Koryta, *Anal. Chim. Acta*, **206**, 1 (1988).

[165]-M. A. Arnold e M.E. Meyerhoff, *Anal Chem.*, **56** , 20 R (1984).

[166]-M.A. Arnold e R.L. Solsky, *Anal Chem.*, **58**, 84 R (1986).

[167]-R. L. Solsky, *Anal Chem.*, **60**, 106 R (1988).

[168]-V.V. Cosofret, *Ion. Select. Electrode Rev.*, **2**, 159 (1981).

[169]-V.V. Cosofret e R.P. Buck, *Ion Select. Electrode Rev.*, **6**, 59 (1984).

[170]-K. Vytras, *Ion. Select. Electrode Rev.*, **7**, 77 (1985).

[171]-K. Vytras, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **7**, 789 (1989).

[172]-Z. Z-Rang e V.V. Cosofret, *Ion. Select. Electrode Rev.*, **12**, 35 (1990).

[173]-V.V. Cosofret, *Membrane Electrodes in Drug-Substances Analysis*, Pergamon Press, Oxford (1982).

[174]-Z.Z. Chen e Z. Qin, *Application of Ion Selective Electrodes in Pharmaceutical Analysis*, Renmin Weisheng Publ. House, Beijing (1985).

CAPÍTULO 2

ASPECTOS GERAIS DA PARTE EXPERIMENTAL

2 - ASPECTOS GERAIS DA PARTE EXPERIMENTAL.

No trabalho realizado, existem inúmeros aspectos que são comuns aos diversos tipos de eléctrodos preparados e avaliados. Com o objectivo de evitar repetições desnecessárias ao longo do texto, optou-se, assim, por os referir neste capítulo, reservando-se, para a parte experimental dos restantes, aqueles que só aos eléctrodos, indicados nessas partes, diziam respeito.

Por isso, este capítulo será constituído por seis secções em que se descreverão: os meios instrumentais utilizados na preparação e avaliação dos eléctrodos de construção convencional e dos correspondentes detectores potenciométricos tubulares; o processo de construção das unidades potenciométricas (eléctrodos selectivos a iões e detectores potenciométricos tubulares); e as metodologias utilizadas nas respectivas avaliações das suas características de funcionamento.

2.1 - Meios Experimentais Usados.

2.1.1 - Aparelhagem.

Utilizou-se, para a determinação da diferença de potencial entre o

eléctrodo indicador e o eléctrodo de referência, decimilivoltímetros digitais, das marcas Crison, modelos 517 e 2002, com comutadores de eléctrodos acoplados, das marcas Orion, modelo 605 e Crison, sendo este último com características técnicas semelhantes ao desenvolvido por Lima e Machado [1].

Nas montagens destinadas à análise por injecção em fluxo (FIA), o sistema de medida era constituído por um milivoltímetro, de marca Crison, modelo 514, ligado a um registador, da marca Metrohm, modelo E-586 Labograph.

Todas as determinações com os eléctrodos de configuração convencional foram efectuadas, mergulhando-os em soluções termostatadas, contidas em vasos de vidro de parede dupla, das marcas Metrohm, modelo EA-876-20 ou Crison, modelo 29/2050/22, por onde circulava água a 25,0±0,2°C, proveniente de um sistema regulador de temperatura, da marca GFL, modelo 5002. Aos vasos eram adaptadas tampas, das marcas respectivas, onde se fixavam os eléctrodos a ensaiar.

As soluções onde se introduziam os eléctrodos eram mantidas em constante agitação através de agitadores magnéticos das marcas Metrohm, modelo E-649 ou Crison, modelo 2038, com motores alimentados com corrente contínua de 6 V.

A adição de volumes adequados de uma ou mais soluções do ião principal, visando o traçado das rectas de calibração pelo método da adição da quantidade conhecida, foi efectuada, utilizando uma bureta de pistão, da marca Metrohm, modelo E-645, ou pipetas Gilson, modelos P100, P1000 e P5000, de volumes reguláveis. Ocasionalmente, usou-se nas adições de soluções do ião principal, buretas automáticas da marca Crison, modelo 2031.

Nas determinações das velocidades de resposta dos eléctrodos de construção convencional, usou-se um registador, da marca Metrohm, Labograph, modelo E-586. Este tipo de registador permitia, através de uma calibração prévia e da introdução de um contra potencial, determinar o valor absoluto do potencial do eléctrodo em cada instante do ensaio. Para a

realização deste tipo de determinações e para as adições de solução concentrada de ião principal, foram igualmente usadas pipetas de volume regulável, das marca Gilson, modelos P100 e P1000.

As titulações potenciométricas foram efectuadas, com um sistema de titulação automático, da marca Crison, modelo μ TIT-802, que incluía uma bureta automática, da mesma marca, modelo 738, com uma impressora Epson FX-80, acoplada.

Em todas as determinações por análise por injecção em fluxo, as soluções eram impulsionadas através de uma bomba peristáltica Gilson, modelo Miniplus 2, e as amostras eram inseridas no fluxo através de uma válvula manual, da marca Rheodyne, modelo 5020.

Para a determinação dos valores de dispersão das montagens FIA estabelecidas, utilizou-se um espectrofotómetro, da marca Bausch & Lomb, modelo Spectronic 21, equipado com uma célula de fluxo de 8 μL de volume óptico, da marca Hellma, referência 178.713.

2.1.2 - Eléctrodos.

Usaram-se, para as determinações de pH, eléctrodos de vidro, das marcas Phillips GAH 110 e Ingold 10 / 402 / 3092, nomeadamente durante o traçado dos diagramas de Reilley (variações do potencial do eléctrodo em função do valor de pH) e durante os ensaios de calibração dos eléctrodos selectivos construídos,.

Para as titulações potenciométricas baseadas em reacções ácido-base e/no traçado dos diagramas de Reilley dos detectores tubulares incorporados em montagens para análise por injecção em fluxo, foram usados eléctrodos de membrana de vidro, combinados, da marca Metrohm, referência 60202000.

Como referência, usaram-se eléctrodos de cloreto de prata / prata, de

dupla junção, das marcas Orion 90-00-02 e Metrohm 60726-100. No primeiro, a solução interna era constituída por uma mistura com a seguinte composição: 1,7 M em nitrato de potássio, 0,64 M em cloreto de potássio, 0,06 M, em cloreto de sódio, 2 gotas / L de Triton X 100, 1 mL de formol a 37% por Litro, 0,5 g / L de ß-naftol, saturada de cloreto de prata, que conferia ao eléctrodo um potencial constante e igual ao do eléctrodo saturado de calomelanos.

Nos eléctrodos de referência, da marca Metrohm, usou-se uma solução saturada de cloreto de potássio no compartimento interior.

2.1.3. - Montagens FIA utilizadas.

Nas montagens dos sistemas FIA utilizados, usaram-se diversos dispositivos, construídos em perspex [2], nomeadamente confluências (Fig. 2.1.3.1), suportes para o eléctrodo de referência (Fig. 2.1.3.2), suportes fixadores dos módulos sensores de configuração tubular (Fig. 2.1.3.3) e amortecedores de pulso (Fig. 2.1.3.4),

Para eliminar o ruído eléctrico, originado pelas bombas peristálticas, usou-se um dispositivo denominado "ligação à terra", construído em ácido inoxidável ao qual era soldado um cabo eléctrico (Fig. 2.1.3.5).

Os elementos indicados eram unidos entre si através de tubos de teflon, marca Omnifit, com 0,8 mm de diâmetro interno, com ligadores da mesma marca.

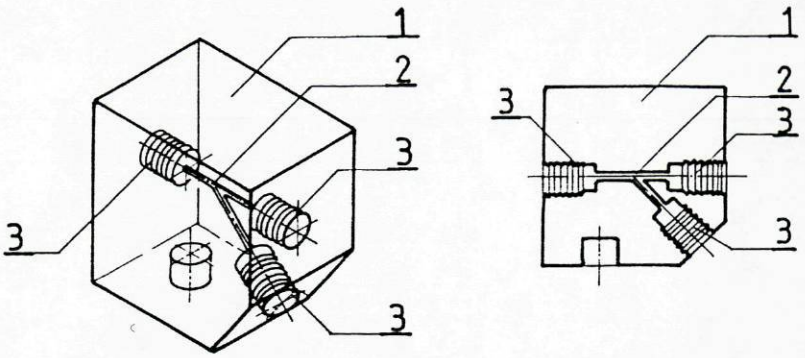


Figura 2.1.3.1 - Confluências: (1)-bloco de perspex; (2)-canais; (3)-roscas de ligação.

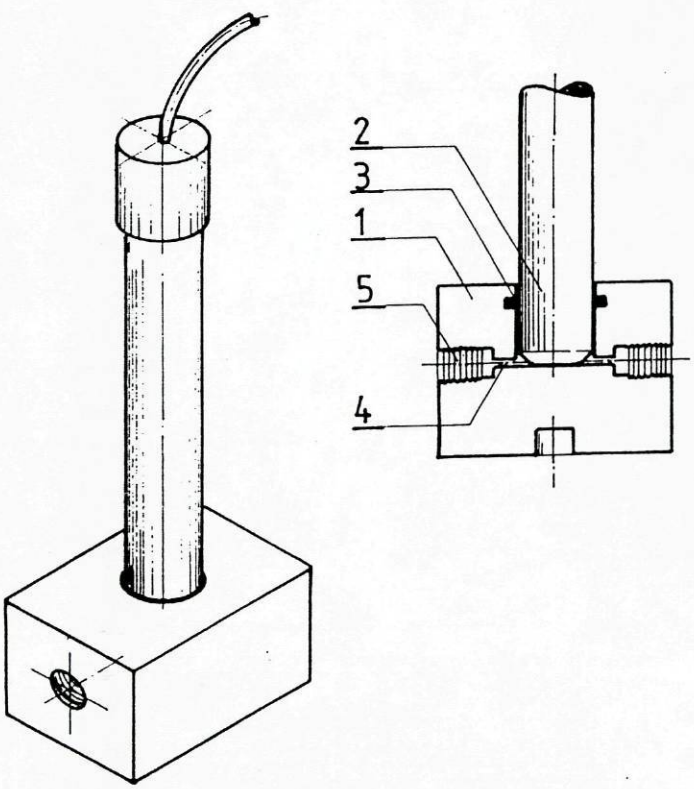


Figura 2.1.3.2- Suporte para o eléctrodo de referência: (1)-bloco de perspex; (2)-eléctrodo de referência; (3)- cavidade para o eléctrodo, (4)-canais; (5)-ligações de entrada e saída.

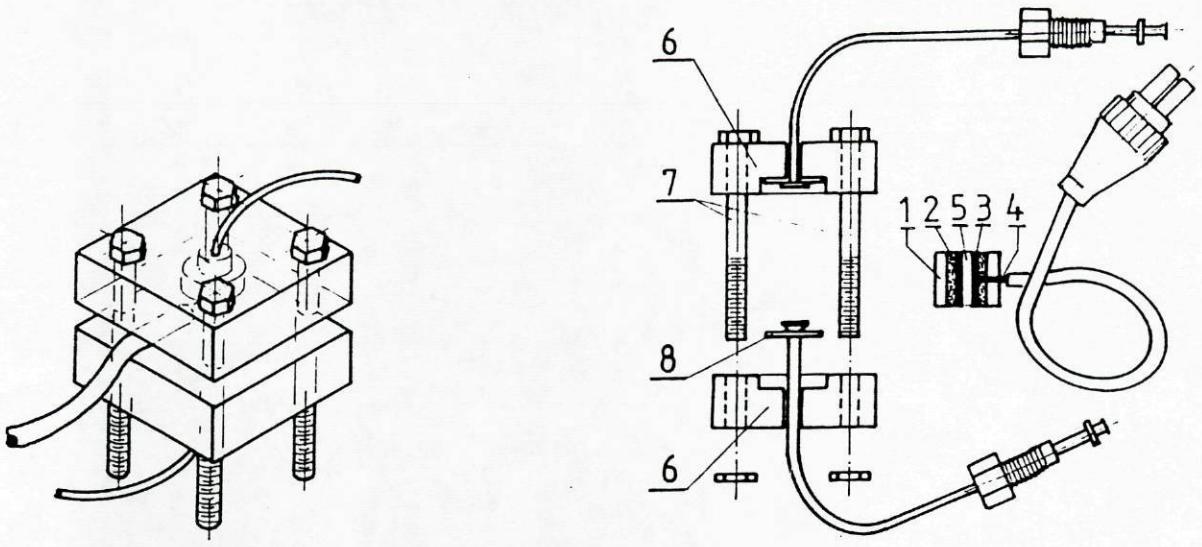


Figura 2.1.3.3- Suporte fixador dos eléctrodos tubulares com elemento sensor incorporado: (1)-tubo de perspex; (2)-cilindro de material condutor (grafite); (3)-membrana sensora; (4)-cabo eléctrico blindado; (5)-orifício central ; (6)-placa de perspex; (7)-parafusos, (8)-anel circular em teflon.

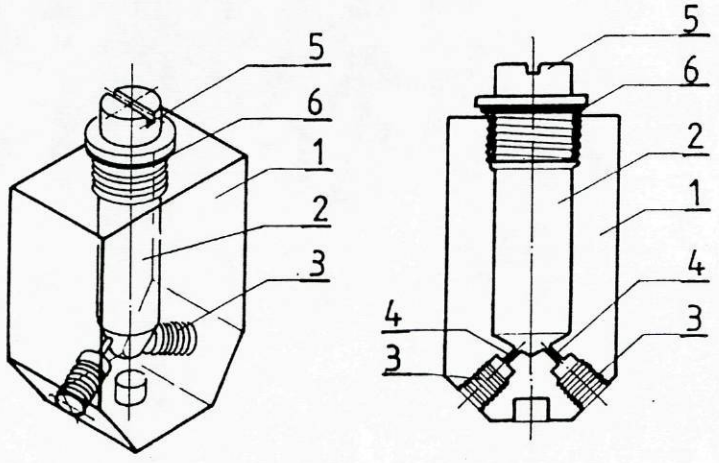


Figura 2.1.3.4 -Amortecedores de pulsos: (1)-bloco de perspex; (2)-cavidade; (3)-roscas; (4)-canais; (5)-tampa; (6)-rosca da tampa.

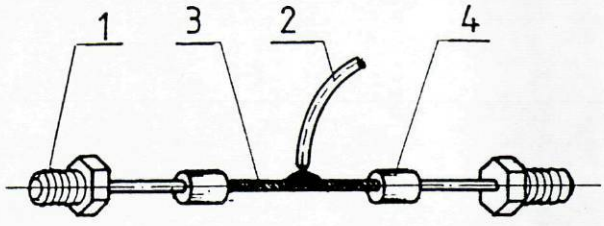


Figura 2.1.3.5- Eléctrodo de terra: (1)-ligações ao sistema de fluxo; (2)- cabo blindado; (3)- tubo em aço inoxidável; (4)- uniões.

2.1.4-Reagentes e soluções.

Todos os reagentes utilizados eram de qualidade pró-análise ou semelhante, sem terem sido submetidos a qualquer purificação adicional. Exceptuam-se, contudo, os sais de amónio quaternário, utilizados na preparação dos sistemas sensores para eléctrodos sensíveis a aniões que foram recristalizados a partir de acetato de etilo. Este procedimento justificou-se por poder ocorrer a degradação dos sais de amónio de cadeia longa, originando compostos do mesmo tipo, mas de cadeia mais curta, cuja presença afectaria as características de funcionamento das membranas.

Para a preparação de todas as soluções, usou-se água duplamente desionizada, com condutância específica inferior a 0,1 μS cm^{-1}.

As soluções mais concentradas foram obtidas por pesagem rigorosa dos sólidos, seguida de diluição. As mais diluídas eram obtidas a partir das primeiras, também por diluição rigorosa.

Nos casos em que o procedimento anterior não conduzia à preparação de soluções com o rigor desejado, preparavam-se soluções de concentração aproximada e titulavam-se depois com uma solução padrão adequada.

2.2 - Construção dos Eléctrodos de Configuração Convencional.

2.2.1. - Preparação do corpo do eléctrodo.

Para a preparação do corpo do eléctrodo, utilizou-se tubo de perspex de diâmetro interno de cerca de 8 mm e com cerca de 10 mm de diâmetro externo, que foi cortado em pequenos troços com cerca de 10 cm de comprimento (Fig. 2.2.1.1.A).

Na parte superior deste tubo (Fig. 2.2.1.1.B), era fixado um outro, de diâmetro interno de cerca de 9 mm e de comprimento igual a 2 cm, por intermédio de clorofórmio que, ao dissolver as superfícies de perspex em contacto, provocava, após evaporação, uma união perfeita dos dois tubos.

Este segundo tubo tinha apenas como função permitir suportar os eléctrodos na posição vertical quando eram introduzidos nos orifícios das tampas dos vasos termostatados onde eram efectuados os ensaios (2.1.1).

No outro extremo do tubo, era adaptado, também por prévia dissolução com clorofórmio, um pequeno troço de tubo de perspex, de diâmetro interno de cerca de 5 mm e com 8 mm de diâmetro externo(Fig. 2.2.1.1.C). A colocação deste era feita a uma distância de cerca de 1 cm da extremidade inferior do tubo de maior comprimento (Fig. 2.2.1.1.C) e tinha como finalidade sustentar uma placa circular de prata, a qual, numa fase posterior de construção dos eléctrodos, lhe era adaptada (Fig. 2.2.1.1.D).

Antes da adaptação da placa de prata ao suporte interno, constituído por perspex, era-lhe soldado, no centro, um cabo eléctrico coaxial blindado (Fig. 2.2.1.1.E), após o que se procedia à sua fixação à parte superior do corpo do eléctrodo por forma a garantir a solidez da montagem e evitar eventual entrada de líquidos. A colagem era efectuada com cola de Araldite (1 g de

Araldite M com 0,4 g de endurecedor HR).

À extremidade do cabo condutor era adaptado um terminal tipo BNC (Fig. 2.2.1.1.F), através do qual se estabelecia o contacto com o comutador de eléctrodos.

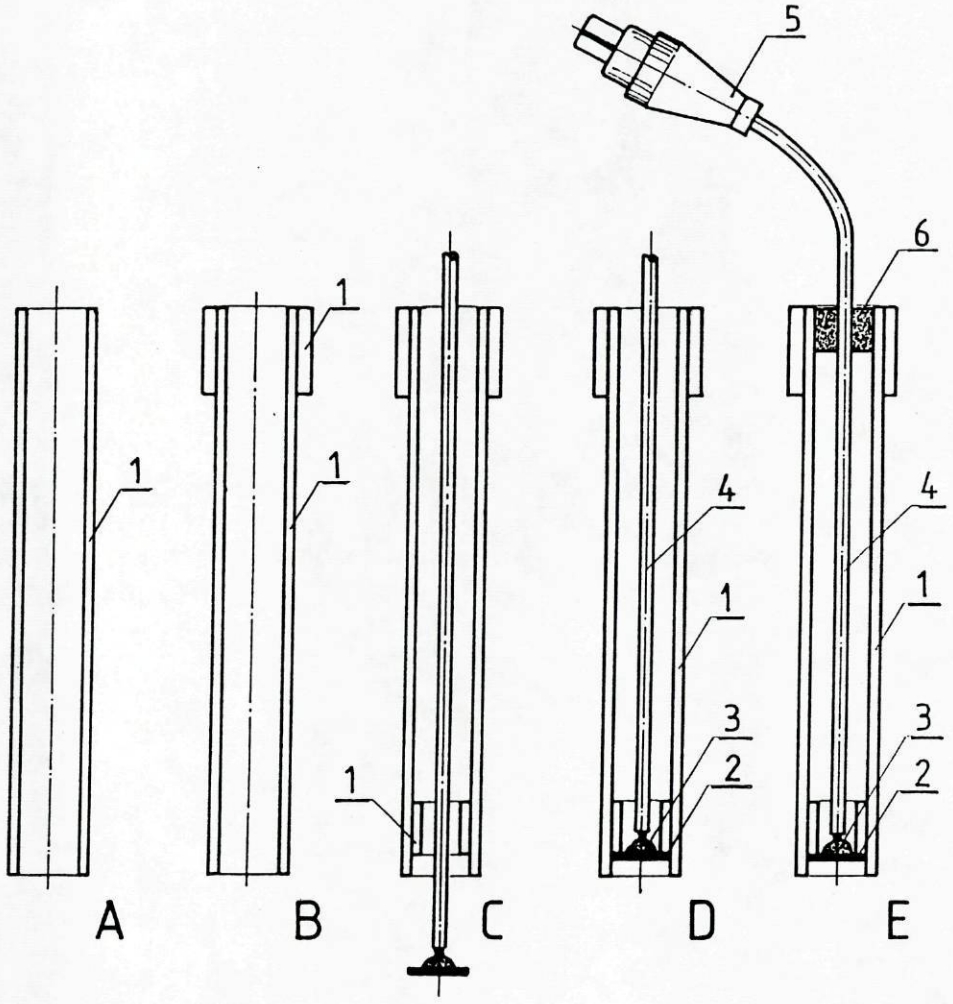


Figura 2.2.1.1 - Fases de preparação do corpo do eléctrodo: (1)-tubo de perspex; (2)-placa circular de prata; (3)-solda; (4)-cabo eléctrico; (5)-adaptador tipo BNC; (6)-cola de araldite.

2.2.2. Preparação do suporte condutor e sua aplicação no corpo do eléctrodo.

Os eléctrodos usados no trabalho que aqui se descreve, eram constituídos por uma membrana que continha o sensor iónico, imobilizado em PVC, aplicada directamente sobre um suporte sólido condutor.

O suporte condutor utilizado era constituído por uma resina epoxídica, misturada com pó de grafite, nas proporções que se indicarão mais adiante.

Para a preparação do suporte condutor, misturava-se inicialmente 1 g de resina epoxídica (Araldite M) com 0,4 g de endurecedor HR, na proporção de 1/0,4 (p/p), mistura essa realizada com cuidado para que resultasse homogénea. A 0,2 g desta mistura eram adicionados 0,24 g de pó de grafite com granulometria de 50μ de modo a obter-se uma pasta suficientemente homogénea e de consistência razoável para que pudesse ser fácilmente aplicada no corpo dos eléctrodos preparados.

As quantidades, aqui indicadas, eram suficientes para a preparação de cerca de seis unidades do tipo convencional. Dada a dificuldade de incorporação da grafite na resina epoxídica, tentava-se, sempre que possível, manter as quantidades indicadas (0,2 g de resina epoxidica / 0,24 g de grafite), repetindo-se esta preparação sempre que necessário fosse para a construção de outros novos eléctrodos.

Terminada a sua preparação, a mistura condutora era de imediato aplicada ao extremo do eléctrodo, directamente sobre a placa de prata (Fig.2.2.2.1.A), formando uma camada de cerca de 0,5 cm de altura, tendo-se o cuidado de a fixar rigídamente às paredes do tubo de perspex, visando obviar qualquer infiltração posterior de líquidos, quando da utilização das unidades.

Para completa secagem da resina epoxídica e consequentemente endurecimento do suporte preparado, os eléctrodos eram colocados numa estufa a cerca de 40° C, durante pelo menos 24 horas, ao fim das quais era

medida a resistência das diferentes unidades. Registavam-se, para maioria dos eléctrodos assim preparados, resistências inferiores a 100 Ω.

Algumas das unidades, por má preparação da mistura constituída pela resina epoxídica e grafite, apresentavam, por vezes, resistências bastante superiores à referida, facto que levava a rejeitá-las.

É importante obter, para este tipo de eléctrodos, uma baixa resistência do suporte condutor, de modo a que a sua contribuição, para a resistência global, seja mínima já que, o tipo de membranas preparadas (plásticas e de condutor iónico) apresentam por si só uma resistência eléctrica significativa.

Finalmente, era talhada, no suporte condutor, uma cavidade de cerca de 2 mm de espessura (Fig. 2.2.2.1.B), alisando a superfície onde posteriormente se aplicava a membrana sensora (Fig. 2.2.2.1.C) com papel abrasivo.

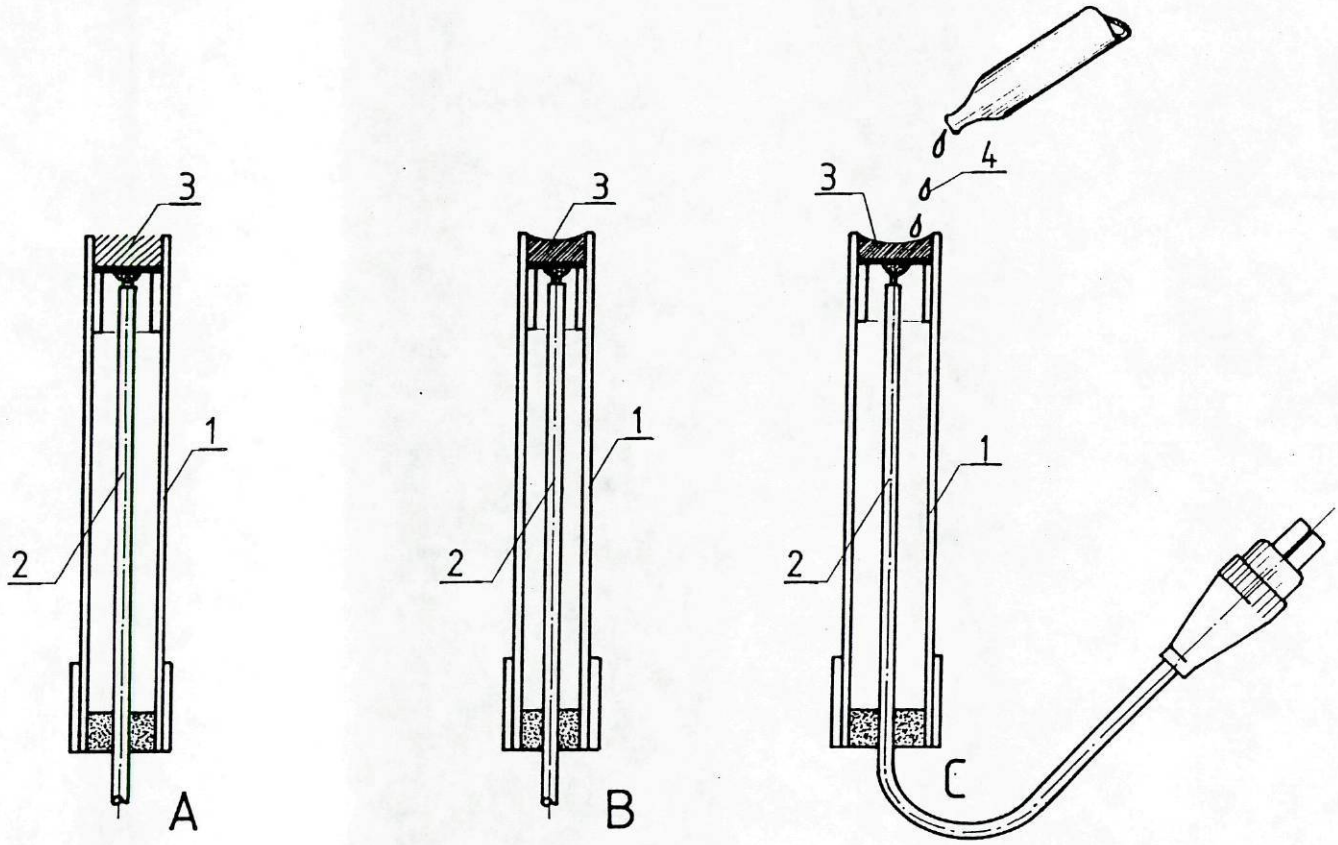


Figura 2.2.2.1 - Aplicação do suporte condutor ao corpo dos eléctrodos: (1)-tubo de perspex; (2)-cabo condutor; (3)- suporte epoxídico com grafite; (4)-solução sensora.

2.2.3 - Preparação dos sistemas sensores.

Os sistemas sensores, usados na construção dos eléctrodos sensíveis a espécies aniónicas, eram constituídos por um sal de amónio quaternário e um solvente mediador plastificante, pelo que se apresenta seguidamente o modo de preparação, de forma genérica. Assim uma determinada quantidade de sal de amónio quaternário, préviamente recristalizado, cujos detalhes de composição serão referidos nos capítulos respectivos, era, após prévia purificação (2.1.4.), dissolvida no solvente mediador com características plastificantes. Adicionava-se-lhe seguidamente, uma determinada quantidade de clorofórmio, com a finalidade de provocar um aumento de volume da solução extractora e facilitar as operações de permuta, evitando, assim, consumos excessivos de reagentes. Após esta diluição, a solução resultante era agitada vigorosamente, pelo menos seis vezes, com uma solução aquosa do sal para o qual o eléctrodo era construído, em concentração igual a 0,1 M, promovendo a permuta entre o anião do sal de amónio quaternário e o ião primário da solução aquosa. Finalmente, a camada orgânica era recolhida para um recipiente, contendo sulfato de sódio anidro, até à ser utilizada na preparação das respectivas membranas.

Os sistemas sensores para eléctrodos sensíveis a espécies orgânicas catiónicas (tiamina e piridoxina) e que utilizavam como extractor iónico o tetrafenilborato, eram preparados por precipitação de uma solução de tetrafenilborato de sódio (10^{-2} M) com uma solução aquosa, dez vezes mais concentrada, da respectiva amina. O precipitado formado era filtrado, lavado pelo menos 5 vezes com água desionizada e seco em estufa a 100°C. Após secagem, uma determinada quantidade do sólido obtido era dissolvido no solvente mediador utilizado, de modo a constituir a solução sensora, usada na preparação das membranas.

Os sensores iónicos, baseados em tetra-p-clorofenilborato de tiamina ou piridoxina, eram preparados, dissolvendo o tetra-p-clorofenilborato de potássio

numa quantidade mínima de acetona. À solução formada, adicionava-se uma solução aquosa, 0,1 M de cloretos de tiamina ou piridoxina. O sólido obtido por precipitação era filtrado, lavado e seco, seguindo-se, para a preparação dos respectivos sistemas sensores, a mesma metodologia referida para os sensores com tetrafenilborato.

2.2.4- Preparação das membranas para a construção dos eléctrodos.

As membranas sensoras prepararam-se, no que se refere à imobilização do sistema sensor em PVC, seguindo o procedimento proposto por Moody e Thomas para a construção de eléctrodos de condutor móvel [3]. Por isso, dissolviam-se 0,17g de PVC em cerca de 6 cm^3 de tetrahidrofurano, adicionando-se em seguida, à solução resultante, 0,4 cm^3 da solução sensora cuja preparação se indicou anteriormente. Ao evaporar-se, o tetrahidrofurano formava-se uma película de PVC onde ficava retido o sensor iónico e o mediador.

Esta quantidade permitia a preparação de pelo menos oito eléctrodos.

2.2.5. - Aplicação das membranas no suporte condutor.

Obtida a solução sensora, constituída pelo permutador iónico e solvente mediador, dissolvidos numa solução de PVC em tetrahidrofurano, e cujos detalhes de composição serão assinalados nos respectivos capítulos, a membrana era aplicada, gotejando a solução sensora, constituída pela mistura do sensor iónico, PVC e tetrahidrofurano, na cavidade central do suporte

condutor (Fig. 2.2.2.1.C). Depois de cada deposição deixava-se evaporar o tetrahidrofurano à temperatura ambiente.

Esta operação de gotejamento era repetida tantas vezes quantas as necessárias até se obter, após secagem final (correspondente à evaporação do tetrahidrofurano), uma película com uma espessura aproximada de 1 mm.

A aplicação da solução sensora requeria cuidados especiais, procurando-se, por um lado, não ferir a película anteriormente aplicada e, por outro garantir, por completa secagem das anteriores, uma homogénea distribuição da membrana, com a espessura desejada.

Para certificar uma perfeita evaporação do tetrahidrofurano, deixava-se o eléctrodo ao ar durante um período de tempo não inferior a 12 horas.

Toda a técnica de construção dos eléctrodos, assim como a de aplicação das respectivas membranas, tem como base os trabalhos anteriormente publicados [4,5] em que se utilizava, como suporte para as membranas sensoras, uma resina condutora à base de prata. A substituição desta superfície condutora por a mistura de araldite e grafite [6] teve como objectivo obter unidades mais económicas.

Após a operação de construção dos eléctrodos, as unidades eram imersas numa solução aquosa do ião principal, na maioria dos casos 0,1 M, para condicionamento.

2.2.6 - Recuperação dos corpos dos eléctrodos.

Quando os eléctrodos perdiam qualidades de resposta, resultante da perda de sensor pela membrana, procedia-se à recuperação dos corpos usados na sua construção. Os corpos dos eléctrodos construídos poderiam ser utilizados, tantas vezes quantas fossem necessárias, quer na preparação de unidades sensíveis à mesma espécie quer de eléctrodos sensíveis a outras espécies diferentes.

A recuperação dos corpos dos eléctrodos consistia inicialmente em destacar a membrana depositada, normalmente feita com um objecto cortante, após o que o suporte condutor era tratado com um papel abrasivo, de modo a retirar-se qualquer porção da membrana que eventualmente pudesse ficar aderente. Para garantir, com segurança, a remoção completa de qualquer depósito sensor no suporte condutor, procedia-se ainda a um limpeza deste, com um algodão embebido em tetrahidrofurano.

A limitação ao número de reutilizações, decorriam do desgaste que o suporte condutor ia sofrendo, pela redução progressiva da sua espessura devido aos sucessivos processos de limpeza. Estimam-se em seis a oito o número de reutilizações possíveis para um corpo do eléctrodo, construído com uma espessura de suporte condutor igual à que foi indicada anteriormente.

O limite do processo de recuperação era visível quando, por limpeza do suporte condutor, se atingia a placa de prata, ou então quando a superfície condutora, junto às paredes do tubo de perspex, mostrava indícios de aderência deficiente.

2.3 - Construção dos Módulos Sensores de Configuração Tubular.

2.3.1 - Preparação do corpo do módulo sensor tubular.

O corpo dos módulos sensores de configuração tubular foi construído, introduzindo ligeiras modificações à técnica já anteriormente utilizada, na preparação de um eléctrodo tubular sensível a anião nitrato [7].

Um cilindro de perspex, com cerca de 8 mm de diâmetro interno e 10 mm de diâmetro externo, era cortado com um comprimento igual a 8 mm. O facto de se ter optado por um comprimento inferior ao que tinha sido utilizado por outros autores na preparação do eléctrodo tubular de nitrato [7], era vantajoso já que facilitava, o enchimento dos módulos e tornava mais simples o acesso visual ao orifício central onde posteriomente se depositava a membrana sensora (ver 2.3.4).

Nesse pequeno troço de tubo, era efectuado, lateralmente, um pequeno orifício (Fig. 2.3.1.1.A), onde se adaptava um cabo condutor coaxial (Fig. 2.3.1.1.B). O condutor central do referido cabo era enrolado, o mais próximo possível das paredes da cavidade do orifício efectuado, e era fixado pelo próprio material de enchimento do cilindro, numa fase mais adiantada do processo de preparação dos módulos tubulares.

Para que o fio condutor se mantivesse rígidamente fixo, e para que não ocorresse qualquer contacto entre o condutor interno e o externo, procedia-se ao seu isolamento, aplicando umas gotas de Araldite (Fig. 2.3.1.1.C).

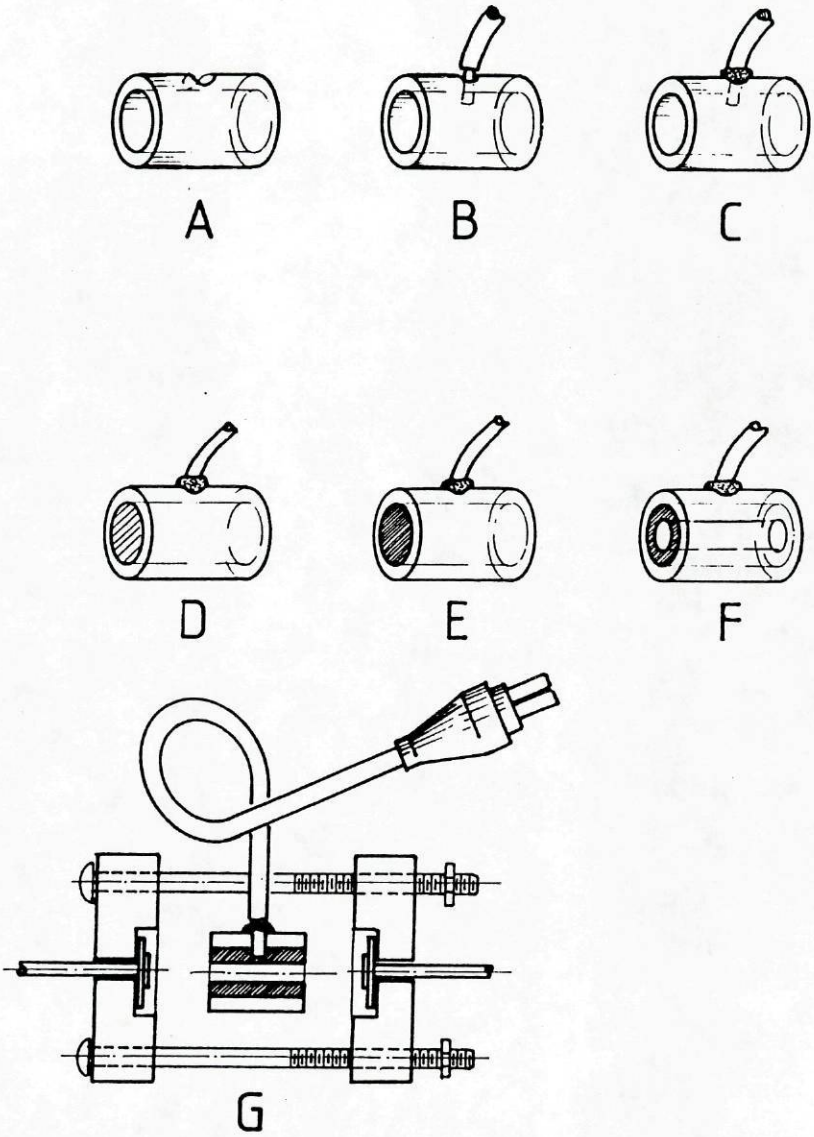


Figura 2.3.1.1 -Fases de preparação do corpo do módulo sensor e aplicação do suporte condutor.

2.3.2 - Aplicação do suporte condutor no módulo tubular

O interior do tubo de perspex, cuja preparação se descreveu em 2.3.1, era preenchido completamente com uma mistura de Araldite tornada condutora com pó de grafite (Fig. 2.3.1.1.D), cuja preparação e composição era semelhante à referida anteriormente para eléctrodos de configuração convencional (ver 2.2.2) .

Esse preenchimento deveria ser efectuado por forma a que houvesse, por um lado, a inclusão do condutor central do cabo condutor na própria mistura condutora e não resultassem fendas na parede do orifício central (ver mais adiante); e por outro, não houvesse destacamento da mistura condutora das paredes internas do tubo de perspex.

Depois da mistura condutora aplicada, o módulo tubular era colocado numa estufa a cerca de 100°C, para a sua completa secagem, de acordo com o descrito em 2.2.2.

Após secagem, os topos do cilindro eram aplanados com papel abrasivo, de modo a conseguirem-se superfícies perfeitamente uniformes, as quais eram posteriormente isoladas com resina epoxídica não condutora, evitando-se, deste modo, o eventual contacto com a solução transportadora, quando colocado em uso (Fig. 2.3.1.1.E).

Por fim, era executado, no suporte condutor, um orifício longitudinal, centrado, de diâmetro interno de aproximadamente 1 mm (Fig. 2.3.1.1.F), onde posteriormente seria aplicada a membrana sensora.

As dimensões apresentadas para aquele orifício foram consideradas suficientes para que, após aplicação da solução sensora e formação da respectiva membrana, ficasse com as dimensões semelhantes às dos tubos de fluxo (0,8 mm) usados para a ligação dos vários elementos da montagem FIA. Orifícios com tamanho superior ao indicado, originavam tempos de resposta elevados para os detectores potenciométricos e, consequentemente, menores

ritmos de amostragem para o sistema FIA, já que o módulo sensor actuaria como uma câmara de diluição.

Finalmente, na parte terminal do cabo condutor, era-lhe adaptado um terminal, tipo BNC (Fig. 2.3.1.1.G), como previamente se descreveu quando da construção de eléctrodos de configuração convencional (ver 2.2.1).

2.3.3 -Aplicação da membrana sensora nos módulos tubulares.

Uma das fases mais crítica da preparação dos detectores potenciométricos era a aplicação da membrana sensora no interior do módulo tubular.

A solução que iria originar a membrana sensível a uma determinada espécie iónica, preparada como se descreveu em 2.2.3, era gotejada através das faces internas do orifício central do módulo tubular, colocado verticalmente, proporcionando-se um escorrimento daquela, sem, no entanto, se provocar obturação do orifício oposto. O excesso de solução, recolhida no final do tubo, era retirada por aspiração com uma bomba de vazio.

Alternativamente, introduzia-se, no interior do orifício, uma pequena gota da solução sensora que se espalhava pelas paredes internas, movendo-se o cilindro em diversos sentidos. Depois da evaporação do solvente, aplicava-se uma nova gota, agora na outra extremidade. Esta operação era repetida, várias vezes, para garantir a existência de uma superfície sensora que revestisse, de forma contínua, as paredes interiores do orifício central e que possuísse uma espessura aproximadamente de 0,1 mm.

A utilização de módulos sensores com comprimentos relativamente curtos, cerca de 8 mm como se referiu em 2.3.1, facilitava a operação de gotejamento e controlo da espessura da membrana, já que se tornava possível a inspecção visual da qualidade do depósito efectuado.

Uma vez acabada a deposição, deixava-se o módulo tubular ao ar,

durante um período de tempo não inferior a 12 horas, para garantir uma perfeita evaporação do tetrahidrofurano.

O seu condicionamento era efectuado, algum tempo antes da sua utilização, numa solução 0,1 M em ião principal, fazendo-a passar através da membrana, impulsionada a uma velocidade lenta.

2.3.4- Preparação dos detectores potenciométricos.

Para a construção dos detectores potenciométricos, eram adaptados, nas bases dos módulos tubulares preparados, umas placas em perspex com uma cavidade cilíndrica de dimensões semelhantes ao diâmetro externo do corpo do módulo tubular (Fig. 2.3.1.1.G). A essas cavidades cilíndricas eram adaptadas borrachas circulares, com um orifício coincidente com o da placa de perspex, por onde passava um tubo de fluxo de diâmetro interno igual a 0,8 mm. As borrachas citadas tinham, como função, uma perfeita fixação do módulo tubular às placas, evitando-se a perda de solução transportadora e também a formação, nessa zona, de uma câmara de diluição.

Para garantir que a adaptação entre os topos terminais do módulo tubular e a borracha fosse perfeita, após isolamento daqueles com resina epoxídica não condutora, procedia-se ao seu alisamento utilizando para o efeito um papel abrasivo.

As duas placas de perspex que alojavam o módulo sensor tubular, eram fixadas com parafusos nas quatro extremidades (Fig. 2.3.1.1.G).

2.3.5 - Recuperação do corpo dos módulos tubulares.

Tal como foi referido em relação aos eléctrodos de configuração convencional, também, neste caso, era possível, sempre que os detectores potenciométricos acusassem deficiências de funcionamento, a recuperação dos respectivos módulos tubulares, o que permitia, no futuro, voltar a utilizá-los na construção de unidades sensoras à mesma espécie iónica ou a espécies diferentes.

Para ser depositada uma nova membrana sobre um módulo tubular já utilizado, era necessário assegurar a perfeita limpeza do canal interior, especialmente quando a sua reutilização envolvia o uso de um novo sensor iónico. Para isso, eliminava-se completamente a membrana antiga, procedendo-se a uma raspagem daquela com um bastão fino de metal, envolvido em papel abrasivo. Após esta operação, era feita passar, repetidas vezes, uma solução de tetrahidrofurano, para garantir a limpeza total do suporte condutor do eléctrodo tubular

Neste caso, a recuperação estava limitada pelo sucessivo alargamento do orifício central, que ao aumentar de dimensões poderia implicar a aplicação de membranas com maior espessura, ou então originar orifícios centrais de dimensões superiores às dos tubos de ligação, com consequente formação de câmaras de diluição.

2.3.6 - Modo de fixação do eléctrodo de referência.

Nas montagens FIA, que usavam o detector potenciométrico e o eléctrodo de referência fixados em suportes individuais, a colocação deste último (um eléctrodo comercial Orion 90-00-02), era feita em linha com o

módulo sensor e imediatamente a seguir a este. O eléctrodo de referência era alojado num dispositivo, do tipo indicado anteriormente (Fig. 2.1.3.2), garantindo, pela sua posição em relação ao eléctrodo tubular, não haver contaminação da membrana sensora pelo electrólito de referência.

Embora tenham sido descritas várias possibilidades de inserção do eléctrodo de referência nos sistemas FIA, nomeadamente em linha com o detector ou em "by pass", optou-se pela primeira por permitir obter montagens FIA que originavam sinais analíticos mais estáveis, designadamente no tocante à linha de base [8].

A adaptação do eléctrodo de referência ao suporte de perspex, (Fig. 2.1.3.2), era efectuado sobre pressão, de modo a que nenhuma bolha de ar se localizasse na superfície inferior do mesmo. A sua presença dificultaria a condução iónica através da solução transportadora, causando ruídos ao sistema.

2.3.7 - Detector tubular com eléctrodo de referência incorporado (detector em monobloco).

A versatilidade do processo de construção dos detectores tubulares descritos permitiu desenvolver um dispositivo que incorporava o módulo sensor e o eléctrodo de referência no mesmo monobloco (Fig. 2.3.7.1). Esta possibilidade foi avaliada construíndo detectores potenciométricos tubulares sensíveis a anião salicilato [9].

O sistema construído apresentava, como vantagem, uma comodidade de utilização além de poder permitir o uso de eléctrodos de referência, construídos no laboratório, sendo estes bastante mais económicos que os comerciais até então usados em montagens FIA com detecção potenciométrica [2,7].

O detector em monobloco (Fig. 2.3.7.1) era constituído pelo módulo sensor tubular e pelo eléctrodo de referência, formado por um fio de prata recoberto electrolíticamente com cloreto de prata, cujo processo de preparação será descrito mais adiante. O eléctrodo de referência era incorporado no detector monobloco, adaptando-o a um compartimento, talhado na peça de perspex que constituía o sistema monobloco (5), em contacto com uma solução de referência, constituida por cloreto de potássio 3 M. A alimentação desse compartimento era feita através de um reservatório contíguo (6), colocado a um nível ligeiramente superior para que o escorrimento da solução de cloreto de potássio ocorresse facilmente.

O eléctrodo de referência, no desenho apresentado, situava-se depois do módulo sensor, fazendo-se o contacto iónico entre os dois, através da solução transportadora que circulava num canal de ligação.

A fixação do eléctrodo tubular ao sistema monobloco era feita comprimindo todo aquele conjunto contra uma placa de perspex, do tipo da usada na fixação dos módulos sensores isolados (ver 2.3.4), procedendo-se ao seu ajuste final por intermédio de parafusos.

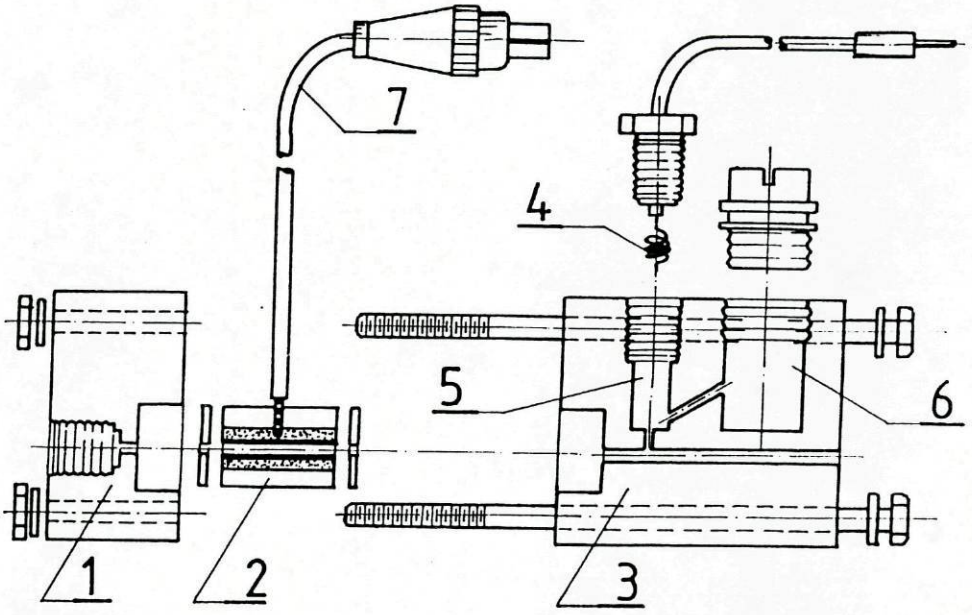


Figura 2.3.7.1 - Detector tubular com eléctrodo de referência incorporado: (1)-placa de perspex para fixação do módulo tubular; (2)-módulo sensor tubular; (3)-bloco de perspex; (4)- eléctrodo de referência; (5)-compartimento para o eléctrodo de referência; (6)-reservatório contendo solução de cloreto de potássio 3 M.

2.3.8 -Preparação do eléctrodo de referência utilizado na construção do detector em monobloco.

O eléctrodo de referência, de cloreto de prata / prata, para a aplicação no módulo descrito em 2.3.7, era preparado enrolando helicoidalmente um fio de prata, com elevada pureza (BDH ref. 300732B). Com este procedimento resultava aumentada a sua superfície de exposição, sem a tal corresponder um aumento significativo de comprimento. A extremidade do fio de prata, não enrolada, era fixada, por soldagem, a um cabo coaxial que emergia de um terminal plástico, adaptado a um ligador de tubos de impulsão, semelhante aos usados nas montagens FIA (Fig. 2.3.7.1), havendo o cuidado de proceder ao isolamento necessário para o exterior, com um pouco de Araldite.

O fio de prata era, após adaptação ao cabo coaxial, limpo com papel abrasivo, com ácido nítrico diluído e finalmente com água desionizada.

O depósito de cloreto de prata era obtido electrolíticamente, procedendo de acordo com a técnica descrita por outros autores [10], para a preparação de eléctrodos de referência para unidades com solução de referência interna. Para efectuar a electrólise, usou-se uma solução 0,1 M de cloreto de sódio e uma corrente de 5-10 mA, a qual era feita actuar, durante cerca de 30 minutos, servindo o fio de prata como ânodo e um fio de platina como cátodo.

Este depósito deveria ser efectuado lentamente, com uma baixa densidade de corrente, para garantir um recobrimento de cloreto de prata, fino e aderente ao fio de prata. Caso contrário, haveria o perigo de seu destacamento precoce e, consequentemente, mau funcionamento do eléctrodo de referência.

2.4 - Metodologias de Avaliação dos Eléctrodos Selectivos de Iões de Construção Convencional.

Para os eléctrodos construídos, sensíveis às diferentes espécies iónicas que se referirão ao longo deste trabalho, foi sempre determinado um conjunto de características que permitiam fazer uma avaliação global do seu comportamento e da sua utilidade analítica, independentemente de, no âmbito deste trabalho, serem ou não utilizadas no doseamento do ião primário em formulações farmacêuticas.

Concretamente, determinou-se o limite inferior de resposta linear (L.I.R.L.); o limite prático de detecção (L.P.D.) e o declive das rectas de calibração obtidas; a reprodutibilidade e estabilidade dos potenciais dos eléctrodos ao longo de um dia de trabalho e ao longo do seu tempo de vida; a sua durabilidade; a velocidade de resposta correspondente às variações de concentração a que eram sujeitos; a dependência do valor do potencial dos eléctrodos em função das variações de pH das soluções em que estavam mergulhados; e, finalmente, a extenção das interferências avaliadas à custa da determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos para diferentes níveis de concentração do ião principal e interferente.

Em todos os casos, excepto para os eléctrodos sensíveis a carboxilatos, a determinação do limite inferior de resposta linear, limite prático de detecção e declive foi efectuada em soluções, com e sem ajuste de força iónica. O procedimento seguido no caso dos eléctrodos de carboxilatos resultou do facto de se pretender, com as diferentes unidades construídas, fazer um estudo comparativo das suas características. Como neste caso não era possível utilizar um ajustador de força iónica comum que, além dessas funções, provocasse o mesmo grau de interferência nos diferentes eléctrodos construídos (propionato, acetato, formiato, monocloroacetato, dicloroacetato e tricloroacetato), não fazia sentido, para os objectivos em vista, a avaliação dos eléctrodos em soluções

com a força iónica fixada, utilizando, para o efeito, ajustadores que proporcionassem diferentes graus de interferência.

2.4.1 - Determinação do limite inferior de resposta linear, limite prático de detecção e declive das rectas de calibração.

Um eléctrodo, sensível a determinada espécie, permite determinar, por medida da diferença de potencial estabelecida entre ele e um eléctrodo de referência apropriado, as actividades (ou concentrações, o que requere que a força iónica do meio seja ajustada) dessa espécie livre, em solução. A resposta é dependente das quantidades relativas em solução, quer do ião primário quer de outras espécies eventualmente presentes.

Essa diferença de potencial que se obtém, traduz-se pela equação de Nernst- Nicolski:

$$E = \text{const} + (2{,}303RT)/(Z_A F) \log [\, a_A + K_{A,B}^{POT} (a_B)^{Z_A/Z_B} + K_{A,C}^{POT} (a_C)^{Z_A/Z_B} + \ldots\ldots\ldots]$$

em que (E) é o valor da diferença de potencial do eléctrodo, em mV; (R) é uma constante igual a 8,3144 J K^{-1} mol^{-1}; (T) é a temperatura absoluta em Kelvin, F é a constante de Faraday e igual a $9{,}64846 \times 10^4$ C mol^{-1}, (a_A, a_B, a_C) são as actividades, respectivamente do ião principal (A) e dos interferentes (B,C), presentes na solução; (Z_A, Z_B, Z_C) são números inteiros com o sinal e a grandeza das cargas do ião principal e dos iões interferentes, respectivamente; ($K_{A,B}^{POT}$ e $K_{A,C}^{POT}$), são os coeficientes de selectividade potenciométricos do eléctrodo, relativamente ao ião interferente B e C; a parcela (const) inclui o potencial normal do eléctrodo selectivo, o potencial do eléctrodo de referência e o potencial de junção líquida (expressos em mV).

Se, no entanto, não se encontrarem presentes em solução espécies interferentes ($a_B=a_C=0$) a equação anterior toma uma forma simplificada e igual a:

$$E = const + (2,303RT)/(Z_AF) \log a_A$$

Para além disso, quando a força iónica das soluções se encontra ajustada (I=const), a actividade do ião vem dada pela seguinte espressão:

$$a_A = f_A c_A$$

em que a_A é a actividade do ião A ao valor fixado para a força iónica e c_A a sua concentração.

Neste caso, a resposta do eléctrodo pode ser expressa por:

$$E = const' + (2,303RT)/(Z_AF) \log c_A$$

em que a parcela (const´) inclui mais a componente $(2,303RT)/(Z_AF) \log f_A$

Dentro de determinada zona de concentrações, a resposta do eléctrodo varia linearmente em função do logaritmo da actividade (ou concentração) do ião, para o qual ele é sensível (Fig. 2.4.1.1), com um declive positivo ou negativo, conforme o eléctrodo é sensível a catião ou a anião, e com um valor teórico de 59,16 mv década^{-1}, para iões monovalentes e 29,58 mV década^{-1} para divalentes, quando a temperatura é fixada a 25 °C.

No entanto, para soluções diluídas, o potencial dos eléctrodos deixa de variar linearmente com a cencentração de iões presentes em solução, podendo atingir um valor constante que não é alterado quando varia o valor da concentração do ião principal (Fig. 2.4.1.1).

Segundo os critérios da IUPAC [11], define-se o limite inferior de

resposta linear, como o valor de actividade do ião principal, a partir do qual a relação linear, entre a diferença de potencial dos eléctrodos indicador e referência e o logaritmo da actividade do ião principal se deixa de verificar (Fig. 2.4.1.1). O limite prático de detecção é o valor de actividade do ião principal no ponto de intercepção das extrapolações das partes lineares da curva de calibração (Fig. 2.4.1.1.)

Para a determinação dos parâmetros de calibração referidos, utilizou-se o método da adição de quantidade conhecida [11]. Procedeu-se, inicialmente, a uma prévia lavagem dos eléctrodos, com água desionizada, que se encontravam a condicionar numa solução aquosa de ião principal. Depois, aqueles foram secos com papel absorvente e introduzidos, conjuntamente com o eléctrodo de referência que também se encontrava seco, num vaso de vidro com paredes termostatizadas (ver 2.1.1), onde se colocava um volume conhecido de uma solução muito diluída de ião principal e o respectivo contra-ião. Seguidamente, eram adicionados pequenos volumes de uma solução mais concentrada, também de ião principal, registando-se, após cada adição, homogeneização da solução e estabilização dos eléctrodos (a ± 0,1mV), o correspondente valor de potencial. Com os valores obtidos, elaborou-se, em papel semilogaritmico, um gráfico, semelhante ao apresentado na Fig. 2.4.1.1, representando os valores de diferença de potencial obtidos em função da actividade do ião principal, em cada ponto da adição efectuada.

O limite inferior de resposta linear foi estimado, seguindo os critérios propostos pela IUPAC [11], calculando o valor de actividade correspondente ao ponto no gráfico onde a resposta do eléctrodo começava a apresentar desvio de linearidade.

Para a determinação do limite prático de detecção, e sempre que a força iónica das soluções onde mergulhavam os eléctrodos estava fixada, seguiram-se as recomendações da IUPAC [11], calculando o valor de actividade correspondente ao ponto de intercepção das extrapolações das partes lineares que constituiam a curva de calibração.

No entanto, quando os ensaios de avaliação eram conduzidos em soluções em que a força iónica não se encontrava ajustada,o mesmo critério não foi aplicado para a determinação do limite inferior de detecção. Esta situação resultou do facto de, para zonas da curva de calibração em que a presença de ião principal era diminuta e que correspondia à zona não linear da curva, os efeitos relativos à solubilização da membrana, agitação das soluções e pouca condutibilidade iónica das mesmas, provocavam uma instabilidade do potencial dos eléctrodos, sendo difícil estabelecer valores de potencial constantes que permitissem definir uma linha recta. Neste caso, era difícil efectuar-se o cálculo para o limite prático de detecção, seguindo o critério proposto pela IUPAC [11].

Optou-se, por isso, por determinar, gráficamente, o valor da actividade do ião principal, correspondente a um desvio de potencial da zona não linear da curva, igual a 18 mV/Z (Fig 2.4.1.2), em que Z era a carga do ião para o qual o eléctrodo era sensível. Este método foi anteriormente aplicado por alguns autores [12] para a determinação de coeficientes de selectividade potenciométricos pelo método das soluções misturadas na presença de uma forte interferência de que resultavam também valores instáveis de potencial.

Como o valor do limite inferior de resposta linear e também o limite prático de detecção são variáveis com as condições experimentais de análise, estado físico das membranas e tempo de vida das mesmas, apenas se poderá atribuir significado à ordem de grandeza que lhes corresponde, razão pela qual, nos capítulos seguintes, o valor destes dois parâmetros de calibração são unicamente indicados na forma de ordens de grandeza.

Nas determinações efectuadas em soluções em que a força iónica não era fixada para o traçado das curvas de calibração, os valores aproximados da actividade de ião principal foram calculados pelo produto do factor de actividade pela concentração do ião principal.

Usou-se, para o cálculo do factor de actividade, a expressão de Debye-Hückel simplificada:

$$- \log f = 0{,}51\ Z^2\ \sqrt{I} / 1 + \sqrt{I}$$

em que f é o factor de actividade do ião, Z é a sua carga e I é a força iónica do meio.

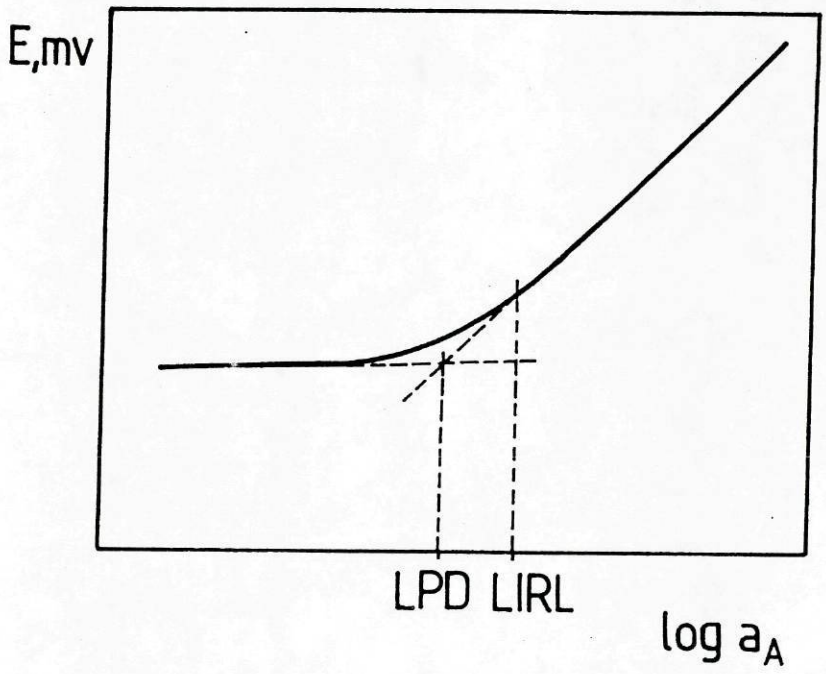


Figura 2.4.1.1 - Determinação gráfica do limite inferior de resposta linear e limite prático de detecção pelo método sugerido pela IUPAC [11].

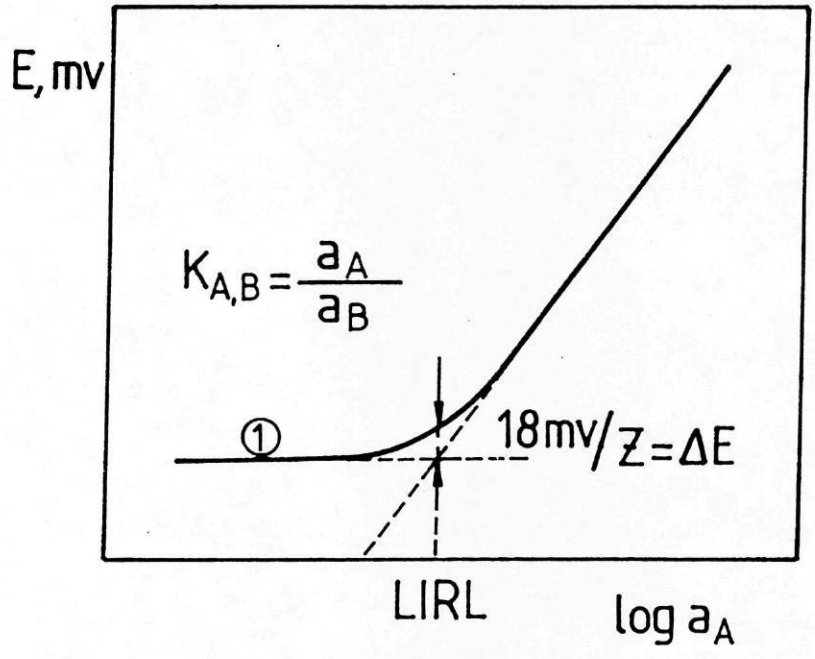


Figura 2.4.1.2. - Determinação gráfica do limite prático de detecção pelo método sugerido em [12].

2.4.2 - Comportamento dos eléctrodos ao longo do tempo.

Para a avaliação do comportamento dos eléctrodos ao longo do seu tempo de vida, efecturam-se calibrações repetidas (pelo menos em duplicado), numa zona de concentrações correspondente à zona de resposta linear.

Para tal, os eléctrodos eram imersos numa solução de ião principal com concentração, normalmente igual a 10^{-4} M, e adicionavam-se volumes conhecidos de uma solução mais concentrada (vulgarmente 10^{-1} M), também de ião principal. Em todos os ensaios realizados, houve a preocupação de preparar periodicamente as soluções mais diluídas. Para todas as unidades, excepto aquelas que eram sensíveis a carboxilatos, os ensaios, referentes a este tipo de avaliação, decorreram em soluções de ião principal com a força iónica ajustada.

Com os valores de diferença de potencial registados e os correspondentes valores de actividade, calculados a partir do valor da concentração, elaboravam-se as respectivas rectas de calibração para as quais se estimava o declive e os valores de regressão das mesmas, utilizando, para esse fim, um programa estatístico [13].

Os eléctrodos destinados a este tipo de avaliação eram guardados, em condicionamento contínuo, entre ensaios, numa solução de ião principal. Eventualmente, para alguns dos eléctrodos sensíveis a determinadas espécies iónicas, procedeu-se ao mesmo tipo de avaliação, mantendo as unidades ao ar, entre ensaios, tendo sido postas a condicionar algum tempo antes da realização dos mesmos (usualmente 15 minutos), com o objectivo de serem avaliadas as alterações correspondentes aos parâmetros de calibração dos eléctrodos, quando as membranas sensoras não estavam sujeitas a hidratação contínua.

Sempre que os ensaios de calibração periódica eram efectuados com a força iónica ajustada, as curvas de calibração eram estabelecidas em função da

concentração do ião principal.

O traçado periódico das rectas de calibração dos eléctrodos permitiu avaliar a estabilidade das unidades ao longo de um dia de trabalho e a reprodutibilidade ao longo do tempo de vida das unidades, fornecendo-nos indicação valiosa sobre a sua aplicabilidade, em análises de rotina em produtos farmacêuticos.

Para além da avaliação sistemática das características referidas para as unidades, normalmente efectuada na zona correspondente à resposta linear dos eléctrodos, eram também determinados, periodicamente, o valor do limite inferior de resposta linear e o limite prático de detecção, visando detectar eventuais variações dos seus valores durante o tempo de vida dos eléctrodos.

2.4.3 - Tempo de vida dos eléctrodos.

Uma vez que se pretendia uma avaliação tão completa quanto possível das características dos eléctrodos construídos, impunha-se determinar o tempo em que os diversos tipos de eléctrodos se mantinham em funcionamento, sem se apresentarem desvios signifitativos no seu comportamento típico.

Procedeu-se, para tal, ao traçado de calibrações repetidas ao longo do tempo de vida das unidades, em intervalos de concentração que correspondiam à zona de resposta linear, determinando os correspondentes valores de declive das rectas de calibração, o valor de regressão das mesmas e a reprodutibilidade dos potenciais ao longo da calibração.

Como critério de fim de vida das unidades construídas era considerado o decréscimo acentuado do valor de declive da recta traçada, o aumento do limite inferior de resposta linear e as variações na estabilidade dos potenciais das mesmas.

2.4.4 - Velocidade de resposta.

O tempo de resposta prático dos eléctrodos foi avaliado em condições dinâmicas, registando-se a variação do seu potencial quando se alterava a concentração da solução em que se encontravam imersos (normalmente 10^{-4} M), por adição de uma solução mais concentrada de ião principal. Para que as variações de potencial fossem, exclusivamente, atribuídas às características intrínsecas dos eléctrodos, tentou-se, tanto quanto possível, reduzir ao mínimo o tempo de homogeneização da solução depois de efectuada a adição.

Apesar destas precauções, e considerando que a velocidade de resposta dos eléctrodos era muito elevada, o tempo de homogeneização da solução não deixava de ter uma contribuição para os resultados obtidos. Efectivamente, certos factores como o volume da solução de ião principal e concentração adicionada, o volume da solução em que os eléctrodos estavam originalmente mergulhados e ainda a rapidez de agitação, contribuem para o valor da velocidade de resposta atribuída aos eléctrodos. Assim, a velocidade de resposta dos eléctrodos traduz mais uma resposta total da célula electroquímica do que propriamente a velocidade de resposta intrínseca do eléctrodo selectivo. É, contudo, de sublinhar que esta limitação experimental é mais aparente do que real, uma vez que em aplicações analíticas concretas é sempre a velocidade de resposta de toda a montagem que condiciona o ritmo a que as determinações podem ser executadas.

Para a determinação deste parâmetro, adicionaram-se, de forma rápida, com uma microbureta, volumes muito pequenos de uma solução muito concentrada do ião para que o eléctrodo era sensível (usualmente 0,1 M), a um volume, também reduzido, de solução onde mergulhavam os eléctrodos, efectuando-se o registo gráfico das variações de potencial obtidas com as variações de concentração do ião primário na solução, utilizando-se como critério de estabilização, uma variação de potencial não superior a 0,2 mV.

Situações houve em que, para algumas unidades construídas, a avaliação da velocidade de resposta das unidades foi efectuada, determinando, durante o traçado das curvas de calibração, o tempo que era necessário à estabilização do eléctrodo (±0,2 mV) após se ter provocado uma variação da concentração do ião em solução.

2.4.5 - Dependência do potencial dos eléctrodos selectivos com o pH das soluções.

A determinação da variação do potencial dos eléctrodos em função do valor de pH (diagramas de Reilley) foi realizada, provocando variações crescentes e decrescentes do pH em soluções de ião principal, a diferentes concentrações, com a força iónica fixada ou não a um determinado valor.

Para a realização dos referidos diagramas, procedeu-se inicialmente a uma calibração (em valores de potencial) do eléctrodo de vidro, com soluções tampão a pH igual a 9, 7 e 4 unidades. Com os valores obtidos foi traçado um gráfico de variação do potencial do eléctrodo de vidro em função do pH.

Na medida em que, quer os eléctrodos selectivos construídos, quer o eléctrodo de vidro usado, se encontravam em paralelo, era possível, através do comutador de eléctrodos utilizado (ver 2.1.1), saber-se, após cada variação de pH da solução, qual era o potencial que lhes correspondia. Esse valor de potencial era depois confrontado com os registados para o eléctrodo de vidro, nos ensaios de calibração prévia, sabendo-se por interpolação gráfica qual o pH a que lhe dizia respeito.

Após a calibração do eléctrodo de vidro, e conjuntamente com este, eram introduzidos os eléctrodos indicadores (normalmente dois de cada tipo) num volume de solução (aproximadamente 200 cm^3) que continha o ião principal. O pH desta solução era alterado, ou por adição de pequenos volumes

de uma solução de base forte (quando a variação de pH era em sentido crescente) ou duma solução de ácido forte (quando aquela era em sentido decrescente), ambas concentradas. A utilização de um volume elevado de solução de partida, ou de volumes pequenos de soluções concentradas, alcalinas ou ácidas, tinha como objectivo serem somente atribuíveis às variações de pH, às variações que foram detectadas nos potenciais dos eléctrodos selectivos.

Nos ensaios de determinação dos diagramas de Reilley, quando efectuados no sentido crescente de pH, partindo de uma sal do ião principal, procedia-se a um ajuste prévio da solução a um valor de pH próximo de 1, valor a partir do qual se começava a efectuar a adição de base.

A escolha da composição da solução alcalina, bem como da ácida, estava dependente do valor obtido para os coeficientes de selectividade potenciométricos dos aniões que as constituiam, no caso de eléctrodos sensíveis a espécies aniónicas ou dos respectivos catiões, no caso de unidades sensíveis a catiões.

Observavam-se algumas dificuldades, durante o traçado destes diagramas, sobretudo nas zonas de pH compreendidadas entre 5 e 9 unidades. Muitas vezes nesta zona a adição de um pequeno volume de ácido ou de base concentrados era suficiente para provocar uma variação brusca de pH das soluções, levando, nesta situação, à necessidade de recorrer a diluições sucessivas quer do ácido ou da base usadas para provocar as alterações de pH. Nas situações em que estas dificuldades experimentais se revelaram mais nítidas, resultava um menor número de determinações nesse intervalo de pH.

2.4.6 - Coeficientes de selectividade potenciométricos.

A selectividade dos eléctrodos selectivos dos iões é a característica de funcionamento mais frequentemente invocada para justificar as limitaçõse para

o seu uso mais generalizado. Efectivamente, o seu potencial é dependente, não só da concentração de ião principal existente em solução mas também eventualmente de outras espécies presentes. Como ficou referido anteriormente (2.4.1) esta dependência vem traduzida pela equação de Nernst-Nicolski, sendo o maior ou menor grau de interferência causado pelos iões, quantificado pelo coeficiente de selectividade potenciométrico (K^{POT}).

É, por isso, importante conhecer-se o valor desta característica para os eléctrodos, de modo a poder fazer-se uma previsão segura das suas eventuais aplicações analíticas.

Para a avaliação da extensão das interferências, determinou-se o coeficiente de selectividade potenciométrico, (K^{POT}) em relação a alguns aniões, para o caso dos eléctrodos sensíveis a aniões ou alguns catiões para os eléctrodos sensíveis a catiões.

Para a sua determinação, utilizou-se o método das soluções misturadas [11] ou, na maioria dos casos, o das soluções separadas [11], optando-se pelo primeiro sempre que o ião interferente possuia carga diferente da do ião principal, e pelo segundo no caso de ambos terem cargas com o mesmo valor.

Embora as determinações pelo método das soluções misturadas corresponda a condições experimentais mais próximas das reais quando da sua utilização analítica concreta, os valores de coeficientes de selectividade potenciométricos dependem de inumeros factores de carácter experimental, como sejam as concentrações de ião principal e interferente nas soluções, o tempo de vida das unidades e o estado físico das membranas, pelo que só nos dão uma indicação da ordem de grandeza da interferência. No entanto, o valor da ordem de grandeza para este parâmetro, não é significativamente alterado quando o ião principal e a interferência possuem a mesma carga e a determinação é feita pelo método das soluções separadas ou misturadas [12]. Por estas razões, e porque a avaliação dos coeficientes de selectividade potenciométricos envolvia duas ou mais determinações de vários eléctrodos, para diferentes concentrações de ião primário, correspondendo isto a uma

carga experimental elevada, se justifica que, para a maioria dos eléctrodos onde o estudo era efectuado para interferentes com a memsma carga da do ião principal, se tenha optado por um processo mais simples e que corresponde ao do método das soluções separadas.

O método das soluções separadas consistia em determinar sucessivamente, o valor de potencial fornecido pelos eléctrodos (normalmente 3 unidades) para as soluções com diferentes concentrações em ião principal (E_1) e sem a força iónica ter sido ajustada, para, seguidamente, realizar o mesmo com as soluções contendo exclusivamente o interferente (E_2), em concentração igual à do ião principal.

No primeiro caso, e atendendo à equação de Nernst - Nicolski (2.4.1), a resposta do eléctrodo vem dada por:

$$E_1 = \text{const} + (2{,}303\ R\ T)/(Z_A\ F) \log a_A$$

No segundo caso, teremos que, quando o eléctrodo está mergulhado numa solução que contém apenas ião interferente (B), a resposta do mesmo será dada por:

$$E_2 = \text{const} + (2{,}303\ R\ T) / (Z_A\ F) \log\ [K_{A,B}^{POT}\ (a_B)^{Z_A/Z_B}]$$

subtraindo, membro a membro, as equações anteriores, teremos:

$$E_2 - E_1 = +(2{,}303\ RT)/(Z_A\ F)[\ \log K_{A,B}^{POT} + Z_A/Z_B . \log a_B - \log a_A]$$

Se a concentração do ião interferente, ou mais propriamente a actividade, for igual à de ião principal (como no caso do método das soluções separadas), então a expressão anterior fica reduzida a :

$$(E_2 - E_1) / [(2{,}303\ RT)/(Z_A\ F)] = \log K_{A,B}^{POT} + (Z_A/Z_B - 1) \log a_A$$

Os valores de potencial obtidos para as soluções de ião principal permitiam-nos determinar o declive da recta de calibração, imediatamente antes de colocar o eléctrodo em contacto com o ião interferente.

Segundo as recomendações da IUPAC [11], na expressão anterior, sugere-se a introdução do valor teórico do declive, tanto para o ião principal como para a interferência. Este valor não se obtém para a maioria dos eléctrodos selectivos, pelo que, em todos os casos, utilizou-se um valor experimental do declive, obtido à custa das medidas efectuadas com as soluções de diferentes concentrações no ião principal, permitindo assim um cálculo para a selectividade, em condiçõs mais realistas.

Nas situações em que, para além dos valores da actividades serem iguais, também eram iguais, os valores de carga dos respectivos iões, a expressão anterior tomava ainda um aspecto mais simples:

$$(E_2-E_1)/\ [(2{,}303\ RT)/(Z_A\ F)] = \log K_{A,B}^{POT}$$

Na determinação do coeficiente de selectividade potenciométrico pelo método das soluções misturadas, os eléctrodos em estudo eram mergulhados numa solução com concentração fixa de ião interferente, procedendo-se em seguida à adição de volumes conhecidos de uma solução de ião principal, com concentração também conhecida.

Neste caso, o valor para o $\log K^{POT}$ era determinado, após traçado da recta correspondente à determinação efectuada, calculando-se o valor de actividade (concentração) correspondente ao ponto de intercepção das extrapolações dos dois segmentos lineares da recta de calibração, para o qual E_1 é igual a E_2 (ver Fig. 2.4.1.2).

Nesse ponto, e de acordo com as equações anteriores, $E_1 = E_2$ e:

$$\text{const} + (2{,}303\ R\ T)/(Z_A\ F) \log K_{A,B}\ (a_B)^{Z_A/Z_B} = \text{const} + (2{,}303\ R\ T)/(Z_A\ F) . \log a_A$$

Desta igualdade resulta a expressão:

$$\log a_A = \log K_{A,B}\ (a_B)^{Z_A/Z_B}$$

que rearranjada forma a igualdade que permite calcular, nas condições experimentais referidas, o valor do coeficiente de selectividade potenciométrico.

$$K_{A,B} = a_A / (a_B)^{Z_A/Z_B}$$

Determinando-se, pois, o valor de a_A, e considerando o valor de a_B fixado inicialmente, calculava-se facilmente, através da fórmula anterior, o coeficiente de selectividade potenciométrico para o interferente em estudo.

As determinações que envolveram o cálculo dos coeficientes de selectividade potenciométricos (normalmente duas determinações) foram efectuadas em soluções sem ajuste de força iónica, para várias unidades (normalmente três), sujeitando-as, entre cada ensaio, a um condicionamento em solução pura de ião principal, de modo a provocar-lhes um restabelecimento das características de funcionamento da membrana.

Quando os coeficientes de selectividade potenciométricos eram avaliados pelo método das soluções misturadas, surgiram situações em que, na zona de resposta não linear do eléctrodo onde existia uma elevada concentração de ião interferente relativamente à de ião principal, a resposta dos eléctrodos apresentava um elevado grau de instabilidade. Nestes casos, tornava-se difícil definir exactamente uma linha recta que permitisse, após extrapolação, o cálculo do valor de actividade do ião principal. Assim, o cálculo foi efectuado, estimando, na recta de calibração, o valor de actividade correspondente a um desvio da recta linear extrapolada, igual a 18 mV/Z [12].

2.5 - Metodologias para a Avaliação das Características de Funcionamento dos Detectores Tubulares.

Embora os parâmetros a determinar com os detectores tubulares potenciométricos fossem, em geral, os mesmos que foram descritos para os eléctrodos de configuração convencional, a metodologia de avaliação foi adaptada às condições de utilização para que foram construídos.

Contrariamente ao que sucede com os eléctrodos selectivos de configuração convencional, não existe uma metodologia bem estabelecida para a avaliação das características de funcionamento de detectores potenciométricos destinados a serem incorporados em montagens FIA. Este facto é provavelmente devido ao número reduzido de detectores construídos até ao momento, expressamente destinados a esse fim.

Por isso, procurou utilizar-se uma metodologia de avaliação, o mais parecida possível com a que foi usada para a determinação dos parâmetros de calibração dos eléctrodos selectivos de configuração convencional, mas realizando as medidas em fluxo contínuo que são as condições em que os detectores serão depois utilizados em condições analíticas correctas.

Para tal, utilizou-se um sistema FIA, de baixa dispersão, para que fosse irrelevante a diluição das amostras injectadas, determinando-se, para os detectores tubulares construídos, o limite inferior de resposta linear, o limite prático de detecção e o declive das rectas de calibração traçadas, a dependência do potencial dos detectores com o pH das soluções e os coeficientes de selectividade potenciométricos em relação a alguns iões interferentes.

2.5.1 - Limite inferior de resposta linear, limite prático de detecção e declive.

Com um sistema de fluxo do tipo daquele que se representa na Fig. 2.5.1.1, onde se procuraram simular condições experimentais semelhantes à do método das soluções separadas, utilizado na avaliação destas características para eléctrodos de configuração convencional, determinou-se, para os detectores tubulares construídos, o limite inferior de resposta linear, limite prático de detecção e o declive das rectas de calibração.

Para isso, efectuou-se o traçado das curvas de calibração (normalmente em duplicado) obtidas por injecção no sistema de fluxo, de soluções de diferente concentração em ião principal e registando, para cada uma delas, o correspondente sinal analítico.

Nos ensaios realizados, utilizou-se, no sistema FIA como transportador da amostra, uma solução constituída pelo ajustador de força iónica, (a que nos respectivos capítulos se fará referência), e pelo ião principal, com uma concentração inferior ao valor do limite inferior de resposta linear dos correspondentes eléctrodos de construção convencional. Esta última tinha, como funções, estabilizar o valor de potencial correspondente à linha de base dos detectores e diminuir a solubilização contínua do sensor, no fluido transportador.

Para a determinação do limite inferior de resposta linear e limite prático de detecção, foram utilizados os mesmos processos de cálculo, usados na avaliação destes parâmetros para os eléctrodos de construção convencional (ver 2.4.1 e Fig. 2.4.1.1).

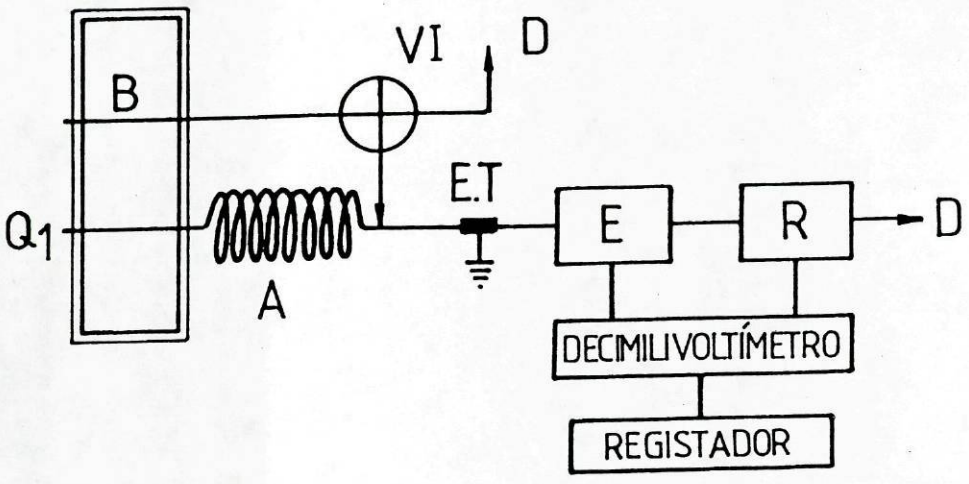


Figura 2.5.1.1- Montagem FIA de baixa dispersão utilizada na avaliação dos parâmetros de calibração dos detectores potenciométricos tubulares construídos.

(B)- Bomba peristáltica; (A)- amortecedor de pulsos; (VI) Válvula de injecção; (ET)-ligação à terra; (E)-eléctrodo tubular; (R)-eléctrodo de referência; (D)-descarga.

2.5.2 - Estabilidade e reprodutibilidade dos potenciais.

A estabilidade do sinal analítico ao longo do tempo foi determinada, efectuando calibrações periódicas, para diferentes níveis de concentração de ião principal, correspondentes à zona de resposta linear do eléctrodo tubular, avaliando-se as correspondentes variações de potencial dos detectores potenciométricos tubulares. Estas calibrações efectuaram-se injectando soluções de diferente concentração do ião principal na solução transportadora.

A reprodutibilidade de resposta do eléctrodo determinava-se, calculando o desvio padrão dos resultados obtidos ao injectar repetidamente uma mesma solução de concentração conhecida.

Nos detectores potenciométricos, com eléctrodo de referência incorporado, para além da avaliação da estabilidade do detector potenciométrico tubular, também eram efectuadas avaliações periódicas ao eléctrodo de referência de cloreto de prata / prata, registando, para este, os valores de potencial quando era imerso em soluções de cloreto de sódio de concentração variável.

É, contudo, de assinalar que, em sistemas FIA, a estabilidade do potencial dos detectores é um parâmetro menos crítico que em condições estáticas. Pode-se aumentar o número de calibrações sempre que necessário, sem que a ele corresponda um excessivo aumento do tempo de análise.

Mesmo assim, é necessário estabelecer a frequência mínima com que se deverá recalibrar o sistema. Esta determina-se, seguindo a variação do potencial do eléctrodo ao longo de um período de tempo equivalente a um dia de trabalho continuado.

2.5.3 - Tempo de resposta.

Para determinar este parâmetro era necessário criar idealmente um valor de concentrações de ião principal na superfície do eléctrodo tubular e seguir a sua variação do potencial em função do tempo.

As dificuldades inerentes à obtenção de um perfil de variação deste tipo dão lugar a uma grande disparidade nos resultados obtidos em função do método utilizado. Talvez por isso não exista uma metodologia convencionada a nível geral para a determinação deste parâmetro[14,15].

Por estas razões preferiu optar-se, não pela determinação do tempo de resposta do detector potenciométrico, mas sim pelo tempo de resposta da montagem FIA com ele incorporado.

Neste sentido, efectuaram-se calibrações a diferentes valores de concentração de ião principal, injectando-se um volume de amostra conhecido num transportador que fluía com uma velocidade de fluxo determinada. Calculou-se, depois, o tempo que, após registo do sinal analítico, a resposta do eléctrodo demorava a atingir um potencial correspondente ao da linha de base.

O valor encontrado traduzia o ritmo de amostragem que era possível atingir com o sistema de fluxo.

2.5.4 - Avaliação da influência do pH.

As amostras em que os detectores potenciométricos seriam aplicados, poderiam apresentar valores de pH muito diferentes. Por estas razões, interessava que o potencial daqueles não sofresse modificações, com as variações de pH, num amplo intervalo.

Para conhecer o intervalo em que o sinal analítico fornecido pelos

detectores permanecia inalterado, efectuou-se, utilizando um sistema FIA semelhante ao que foi utilizado na avaliação deste parâmetro em detectores potenciométricos sensíveis a nitrato [8] (Fig. 2.5.4.1), o traçado dos diagramas de Reilley (variação de potencial do detector em função do pH das soluções).

Num recipiente de grande volume que continha uma solução com determinada concentração de ião principal, introduzia-se um eléctrodo de vidro combinado, para controlar o pH. À solução nele contida adicionava-se ácido ou base concentrados, cuja interferência no detector não fosse significativa, para provocar as correspondentes variações de pH.

Sempre que alguma variação de pH fosse provocada na solução contida no referido recipiente, procedia-se à sua injecção no sistema de fluxo.

Para que a concentração da solução a injectar se mantivesse mais ou menos constante durante esta avaliação, procurava-se que o seu volume fosse o maior possível e procedia-se a uma recirculação da mesma através da válvula de injecção. Deste modo, a variação de volume ocorrida correspondia ao volume de cada injecção efectuada (normalmente 200μL) e ao volume de ácido ou base adicionado para provocar as variações de pH, considerando-se por isso desprezável.

Os diagramas obtidos, referentes a esta avaliação, eram referidos como uma variação do potencial dos detectores potenciométricos tubulares em relação ao pH da solução, no instante em que é introduzida no sistema e não em relação ao pH em contacto com as paredes do detector.

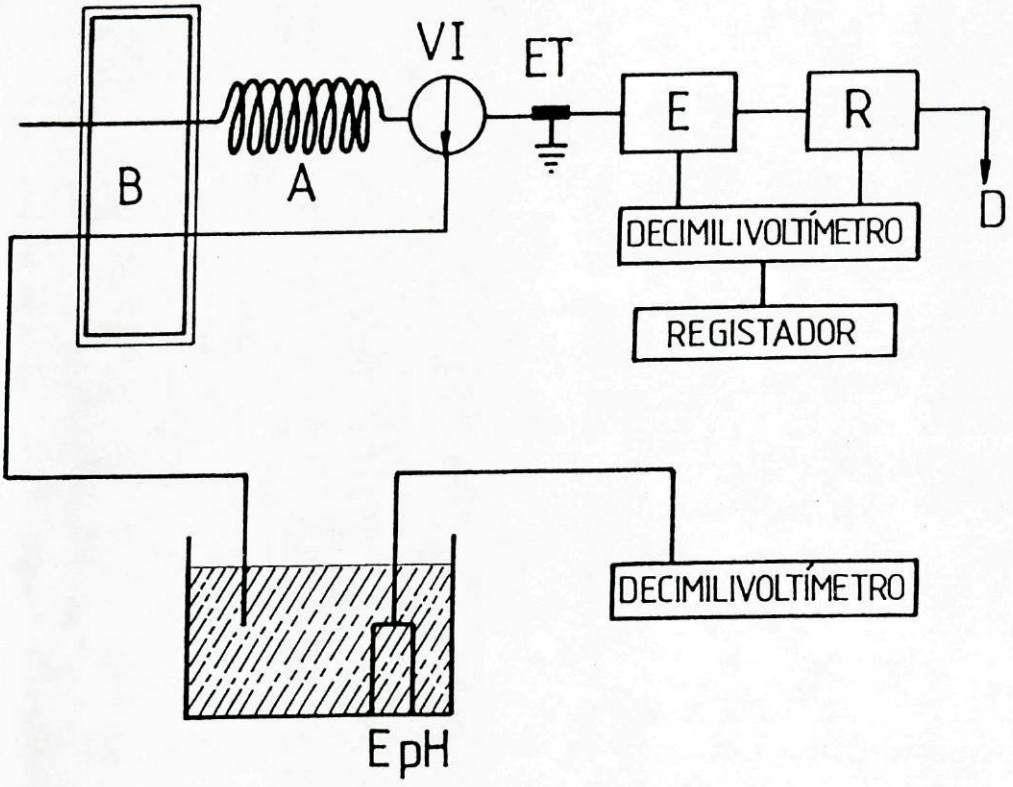


Figura 2.5.4.1 - Desenho esquemático da montagem FIA utilizada para a determinação da influência do pH nos valores de potencial dos detectores tubulares construídos.

(B)- Bomba peristáltica; (A)- amortecedor de pulsos; (VI) Válvula de injecção; (ET)-ligação à terra; (E)-eléctrodo tubular; (R)-eléctrodo de referência; (EpH)-eléctrodo de vidro, sensível ao protão; (D)-descarga.

2.5.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos.

Tal como acontecia para os eléctrodos de construção convencional, tornava-se importante determinar os coeficientes de selectividade potenciométricos , em condições de fluxo para os módulos sensores de configuração tubular.

Na avaliação deste parâmetro procurou-se reproduzir condições experimentais semelhantes às usadas na determinação da selectividade dos eléctrodos convencionais pelo método das soluções separadas.

O procedimento seguido consistia na injecção de soluções, de concentração crescente de ião principal, seguidas da injecção de soluções, com concentração igual às anteriores , mas de interferente, usando-se, para o respectivo cálculo, a mesma expressão já anteriormente apresentada para o cálculo deste parâmetro para eléctrodos convencionais (2.4.6).

Embora o sistema de fluxo utilizado fosse de baixa dispersão, a concentração quer de ião principal quer de interferente que atingia o detector, não era a mesma que se introduzia no sistema. Também neste caso é difícil, e não tem interesse para efeitos práticos, saber-se exactamente o valor da concentração que atinge a membrana do detector, sendo por isso os cálculos apresentados referentes à concentração introduzida no sistema.

2.6 - Processos e Cálculos Usados nas Determinações Potenciométricas, em Formulações Farmacêuticas com Eléctrodos Convencionais.

2.6.1 - Ensaios por potenciometria directa.

Nos doseamentos efectuados com eléctrodos selectivos de iões por potenciometria directa, em produtos farmacêuticos, os eléctrodos eram inicialmente calibrados numa solução de ião principal com a força iónica e pH ajustados de modo semelhante ao que iria ser efectuado com as amostras a dosear.

Após calibração, os eléctrodos eram imersos nas amostras de formulações, préviamente preparadas (processo de preparação devidamente explicado nos correspondentes capítulos), conjuntamente com o ajustador de força iónica e pH. O valor de potencial, obtido para os eléctrodos, era depois comparado com os fornecidos, pelos mesmos eléctrodos quando sujeitos a uma calibração prévia em condições de ajuste de força iónica e pH semelhantes às das amostras doseadas.

Embora, na maioria dos casos, os resultados obtidos fossem concordantes com os resultantes dos ensaios realizados pelas metodologias de referência e para garantir que os valores calculados não tinham como resultado nenhuma interferência do método, efectuaram-se igualmente ensaios potenciométricos, utilizando o método de adição[16,17].

2.6.2 - Ensaios pelo método da adição.

Para as determinações potenciométricas pelo método de adição, sobre a

mesma toma utilizada no doseamento por potenciometria directa (V_X), por questões de simplicidade e cuja concentação real se pretendia determinar (C_X), adicionou-se, após registo do potencial (E_1), um volume (V_S), muito pequeno, (normalmente 100 μL), de uma solução concentrada e conhecida, de ião para o qual o eléctrodo era sensível (C_S), registando-se, após adição, homogeneização da solução e estabilização dos potenciais dos eléctrodos (± 0,2mV), os respectivos valores de potencial das unidades (E_2).

Para o cálculo da concentração real do produto a analisar (C_X) era utilizada a seguinte expressão:

$$C_X=C_S/10^{E_1-E_2/D}(1+V_X/V_S)-V_X/V_S$$

em que D representa o declive de calibração do eléctrodo.

2.7- Referências Bibliográficas.

[1]-M.A.R.P. Barros, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Port. Electrochim. Acta*, **1**, 277 (1983).

[2]-S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, A.A.S.C. Machado, J.L.F.C. Lima e J.M. Paulis, *Quim. Anal.*, **6**, 278 (1987).

[3]-G.J.Moody, R.B.Oke e J.D.R. Thomas, *Analyst*, **95**, 910 (1970).

[4]-J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Analytical Techniques in Environmental Chemistry*, J Albaiges (edit.), volume 2, Pergamon Press, Oxford, (1982) pag. 419.

[5]-J.L.F.C.Lima e A.A.S.C. Machado, *Analyst*, **111**, 799 (1986).

[6]-R.A.S. Lapa, J.L.F.C. Lima e A.M.R. Silva, *Il Farmaco*, **45**, 901 (1990).

[7]-S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J.M. Paulis, J.L.F.C.Lima e A.A.S.C. Machado, *Anal. Chim. Acta*, **164**, 147 (1984).

[8]-S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J.M. Paulis, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado e J.M. Paulis, *Anal Lett.* , **18**, 2291 (1985).

[9]-J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro e A.M.R. Silva, *J. Flow Injection Anal.*, **7**, 19 (1990).

[10]-A. Craggs, G.J. Moody e J.D.R. Thomas, *J. Chem. Ed.*, **51**, 541 (1974).

[11]-IUPAC, Analytical Chemistry Division of Analytical Nomenclature. Recommendations for Nomenclature of Ion-Selective Electrodes, *Pure Appl. Chem.* **53**, 1913 (1981).

[12]- G.J. Moody and J.D.R. Thomas, *Selective Ion -Sensitive Electrodes*, Merrow Technical Library, Watford, England (1971), pag.15.

[13]-Cricket Graph, *Cricket Software*, Ver. 1.2, USA (1988).

[14]-E. Lindner, K. Toth e E. Pungor, *Anal. Chem.*, **48**, 1071 (1976).

[15]-B. Oosterhuis, K. Brunt , B.H.C. Westerink e D.A. Doornbos, *Anal. Chem.*, **52**, 203 (1980).

[16]- B. Fleet e A.Y.W.Ho, *Talanta*, **20**, 793 (1973).

[17]-A. Liberti e M. Mascini, *Anal. Chem.*,**41**, 676 (1969).

CAPÍTULO 3

ELÉCTRODOS SENSÍVEIS A ALGUNS MONOCARBOXILATOS ALIFÁTICOS SATURADOS

3- ELÉCTRODOS SENSÍVEIS A ALGUNS MONOCARBOXILATOS ALIFÁTICOS SATURADOS.

3.1 - Introdução.

Como ficou referido no Cap. 1 deste trabalho, um dos aspectos aliciantes dos eléctrodos selectivos de iões é a possibilidade que oferecem de se estender a sua preparação a quase todas as espécies iónicas, independentemente destas, pelos critérios correntes, poderem ser designadas como orgânicas ou inorgânicas.

E é, sobretudo, na área respeitante à das espécies orgânicas que se tem vindo a intensificar o desenvolvimento de novos eléctrodos selectivos de iões [1-4] já que, com relativa facilidade, é possível encontrar facilmente materiais electroactivos para a sua construção. Este facto tem, como consequência, uma vulgarização da aplicação dos eléctrodos em diversas áreas da Química e da Biologia. Mas, em muitas das situações, a aplicação destes instrumentos analíticos torna-se bastante limitada pelas deficientes características que grande parte das unidades construídas, até ao momento, apresentam e que são, genericamente, uma consequência do tipo de sistemas sensores e processos de construção que utilizam.

As deficiências mais vulgarmente detectadas são as reduzidas

selectividades dos eléctrodos, os elevados valores de limite inferior de resposta linear, a baixa reprodutibilidade dos valores de potencial e, sobretudo, o reduzido tempo de vida dos eléctrodos.

Esta situação que é comum à maioria dos eléctrodos de condutor móvel, observa-se, também, com praticamente todos os eléctrodos, do mesmo tipo, construídos até ao momento, sensíveis a propionato [5,6], acetato [5-7], formiato [5,6], monocloroacetato [8], dicloroacetato [8,9] e tricloroacetato [8], de que o eléctrodo sensível a tricloroacetato, recentemente proposto por Gao e colaboradores [10], parece ser uma excepção.

As deficiências referidas são o resultado de, nalgumas situações, os seus autores usarem o sensor iónico na forma líquida [5,6,9] ou, mesmos nos casos em que aquele é imobilizado [7,8], nem sempre o extractor iónico e o solvente mediador serem os mais adequados.

A utilização, na maioria das situações, de um sal de amónio quaternário de baixo peso molecular, como é o caso do Aliquat usado na preparação de eléctrodos de propionato [5], acetato [5,7], formiato [5,6], monocloroacetato [8], dicloroacetato [8] e tricloroacetato [8] ou de decanol como plastificante [8], origina unidades, com reduzido limite inferior de resposta linear, bastante instáveis e sobretudo com tempos de vida curtos.

Por outro lado, a modificação do processo da construção de algumas das unidades descritas [7,8] que usavam a membrana aplicada directamente sobre um suporte inerte condutor, nem sempre foi acompanhado das modificações adequadas, do sistema sensor, de modo a que pudessem ser minimizadas certas deficiências nos eléctrodos construídos e que se traduziam, sobretudo, numa falta de estabilidade e em durabilidade reduzida.

Foi com base nos problemas que os eléctrodos sensíveis aos carboxilatos referidos apresentavam que nos propusemos construir, e avaliar detalhadamente, unidades em que, se utilizasse um sistema sensor adequado, constituído por um sal de amónio quaternário de cadeia longa (tetradodecilamónio) conjuntamente com um bom plastificante

(ortonitrofeniloctiléter), tentando, deste modo, melhorar as características gerais de funcionamento dos eléctrodos, anteriormente referidos na literatura.

Usou-se para isso, um processo de construção para os eléctrodos em que foi eliminada a solução de referência interna [11] considerando que anteriormente originava unidades com tempos de vida superiores [12] às preparadas segundo a metodologia proposta por Moody e Thomas [13].

3.2 - Parte Experimental.

3.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos.

Para a avaliação sistemática das características dos eléctrodos construídos, foi usado o equipamento anteriormente especificado (Cap. 2).

Utilizaram-se, nas diferentes avaliações, eléctrodos de dupla junção (Cap.2) com uma solução de sulfato de potássio 0,033 M, no compartimento exterior. O uso deste electrólito justificou-se pela reduzida selectividade do anião sulfato em relação a todos os tipos de eléctrodos construídos (Tabelas 3.3.5.1 a 3.3.5.6)

3.2.2-Reagentes e soluções.

As soluções de formiato, acetato, propionato e monocloroacetato, usadas para a avaliação dos eléctrodos construídos, foram preparadas por diluição rigorosa de soluções mais concentradas obtidas por pesagem, também rigorosa, dos respectivos sais de sódio. As soluções de dicloroacetato e tricloroacetato foram obtidas por reacção quantitativa (com controlo de pH), de hidróxido de sódio com soluções dos respectivos ácidos, previamente titulados potenciometricamente.

Todas as soluções diluídas foram preparadas a partir das anteriores por diluição também rigorosa.

3.2.3-Preparação dos sistemas sensores para os diferentes eléctrodos.

Os diferentes sistemas sensores para os eléctrodos construídos eram constituídos pelo sal de tetradodecilamónio do ião primário, em ortonitrofeniloctiléter.

Os sistemas sensores para monocloroacetato, dicloroacetato e tricloroacetato foram preparados genericamente do modo indicado anteriormente (Cap.2), por agitação de uma solução orgânica de brometo de tetradodecilamónio em ortonitrofeniloctiléter, nas proporções indicadas na Tabela 3.2.3.1, com, respectivamente, soluções aquosas de monocloroacetato de sódio, dicloroacetato de sódio e tricloroacetato de sódio com concentrações iguais a 0,1 M. Após a extracção, a fase orgânica foi separada e guardada para posterior utilização, em contacto com sulfato de sódio anidro.

Os sistemas sensores para a preparação de eléctrodos sensíveis a propionato, acetato e formiato foram preparados de forma ligeiramente diferente da indicada anteriormente. A solução orgânica, constituída por brometo de tetraoctadecilamónio em ortonitrofeniloctiléter, cuja composição se indica igualmente na Tabela 3.2.3.1, foi agitada, inicialmente, com uma solução aquosa de hidróxido de potássio 0,1 M, para promover a permuta entre o anião brometo e o anião hidróxido.

A solução orgânica resultante foi, de seguida agitada, respectivamente com soluções 0,1 M dos ácidos propiónico, acético e fórmico. No final, a fase orgânica foi igualmente recolhida e guardada em contacto com sulfato de sódio anidro.

Tabela 3.2.3.1 - Composição dos sistemas sensores utilizados na construção de eléctrodos sensíveis a aniões carboxilatos saturados de cadeia alifática [a].

Eléctrodos	**Percentagem em massa**	
	% de ião primário-tetraoctadecilamónio	% de ortonitrofenil-octiléter
Propionato	12,9	87,1
Acetato	13,1	86,9
Formiato	12,9	87,1
Monocloroacetato	13,3	86,7
Dicloroacetato	13,8	86,2
Tricloroacetato	14,7	85,3

a) - Valores de percentagem em massa correspondentes a soluções saturadas do respectivo sal de amónio quaternário no solvente mediador.

3.2.4 - Construção dos eléctrodos selectivos sensíveis aos diferentes monocarboxilatos.

As membranas, para os diferentes eléctrodos construídos, foram preparadas imobilizando cera de 70% (percentagem em massa) da solução sensora com a composição indicada na Tabela 3.2.3.1 em cerca de 30% de PVC, aplicando-a depois directamente sobre um suporte epoxídico condutor (ver Cap.2). Resultaram, desta preparação, membranas, cuja massa de permutador iónico oscilava entre 8,9% e 10,1% relativamente ao ortonitrofeniloctiléter usado como solvente mediador (Tabela 3.2.4.1).

Após a aplicação da membrana sobre o suporte epoxídico condutor, os eléctrodos eram deixados ao ar de modo a garantir uma secagem completa da membrana. Depois eram colocadas numa solução de condicionamento constituída pelas soluções sódicas dos respectivos aniões com concentrações iguais a 0,1 M. Os eléctrodos construídos foram igualmente mantidos, entre ensaios e durante o tempo em que decorreu a sua avaliação, na solução de condicionamento referida.

Verificou-se, no entanto, que os resultados dos diferentes parâmetros de calibração dos eléctrodos não eram minimamente alterados, se as unidades construídas fossem guardadas ao ar, e cerca de 10 a 15 minutos, antes de qualquer avaliação, fossem mergulhados numa solução 0,1 M do respectivo ião primário. Contudo, a opção de os conservar sempre mergulhados na solução de condicionamento teve como objectivo manter, de forma constante, a hidratação da membrana e, em iguais condições, verificar se a perda de sensor por dissolução era igual em todos os tipos de eléctrodos construídos e em que extensão este procedimento alteraria os tempos de vida das unidades.

Tabela 3.2.4.1-Composição das diferentes membranas (percentagens em massa) utilizadas na preparação dos eléctrodos.

Ião Primário	**Percentagem em massa**		
	%Sal de amónio	%Solvente mediador	%PVC
Propionato	8,9	60,1	30,0
Acetato	9,0	59,9	31,1
Formiato	8,9	60,1	30,0
Monocloroacetato	9,2	59,8	30,0
Dicloroacetato	9,5	59,4	31,1
Tricloroacetato	10,1	58,8	31,1

3.3 - Resultados e sua Discussão.

3.3.1 - Parâmetros das curvas de calibração.

As características gerais de funcionamento dos eléctrodos foram avaliadas pelo traçado das respectivas rectas de calibração (Cap.2), efectuadas em soluções que continham somente o ião principal e o respectivo contra-ião, num intervalo de concentrações variáveis entre 10^{-5} e 10^{-1} M. Na Fig. 3.3.1.1. representam-se as curvas de calibração típicas (potencial em função do logaritmo da actividade do ião principal) para os diferentes eléctrodos construídos.

Os ensaios executados com as mesmas unidades, numa zona de concentrações de ião principal mais ampla, por exemplo 10^{-6} e 10^{-1} M, revelaram que, para concentrações inferiores a 10^{-5} M, os eléctrodos forneciam valores de potencial instáveis, devido a estes valores de concentração do ião principal ser significativa a extensão de solubilização da membrana.

Os valores experimentais que conduziram ao traçado das curvas de calibração, foram obtidos apenas nas condições experimentais anteriormente indicadas, isto é, em soluções sem a força iónica ajustada, justificando-se o procedimento pela necessidade de se efectuarem comparações entre o funcionamento dos vários eléctrodos construídos, isentos de perturbações decorrentes da presença do anião do electrólito que eventualmente fosse usado para ajustar a força iónica.

Toda as determinações foram efectuadas em soluções com um pH que garantia não ocorrer protonação do ião principal, em extensão significativa.

Na Tabela 3.3.1.1. são apresentados os respectivos parâmetros de calibração, correspondendo estes à média de duas determinações com três

eléctrodos. Os resultados, aí apresentados mostram que os valores médios dos declives, obtidos das rectas de calibração para todos os eléctrodos sensíveis aos diferentes carboxilatos, eram próximos dos valores teóricos previstos para a temperatura a que se realizaram os ensaios (25° C) e mantinham-se sem alterações ao longo do tempo de vida das unidades (ver Tabelas de 3.3.3.1 a 3.3.3.6).

Os valores de limite inferior de resposta linear e limite prático de detecção obtidos, para os diferentes eléctrodos, são bastante semelhantes.

A diminuição de limite inferior de resposta linear e de detecção para as diferentes espécies ordenadas da forma indicada na Tabela 3.3.1.1 confirmam os resultados obtidos por Nielsen e colaboradores [14] que, ao prepararem eléctrodos sensíveis a anião nitrato com diferentes concentrações de tetradodecilamónio na membrana, verificaram haver uma diminuição dos limites inferiores de resposta linear e de detecção, com o aumento da concentração de extractor na membrana. As ligeiras diferenças no valor destes dois parâmetros referidos são devidas, segundo alguns autores [15], às diferentes dissociações dos respectivos pares iónicos na membrana, promovidas pela maior ou menor interacção do solvente mediador, utilizado na ligação iónica entre o sal de amónio quaternário e o ião a permutar, e à maior ou menor electronegatividade do anião carboxilato ligado ao sal de amónio quaternário.

Verificou-se, no entanto, um aumento, pouco significativo, quando se comparavam os valores dos declives obtidos para as diferentes espécies ordenadas da forma indicada na Tabela 3.3.1.1. Poderá justificar-se este comportamento pela crescente concentração de permutador na fase orgânica (Tabela 3.2.3.1), confirmando-se assim os resultados obtidos por outros autores [16] quando da preparação de eléctrodos de fio recoberto, usando como extractor iónico um sal de amónio quaternário.

Comparando os resultados dos parâmetros de calibração, por nós obtidos, para as diferentes unidades (Tabela 3.3.1.1) com os indicados, por outros autores, para eléctrodos sensíveis às mesmas espécies aniónicas (Tabela

3.3.1.2), podemos verificar que se registaram melhorias significativas nos valores de limites inferiores de resposta linear, e de detecção e declives das rectas de calibração.

Estes resultados são uma consequência, por um lado, de se ter usado tetradodecilamónio como extractor iónico e ortonitrofeniloctiléter como solvente mediador. O aumento da cadeia carbonada do sal de amónio quaternário, relativamente ao Aliquat 336S (predominantemente trioctilmetilamónio) anteriormente usado [5-8], e consequentemente o aumento das suas propriedades lipofílicas, contribuiu para um alargamento da zona de resposta linear, facto que, em casos anteriores, já se tinha observado [9,10] quando da preparação de eléctrodos sensíveis a dicloroacetato [9] e tricloroacetato [10], bem como do respectivo limite prático de detecção.

Este facto está inteiramente de acordo com os resultados apresentados por Nielsen [14] e Fang [15] que, ao utilizarem diferentes sais de amónio na preparação de eléctrodos sensíveis, a nitrato e perclorato, respectivamente verificaram haver uma relação directa entre o aumento de lipofilia do sal de amónio quaternário e, consequentemente, da sua menor solubilidade e os parâmetros de calibração referidos.

O facto de termos utilizado grandes quantidades de extractor iónico na membrana, opção esta feita com vista a prolongar o tempo de vida dos eléctrodos construídos, condicionou os valores de limite inferior de resposta linear e de detecção obtidos, relativamente, por exemplo, aos que são indicados por outros autores para eléctrodos sensíveis a dicloroacetato [9] e tricloroacetato [10] (Tabela 3.3.1.2).

Não se optou, no entanto, por se usar, na preparação dos sistemas sensores dos diferentes eléctrodos, sais de amónio de cadeia ainda mais longa que a do tetradodecilamónio utilizado porque a este acréscimo de tamanho de cadeia não correspondia uma diminuição significativa da solubilidade em água, acarretando maiores dificuldades de purificação daquele e de dissolução no solvente mediador [14,15].

Por outro lado, a utilização de ortonitrofeniloctiléter como solvente mediador, e dadas as suas características dialéctricas comparadas com as do decanol [5-8] ou nitrobenzeno [9] anteriormente usados, contribuiu igualmente para a melhoria dos parâmetros de calibração apontados, sobretudo no que se refere aos respectivos declives das rectas de calibração já que, segundo Gao e colaboradores [10], existe uma relação directa entre o valor deste parâmetro físico dos mediadores usados na preparação de eléctrodos de condutor móvel e os respectivos declives. A maior ou menor dissociação do par iónico na membrana, provocando maior ou menor força de interacção exercida pelo mediador, condiciona a sensibilidade dos eléctrodos.

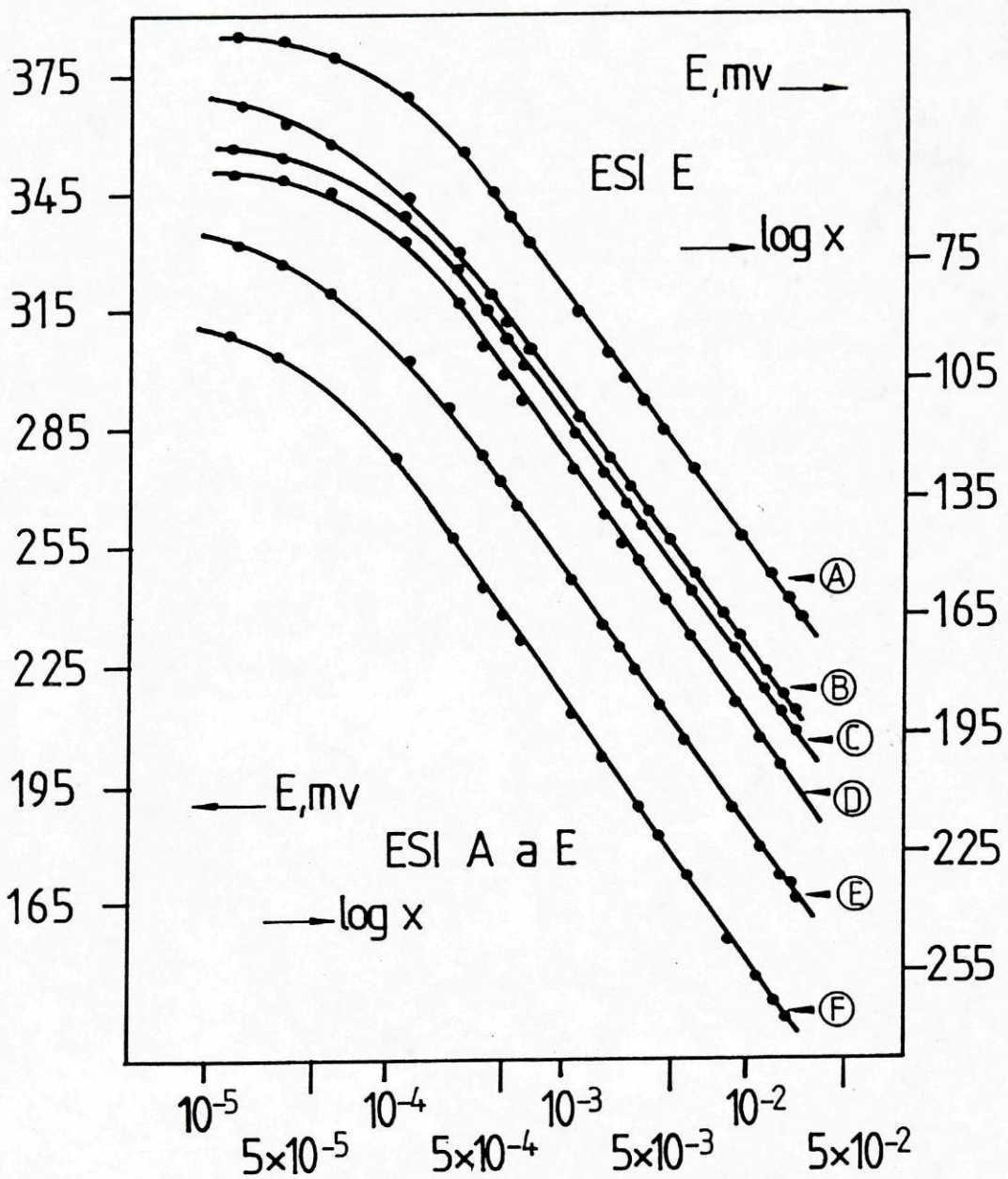


Figura 3.3.1.1-Curvas de calibração típicas para os diferentes eléctrodos construídos, sensíveis a: (A)-Propionato; (B)-Acetato; (C)-Formiato; (D)-Monocloroacetato; (E)-Dicloroacetato e (F)-Tricloroacetato.

Tabela 3.3.1.1.-Características gerais de funcionamento para os eléctrodos construídos [a].

Características	**Eléctrodos**					
	$CH_3CH_2COO^-$	CH_3COO^-	$HCOO^-$	CH_2ClOO^-	$CHCl_2COO^-$	CCl_3COO^-
L.P.D (M)	$4{,}0 \times 10^{-5}$	$3{,}2 \times 10^{-5}$	$3{,}0 \times 10^{-5}$	$4{,}0 \times 10^{-5}$	$2{,}8 \times 10^{-5}$	$2{,}2 \times 10^{-5}$
L.I.R.L (M)	$1{,}5 \times 10^{-4}$	$1{,}5 \times 10^{-4}$	$1{,}5 \times 10^{-4}$	$1{,}4 \times 10^{-4}$	$1{,}0 \times 10^{-4}$	$9{,}9 \times 10^{-5}$
Declive (-mV/dec. activ.)	59,3 ±0,7	59,2±0,8	59,3±0,6	60,2±0,6	62,2±0,7	63,3±0,9
Reprodutib. (mV/dia)	~1	~1	~1	~1	~1	~1
Velocidade resposta (s)	<20	<20	<20	<20	<20	<20

a)-Resultados correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos.

Tabela 3.3.1.2 - Parâmetros de calibração para eléctrodos anteriormente descritos na literatura, sensíveis a carboxilatos alifáticos saturados.

Eléctrodos	**Parâmetros de Calibração**					
	L.I.R.L.[a] **(M)**	**L.P.D.**[b] **(M)**	**D** [c] **(mv/dec.)**	**V.R.**[d] **(s)**	**Rep.**[e] **(mv/hora)**	**[Ref.]**
Propionato	10^{-3}	10^{-5}	57,5	60	~0,2	[5]
	10^{-3}	10^{-5}	57,5	20-60	~0,2	[6]
Acetato	10^{-3}	10^{-5}	53,0	60	~0,2	[5]
	10^{-3}	10^{-5}	53,0	20-60	~0,2	[6]
	10^{-3}	10^{-4}	50,0	—	~0,5	[7]
Formiato	10^{-3}	10^{-5}	53,0	60	~0,2	[5]
	10^{-3}	10^{-5}	53,0	20-60	~0,2	[6]
Cloroacetato	$4x10^{-3}$	$6x10^{-4}$	55,0	60	~1	[8]
Dicloroacetato	$2x10^{-3}$	$2x10^{-4}$	55,0	60	~3,5	[8]
	$2x10^{-5}$	—	57-58,5	30-120	~0,3	[9]
Tricloroacetato	$3x10^{-3}$	$3x10^{-4}$	51,0	60	~5	[8]
	$2x10^{-6}$	$12x10^{-6}$	—	120	~0,2	[10]

a)-Limite inferior de resposta linear; b)-Limite prático de detecção; c)-Declive das rectas de calibração; d)-Velocidade de resposta; e)-Reprodutibilidade ao longo de um dia de trabalho.

3.3.2 - Velocidade de resposta dos eléctrodos.

A velocidade de resposta dos diferentes eléctrodos, sensíveis a carboxilatos, foi avaliada registando o tempo que era necessário para ocorrer a estabilização dos valores de potencial (± 0,2 mV) quando as unidades eram sujeitas a uma calibração onde se provocavam variações crescentes na concentração de ião principal.

Na gama de concentrações correspondente à zona de resposta linear dos eléctrodos, eram necessários tempos inferiores a 20 segundos para que atingissem um potencial estável. Contudo, quando as variações de concentração eram provocadas na zona de concentração entre o limite inferior de resposta linear e o limite prático de detecção, o tempo necessário à estabilização dos valores de potencial dos eléctrodos, quando se aplicava o mesmo critério de estabilidade, era de cerca de 2 minutos.

A velocidade de resposta, apresentada pelos eléctrodos, pode ser considerada excelente, admitindo que se trata de unidades de condutor móvel, aproximando-se mesmo dos valores vulgarmente apresentados para os melhores eléctrodos de membrana cristalina.

Os valores de tempos de resposta, apresentados na literatura para outros eléctrodos sensíveis a carboxilatos considerados neste estudo (Tabela 3.3.1.2), permitem-nos apenas uma comparação limitada uma vez que os critérios de estabilidade são, de um modo geral, diferentes, além de normalmente não ser fornecida informação suficiente sobre as condições experimentais em que foram determinados. Apesar dessas limitações, poder-se-á dizer que os eléctrodos sensíveis a carboxilatos, por nós construídos, apresentam respostas mais rápidas relativamente aos anteriormente descritos na literatura (Tabelas 3.3.1.1 e 3.3.1.2). Isto é uma consequência da imobilização do sensor iónico em PVC e também da quantidade de solvente mediador, presente na membrana, já que este composto, pelas propriedades

plastificantes que apresenta, condiciona, em maior ou menor extensão, a mobilidade iónica na interface da mesma.

3.3.3 - Tempos de vida dos eléctrodos e reprodutibilidade da resposta.

Os tempos de vida dos eléctrodos, sensíveis a carboxilatos, foram avaliados efectuando calibrações sistemáticas, numa gama de concentrações correspondente à zona de resposta linear, durante um dia de trabalho e durante o tempo em que as unidades se mantiveram em funcionamento.

Nas Tabelas 3.3.3.1 a 3.3.3.6 são indicados, para duas unidades de cada tipo, respectivamente, os declives das rectas de calibração, os valores de potencial das unidades para um valor de concentração igual a 10^{-2} M em ião principal e os correspondentes coeficientes de correlação.

A reprodutibilidade dos potenciais para os diferentes eléctrodos, quando ensaiados no ínicio e no fim de um dia de trabalho, não excediam o valor de 1mV (Tabela 3.3.1.1). Contudo, nos primeiros tempos de vida dos eléctrodos (Tabelas 3.3.3.1 a 3.3.3.6) observou-se um deslizamento acentuado do valor de potencial, assim como dos declives das rectas de calibração, que estabilizaram cerca de três dias após a construção dos eléctrodos. Isto justifica-se pela estabilização, do sistema interno de referência, à custa do oxigénio que se difunde através da membrana e que ocorre durante o seu processo de condicionamento [17].

No entanto, o tempo necessário à estabilização do sistema de referência interno, (cerca de três dias) , para estes eléctrodos que usam, como suporte da membrana, uma resina epoxídica, contrastam com os dez dias referidos por Hulanicki [18] quando da preparação de um eléctrodo sensível a cálcio, usando, como contacto interno sólido, uma superfície de prata recoberta com

cloreto de prata.

Os eléctrodos, sensíveis a carboxilatos, mantiveram-se em funcionamento durante mais de um ano, sem serem registadas variações significativas nas suas características gerais de funcionamento. Ao fim desse tempo, o declive das rectas de calibração diminuiu para valores subnernstianos, o limite inferior de resposta linear aumentou cerca de uma década, a resposta dos eléctrodos tornou-se mais lenta e a estabilidade dos potenciais diminuiu. Estas características que correspondem a uma alteração geral do funcionamento dos eléctrodos, serviram para tomar, como limite, o valor aproximado de um ano, para o tempo de vida dos eléctrodos.

Os resultados, aqui apresentados, são significativamente melhores que os já referidos na literatura, para eléctrodos, sensíveis às mesmas espécies aniónicas [5-10]. Realmente, os valores referidos até ao momento sugerem tempos de vida de 1 a 2 meses para eléctrodos de fio recoberto, sensíveis a propinato acetato e formiato [6]. Em relação aos restantes [5,7-10], os autores não apresentam, para esta característica, indicações objectivas.

Para o aumento da durabilidade dos eléctrodos contribuiu a imobilização do sensor iónico numa matriz inerte (PVC), a eliminação da solução de referência interna, no processo de construção usado, e a utilização de ortonitrofeniloctiléter, como solvente mediador, e também a quantidade relativamente elevada de sensor presente na membrana.

A perda de sensor iónico através da membrana é reduzida, não só pelo processo de imobilização usado mas também pela não existência de uma solução interna de referência e, consequentemente, pela ausência de uma pressão hidrodinâmica sobre a membrana. Estes resultados estão de acordo com trabalho anterior [19], onde se analisam as causas que originam tempos de vida curtos para os eléctrodos com membrana na forma líquida relativamente aos que usam o sensor imobilizado.

O uso de ortonitrofeniloctiléter como solvente mediador plastificante e com elevada viscosidade relativamente ao decanol usado na preparação de

membranas para a construção de eléctrodos sensíveis a propionato [5,6], acetato [5,7], monocloroacetato [8], dicloroacetato [8] e tricloroacetato [8], ou de nitrotolueno para eléctrodos de dicloroacetato [9], contribui, conjuntamente com os factores anteriormente referidos, para a diminuição da perda de sensor pela membrana.

Os resultados, obtidos, confirmam os anteriormente apresentados por outros autores [20,21] que ao prepararem eléctrodos sensíveis a nitrato [20] e bário [21], respectivamente, deixavam antever que o uso de solventes mediadores tais como ortonitrofeniloctiléter e ortonitrofenilfeniléter, e que a eliminação da solução de referência interna dos eléctrodos [21] produzia unidades com maiores tempos de vida.

Mas foi com este trabalho que se demonstrou serem aplicáveis, a eléctrodos sensíveis a espécies orgânicas, as sugestões efectuadas por aqueles autores quando da preparação de eléctrodos para iões inorgânicos [20,21]. Para isso, contribuiu o uso de um sistema sensor e um tipo de construção adequados.

No entanto, o valor apresentado para esta característica dos eléctrodos poderia apresentar-se ainda mais alargado, caso não se tivesse optado (e cujas razões foram anteriormente apontadas em 3.2.4), por manter os eléctrodos permanentemente mergulhados em soluções dos respectivos iões principais, sujeitando, deste modo, as membranas a uma contínua perda de sensor por dissolução.

Concluiu-se que os tempos de vida para os diferentes eléctrodos se apresentaram bastante semelhantes (Tabelas de 3.3.3.1 a 3.3.3.6) e que o valor daquele parâmetro não é dependente do tipo de ião ligado ao amónio quaternário mas apenas do grau de associação entre o extractor e o solvente mediador.

Tabela 3.3.3.1-Reprodutibilidade de resposta para eléctrodos, sensíveis a anião propionato, ao longo do seu tempo de vida [a].

Dias	**Eléctrodos de propionato**					
	E_1			**E_2**		
	D[b]	**E, mV**[c]	**R**[d]	**D**[b]	**E, mV**[c]	**R**[d]
0	64,9	342,4	0,9994	67,7	329,1	0,9989
1	60,7	348,5	0,9989	65,2	355,3	0,9999
3	61,2	320,1	0,9992	61,7	360,7	0,9993
3	61,0	319,4	0,9999	61,6	358,3	0,9994
8	60,9	295,3	0,9993	60,9	353,0	0,9992
8	61,0	297,5	0,9993	59,9	351,9	0,9996
18	60,1	280,1	0,9997	60,3	340,3	0,9995
18	60,5	281,1	0,9998	60,8	341,7	0,9995
33	60,1	265,9	0,9995	60,5	322,8	0,9994
41	60,2	256,1	0,9998	60,1	317,5	0,9996
54	61,0	243,4	0,9999	60,5	300,4	0,9999
69	60,5	228,9	0,9999	60,4	286,8	0,9999
74	59,1	234,1	0,9999	60,4	299,7	0,9999
74	59,9	236,4	0,9995	59,8	300,9	0,9998
87	59,6	249,9	0,9993	60,1	297,5	0,9989
92	60,5	241,0	0,9991	60,0	290,4	0,9992
111	59,0	220,8	0,9989	60,0	255,3	0,9993
111	59,9	218,7	0,9990	60,3	254,4	0,9997
141	59,4	189,5	0,9993	60,7	224,7	0,9997
156	58,5	170,6	0,9996	60,0	208,8	0,9993
173	59,9	180,7	0,9996	60,0	225,4	0,9995
194	58,4	173,8	0,9995	59,9	200,8	0,9994
210	59,0	155,1	0,9999	59,8	175,4	0,9993
241	58,9	120,9	0,9998	60,1	144,6	0,9989
260	58,7	117,1	0,9997	59,7	164,7	0,9889
271	59,8	97,8	0,9994	59,9	130,2	0,9990
290	59,8	59,7	0,9997	60,1	122,7	0,9991
301	59,7	60,8	0,9998	57,5	100,5	0,9999
331	58,5	44,3	0,9899	59,7	95,4	0,9997
361	58,4	22,1	0,9895	53,1	70,1	0,9890
376	57,3	-10,7	0,9793	55,4	22,0	0,9900
382	54,2	-81,1	0,9700	53,1	0,1	0,9889
397	51,7	+20,6	0,9100	52,0	-15,3	0,9801

a)-Ensaios efectuados em soluções sem ajuste de força iónica; b)-Declive (mV/dec. actividade); c)-Valor de potencial dos eléctrodos à concentração de 10^{-2} M; d)- Coeficiente de correlação das rectas de calibração.

Tabela 3.3.3.2-Reprodutibilidade de resposta para eléctrodos sensíveis, a anião acetato, ao longo do seu tempo de vida [a].

Dias	Eléctrodos de acetato					
	E_1			E_2		
	D[b]	E, mV[c]	R[d]	D[b]	E, mV[c]	R[d]
0	66,5	231,4	0,9983	67,4	255,8	0,9990
1	64,4	233,8	0,9990	65,2	260,4	0,9991
3	63,1	232,7	0,9991	63,6	222,1	0,9993
3	62,7	234,5	0,9995	60,2	223,7	0,9993
8	60,1	239,3	0,9994	59,9	228,9	0,9999
8	60,9	237,7	0,9994	60,4	226,5	0,9999
18	59,7	225,4	0,9997	60,1	217,7	0,9999
18	58,8	227,3	0,9996	59,9	219,5	0,9998
33	58,0	244,4	0,9996	59,9	235,7	0,9998
41	57,0	236,5	0,9995	58,7	226,6	0,9997
54	59,9	223,8	0,9993	58,6	212,8	0,9995
69	59,8	238,5	0,9990	59,4	197,5	0,9994
74	59,0	230,4	0,9999	60,4	192,8	0,9993
74	58,6	232,8	0,9999	60,1	194,4	0,9990
87	58,6	215,7	0,9999	60,0	178,3	0,9990
92	60,1	209,9	0,9992	59,9	172,6	0,9995
111	59,1	191,6	0,9996	58,9	190,4	0,9994
111	58,4	190,0	0,9995	60,6	190,7	0,9994
141	59,4	166,5	0,9994	59,3	158,7	0,9992
156	58,0	150,6	0,9993	59,9	144,4	0,9990
173	58,8	132,4	0,9992	58,9	125,8	0,9992
194	57,8	109,9	0,9989	57,4	108,4	0,9991
210	59,4	125,5	0,9993	58,9	93,6	0,9990
241	59,9	96,4	0,9992	59,4	64,5	0,9993
260	58,7	115,7	0,9991	56,9	83,5	0,9992
271	57,5	104,8	0,9990	55,2	70,9	0,9990
290	54,3	55,7	0,9990	57,4	20,2	0,9988
301	53,8	33,1	0,9990	50,4	10,2	0,9987
331	50,1	65,3	o,9989	50,3	-0,7	0,9887
361	50,5	-100,2	0,9988	49,3	-20,4	0,9900

a)-Ensaios efectuados em soluções sem ajuste de força iónica; b)-Declive (mV/dec. actividade); c)-Valor de potencial dos eléctrodos à concentração de 10^{-2} M; d)-Coeficiente de correlação das rectas de calibração.

Tabela 3.3.3.3-Reprodutibilidade de resposta para eléctrodos sensíveis, a anião formiato, ao longo do seu tempo de vida [a].

Dias	Eléctrodos de formiato					
	E_1			E_2		
	D[b]	E, mV[c]	R[d]	D[b]	E, mV[c]	R[d]
0	61,0	263,8	0,9989	64,7	289,6	0,9898
1	63,2	264,7	0,9980	60,2	280,3	0.9890
4	60,9	257,3	0,9993	61,8	271,2	0,9891
4	60,8	258,3	0,9990	60,9	270,3	0.9892
8	59,7	244,9	0,9991	59,4	266,0	0,9892
8	60,3	243,0	0,9999	59,3	264,8	0,9895
15	61,2	235,4	0,9993	60,5	255,3	0,9995
15	60,7	233,0	0.9992	60,4	253,9	0,9896
27	60,5	220,9	0,9993	60,3	240,8	0,9899
38	59,7	231,4	0,9995	59,4	229,6	0.9899
38	60,2	233,0	0,9996	59,9	231,3	0,9897
50	60,2	220,8	0,9998	60,1	243,7	0,9896
65	58,6	205,7	0,9998	60,0	259,2	0,9897
78	59,6	192,8	0,9997	60,0	245,5	0,9895
99	60,4	212,6	0,9993	60,3	225,5	0,9894
114	60,6	227,3	0,9992	60,4	240,9	0,9895
132	59,0	209,4	0,9990	59,9	221,8	0,9894
151	61,8	199,2	0,9994	59,2	201,9	0,9899
180	58,3	170,4	0,9993	60,4	174,6	0,9899
201	60,5	191,2	0,9992	60,5	194,4	0,9898
232	59,3	160,2	0,9985	60,5	164,8	0,9897
247	57,3	175,3	0,9990	58,4	149,0	0,9896
255	58,3	184,9	0,9994	59,3	140,4	0,9890
271	58,8	160,5	0,9990	58,7	123,8	0,9890
286	59,9	143,0	0,9989	56,4	137,6	0,9888
325	57,4	184,0	0,9987	57,7	97,5	0,9880
344	55,2	209,9	0,9985	53,1	65,2	0,9879
370	53,1	173,1	0,9984	54,4	33,1	0,9880
402	50,4	122,0	0,9988	53,0	24,7	0,9877

a)-Ensaios efectuados em soluções sem ajuste de força iónica; b)-Declive (mV/dec. actividade); c)-Valor de potencial dos eléctrodos à concentração de 10^{-2} M; d)-Coeficiente de correlação das rectas de calibração.

Tabela 3.3.3.4-Reprodutibilidade de resposta para eléctrodos sensíveis, a anião cloroacetato, ao longo do seu tempo de vida [a].

Dias	Eléctrodos de cloroacetato					
	E_1			E_2		
	D[b]	E, mV[c]	R[d]	D[b]	E, mV[c]	R[d]
0	64,8	211,4,8	0,9881	67,7	244,2	0,9980
1	59,3	225,7	0,9899	65,3	257,5	0,9981
4	62,5	232,1	0,9890	63,1	230,2	0,9990
4	62,4	229,9	0,9892	63,2	231,4	0,9991
8	60,3	224,7	0,9895	62,3	226,4	0,9993
8	61,8	222,6	0,9896	61,4	228,2	0,9994
15	60,7	214,7	0,9893	60,8	233,1	0,9999
15	60,6	215,3	0,9894	60,3	235,1	0,9995
27	59,5	210,1	0,9899	60,8	220,9	0,9996
38	60,5	200,1	0,9897	60,5	208,4	0,9997
38	60,5	200,3	0,9897	60,4	208,1	0,9997
50	61,5	215,4	0,9895	60,2	196,4	0.9998
65	59,5	200,9	0,9893	60,1	210,7	0,9999
78	59,5	188,4	0,9898	60,4	220,2	0,9993
99	60,1	166,2	0,9897	60,5	200,9	0,9992
114	60,8	151,7	0,9892	60,8	216,2	0,9990
132	60,5	170,4	0,9893	59,8	235,7	0,9990
151	60,4	187,5	0,9892	59,9	215,7	0,9995
180	63,3	157,6	0,9897	60,1	184,4	0,9993
201	61,0	136,4	0,9897	60,0	163,2	0,9994
232	60,9	130,5	0,9895	60,2	199,4	0,9991
247	60,8	144,8	0,9894	60,3	210,2	0,9992
255	60,4	152,3	0,9899	60,2	200,9	0,9999
271	59,8	134,9	0,9892	59,9	180,8	0,9997
286	58,7	117,7	0,9898	59,7	162,3	0,9995
325	57,7	100,4	0,9890	58,8	124,8	0,9994
344	57,7	91,2	0,9890	54,1	102,2	0,9988
370	57,4	84,4	0,9888	53,2	58,3	0,9990
402	55,2	89,7	0,9881	49,4	22,1	0.9987
447	52,1	55,4	0,9879	40,1	20,0	0,9980

a)-Ensaios efectuados em soluções sem ajuste de força iónica; b)-Declive (mV/dec. actividade); c)-Valor de potencial dos eléctrodos à concentração de 10^{-2} M; d)-Coeficiente de correlação das rectas de calibração.

Tabela 3.3.3.5-Reprodutibilidade de resposta para eléctrodos sensíveis, a anião dicloroacetato, ao longo do seu tempo de vida [a].

Dias	Eléctrodos de dicloroacetato					
	E_1			E_2		
	D[b]	E, mV[c]	R[d]	D[b]	E, mV[c]	R[d]
0	68,3	164,6	0,9991	67,2	210,1	0,9920
1	64,4	180,9	0,9900	65,7	200,1	0,9935
1	64,3	183,2	0,9990	64,9	204,3	0,9994
7	63,2	160,9	0,9997	62,1	199,4	0,9999
7	63,5	162,0	0,9994	62,9	198,3	0,9999
9	62,9	160,5	0,9993	62,3	195,7	0,9997
9	61,8	161,3	0,9992	62,4	196,2	0,9992
15	61,7	155,7	0,9997	60,8	190,4	0,9991
15	61,8	155,4	0,9994	60,3	191,2	0,9998
27	61,3	167,4	0,9996	61,2	202,4	0,9996
38	61,1	175,2	0,9996	60,9	190,4	0,9993
45	60,9	165,7	0,9995	61,3	180,9	0,9997
60	61,3	150,1	0,9990	61,0	188,3	0,9994
65	61,2	134,9	0,9998	61,0	174,1	0,9999
78	60,9	120,4	0,9998	59,9	163,7	0,9993
78	61,1	121,3	0,9999	58,9	161,9	0,9992
90	59,9	109,3	0,9993	60,2	155,2	0,9995
132	62,2	152,1	0,9990	61,1	112,8	0,9992
151	62,0	160,8	0,9992	60,4	130,4	0,9993
180	60,0	187,4	0,9994	61,3	150,1	0,9994
232	61,0	134,4	0,9994	61,2	100,9	0,9997
247	63,0	119,2	0,9995	62,4	118,9	0,9989
255	61,8	100,9	0,9997	63,0	117,3	0,9989
271	61,8	87,7	0,9992	61,7	100,9	0,9994
286	60,3	60,4	0,9990	60,3	93,2	0,9993
310	59,9	33,1	0,9991	59,9	84,3	0,9992
325	55,7	29,9	0,9988	60,0	55,1	0,9990
344	53,8	-10,1	0,9999	52,1	32,6	0,9999
370	44,4	-24,0	0,9981	51,4	20,2	0,9985

a)-Ensaios efectuados em soluções sem ajuste de força iónica; b)-Declive (mV/dec. actividade); c)-Valor de potencial dos eléctrodos à concentração de 10^{-2} M; d)-Coeficiente de correlação das rectas de calibração.

Tabela 3.3.3.6-Reprodutibilidade de resposta para eléctrodos sensíveis, a anião tricloroacetato, ao longo do seu tempo de vida [a].

Dias	Eléctrodos de tricloroacetato					
	E_1			E_2		
	D[b]	E, mV[c]	R[d]	D[b]	E, mV[c]	R[d]
0	60,9	-110,9	0,9991	68,9	-200,4	0,9988
1	63,2	-120,3	0,9990	70,3	-170,9	0,9989
1	65,5	-129,4	0,9998	67,3	-117,4	0,9990
7	63,0	-219,3	0,9994	64,2	-100,5	0,9991
7	62,9	-220,2	0,9995	63,9	-101,4	0,9999
9	61,7	-225,4	0,9993	62,9	-104,4	0,9994
9	61,7	-223,8	0,9992	63,1	-105,8	0,9995
15	62,9	-229,4	0,9990	62,9	-115,2	0,9993
15	63,0	-230,1	0,9994	63,7	-115,7	0,9994
27	63,1	-218,7	0,9997	63,0	-127,4	0,9993
38	61,9	-207,4	0,9996	62,1	-115,4	0,9995
45	64,0	-214,1	0,9995	63,0	-108,2	0,9997
60	61,3	-229,3	0,9998	61,7	-123,4	0,9999
65	60,9	-244,4	0,9999	60,9	-137,5	0,9994
78	61,2	-257,9	0,9998	60,4	-125,5	0,9998
78	60,3	-220,1	0,9996	62,0	-124,9	0,9997
90	60,2	-267,4	0,9992	61,9	-135,4	0,9994
132	60,3	-220,1	0,9996	62,0	- 99,2	0,9995
151	60,4	-201,8	0,9996	62,2	-118,3	0,9993
180	60,3	-233,7	0,9994	62,3	-147,8	0,9997
232	61,3	-184,4	0,9997	62,7	- 98,6	0,9997
247	61,2	-168,4	0,9997	61,8	- 84,7	0,9999
255	60,4	-160,5	0,9998	60,0	- 97,2	0,9999
271	59,7	-177,4	0,9994	60,1	-112,7	0,9998
286	57,7	-199,4	0,9997	59,4	-128,4	0,9997
310	57,5	-173,1	0,9996	57,7	-105,4	0,9989
325	54,2	-124,2	0,9999	60,1	-102,1	0,9988
344	59,9	-145,4	0,9995	60,2	-117,1	0,9981
370	60,4	-129,8	0,9990	56,5	-93,7	0,9980
377	55,2	-100,1	0,9800	56,7	-78,4	0,9983
533	51,0	-69,3	0,9890	55,5	-75,0	0,9978

a)-Ensaios efectuados em soluções sem ajuste de força iónica; b)-Declive (mV /dec. actividade); c)-Valor de potencial dos eléctrodos à concentração de 10^{-2} M; d)-Coeficiente de correlação das rectas de calibração.

3.3.4-Efeito do pH sobre os valores de potencial dos eléctrodos construídos (Diagramas de Reilley).

O efeito do pH sobre o potencial dos eléctrodos foi avaliado, determinando a variação de potencial que aqueles sofriam quando variava o pH das soluções em que eram ensaiados. As determinações que foram efectuadas para soluções dos respectivos iões principais, com concentrações de 10^{-1}, 10^{-2} e 10^{-3} M, (Fig. 3.3.4.1), forneceram os resultados indicados na Tabela 3.3.4.1, para as diferentes unidades construídas.

Para obter as variações de pH no sentido crescente, usou-se uma solução concentrada de hidróxido de sódio, tendo sido utilizado ácido sulfúrico, igualmente concentrado, para provocar as respectivas variações no sentido decrescente de pH. As razões de escolha deste ácido, para acidificar as soluções, justifica-se pela baixa interferência do anião que o constituiu, em relação a outros aniões inorgânicos constituintes de ácidos fortes (Tabelas 3.3.5.1 a 3.3.5.6).

Para os diferentes eléctrodos construídos, não se observaram variações significativas dos valores dos seus potenciais (patamares operacionais) entre aproximadamente 6 e 11,5 unidades quando os mesmos eram ensaiados em soluções do respectivo ião principal com concentração igual a 10^{-1} M (Fig. 3.3.4.1). Para concentracções diferentes da indicada na Fig. 3.3.4.1, os patamares operacionais registados apresentam diferentes extensões conforme o nível de concentração de ião principal em que decorreram os ensaios (Tabela 3.3.4.1).

Para valores de pH superiores a aproximadamente 11,5 unidades, registou-se, para os vários eléctrodos construídos, um aumento de potencial com o pH, facto que poderá ser atribuído, em parte, à hidrólise da espécie principal em solução resultando na formação de outras para as quais os

eléctrodos não são sensíveis e também ao aumento de força iónica, devido à grande quantidade de hidróxido presente.

Para valores de pH ácidos, todos os eléctrodos construídos, excepto os sensíveis a tricloroacetato, para os quais se observou um efeito contrário, apresentavam um desvio para valores de potencial mais negativos, à medida que diminuia o pH da solução, o que está de acordo com o obtido por outros autores [22] quando da preparação de eléctrodos sensíveis a carboxilatos alifáticos saturados, usando sais de amónio como permutadores. Este efeito poderá ser provavelmente atribuído a reacções entre o tetradodecilamónio e os ácidos carboxílicos correspondentes [22] e também à interferência de anião sulfato e hidrogenosulfato [23,24] que a estes níveis de concentração estão presentes em quantidade elevada.

No caso do eléctrodo sensível a tricloroacetato e porque estes efeitos se fazem sentir com menor intensidade, resulta que, a não sensibilidade do eléctrodo para a espécie protonada que se vai formando, se sobrepõe, originando, por isso, um aumento do potencial dos eléctrodos com a diminuição de pH.

Na Fig. 3.3.4.1 apenas se encontram representados os diagramas de Reilley para os eléctrodos quando ensaiados numa solução de concentração igual a 10^{-1} M em ião principal. Na medida em que as determinações realizadas a diferentes concentrações conduziam a diagramas de Reilley com extensões de patamares aproximadas e efeitos na zona ácida e alcalina semelhantes para cada um dos eléctrodos de carboxilatos construídos, não se justificaria, neste caso, apresentar, para cada eléctrodo, os três diagramas de Reilley realizados já que isto conduzia a uma sobrecarga de figuras.

É difícil estabelecer comparações entre os valores obtidos para esta característica de funcionamento dos eléctrodos, e os de outras unidades sensíveis às mesmas espécies, e anteriormente referidas na literatura [5-10]. Os autores desses trabalhos apresentam muito poucas ou nenhumas indicações sobre este importante aspecto de funcionamento dos eléctrodos. Não foi mesmo possível encontrar nenhum valor referente aos de propionato [5,6],

acetato [5-7] e formiato [5,6]. Foi apenas possível encontrar referidos, valores dos intervalos (pH=4-11) para os eléctrodos de monocloroacetato [8], (pH=3,5-10) para os eléctrodos de dicloroacetato [9]. E, no caso da unidade sensível a tricloroacetato [10], esse valor era de 7,5-12 unidades de pH.

Globalmente, o patamar operacional para os eléctrodos, por nós construídos, comparativamente com os anteriores [8-10] é mais extenso o que poderá ser justificado pelo uso de sais de tetradodecilamónio, como sensores, relativamente a outros de cadeia mais curta. Segundo alguns autores [25], este efeito parece estar relacionado directamente com o tamanho da cadeia carbonada de alguns tetraalquilamónios e o pH para as quais as capacidades extractivas da membrana não são alteradas.

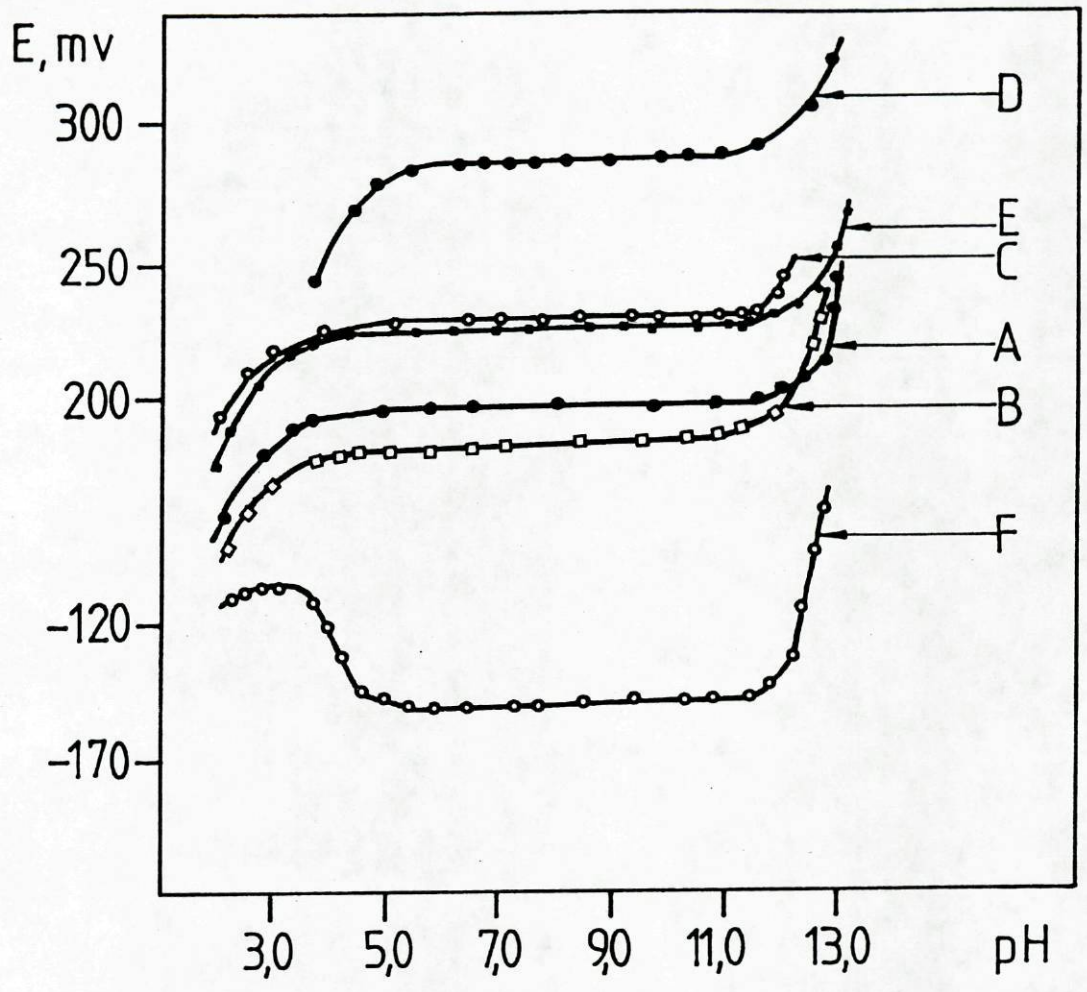


Figura 3.3.4.1.-Diagramas de Reilley para os diferentes eléctrodos sensíveis a carboxilatos, obtidos em soluções dos respectivos iões principais, com concentrações iguais a 10^{-1} M, sem a força iónica ter sido ajustada: (A)-eléctrodo de propionato; (B)-eléctrodo de acetato; (C)-eléctrodo de formiato; (D)-eléctrodo de cloroacetato; (E)-eléctrodo de dicloroacetato; (F)-eléctrodo de tricloroacetato.

Tabela 3.3.4.1-Amplitude e localização dos patamares operacionais para os diferentes eléctrodos quando ensaiados em soluções, com concentrações indicadas para o ião principal [a)].

Eléctrodo	Concentração (M)		
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
Propionato	6,5 - 11,0	4,0 - 11,5	3,5 - 11,5
Acetato	6,5 - 11,0	4,0 - 11,5	3,5 - 11,5
Formiato	6,0 - 11,0	4,0 - 11,5	4,0 - 11,5
Monocloroacetato	5,0 - 11,5	4,5 - 11,5	4,0 - 11,5
Dicloroacetato	5,0 - 11,5	3,0 - 11,5	3,0 - 11,5
Tricloroacetato	7,0 - 12,0	4,5 - 11,5	4,5 - 11,5

a)-Valores correspondentes à média de dois ensaios efectuados, para a mesma concentração, com dois eléctrodos.

3.3.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos.

Os valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos em relação aos diferentes carboxilatos estudados, bem como em relação a alguns aniões inorgânicos, foram determinados, em soluções sem ajuste de força iónica, pelo método das soluções separadas (Cap. 2), com concentrações de ião principal e interferente fixadas a 10^{-3}, $5x10^{-3}$ e 10^{-2} M.

Os resultados obtidos e que se representam, para os diferentes eléctrodos construídos, respectivamente nas Tabelas 3.3.5.1 a 3.3.5.6, correspondem à média de duas determinações efectuadas com três eléctrodos.

Verificou-se, pela análise dos resultados obtidos que a ordem de sequência de selectividade fora, em relação aos iões orgânicos avaliados: tricloroacetato > dicloroacetato > monocloroacetato > propionato ≈ formiato > acetato, já anteriormente encontrada por outros autores, ao estudarem as interferências de aniões alifáticos sobre um eléctrodo de PVC, sensível a perclorato [10] e que é uma consequência da distribuição de cargas no grupo carboxílico [26].

Para as restantes espécies inorgânicas, a sequência é nitrato > cloreto > sulfato, que segue a ordem prevista na série de Hofmeister [27] e que está em bom acordo com o anteriormente encontrado por outros autores para eléctrodos com trioctilmetilamónio como sensor iónico [28].

Considerando os valores obtidos para os coeficientes de selectividade potenciométricos a diferentes concentrações do ião principal e interferente (Fig. 3.3.5.1), poder-se-á concluir que as interferências mais fortes (log K^{POT} >1), têm tendência a ser maiores com o aumento da concentração dos iões, e as interferências menores a diminur com a diminuição das concentrações.

Confirma-se, por outro lado, que o valor de pKa influencia o coeficiente de selectividade potenciométrico (Fig. 3.3.5.2), concluindo-se que, quanto menor for o valor de pKa do anião protonado, tanto maior é a selectividade

do eléctrodo.

Teria interesse estabelecer uma relação entre os coeficientes de selectividade potenciométricos calculados para os diferentes eléctrodos e a entalpia de hidratação para os vários carboxilatos saturados estudados, a exemplo do que foi efectuado por outros autores [28,29] em relação a espécies inorgânicas. Desta maneira, poderia estabelecer-se uma relação quantitativa entre aquele parâmetro termodinâmico e os respectivos coeficientes de extracção para este tipo de membranas, no que respeita a espécies orgânicas. Contudo, por falta de dados na literatura relativos aos raios iónicos dos diferentes aniões, não nos foi possível efectuar tal relação.

Se compararmos os resultados dos coeficientes de selectividade potenciométricos, determinados para os eléctrodos construídos, com os apresentados por outros autores, nos casos em que são indicados [5-10] (Tabela 3.3.5.7), poderemos concluir que o uso de tetradodecilamónio e ortonitrofeniloctiléter favoreceu o aumento de selectividade das unidades ensaiadas, confirmando, por um lado, que o aumento da cadeia carbonada do sal de amónio quaternário produz uma redução das interferências [15] e que o uso de um solvente mediador conveniente que interactue particularmente com um ião interferente, provocando uma variação na sua energia de transferência da fase aquosa para a membrana, origina eléctrodos mais selectivos sem provocar, no entanto, uma alteração na sequência de selectividade [30].

Tabela 3.3.5.1 - Coeficiente de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos, sensíveis a anião propinato [a].

Interferentes	Concentração (M)		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Acetato	-0,346±0,019	-0,391±0,008	-0,414±0,009
Formiato	+0,125±0,015	+0,097±0,079	+0,069±0,052
Monocloroacetato	+1,244±0,017	+1,299±0,014	+1,338±0,014
Dicloroacetato	+2,724±0,041	+2,782±0,046	+2,815±0,050
Tricloroacetato	+4,415±0,051	+4,551±0,063	+4,573±0,055
Sulfato	+0,502±0,011	+0,315±0,010	+0,123±0,005
Nitrato	+3,463±0,078	+3,488±0,099	+3,458±0,134
Cloreto	+1,167±0,022	+1,185±0,027	+1,158±0,029
Hidróxido	-0,199±0,018	-0,509±0,011	-0,816±0,008

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos.

Tabela 3.3.5.2 - Coeficiente de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos, sensíveis a anião acetato [a)].

Interferentes	Concentração (M)		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Propionato	-0,394±0,021	-0,399±0,099	-0,425±0,016
Formiato	+0,495±0,012	+0,486±0,014	+0,510±0,013
Monocloroacetato	+1,601±0,031	+1,656±0,037	+1,766±0,043
Dicloroacetato	+3,059±0,021	+3,143±0,015	+3,205±0,015
Tricloroacetato	+4,553±0,088	+4,650±0,075	+4,727±0,072
Sulfato	+1,130±0,021	+0,824±0,058	+0,624±0,053
Nitrato	+3,890±0,012	+3,950±0,018	+3,980±0,022
Cloreto	+1,639 ±0,004	+1,630±0,011	+1,603±0,022
Hidróxido	-0,642±0,038	-0,448±0,037	-0,241±0,029

1)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos.

Tabela 3.3.5.3 - Coeficiente de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos, sensíveis a anião formiato [a].

Interferentes	Concentração (M)		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Propionato	-0,110±0,045	-0,099±0,025	-0,071±0,013
Acetato	-0,389±0,025	-0,459±0,019	-0,471±0,023
Monocloroacetato	+0,963±0,019	+1,114±0,054	+1,215±0,074
Dicloroacetato	+2,507±0,095	+2,646±0,088	+2,671±0,094
Tricloroacetato	+3,878±0,019	+3,955±0,061	+3,980±0,078
Sulfato	+0,666±0,089	+0,458±0,031	+0,258±0,024
Nitrato	+3,331±0,098	+3,320±0,110	+3,300±0,150
Cloreto	+1,014±0,010	+1,049±0,012	+1,403±0,015
Hidróxido	-0,371±0,015	-0,761±0,035	-1,051±0,040

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos.

Tabela 3.3.5.4 - Coeficiente de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos, sensíveis a anião monocloroacetato [a].

Interferentes	Concentração (M)		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Propionato	-0,644±0,024	-0,870±0,026	-1,028±0,024
Acetato	-1,036±0,060	-1,288±0,055	-1,431±0,057
Formiato	-0,633±0,042	-0,864±0,049	-1,040±0,049
Dicloroacetato	+1,391±0,028	+1,452±0,021	+1,472±0,019
Tricloroacetato	+2,837±0,037	+2,929±0,022	+2,963±0,024
Sulfato	-0,414±0,058	-0,713±0,037	-0,941±0,026
Nitrato	+2,064±0,026	+2,069±0,054	+2,049±0,021
Cloreto	-0,073±0,010	-0,121±0,004	-0,161±0,003
Hidróxido	-1,130±0,071	-1,646±0,064	-2,048±0,051

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos.

Tabela 3.3.5.5 - Coeficiente de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos, sensíveis a anião dicloroacetato [a].

Interferentes	Concentração (M)		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Propionato	-1,671±0,038	-1,899±0,046	-2,098±0,041
Acetato	-1,940±0,094	-2,241±0,083	-2,431±0,087
Formiato	-1,655±0,062	-1,915±0,063	-2,103±0,062
Monocloroacetato	-1,021±0,054	-1,241±0,056	-1,240±0,083
Tricloroacetato	+1,355±0,031	+1,396±0,023	+1,407±0,024
Sulfato	-1,385±0,025	-1,747±0,027	-2,017±0,034
Nitrato	+0,535±0,011	+0,539±0,059	+0,549±0,059
Cloreto	-1,046±0,053	-1,280±0,044	-1,435±0,040
Hidróxido	-1,069±0,041	-1,380±0,058	-1,561±0,059

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos.

Tabela 3.3.5.6 - Coeficiente de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos sensíveis a anião tricloroacetato [a].

Interferentes	Concentração (M)		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Propionato	-3,894±0,014	-4,038±0,029	-4,092±0,027
Acetato	-3,591±0,033	-3,824±0,050	-3,866±0,042
Formiato	-3,178±0,025	-3,283±0,020	-3,379±0,099
Monocloroacetato	-2,489±0,020	-2,564±0,019	-2,567±0,016
Dicloroacetato	+1,220±0,025	+1,337±0,037	+1,360±0,028
Sulfato	-3,300±0,040	-3,638±0,043	-3,873±0,043
Nitrato	+0,627±0,033	+0,712±0,010	+0,732±0,010
Cloreto	-2,248±0,058	-2,433±0,048	-2,547±0,041
Hidróxido	-1,502±0,059	-1,940±0,060	-2,287±0,074

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos.

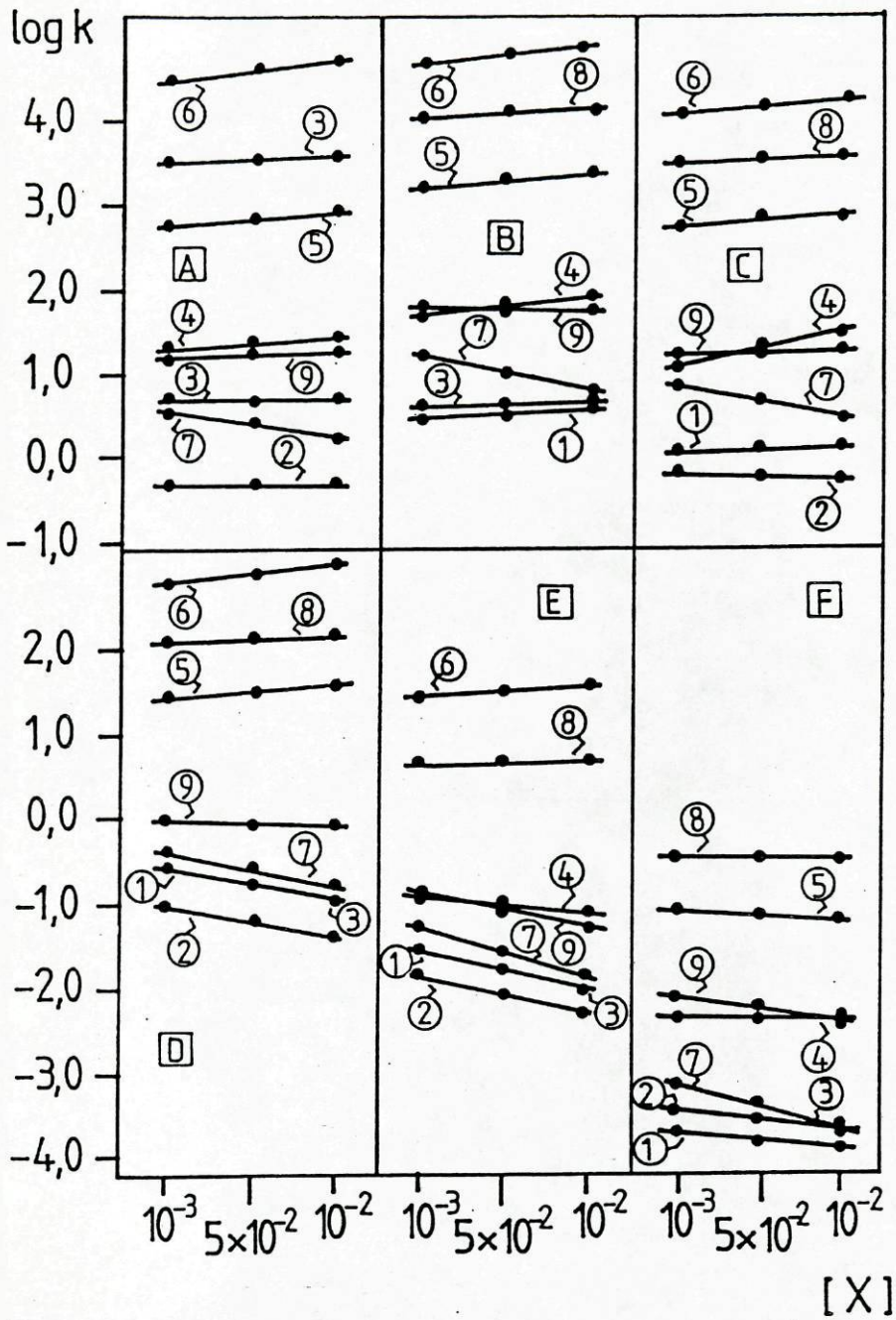


Figura 3.3.5.1- Variações nos coeficientes de selectividade (log K^{POT}) dos eléctrodos construídos :[(A)-propionato; (B)-acetato; (C)-formiato; (D)-cloroacetato; (E)-dicloroacetato; (F)-tricloroacetato] de acordo com a concentração dos iões interferentes: (1)-propionato; (2)-acetato; (3)-formiato; (4)-cloroacetato; (5)-dicloroacetato; (6)-tricloroacetato; (7)-sulfato; (8)-nitrato; (9)-cloreto.

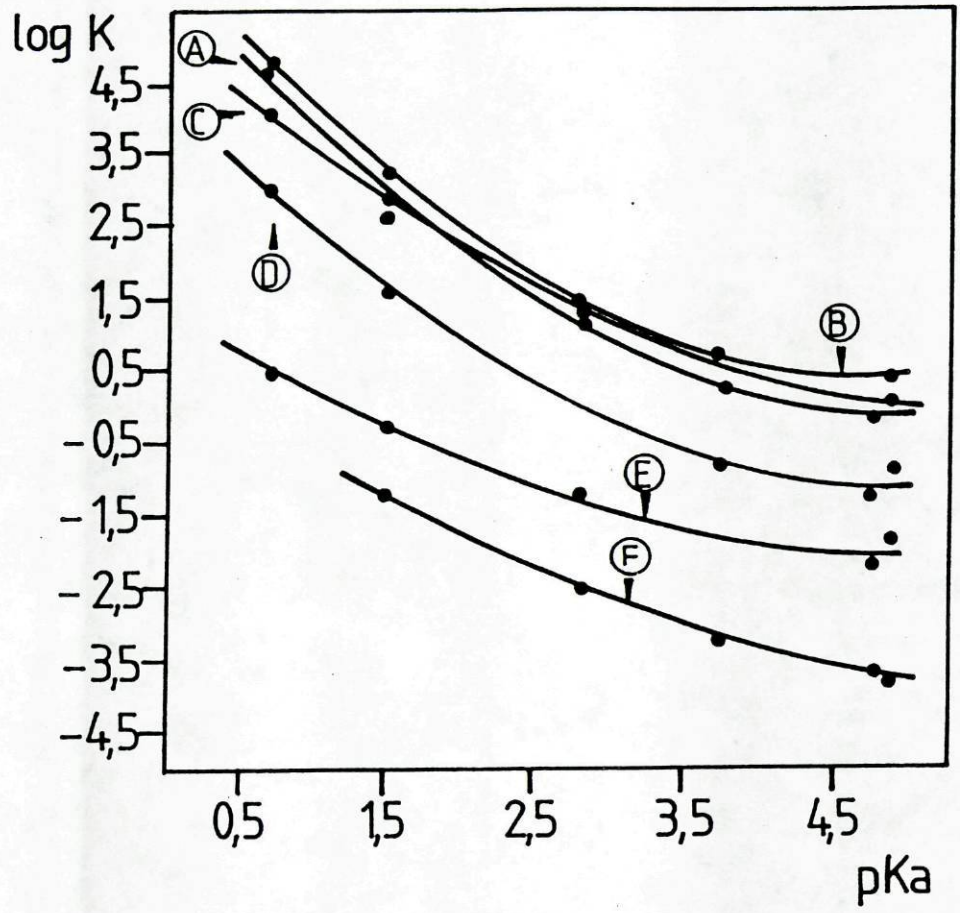


Figura 3.3.5.2 - Coeficientes de selectividade potenciométricos relacionados com os valores de pK_a dos ácidos carboxílicos respectivos: (A)-propionato; (B)-acetato; (C)-formiato; (D)-cloroacetato; (E)-dicloroacetato; (F)-tricloroacetato.

Tabela 3.3.5.7 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos, referidos na literatura, sensíveis a monocarboxilatos saturados alifáticos.

Eléctrodos	**Interferências**								
	$CH_3CH_2COO^-$	CH_3COO^-	$HCOO^-$	CH_2ClCOO^-	$CHCl_2COO^-$	CCl_3COO^-	SO_4^-	Cl^-	NO_3^-
A_1[Ref.6]	—	—	~-0,2	—	—	—	—	-0,16	—
B(Ref.5]	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B_1[Ref.6]	—	—	-0,02	—	—	—	-0,8	-0,29	~0,7
B_2[Ref.7]	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C[Ref.5]	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C_1[Ref.6]	—	—	—	—	—	—	—	0,12	—
D_2[Ref.8]	-0,64[a]	-0,92[a]	-0,65[a]	—	1,05[a]	2,18[a]	—	-0,18[a]	1,2[a]
D_2[Ref.8]	-0,68[a]	-1,05[a]	-0,72[a]	—	1,05[a]	2,20[a]	—	-0,13[a]	1,2[a]
E_2[Ref.8]	-1,52[a]	-1,69[a]	-1,62[a]	-0,90[a]	—	2.12[a]	—	-1,00[a]	0,19[a]
E_2[Ref.8]	-1,52[a]	-1,52[a]	-1,52[a]	-0,85[a]	—	1,08[a]	—	-1,10[a]	-0,13[a]
E_3[Ref.9]	-1,60[b]	-2,10[b]	—	-0,18[c]	—	-0,02[d]	-3,00[b]	-1.40[b]	—
F_2[Ref.8]	-2,22[a]	-2,52[a]	-2,05[a]	-1,60[a]	-0.85[a]	—	—	-1.77[a]	-1,05[a]
F_2[Ref.8]	-2,22[a]	-2,39[a]	-2,00[a]	-1,57[a]	-0,89[a]	—	—	-1.60[a]	-1,92[a]

1)-Método não especificado; 2)-Método das soluções separadas; 3)-Método das soluções misturadas; a), b), c) e d) valores referidos respectivamente a 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} e 10^{-4} M em ião principal.

3.6- Conclusões.

Dos resultados obtidos, poderemos concluir que os eléctrodos, cuja construção e avaliação foram referidas, apresentam, genericamente, características de funcionamento superiores às de outras unidades, anteriormente construídas [5-10] para as mesmas espécies iónicas.

Em termos relativos, são de destacar as melhorias obtidas no valor de limite inferior de resposta linear, selectividade, reprodutibilidade dos potenciais durante um dia de trabalho e, principalmente, o tempo de vida dos eléctrodos.

As melhorias registadas foram uma consequência da utilização de um extractor iónico (sal de amónio) com maiores características lipofílicas, de um solvente mediador de elevada viscosidade e boas características plastificantes, da imobilização do sistema sensor em PVC e, sobretudo, da utilização de um processo de construção onde, para além de se eliminarem os problemas mecânicos relativos à utilização do sensor na forma líquida, provoca melhorias significativas nos eléctrodos que utilizam uma membrana de PVC em contacto com uma solução de referência interna.

Os resultados obtidos permitiram concluir igualmente que é possível, através da escolha criteriosa do sistema sensor e do processo de construção, melhorar muitas das características dos eléctrodos, apresentados na literatura, baseados em condutores móveis e sensíveis a espécies orgânicas, ou estender a construção de eléctrodos a espécies nunca anteriormente ensaiadas e para as quais previsivelmente se obterão características de funcionamento semelhantes às conhecidas para algumas unidades sensíveis a espécies inorgânicas.

A construção de eléctrodos, sensíveis a carboxilatos, e as conclusões retiradas da sua avaliação permitiram planear mais correctamente o trabalho, cuja descrição se realizará nos capítulos seguintes, no tocante à escolha dos sistemas sensores e processos de construção dos eléctrodos de modo a poder torná-los em unidades com aplicação analítica para doseamentos de compostos orgânicos em produtos farmacêuticos.

3.7-Referências Bibliográficas.

[1]-V.V. Cosofret, *Membrane Electrodes in Drug Analysis*, Pergamon Press, Oxford (1982).

[2]-V.V. Cosofret e R.P. Buck, *Ion Select. Electrode Rev.*, **6**, 59 (1984).

[3]-T.S. Ma e S.S. Hassan, *Organic Analysis Using Ion Selective Electrodes*, Academic Press, London (1982).

[4]-Z.Z. Rang e V.V. Cosofret, *Ion Select. Electrode Rev.*, **12**, 35 (1990).

[5]-C.J. Coetzee e H. Freiser, *Anal. Chem.* , **40** , 2071 (1968).

[6]-C.J. Coetzee e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **41**, 1128 (1969).

[7]-H. James, G. Carmack e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **44** , 856 (1972).

[8]-M.C.B.S.M. Montenegro, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Rev. Port. Quim.*, **26**, 197 (1984).

[9]-J.G. Pentari e C.E. Efstathiou, *Anal. Chim. Acta*, **153**, 161 (1983).

[10]-Z. Gao e H. Sheng, *Yougi Huaxue*, **3**, 210 (1986).

[11]-R.A.S. Lapa, J.L.F.C. Lima e A.M. R. Silva, *IL Farmaco*,**45**, 901 (1990).

[12]-G.J. Moody, J.D.R. Thomas, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Analyst*, **113**, 1023 (1988).

[13]-G.J. Moody, R. B. Oke e J.D.R. Thomas, *Analyst*, **95**, 910 (1970).

[14]-H.J. Nielsen e E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **85**, 1 (1976).

[15]-G.Z. Fang, Y. Qun, L.J-Zhen e S. H-Yu, *Acta Chimica Sinica*, **41**, 139 (1983).

[16]-T. Stoworzewicz, J. Czapkiewicz e M. Lenszko, *Ion Selective Electrodes* (E. Pungor ed.), Symposium held at Matrafüred, Pergamon Press, (1972) pag. 259.

[17]-D. Feng, *Ion Select. Electrode Rev.*, **9** , 95 (1987).

[18]-A. Hulanicki e M. Trojanowicz, *Anal. Chim. Acta.*, **87** , 411 (1976).

[19]-J.D.R. Thomas, *Anal. Chim. Acta* , **180** , 289 (1986).

[20]-A. Hulanicki, M. Maj-Zurawska e R. Lewandowski, *Anal. Chim. Acta.*,

98 , 151 (1978).

[21]-G.J. Moody, J.D.R. Thomas, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Analyst*, **113**, 1023 (1988).

[22]-E.A. Materova e S. A. Ovchinnikova, *ZH, Anal. Chim.*, **32** , 331 (1977).

[23]J. Senkÿr e Z. Malá, *J. Electroanal. Chem.*, **233** , 267 (1987).

[24]-Z. Malá e J. Senkÿr, *Talanta* , **35** , 591 (1988).

[25]--K. Yamamoto e S. Motomize, *Talanta*, **36** , 561 (1989).

[26]-R. F. Hirsch e G. M. Olderman, *Anal. Chem.*, **48** , 771 (1976).

[27]-V. Ellenberger e V. Hofmeister, *Arch. Exper. Phathol. Pharmakol.*,**24**, 247 (1888).

[28]-A. Hulanicki e R. Lewandowski, *Chem. Anal. (Warsaw)*, **19** , 53 (1974).

[29]-B. P. Nikolskii, E. A. Materova e A.L. Grekovich, *2nd Symposium on Ion - Selective Electrodes*, Matrafured, pag. 171 (1976).

[30]-D. Wegmann, H. Weiss, D. Ammann, W. E. Morf, E. Pretsch, K. Sugahara e W. Simon, *Mikrochim. Acta*, **III**, 1 (1984).

CAPÍTULO 4

ELÉCTRODOS SENSÍVEIS AO ANIÃO BENZOATO

4 - ELÉCTRODOS SENSÍVEIS AO ANIÃO BENZOATO

4.1 - Introdução.

Como ficou referido anteriormente (Cap.1), são numerosas as situações em que a potenciometria com eléctrodos selectivos de iões tem demonstrado ser um processo vantajoso, relativamente a outras metodologias analíticas, para o doseamento de espécies iónicas em produtos farmacêuticos [1-4].

Não foge a esta regra a avaliação quantitativa de benzoato em xaropes medicinais, onde este composto é utilizado, na maioria das vezes, como fungicida e bactericida.

Não surpreende, pois, que vários tipos de eléctrodos, sensíveis a anião benzoato, tenham surgido recentemente na literatura [5-13].

A maioria deles, utiliza, na sua preparação, um sal de amónio quaternário [5,6,8-13] como agente extractor ou o sensor iónico não imobilizado [9-11,13], tendo, em algumas situações, sido sugerida a sua aplicação no doseamento de benzoato em diferentes matrizes [7,9,10], inclusivamente em xaropes medicinais [6].

No entanto, e apesar das sugestões apontadas pelos referidos autores, nenhum resultado concreto dessa aplicação é apresentado nos trabalhos correspondentes [6-8,10], possivelmente como consequência das deficientes características que os eléctrodos apresentavam.

Embora numa situação particular se tenham efectuado esforços para se obterem unidades sensoras mais selectivas [5] ao proceder-se à adição de um aditivo (p-terc.-octilfenol) na preparação do sensor iónico, o mesmo não foi efectuado, por exemplo, em relação à sensibilidade, durabilidade e reprodutibilidade, que se apresentavam deficientes, devido ao tipo de sensor iónico usado e ao modo como eram construídos [5-13].

A maioria das unidades descritas [9-11,13], ao utilizarem o sensor iónico na forma líquida, originavam eléctrodos com deficientes características mecânicas que se traduziam, genericamente, em baixas reprodutibilidades dos valores de potencial e tempos de resposta elevados.

Por outro lado, o uso de extractores iónicos de baixo peso molecular, do tipo do trioctilmetilamónio usado [5,9-12], fornecia unidades com baixos valores de limite de resposta linear, de detecção e reduzida selectividade.

A imobilização do sensor iónico em PVC [14] e a eliminação da solução de referência interna dos eléctrodos convencionais [15] provou trazer vantagens aos eléctrodos em geral, de que a unidade sensível a benzoato, descrita por James e colaboradores [12], é um dos exemplos mais significativos.

Ao recobrirem um fio de platina com uma mistura de Aliquat 336 em n-decanol, os referidos autores [12] obtinham eléctrodos com coeficientes de selectividade potenciométricos mais baixos que os de membrana líquida, usando o mesmo sensor iónico [9,10] e, sobretudo, com respostas mais rápidas, demonstrando-se [12] ser este tipo de configuração dos eléctrodos um desenho aliciante para a preparação de unidades que até essa altura tinham sido usadas, com a membrana na forma líquida.

Contudo, o processo de construção proposto [12] e o tipo de sensor iónico utilizado, apresentava também limitações que se centravam, na necessidade de usar volumes grandes de sensor iónico para obter o recobrimento do fio de platina, em dificuldades de obter um isolamento eficaz e rígido da zona não recoberta e de originar unidades de reduzida zona de

resposta linear, tempos de vida curtos e, sobretudo, baixa reprodutibilidade, o que exigia a necessidade de efectuar calibrações sistemáticas.

Foi com base na análise efectuada sobre os diferentes problemas apresentados pelos eléctrodos, sensíveis a benzoato, descritos até ao momento, [5-13] e tendo em conta a experiência adquirida em relação à construção e avaliação dos eléctrodos, sensíveis a carboxilatos alifáticos (Cap.3), que nos propusemos preparar, e avaliar, unidades sensíveis a anião benzoato, modificando ora o sistema sensor, ora o processo de construção utilizado pelas diferentes unidades, anteriormente descritas [5-13], de modo a poderem obter-se eléctrodos, com características gerais de funcionamento globalmente melhoradas, para que pudessem ser aplicadas no doseamento de benzoato em xaropes medicinais.

Por estas razões, usamos, como sensores iónicos um sal de amónio quaternário, de elevado peso molecular (tetraoctilamónio), dissolvidos respectivamente, em dibutilftalato (DBF) e ortonitrofeniloctiléter (ONFOE). Os sistemas sensores referidos foram imobilizados em PVC, servindo depois para a construção de eléctrodos sem solução de referência interna, de acordo com a metodologia anteriormente descrita (Cap. 2).

Utilizaram-se dois tipos de solventes mediadores, com características físico-químicas distintas, para se poderem estabelecer comparações entre as características gerais de funcionamento para os dois tipos de eléctrodos construídos.

Após avaliação detalhada do funcionamento dos eléctrodos, escolheu-se aquele que produzia, globalmente, melhores resultados para poder ser aplicado no doseamento potenciométrico de anião benzoato em xaropes medicinais.

4.2 - Parte Experimental.

4.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos.

Para todas as determinações efectuadas com os eléctrodos construídos usou-se o tipo de aparelhagem anteriormente referida no Capítulo 2, utilizando, em todas as determinações, um eléctrodo de referência de dupla junção com sulfato de amónio 0,033 M no compartimento exterior. O uso deste electrólito externo de referência deveu-se aos baixos coeficientes de selectividade potenciométricos do anião (ver Tabela 4.3.5.1).

4.2.2 - Reagentes e soluções.

As soluções mais concentradas, usadas nos ensaios, foram obtidas por pesagem rigorosa de benzoato de sódio sólido e posterior diluição em água. E as de menor concentração foram preparadas a partir das primeiras por diluição, também rigorosa.

Como ajustador da força iónica, usou-se uma solução de sulfato de amónio 0,033 M. O ajuste de pH, e simultâneamente de força iónica das amostras doseadas potenciometricamente, foi efectuado com uma solução de tetraborato de sódio $5x10^{-3}$ M e sulfato de amónio 0,033 M, solução esta que apresentava um pH final de 8,6 unidades.

4.2.3 - Preparação dos sistemas sensores e membranas.

Para a preparação dos sensores iónicos de benzoato, seguiu-se a metodologia já anteriormente descrita (Cap.2), dissolvendo cerca de 0,035g de brometo de tetraoctilamónio, previamente purificado, em 0,21g de dibutilftalato (sensor tipo 4A) ou na mesma massa de ortonitrofeniloctiléter (sensor tipo 4B). A permuta de ião brometo, do sal de amónio quaternário, pelo anião benzoato, foi efectuada por agitação das soluções anteriores com benzoato de sódio 0,1 M. Após extracção, resultou uma solução de benzoato de tetraoctilamónio em dibutilftalato ou ortonitrofeniloctiléter cuja composição se indica na Tabela 4.2.3.1.

As membranas, para os dois tipos de eléctrodos construídos, foram preparadas de acordo com a metodologia descrita no Cap. 2, utilizando as soluções sensoras anteriormente referidas. Representa-se, igualmente na Tabela 4.2.3.1, a composição das membranas usadas, respectivamente, na construção dos eléctrodos de benzoato de tetraoctilamónio em dibutilftalato (tipo 4A) e de benzoato de tetraoctilamónio em ortonitrofeniloctiléter (tipo 4B).

Tabela 4.2.3.1 - Composição relativa (percentagem em massa) dos diferentes constituintes do sistemas sensores e membranas utilizados na construção dos eléctrodos de benzoato de tetraoctilamónio em dibutilftalato (tipo 4A) e benzoato de tetraoctilamónio em ortonitrofeniloctiléter (tipo 4B).

	Eléctrodo tipo 4A		**Eléctrodo tipo 4B**	
Constituintes	**Sensor 4A**	**Membrana 4A**	**Sensor 4B**	**Membrana 4B**
Benzoato de Tetraoctilamónio	14,6	9,4	16,1	10,3
Dibutilftalato	85,4	59,6	—	—
Ortonitrofeniloctiléter	—	—	83,9	58,7
PVC	—	31,0	—	31,0

4.2.4 - Construção dos eléctrodos.

Para a construção dos dois tipos de eléctrodos, procedeu-se genericamente do modo descrito anteriormente (Cap.2), aplicando as respectivas membranas, cuja composição se indicou na Tabela 4.2.3.1, directamente sobre um suporte constituído por uma resina epoxídica, tornada condutora com pó de grafite.

Após construção, as respectivas unidades foram colocadas numa solução de condicionamento, constituída por benzoato de sódio 0,1 M.

4.2.5 - Preparação das amostras de formulações farmacêuticas cujo conteúdo em benzoato se visava determinar.

Para a preparação das amostras de xarope, cujo conteúdo em benzoato se pretendia determinar potenciometricamente, pesou-se rigorosamente uma massa de xarope que se previa conter cerca de 7mg de benzoato de sódio, diluindo-se depois em água desionizada num balão volumétrico de 50,00cm^3.

Um volume de 5,00 cm^3, da solução anteriormente preparada, era introduzida num vaso onde os eléctrodos estavam imersos, adicionando-se igual volume de uma solução de tetraborato de sódio e sulfato de amónio, em concentrações duplas das referidas em 4.2.2, para efectuar o ajuste de pH e força iónica. As medidas realizadas por potenciometria directa foram depois efectuadas sobre as tomas assim preparadas.

Depois de os eléctrodos indicadores e de referência atingirem um potencial estável (± 0,2 mV), os valores de potencial obtidos eram comparados com os fornecidos pelos mesmos eléctrodos, quando se procedia a uma calibração prévia, nas mesmas condições de ajuste de pH (Cap. 2).

As medidas potenciométricas, efectuadas pelo método da adição, foram

realizadas sobre a mesma amostra, doseada anteriormente, adicionando, sobre ela, um volume de 100 μL de solução padrão de benzoato com uma concentração igual a 0,1 M. Os cálculos finais, para a determinação da concentração de benzoato nas amostras, eram executados de modo anteriormente indicado no Capítulo 2.

Porque as farmacopeias dos diferentes países não previam uma metodologia de doseamento deste composto em formulações, a qualidade dos resultados, obtidos potenciometricamente, foi avaliada a partir do valor de percentagem de recuperação, calculado pela relação entre a concentração de anião benzoato determinada por potenciometria directa e a concentração real do acréscimo adicionado a outra amostra.

4.3 - Resultados e sua Discussão.

4.3.1 - Parâmetros das curvas de calibração.

A avaliação das características gerais para os dois tipos de eléctrodos construídos foi efectuada pelo traçado das respectivas curvas de calibração, no intervalo de concentrações entre aproximadamente 10^{-5} e 10^{-1} M em anião benzoato, em soluções que continham somente benzoato de sódio (soluções puras), e também em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M com sulfato de amónio 0,033 M.

Representam-se nas Figs. 4.3.1.1 e 4.3.1.2 as curvas de calibração típicas para os dois tipos de eléctrodos construídos, quando ensaiados respectivamente em soluções de ião principal, sem ajuste e com ajuste de força iónica. Os respectivos parâmetros de calibração obtidos encontram-se indicados na Tabela 4.3.1.1.

Uma vez definidas as condições tidas como convenientes para a determinação potenciométrica do anião benzoato em formulações farmacêuticas, foi igualmente efectuada a avaliação das características de funcionamento dos eléctrodos, para a mesma gama de concentrações indicada, quando aqueles estavam imersos numa solução constituída por tetraborato de sódio $5x10^{-3}$ M e sulfato de amónio 0,033 M a pH=8,6, solução esta que seria utilizada como ajustadora de pH e força iónica das amostras de xarope doseadas.

Para efeitos de comparação, apresenta-se igualmente na Fig. 4.3.1.2 a curva de calibração obtida nestas condições de ensaio referidas, sendo os resultados dos parâmetros de calibração calculados, os que constam da Tabela 4.3.1.1.

Os valores quer ou do limite inferior de resposta linear quer ou do

limite prático de detecção para cada um dos tipos de eléctrodos construídos, revelaram-se bastante semelhantes quando as unidades eram ensaiadas nos três meios de composição distinta. Isto faz supor que, quer o anião sulfato quer o anião tetraborato, funcionam como pequenos interferentes para os dois tipos de membranas preparadas (ver Tabela 4.3.5.1).

Contudo, registou-se uma ligeira diferença, embora pouco significativa, nos valores de limite inferior de resposta linear e limite prático de detecção para os dois tipos de unidades construídas (diferentes solventes mediadores), quando ensaiadas, respectivamente, em soluções de composição semelhante. Essa diferença é atribuível aos diferentes valores de constante dialéctrica dos solventes mediadores utilizados (ε_{DBF}=6,44 [16,17] e ε_{ONFOE}=23,5 [18]).

Uma avaliação comparativa das características de resposta dos eléctrodos construídos em relação a unidades sensíveis à mesma espécie aniónica, anteriormente apresentadas na literatura (Tabela 4.3.1.2), revelaram melhorias significativas nos parâmetros gerais de calibração, para os dois tipos de eléctrodos desenvolvidos, facto que se atribui ao tipo de sistema sensor usado na sua construção.

Mas as causas dos bons resultados obtidos para o funcionamento dos eléctrodos, como os que são indicados na Tabela 4.3.1.2, devem-se, fundamentalmente à utilização de bons plastificantes como é o caso do dibutilftalato e do ortonitrofeniloctiléter, usados na preparação das membranas, e, sobretudo, à utilização de um sal de amónio quaternário, com características menos solúveis do que os anteriormente usados na construção de eléctrodos sensíveis a benzoato [5,6,8-13]. Esta última característica do extractor, tida como a mais importante na obtenção de unidades sensíveis a anião nitrato [19,20] e cloreto [21] com limite inferior de resposta linear e limite prático de detecção baixos, tem, como causa directa, o aumento da cadeia alquilada do sal de amónio quaternário.

Para além dos factores apresentados como causas directas da melhoria das características gerais de funcionamento dos eléctrodos preparados com

dibutilftalato e ortonitrofeniloctiléter, há ainda a considerar que a purificação efectuada ao tetraoctilamónio, contribuiu, em certa medida, para este facto [22]. A alteração deste composto ao longo do tempo, com consequente formação de sais de amónio de cadeia mais curta, poderá contribuir para um aumento de solubilidade global do permutador e, consequentemente para tornar maior o limite de resposta linear e de detecção.

Com base nestas hipóteses, poder-se-ão explicar os deficientes valores apresentados para estes parâmetros de calibração de eléctrodos, sensíveis a benzoato, que usam Aliquat 336S como extractor [9,10,12], uma vez que este composto é constituído por uma mistura em que uma pequena percentagem (35-40%) de metildioctildecilamónio está presente, conjuntamente com outros quatro sais de amónio de baixo peso molecular [22].

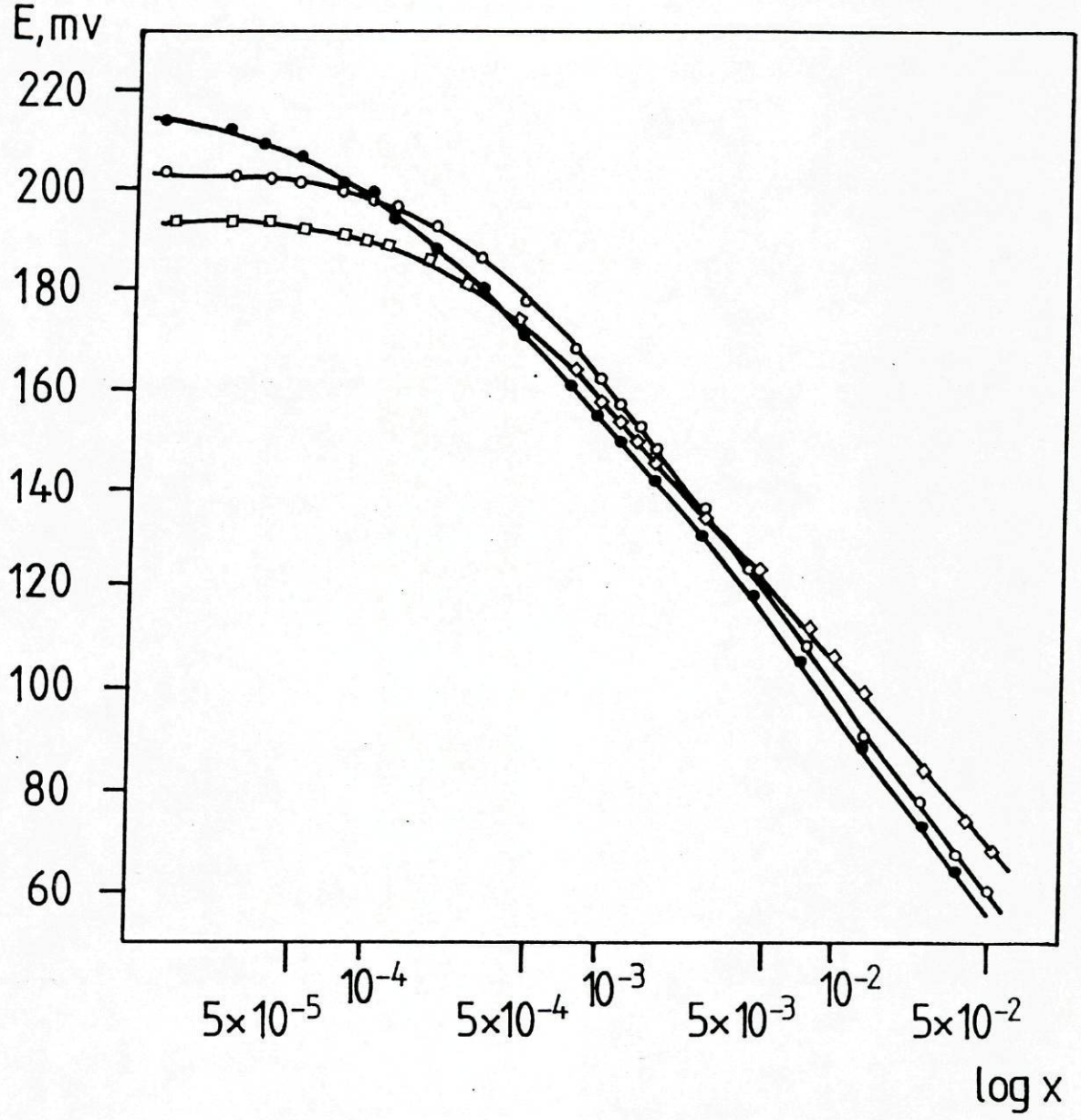


Figura 4.3.1.1 - Curvas de calibração típicas para eléctrodos de benzoato de tetraoctilamónio em dibutilftalato, efectuadas em soluções: (•) sem a força iónica ajustada; (○) com a força iónica ajustada a 0,1 M com sulfato de amónio 0,033 M e (▫) com a força iónica e pH ajustados.

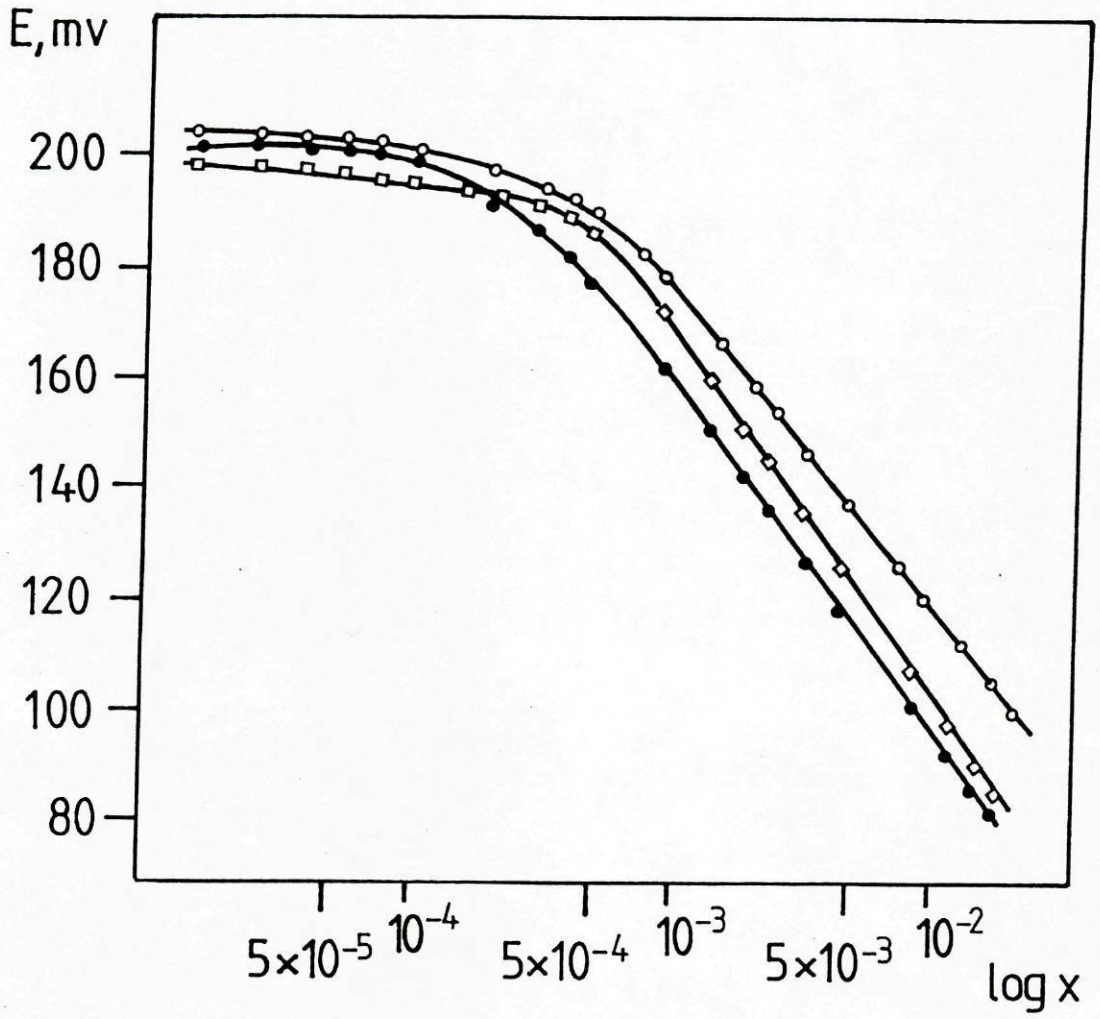


Figura 4.3.1.2 - Curvas de calibração típicas para eléctrodos de benzoato de tetraoctilamónio em ortonitrofeniloctiléter, efectuadas em soluções: (●) sem a força iónica ajustada; (¤) com a força iónica ajustada a 0,1 M com sulfato de amónio 0,033 M e (○) em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M e o pH a 8,6 unidades.

Tabela 4.3.1.1 - Parâmetros de calibração para os eléctrodos do tipo 4A e tipo 4B sensíveis ao anião benzoato [a].

Características	**Eléctrodo tipo 4A**			**Eléctrodo tipo 4B**		
	I[b]	**II**[c]	**III**[d]	**I**[b]	**II**[c]	**III**[d]
L.I.R.L.	$3,0\times10^{-4}$	$5,0\times10^{-4}$	$7,5\times10^{-4}$	$5,0\times10^{-4}$	$6,0\times10^{-4}$	$8,0\times10^{-4}$
L.P.D.	$5,0\times10^{-4}$	$1,2\times10^{-4}$	$1,3\times10^{-4}$	$1,5\times10^{-4}$	$2,2\times10^{-4}$	$2,4\times10^{-4}$
Declive (-mv/déc.)	58,6±0,2	59,0±0,1	53,5±0,2	63,4±0,3	59,1±0,2	56,6±0,2
Reprodutib.[e] (mv/dia)	±0,7	±0,3	±0,2	±0,5	±0,2	±0,2
V. R.[f] (s)		~ 20			~20	
Tempo de vida [g] (meses)	>5			>6		
P.O [h] 10^{-3} M	3-12	—	—	4-12	—	—
10^{-2} M	6-12	—	—	6-12	—	—
10^{-1} M	7-12	—	—	7-12	—	—

a)-Valores correspondentes a seis determinações com três eléctrodos; a)-limite inferior de resposta linear; b)-Ensaios efectuados em soluções sem ajuste de força iónica; c)-Ensaios efectuados em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M; d)-Ensaios efectuados em soluções com a força iónica e pH ajustados; e)-Valores para a reprodutibilidade dos eléctrodos, correspondentes a duas determinações consecutivas; f)-Velocidade de resposta; g)-Tempo em que os eléctrodos foram ensaiados; h)-patamar operacional deduzido do traçado dos diagramas de Reilley efectuados em soluções sem ajuste de força iónica à concentração de 10^{-3}, 10^{-2} e 10^{-1} M.

Tabela 4.3.1.2 - Tabela comparativa das características de resposta, para eléctrodos sensíveis a benzoato, referidos na literatura.

Características	**Tipo 4A**[a)]	**Tipo4B**[b)]	**[5]**	**[6]**	**[7]**[c)]	**[7]**[d)]	**[8]**	**[9]**	**[10]**	**[11]**	**[12]**	**[13]**
Z.R.L. (M)	10^{-1}-$5x10^{-4}$ [e)]	10^{-1}-$6x10^{-4}$ [e)]	10^{-1}-10^{-4}	$5x10^{-4}$-$5x10^{-1}$	1-10^{-4}	1-$5x10^{-4}$	$5x10^{-1}$-$2,5x10^{-4}$	10^{-1}-10^{-4}	10^{-1}-10^{-3}	10^{-1}-10^{-3}	10^{-1}-10^{-3}	$4,5x10^{-2}$-$3,2x10^{-4}$
L. P. D. (M)	$1,2x10^{-4}$	$2,2x10^{-4}$	—	—	—	—	—	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}	—
Declive (-mv/dec)	59,0 [e)]	59,1 [e)]	59,1	59	59	59	—	58,6	58,6	58	53	54
Tempo de resposta (s)	<20	<20	~180	<30	20-60	20-60	—	~60	20-60	60-180	—	—
Reprodutibilidade (mV)	±0,3 [f)]	±0,2 [f)]	—	—	±1	±1	—	±0,2	±0,2	±0,5	±0,5	—
T. vida (meses)	>5 [g)]	>6 [g)]	—	—	—	—	—	1	1-2	—	3	—

a)-Eléctrodos de tetraoctilamónio com DBF; b)-Eléctrodo de tetraoctilamónio com ONFOE; c)-Eléctrodos de tributilcetilfosfónio com decanol; d)-Eléctrodo de tributilcetilfosfónio com nitrobenzeno; e)-Resultados referentes a ensaios executados com a força iónica ajustada; f)-Reprodutibilidade entre dois ensaios consecutivos nas mesmas condições; g)-Tempo durante o qual os eléctrodos foram ensaiados.

4.3.2 - Tempos de vida dos eléctrodos e reprodutibilidade de resposta.

A reprodutibilidade dos potenciais dos dois tipos de eléctrodos, ao longo de um dia de trabalho, foi avaliada pelo traçado de rectas de calibração, uma no princípio e outra no fim de um dia de trabalho, em soluções, puras de anião benzoato e com a força iónica ajustada, ou quando esta e o pH estavam simultâneamente ajustados (Tabela 4.3.1.1).

Os resultados obtidos para os valores deste parâmetro, relativos aos dois tipos de eléctrodos construídos, revelaram-se bastante melhores quando comparados com os indicados por outros autores para unidades sensíveis à mesma espécie aniónica (ver Tabela 4.3.1.2).

Os eléctrodos preparados com dibutilftalato como solvente mediador, apresentavam, de um modo geral, menor reprodutibilidade do que aqueles que utilizavam ortonitrofeniloctiléter, originando, assim, a escolha deste último tipo de eléctrodos para o doseamento potenciométrico de benzoato em formulações farmacêuticas. No entanto, a boa reprodutibilidade apresentada pelos eléctrodos de benzoato de tetraoctilamónio com dibutilftalato, comparativamente com outras unidades, sensíveis a benzoato [5-13], permitia igualmente a sua utilização durante um dia de trabalho sem necessidade de recorrer a calibrações sistemáticas. Admitindo que havia necessidade de efectuar dois doseamentos simultâneos do mesmo produto farmacêutico, em dias diferentes, o uso de eléctrodos de benzoato, preparados com dibutilftalato, não estava limitado uma vez que se poderia efectuar uma calibração prévia das unidades antes do doseamento, sem que isso acarretasse um dispêndio significativo de tempo.

A reprodutibilidade dos eléctrodos, ao longo do tempo em que foram ensaiados, foi avaliada efectuando calibrações sucessivas (Cap. 2), em soluções com a força iónica fixada a 0,1 M. Encontram-se representados nas Tabelas 4.3.2.1 e 4.3.2.2 os valores obtidos para os declives das rectas de calibração,

para os respectivos coeficientes de correlação e os potenciais das unidades para uma concentração de anião benzoato igual a $5x10^{-2}$ M, respectivamente com os eléctrodos preparados com dibutilftalato e ortonitrofeniloctiléter como solventes mediadores e ensaiados em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M.

Embora não se tenha avaliado qual era o tempo correspondente ao final de vida das unidades, observou-se que, durante pelo menos 5 meses, as características de resposta daquelas se mantinham inalteradas.

Comparando este valor com o que vem descrito para unidades sensíveis à mesma espécie [5-13], poderá afirmar-se que se trata de um resultado excepcional. Com base nos resultados obtidos, relativos ao tempo de vida, para os eléctrodos sensíveis a carboxilatos que usam um sistema extractor semelhante (ver Cap. 3) crê-se mesmo que os eléctrodos de benzoato construídos se manteriam por mais alguns meses em funcionamento sem registarem alterações no seu comportamento.

A melhoria registada, para o valor deste parâmetro, relativamente às unidades anteriormente descritas [5-13], foi consequência da utilização de solventes mediadores (DBF e ONFOE) com elevada viscosidade, e da imobilização dos sensores iónicos em PVC, dificultando-se, assim, a perda de sensor pela membrana. Também a eliminação da solução de referência interna e a não existência de uma pressão hidrodinâmica sobre a membrana, diminui a disponibilidade de dissolução do sensor, contribuindo, igualmente, para um aumento da durabilidade das unidades.

A eliminação da solução de referência interna, em eléctrodos de fio recoberto, sensíveis a anião benzoato, mostrou anteriormente [12] provocar um aumento nos tempos de vida das unidades, comparativamente com os que usavam a membrana na forma líquida [9,10]. No entanto, os resultados obtidos pelos autores [12] não se destacavam significativamente na medida em que, ao utilizarem na preparação das membranas um solvente mediador com fracas características plastificantes (n-decanol), a exsudação de sensor iónico era tão fácil que mascarava significativamente a extenção desse efeito.

Tabela 4.3.2.1 - Reprodutibilidade para eléctrodos com sensor de benzoato de tetraoctilamónio em dibutilftalato.

Dias	E_1			E_2		
	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]
2	69,3	103,3	0,9995	69,2	91,0	0,9996
2	66,3	108,7	0,9993	68,1	95,7	0,9992
4	63,1	101,0	0,9995	60,5	99,8	0,9999
6	60,1	115,2	0,9994	60,2	114,8	0,9998
6	60,4	177,7	0,9996	60,2	118,5	0,9998
7	59,8	119,1	0,9997	58,7	121,3	0,9995
7	59,8	119,7	0,9997	59,0	122,2	0,9994
9	59,7	121,2	0,9999	59,1	120,9	0,9997
17	59,4	129,5	0,9997	59,1	118,4	0,9998
47	59,3	135,9	0,9994	59,4	126,3	0,9993
62	59,1	144,1	0,9995	60,1	118,1	0,9992
77	61,2	132,4	0,9991	60,0	122,7	0,9992
94	60,3	129,7	0,9999	59,9	144,1	0,9994
115	59,9	138,9	0,9990	59,4	160,2	0,9997
132	59,4	155,4	0,9989	59,3	151,3	0,9998
148	59,3	160,8	0,9994	59,5	155,4	0,9999
152	59,0	167,3	0,9997	59,8	160,9	0,9999

a)-Declive das rectas de calibração em -mv/década de concentração; b)-Potencial (mV) obtido a partir das rectas de calibração, para uma concentração de anião benzoato igual a $5x10^{-2}$ M; c)-Coeficiente de correlação das respectivas rectas de calibração.

Tabela 4.3.2.2 - Reprodutibilidade para eléctrodos com sensor de benzoato de tetraoctilamónio em ortonitrofeniloctiléter.

Dias	E_1			E_2		
	D[a)]	**E,mV**[b)]	**R**[c)]	**D**[a)]	**E,mV**[b)]	**R**[c)]
3	62,3	102,7	0,9991	61,3	101,6	0,9994
3	60,9	108,7	0,9993	60,3	107,	0,9995
5	59,4	122,0	0,9999	59,1	124,1	0,9993
5	59,3	126,0	0,9999	59,0	125,8	0,9994
10	59,9	127,5	0,9997	59,3	127,7	0,9998
10	59,4	132,7	0,9996	59,2	132,0	0,9998
45	59,1	129,1	0,9997	59,3	128,2	0,9998
45	59,0	129,7	0,9999	59,4	129,4	0,9995
64	59,4	127,4	0,9997	59,2	125,5	0,9998
73	59,0	124,2	0,9994	59,4	122,3	0,9997
73	58,9	125,4	0,9996	59,7	123,9	0,9998
127	60,3	134,4	0,9994	59,4	131,7	0,9996
139	59,2	145,1	0,9997	59,0	114,3	0,9994
147	59,3	147,8	0,9993	59,2	125,3	0,9998
147	59,3	149,7	0,9995	59,4	128,3	0,9989
164	59,2	159,3	0,9994	59,2	144,1	0,9999

a)-Declive das rectas de calibração em -mv/década de concentração; b)-Potencial (mV) obtido a partir das rectas de calibração para uma concentração de anião benzoato igual a $5x10^{-2}$ M; c)-Coeficiente de correlação das respectivas rectas de calibração.

4.3.3 - Velocidade de resposta dos eléctrodos.

A velocidade de resposta dos eléctrodos, foi avaliada registando as variações de potencial correspondentes às variações de concentração de anião benzoato, quando os ensaios eram executados numa gama de concentrações correspondentes à zona de resposta linear do eléctrodo.

Representam-se, nas Figs. 4.3.3.1 e 4.3.3.2, os diagramas obtidos para a avaliação deste parâmetro, respectivamente para um eléctrodo do tipo 4A e 4B. Ambos adquiriam um potencial estável (±0,2mV) em cerca de 20 segundos, incluindo-se, neste tempo, a homogeneização da solução.

No diagrama, apresentado na Fig. 4.3.3.2, observavam-se algumas variações bruscas, correspondentes a uma subida do potencial do eléctrodo antes de ocorrer a a homogeneização da solução. Este efeito que poderá ocorrer em qualquer determinação deste tipo, deve-se, fundamentalmente, às condições experimentais em que foram realizados os ensaios. Porque os eléctrodos apresentam uma elevada velocidade de resposta, acompanham instantâneamente aumentos localizados de concentração, no momento da adição da solução concentrada de ião benzoato.

Para concentrações do anião principal, inferiores a 10^{-4} M, o tempo que as unidades demoravam a atingir um potencial estável, quando se fixava o mesmo critério de estabilidade, tornava-se maior, chegando mesmo a atingir cerca de l a 2 minutos. Estes valores relacionam-se com a própria solubilização da membrana que, para estes níveis de concentração, se faz sentir com alguma extensão.

Em termos comparativos, os eléctrodos de benzoato, aqui apresentados, têm respostas mais rápidas que a maioria das unidades, sensíveis à mesma espécie orgânica, descritas na literatura (Tabela 4.3.1.2). Este facto relaciona-se genericamente com a imobilização do sensor iónico, e também com a eliminação da solução de referência interna. A utilização de PVC para a

imobilização do sensor iónico, relativamente a materiais porosos, do tipo acetato de celulose ou cerâmica hidrofobizada, usados como suportes mecânicas da solução sensora em eléctrodos de benzoato [5-11,13], facilita a maior mobilidade dos iões na membrana. Por outro lado, a elevada reversibilidade termodinâmica, apresentada pelo tipo de referência interna que integra os eléctrodos construídos, relativamente ao sistema que constitui a unidade de fio recoberta, sensível a anião benzoato [12], pode trazer igualmente, como consequência, uma melhoria na velocidade de resposta dos eléctrodos.

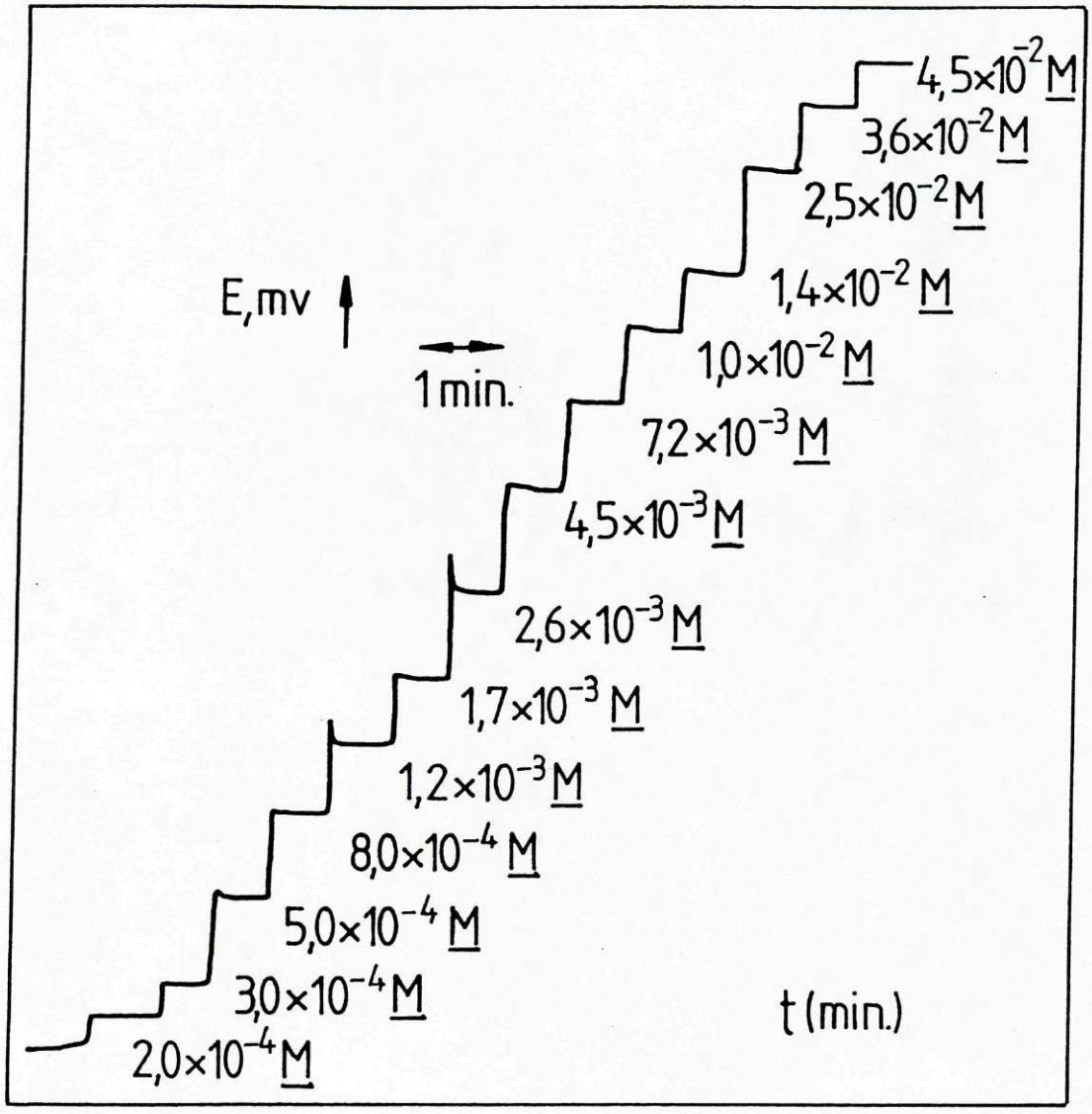


Figura 4.3.3.1 - Velocidade de resposta para um eléctrodo com sensor de benzoato de tetraoctilamónio em dibutilftalato.

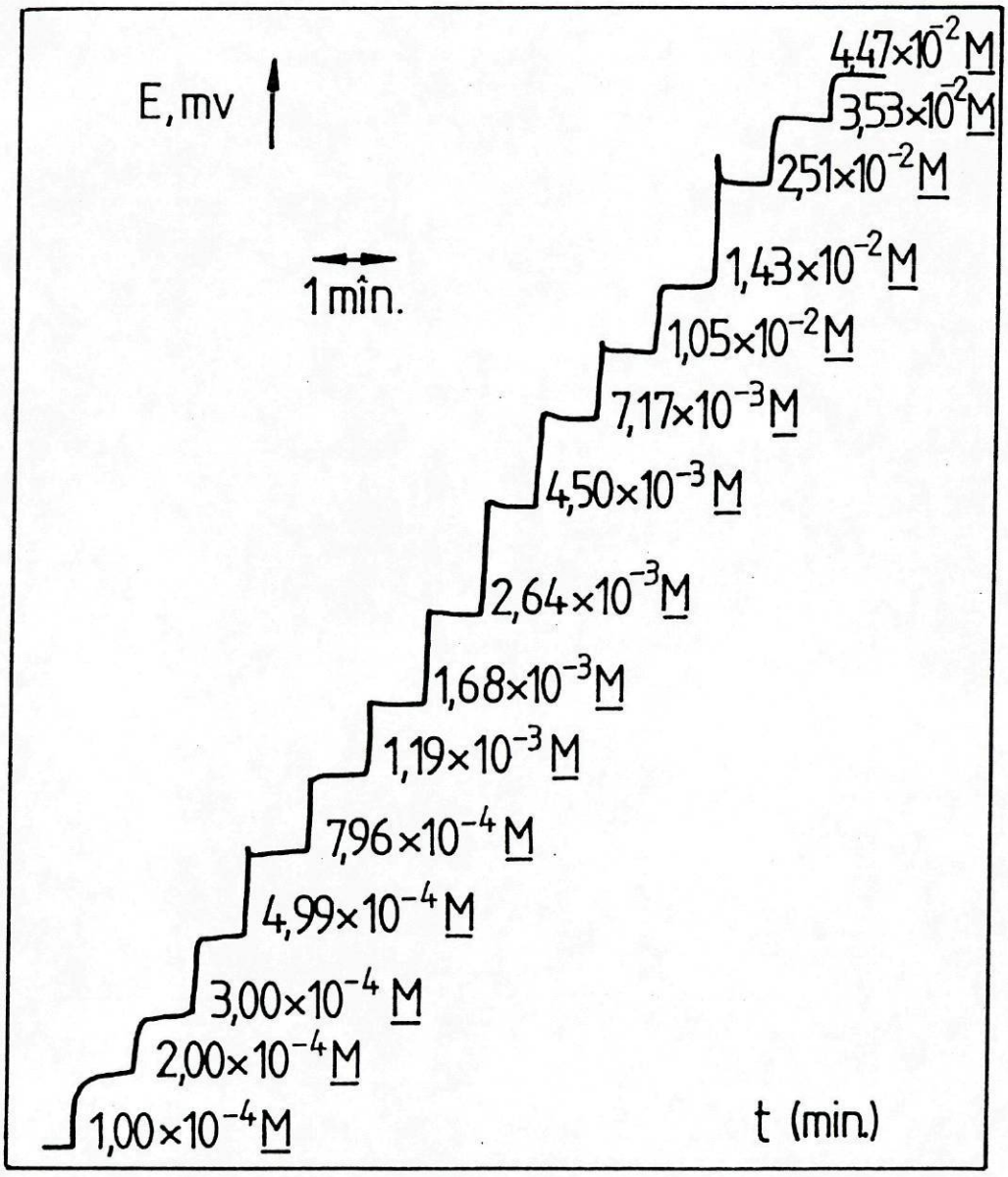


Figura 4.3.3.2 - Velocidade de resposta para um eléctrodo com sensor de benzoato de tetraoctilamónio em ortonitrofeniloctiléter.

4.3.4 - Efeito do pH no valor de potencial dos eléctrodos

O efeito do pH na resposta dos eléctrodos construídos (tipo 4A e 4B), foi avaliado, medindo, para diferentes valores de pH, o potencial que forneciam as unidades quando ensaiadas em soluções puras de anião benzoato, com concentrações iguais a 10^{-1}, 10^{-2} e 10^{-3} M, e se adicionavam pequenos volumes de soluções concentradas de ácido sulfúrico ou hidróxido de sódio (Cap. 2).

Representam-se, nas Figs. 4.3.4.1 e 4.3.4.2, os diagramas obtidos, respectivamente para os eléctrodos do tipo 4A e 4B.

A localização do intervalo de pH em que o potencial dos eléctrodos não era afectado pelas variações de pH, tornava-se, como se esperava, dependente da concentração do anião benzoato. As extensões dos patamares operacionais eram semelhantes para os dois tipos de eléctrodos construídos, dependendo, no entanto, em cada caso, da concentração do ião principal.

Na Tabela 4.3.1.1, representam-se os valores dos respectivos patamares, obtidos aos diferentes níveis de concentração.

Em ambos os casos, para valores próximos de pH=12 unidades, registou-se-se um ligeiro acréscimo do valor de potencial dos eléctrodos, provocado pelas variações de força iónica a estes níveis de pH. Contribuiu, para a variação de força iónica, o excesso de iões hidróxido resultantes da adição de base, utilizada para provocar as alterações de pH.

Em zonas de pH ácido ocorre, no entanto, um decréscimo dos valores de potencial das unidades com a diminuição de pH, podendo esta variação ser atribuída à interferência do anião do ácido usado para acidular as soluções (sulfato) e à de anião hidrogenosulfato [23,24] que a este nível de pH se faz sentir com alguma intensidade.

Poderá mesmo notar-se, por exemplo, em relação aos eléctrodos do tipo 4A, e para concentrações de benzoato iguais a 10^{-3} M, que a interferência

é sentida para valores de pH mais baixos do que o que se regista para os eléctrodos com ortonitrofeniloctiléter como solvente mediador. Isto está de acordo com os respectivos valores de coeficientes de selectividade potenciométricos, obtidos para os dois tipos de unidades, em relação ao anião sulfato (ver Tabela 4.3.5.1).

Os resultados referentes a este parâmetro, anteriormente apresentados na literatura, para eléctrodos sensíveis à mesma espécie aniónica, são na maioria dos casos omitidos [5-7,9,10,12,13]. Naqueles em que são referidos, [8,11] apresentam-se valores de patamares operacionais de 6,5-10 unidades e 6-9 unidades respectivamente para um eléctrodo usando hexadeciltrioctilamónio com nitrotolueno [8] ou metiltrioctilamónio em decanol [11], como sensores.

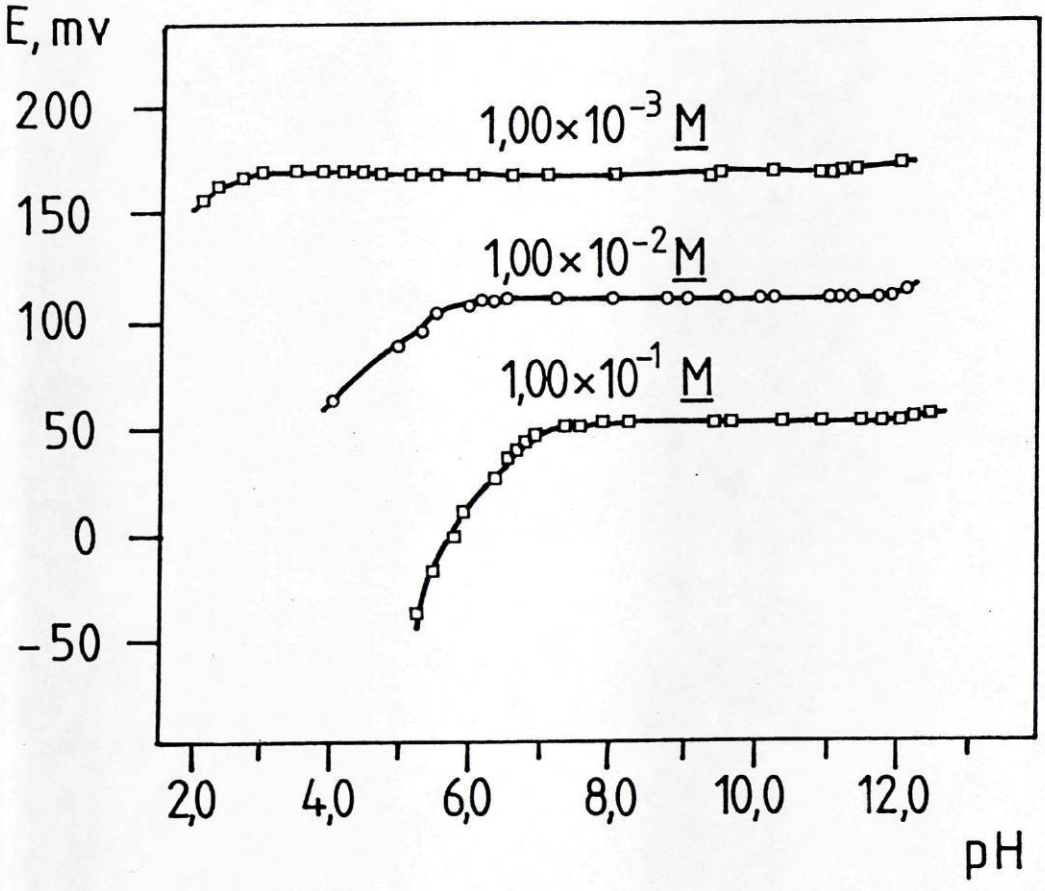


Figura 4.3.4.1 - Diagrama da variação do potencial, com o pH das soluções, para eléctrodos de benzoato com sensor de tetraoctilamónio em dibutilftalato.

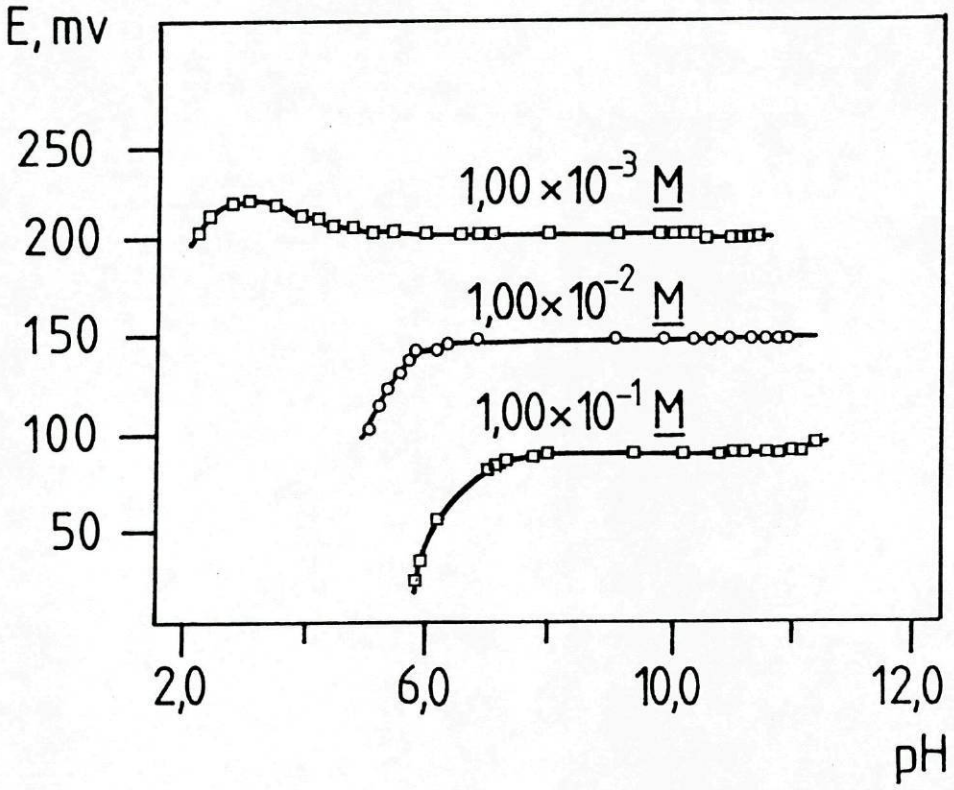


Figura 4.3.4.2 - Diagrama da variação do potencial, com o pH das soluções, para eléctrodos de benzoato com sensor de tetraoctilamónio em ortonitrofeniloctiléter.

4.3.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos.

Os valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos, para algumas espécies aniónicas, apresentados na Tabela 4.3.5.1, para os dois tipos de eléctrodos construídos, foram determinados, usando o método das soluções separadas, com concentrações em benzoato e interferente fixadas a 10^{-2}, $5x10^{-3}$ e 10^{-3} M.

Os resultados obtidos revelaram que o eléctrodo construído, usando como solvente mediador o ortonitrofeniloctiléter, era genericamente mais selectivo que os de dibutilftalato. Estas diferenças eram esperadas uma vez que o grau de interferência dos eléctrodos se relaciona directamente com o tipo de solvente mediador utilizado na preparação das membranas e porque são as características físicas deste composto que condicionam, em maior ou menor extensão, as forças de ligação entre o extractor e as espécies iónicas em solução. Apesar de se tratarem de dois solventes mediadores com características diferentes, nenhum deles provou fornecer qualquer tipo de alteração na sequência dos valores de selectividade. Estes resultados confirmam, uma vez mais, os obtidos por Wegmann e colaboradores [25] ao construirem eléctrodos sensíveis a cloreto, utilizando, para a preparação das membranas, diferentes sais de amónio e diversos solventes mediadores plastificantes.

Os resultados obtidos para os coeficientes de selectividade potenciométricos em relação a diferentes aniões, quando comparados com os indicados por outros autores para eléctrodos sensíveis à mesma espécie aniónica [5-13], permitem-nos concluir que não se salientam diferenças significativas (Tabela 4.3.5.2), exceptuando-se apenas o caso em que é adicionado um aditivo (p-terc.-octilfenol) aquando da preparação de membranas de por trioctilmetilamónio em diclorobenzeno [5].

As comparações efectuadas devem, contudo, ser analisadas com reservas porque a maioria dos valores indicados na literatura não são

acompanhados de uma referência inequívoca ao método utilizado para a determinação dos valores de coeficientes potenciométricos, e também dos valores de concentração a que se realizaram os ensaios.

Tabela 4.3.5.1 - Coeficientes de selectividade potenciométricos para os eléctrodos construídos ($\log K^{POT}$)[a].

Interferente	Concentração (M)					
	Eléctrodo 4A			Eléctrodo 4B		
	10^{-2}	$5x10^{-3}$	10^{-3}	10^{-2}	$5x10^{-3}$	10^{-3}
Cloreto	+0,967 ± 0,045	+0,991 ± 0,048	+1,002 ± 0,050	+0,834 ± 0,012	+0,788 ± 0,027	+0,494 ± 0,016
Nitrato	+0,952 ± 0,009	+0,980 ± 0,012	+0,997 ± 0,015	+0,823 ± 0,009	+0,881 ± 0,011	+0,898 ± 0,021
Sulfato	-1,902 ± 0,041	-1,664 ± 0,037	-1,263 ± 0,039	-1,527 ± 0,092	-1,290 ± 0,091	-1,011 ± 0,083
Iodeto	+1,985 ± 0,012	+2,033 ± 0,015	+2,100 ± 0,013	+1,973 ± 0,029	+2,006 ± 0,029	+2,037 ± 0,028
Tetraborato	-1.533 ± 0,035	-1,317 ± 0,010	-1,125 ± 0,015	-1,448 ± 0,025	-1,304 ± 0,016	-1,113 ± 0,007

a)-Valores correspondentes a duas determinações realizadas com três eléctrodos, pelo método das soluções separadas.

Tabela 4.3.5.2 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) dos eléctrodos construídos, comparados com indicados na literatura para unidades sensíveis à mesma espécie aniónica.

Interferentes	**Tipo 4A**[a)]	**Tipo4B**[b)]	**[5]**[b)]	**[6]**[c)]	**[7]**[d)]	**[7]**[e)c)]	**[8]**	**[9]**	**[10]**[b)]	**[11]**[d)]	**[12]**	**[13]**
Cloreto	+0,991	+0,788	-1,8	-1,337	-1,036	-0,744	—	—	~-0,3	-1,1	+0,114	—
Nitrato	+0,980	0,881	-1,2	-0,886	-0,468	+0,279	—	—	~-0,1	-0,4	+0,114	—
Sulfato	-1,664	-1,290	—	—	-3,222	-2,328	—	—	—	-2,4	+0,177	—
Iodeto	+2,033	+2,006	-1,0	-0,398	+0,079	+0,431	—	—	—	—	—	—

a)-Valores correspondentes à concentração de $5x10^{-3}$ M em ião interferente;b)-Os autores não referem o valor de concentração a que foram determinados nem especificam o método utilizado na determinação de log K^{POT}; c)-Valores determinados pelo método das soluções misturadas sem especificarem a concentração do ião interferente; d)-Eléctrodo usando decanol para a preparação da membrana; e)-Eléctrodo usando nitrobenzeno para a preparação da membrana; f)-Método das soluções misturadas com concentração fixa de ião principal.

4.3.6 - Doseamento de anião benzoato em xaropes medicinais.

No doseamento de benzoato em formulações farmacêuticas, usaram-se, pelas razões já referidas, eléctrodos em que o sistema sensor era preparado com ortonitrofeniloctiléter como solvente mediador (tipo 4B), pois, para além de globalmente apresentarem melhores características de funcionamento, eram excelentemente reprodutíveis, pelo que o seu uso permitia reduzir a necessidade de recorrer a calibrações periódicas.

Para o doseamento de benzoato em xaropes comercializados efectuaram-se ensaios, quer por potenciometria directa quer por método de adição, calculando, para cada amostra, a respectiva percentagem de recuperação (Tabela 4.3.6.1).

O coeficiente de correlação obtido para dois métodos implementados e que se apresentava com um valor igual a 0,9995, indicou-nos ser possível optar indistintamente por qualquer um dos dois. No entanto, e porque a potenciometria directa envolve menor número de operações e medidas, o seu uso é aconselhável.

Apesar de nas diferentes farmacopeias consultadas não ser referida expressamente, nenhuma metodologia de análise de benzoato em produtos farmacêuticos, tentou-se aplicar aquela que é referida na farmacopeia Britânica para o doseamento de benzoato de sódio puro e que é usada na avaliação da qualidade da matéria prima. As volumetrias com detecção visual do ponto final, quando aplicadas às formulas farmacêuticas, eram, no entanto afectadas pelos inúmeros interferentes presentes nos xaropes medicinais, nomeadamente espécies alcalinas mais fortes que o benzoato, sendo o resultado final bastante desviado do valor teoricamente previsto. Por essa razão, e para avaliar a qualidade dos resultados potenciométricos obtidos, optou-se por calcular, para cada amostra, a respectiva percentagem de recuperação, cujos valores são

igualmente indicados na Tabela 4.3.6.1.

Tabela 4.3.6.1 - Valores obtidos (percentagem em massa) do doseamento de benzoato em alguns xaropes medicinais, expressos em percentagem em peso.

Nome comercial do xarope	**Potenciometria directa** [a]	**Método de adição** [a]	**%Recuperação**
Codofosfol	3,0±0,1	2,79±0,03	106,6
Broncodiazina	2,9±0,1	2,7 ± 0,2	105,2
Gadipulmina	5,2±0,2	4,9 ± 0,1	104,2
Tossil	3,3±0,1	3,1 ± 0,1	107,5
Celsus	1,4±0,1	1,4 ± 0,1	102,7
Labsan	2,0±0,1	1,9 ± 0,1	102,3

a)-Média pesada com pesos inversamente proporcionais à variância [26], resultantes de cinco determinações com três eléctrodos.

4.4 - Conclusões.

Os resultados obtidos permitiram concluir que os dois tipos de unidades construídas apresentavam características de funcionamento muito semelhantes entre si, e na globalidade melhores do que as referidas para unidades sensíveis à mesma espécie aniónica anteriormente descritas na literatura, nomeadamente no que se refere aos valores de sensibilidade e reprodutibilidade dos potenciais e aos elevados tempos de vida.

As melhorias registadas devem-se, fundamentalmente, à modificação do sistema sensor utilizado na preparação das membranas e também ao processo de construção escolhido, o que permitiu torná-las operacionais de modo a serem usadas em potenciometria.

É de assinalar que, embora os resultados dos doseamentos efectuados por potenciometria, não tivessem sido comparados com nenhuma metodologia de referência (pelas razões anteriormente indicadas), os valores das razões de recuperação obtidos para as amostras, contendo benzoato, levam-nos a afirmar que os dois processos de doseamento (potenciometria directa e método de adição) são semelhantes.

Este facto permitiu concluir, que a potenciometria com eléctrodos selectivos de iões, sensíveis a anião benzoato, é uma técnica exacta, para além de o processo de análise daquele composto orgânico em formulações, ser simples e rápido.

4.5 - Referências Bibliográficas.

[1]-V. V. Cosofret, *Ion Select. Electrodes Rev.*, **2**, 159 (1981).

[2]-V. V. Cosofret e R. P. Buck., *Ion Select. Electrodes Rev.*, **6** , 59 (1984).

[3]-K. Vytras, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **7**, 789 (1989).

[4]-Z. Z - Rang e V.V. Cosofret. *Ion Select. Electrodes Rev.*, **12**, 35 (1990).

[5]-H. Hara, S. Okazaki e T. Fujinaga, *Anal. Chim. Acta*, **121**, 119 (1980).

[6]-M. T. Benignetti, L. Campanella e T. Ferri, *Fresenius, Z. Anal. Chem.*, **296**, 412 (1979).

[7]-P. Amoroso, L. Campanella, G. de Angelis, T. Ferri e R. Morabito, *J. Memb. Sci.*, **16** , 259 (1983).

[8]-Y. Zhu e S. Huong, *Hunan Daxue Xuebao*, **11**, 139 (1984).

[9]-C. J. Coetzee e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **40**, 2071 (1968).

[10]-C. J. Coetzee e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **41**, 1128 (1969).

[11]-T. Shigematsu, A. Ota e M. Matsui, *Bull. Inst. Chem. Res.*, **51**, 268 (1973).

[12]-H. James, G. Carmack e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **44**, 856 (1978).

[13]-E. Hopirtean e E. Veress, *Rev. Roum. Chim.*, **23**, 273 (1978).

[14]-G. J. Moody, R. B. Oke e J. D. R. Thomas, *Analyst*, **95**, 910 (1970).

[15]-H. Freiser, *Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1**, 82 (1986).

[16]-A. A. Maryoff e E. A. Smith, *Table of Dialectric Constants of Pure Liquids*, NBS., Circular 514, 10 Agosto (1951).

[17]-A. M. Jaber, G. J. Moody e J. D. R. Thomas, *Analyst*, **101**, 179 (1976).

[18]-S-Z Yao e G-H Liu, *Talanta*, **32**, 1113 (1985).

[19]-A. Hulanicki, M. M. Zurawska e L. Lewardowski, *Anal. Chim. Acta*, **93**, 151 (1978).

[20]-H. J. Nielsen e E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **85**, 1 (1976).

[21]-K. Hartman, S. Luterotti, H. F. Osswald, M. Oehme, P. C. Meier, D. Aman e W. Simon, *Mikrochim. Acta, (Wein)*, **2**, 235 (1978).

[22]-R.-Qin Yu, *Ion Select. Electrodes Rev.*, **8**, 153 (1986).

[23]-J. Senkyr e Z. Malá, *J. Electroanal. Chem.*, **233**, 267 (1987).

[24]-Z. Malá e J. Senkyr, *Talanta*, **35**, 591 (1988).

[25]-D. Wegmann, H. Weiss, D. Ammann, W. E. Morf, E. Pretsch, E. Sugahara e W. Simon, *Mikrochim. Acta, (Wein)*, **3**, 1 (1984).

[26]-W. C. Hamilton, *Statistics in Physical Science*, The Ronald Press Company, New York, (1964) pag. 43.

CAPíTULO 5

ELÉCTRODO SENSíVEL AO ANIÃO SALICILATO

5 - ELÉCTRODO SENSÍVEL AO ANIÃO SALICILATO.

5.1 -Introdução.

Os ácidos salicílico e acetilsalicílico são compostos químicos salicilados, com uso vulgarizado em medicina desde 1875 [1], devido à sua eficácia e ao seu baixo custo.

Obtidos, hoje em dia, por síntese química [2], passaram a ser comercializados sob diferentes tipos de formulações farmacêuticas, prescritas para o tratamento de diversas patologias.

O ácido acetilsalicílico, patenteado em 1917 [3] e mais vulgarmente conhecido por Aspirina, é ainda hoje, e apesar de todos avanços modernos no campo dos agentes potencialmente terapêuticos, o antipirético e analgésico mais vulgarmente usado, devido à sua potente acção farmacológica.

Cada vez mais os laboratórios de controlo de qualidade na indústria farmacêutica, se debatem com problemas relativos às técnicas analíticas de controlo dos seus produtos, tentando obter, por razões económicas, resultados excepcionais, no mais curto espaço de tempo.

Os métodos de referência [4,5] descritos para a análise do ácido salicílico e acetilsalicílico, e que são, na maioria dos casos, ainda adoptados pelos referidos laboratórios, baseiam-se em titulações ácido-base com detecção visual do ponto final, determinações espectrofotométricas com as medidas

realizadas a 525 nm depois de efectuado o desenvolvimento de cor com uma solução de Ferro (III), e a reacção com bromo seguida de titulação iodométrica com medida da absorvância a 280 nm. Todos eles são morosos, laboriosos e relativamente pouco precisos por não evitarem uma série de interferências decorrentes da presença de compostos fenólicos e ácidos aromáticos, por vezes existentes nas formulações.

Muitas técnicas alternativas têm sido propostas para o doseamento de ácido salicílico e acetilsalicílico em fórmulas farmacêuticas. Algumas delas incluem cromatografia em camada fina [6], cromatografia gás-líquido [7], cromatografia de alta eficiência (HPLC) [8] com detecção fluorimétrica [9] ou espectrofotométrica [10], cromatografia de baixa eficiência com detecção espectrofotométrica [11-14], colorimetria [15], cromatografia gasosa [16], espectrofotometria [17-20], espectrofluorimetria [21-23] e imunoensaios [24].

Ainda assim, as técnicas alternativas referidas [6-24] não se consideram suficientemente expeditas para que se possam impôr perante as metodologias de referência [4,5].

A potenciometria, com eléctrodos selectivos de iões, tem demonstrado, nos últimos anos, ser uma técnica de doseamento, com interesse para o controlo de produtos orgânicos [25-32], nomeadamente os de interesse farmacêutico [25,27,28,30], e ainda, para o caso do ácido salicílico e acetilsalicílico, tem sido considerada como mais uma metodologia alternativa para o doseamento destes compostos em formulações.

Um número significativo de eléctrodos sensíveis a anião salicilato surgem descritos na literatura, nos últimos tempos [33-58], e alguns deles são utilizados para o doseamento daquele anião em formulações constituídas por ácido salicílico ou acetilsalicílico [33,34,37-39].

Entre os diferentes eléctrodos selectivos descritos para o anião salicilato [33-58], e segundo a classificação corrente da IUPAC, uns são constituidos por membranas cristalinas heterogéneas [33,34], outros são eléctrodos de substracto de enzima [35,36], cuja aplicação, neste caso, se restringiu ao

doseamento de salicilato em soro sanguíneo e por último, e na maioria dos casos, enquadram -se no grupo dos eléctrodos de condutor móvel [36-44,46-56], com permutador carregado [37-40,42-44,46,48-56] ou não carregado [41,47].

Não se tecerão comentários acerca dos eléctrodos de substracto de enzima [35,36], ou mesmo dos de membrana cristalina heterogénea [33,34], por não fazer sentido qualquer comparação com o tipo de eléctrodos desenvolvidos neste trabalho. Contudo, a sua referência é feita com o objectivo de demonstrar que a solução aqui explorada é aquela que também tem sido considerada como sendo a mais promissora.

Em relação aos eléctrodos para salicilato com sensor iónico na forma líquida, as tentativas efectuadas por alguns autores, com êxito limitado, utilizando, na sua preparação, condutores móveis não carregados [41,47], nem sempre foram bem sucedidas já que, se por um lado obtinham boas características de selectividade, por outro as unidades apresentavam algumas deficiências, nomeadamente reduzida reprodutibilidade, tempos de resposta longos e, sobretudo, tempos de vida curtos.

Contudo, os trabalhos que se desenvolveram sobre a preparação de unidades com sensor iónico não imobilizado, ou sobre eléctrodos cuja membrana integrava um condutor iónico carregado, independentemente do tipo de construção que utilizavam, foram, de um modo geral, diversificados e pouco coerentes.

A utilização, de compostos orgânicos normalmente utilizados como indicadores ácido base (cristal violeta) [34,54,56], complexos metálicos derivados da fenantrolina [54] ou nitron [37], como extractores iónicos, dissolvidos em nitrobenzeno [37,54-56], para a preparação das membranas, ou ainda o emprego da membrana sensora não imobilizada [37,54-56], resultou em unidades de pouca reprodutibilidade, reduzida selectividade e com tempos de vida curtos.

A opção feita por outros autores que utilizaram sais de amónio

quaternário para a preparação de sensores [38,39,40,42-44,48,53], nem sempre recaiu no composto mais adequado, desaproveitando as excelentes capacidades extractivas oferecidas por aquele tipo de compostos em relação a outros permutadores aniónicos [59]. O uso, em muitas situações, de sais de amónio quaternário de cadeia curta [38,42,43,49-53], associado à utilização de solventes de deficientes capacidades plastificantes [42-44.48,50], deu, como origem a eléctrodos de elevados limites de detecção e de resposta linear, má reprodutibilidade e tempos de vida curtos .

Nos casos em que a construção de eléctrodos de salicilato envolvia a utilização de membranas com o sensor iónico na forma líquida [39,43,44,48-50] ou mesmo quando se encontrava imobilizado em PVC, utilizava-se uma solução de referência interna [40,53] originando unidades onde a falta de reprodutibilidade se associava a um reduzido tempo de vida. E até mesmo no caso em que a associação de tetraoctilamónio com ortonitrofeniloctiléter foi demonstrada ser a mais conveniente para a preparação de sistemas sensores para eléctrodos sensíveis a salicilato, fornecendo unidades genericamente mais selectivas e mais sensíveis [40], a opção, feita pelos seus autores relativamente ao processo de construção, conduzia a unidades cuja utilidade analítica se tornava limitada.

Da análise efectuada, sobre os diversos problemas apresentados pelos eléctrodos de salicilato, anteriormente descritos, e sobretudo com base nas experiências efectuadas por alguns autores sobre a influência de diferentes solventes mediadores nas características gerais de funcionamento de eléctrodos de salicilato que utilizavam sais de amónio como permutadores iónicos [40], propusemo-nos construir eléctrodos, sensíveis aquela espécie aniónica, utilizando, como sistema sensor, o tetraoctilamónio dissolvido em ortonitrofeniloctiléter, imobilizando-o em PVC e aplicando-o directamente sobre um condutor sólido. Deste modo, visava-se, por um lado, reduzir os problemas mecânicos com origem na utilização do sensor na forma líquida ou do uso de uma solução e eléctrodo de referência internos e, por outro, ao

utilizar o tetraoctilamónio dissovido em ortonitrofeniloctiléter, procurar obviar os inconvenientes resultantes da utilização de sais de amónio de cadeia curta dissolvidos em mediadores com deficientes características plastificantes.

5.2 - Parte Experimental.

5.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos.

A avaliação sistemática das características gerais de funcionamento dos eléctrodos foi realizada usando o equipamento especificado anteriormente (Cap.2). Os potenciais dos eléctrodos sensíveis ao anião salicilato, foram medidos usando como referência, eléctrodos de dupla junção com sulfato de potássio 0,033 M no compartimento exterior. A escolha deste eléctrólito justificou-se pela reduzida interferência do anião sulfato nos eléctrodos em estudo (ver Tabela 5.3.5.1).

5.2.2 - Reagentes e soluções.

As soluções usadas na avaliação dos eléctrodos foram obtidas por pesagem e diluição rigorosa de salicilato de sódio. As menos concentradas prepararam-se diariamente, por diluições também rigorosas da solução anterior.

Como ajustador de força iónica, em todos os ensaios de avaliação dos eléctrodos, utilizou-se uma solução de sulfato de potássio com concentração igual a 0,033 M, pelas mesmas razões que justificaram o uso deste electrólito no compartimento exterior dos eléctrodos de referência de dupla junção.

Nos doseamentos efectuados por potenciometria directa, em fórmulas farmacêuticas, as soluções apresentavam um pH igual a 8,6 e uma força iónica constante, mantidos à custa de uma solução $5x10^{-3}$ M em tetraborato de sódio e 0,033 M em sulfato de amónio.

Porque eram usados volumes iguais de amostra e de ajustador de pH e força iónica, as soluções deste eram preparadas inicialmente com concentrações duplas nos seus constituintes para que, após mistura com a amostra a dosear, resultassem concentrações, respectivamente de tetraborato de sódio e sulfato de potássio com o valor indicado anteriormente.

A escolha de tetraborato, como ajustador de pH, deveu-se ao facto deste composto permitir efectuar um ajuste de pH próximo de 9, que corresponde a uma zona de pH onde não se registam variações significativas nos valores de potencial dos eléctrodos com as correspondentes alterações de pH (ver Fig. 5.3.4.1) e, além disso, ser um fraco interferente (ver Tabela 5.3.5.1)

5.2.3 - Preparação do sistema sensor e das membranas para a construção dos eléctrodos.

O sistema sensor foi preparado, seguindo genericamente o procedimento indicado anteriormente (Cap.2), dissolvendo cerca de 0,2g de brometo de tetraoctilamónio, em cerca de 2,0g de ortonitrofeniloctiléter. A agitação da solução orgânica com a solução aquosa de salicilato de sódio 0,1 M, originou, no final, uma solução composta, respectivamente por 10% (percentagem em massa) de salicilato de tetraoctilamónio e 90% de ortonitrofeniloctiléter.

Uma quantidade da solução sensora correspondente a cerca de 70%, foi imobilizada em PVC, conforme o descrito anteriormente (Cap.2), resultando membranas cuja composição era de 6,9%, 63,1% e 30,0%, respectivamente em sal de amónio quaternário, ortonitrofeniloctiléter e PVC.

5.2.4 - Construção dos eléctrodos de salicilato.

Os eléctrodos foram preparados segundo a metodologia descrita no Cap. 2, depositando a membrana sensora, cuja composição se indicou em 5.2.3, directamente sobre um suporte condutor constituído por uma mistura de araldite e grafite.

Após aplicação e secagem da membrana, os eléctrodos foram colocados a condicionar numa solução de salicilato de sódio 0,1 M e nela mantidos entre ensaios.

Verificou-se, no entanto, ao longo do trabalho, que as unidades mantidas ao ar durante os ensaios e condicionadas em salicilato de sódio 0,1 M, cerca de 15 minutos antes da realização dos mesmos, forneciam resultados comparáveis aos obtidos com unidades que eram conservadas contínuamente naquela solução.

5.2.5 - Preparação das amostras das formulações farmacêuticas cujo conteúdo em ácido salicílico e acetilsalicílico se pretendia determinar.

Os comprimidos de ácido acetilsalicílico, cujo teor se pretendia determinar, eram previamente triturados em almofariz. Uma massa de produto, rigorosamente pesada e correspondendo a cerca de 50 mg (valor previsível) de ácido acetilsalicílico, era colocada num balão ao qual se adaptava um condensador de refluxo, procedendo-se ao seu aquecimento juntamente com cerca de 25,0 cm^3 de hidróxido de sódio 0,1 M. Esta quantidade e concentração de hidróxido de sódio usada era suficiente para a transformação quantitativa do ácido acetilsalicílico em salicilato e, por outro lado, não

originava um grande excesso de anião hidróxido, que obrigasse à utilização de um ajustador de pH com concentração mais alta da que foi utilizada (ver 5.2.2).

O aquecimento era efectuado durante 15 minutos, tempo considerado como suficiente para que a hidrólise fosse completa. Para ser seleccionado o tempo indicado, efectuou-se experimentação preliminar, utilizando amostras de ácido acetilsalicílico puro, com a mesma concentração que as anteriores e sujeitando-as ao mesmo procedimento, sendo, no final, doseados os produtos de hidrólise pela metodologia de referência proposta pela farmacopeia Britânica [5].

Após hidrólise, o produto era retomado quantitativamente e diluído a 100,0 cm^3 com água desionizada.

Para as análises potenciométricas efectuadas, um volume de 5,00 cm^3 da solução anterior era colocado num vaso (Cap. 2) onde os eléctrodos, indicador e de referência, eram imersos conjuntamente com igual volume da solução ajustadora de pH e força iónica, referida em 5.2.2.

Na preparação das formulações em que se visava dosear ácido salicílico, era pesada, rigorosamente, uma quantidade de produto correspondente a cerca de 30 mg de ácido salicílico (valor previsível) ao qual eram adicionados cerca de 5,00 cm^3 de hidróxido de sódio 0,1 M para a sua transformação no anião correspondente. A diluição era posteriormente ajustada de modo a que a concentração final de salicilato de sódio fosse igual a aproximadamente $5x10^{-3}$ M. Após esta prévia preparação, procedia-se, do modo indicado anteriormente para o ácido acetilsalicílico, misturando a amostra a analisar com tampão de pH e ajustador de força iónica para posteriormente se proceder à determinação potenciométrica.

Nos dois casos, o valor da diferença de potencial obtido era relacionado com os valores fornecidos pelo traçado de uma recta de calibração, para os mesmos eléctrodos, efectuada por adições sucessivas de volumes conhecidos de salicilato padrão, a uma solução diluída deste anião, nas mesmas condições

de ajuste de pH e força iónica, utilizadas para o doseamento das amostras.

Para as amostras contendo ácido salicílico e por não ser indicado, nas diferentes farmacopeias, uma metodologia de doseamento deste composto em formulações, a qualidade dos resultados obtidos foi avaliada, tendo em conta a razão de recuperação. Para isso, determinou-se potenciometricamente o valor da concentração de uma amostra preparada do modo indicado anteriormente e de uma outra à qual se adicionou previamente um volume conhecido (100 μL) de salicilato de sódio 0,1 M. O cálculo final da concentração do produto foi efectuado com base na relação entre a concentração de anião salicilato determinada por potenciometria directa e a concentração real do acréscimo adicionado a outra amostra.

5.3 - Resultados e sua Discussão.

5.3.1 - Parâmetros das curvas de calibração.

A avaliação sistemática das características gerais de funcionamento dos eléctrodos foi efectuada pelo traçado das rectas de calibração, executadas, entre aproximadamente $4x10^{-6}$ M e 10^{-1} M de soluções contendo o ião principal e o respectivo contra-ião ou em soluções cuja força iónica foi ajustada a 0,1 M com sulfato de potássio 0,033 M (Fig. 5.3.1.1).

Com o objectivo de avaliar o comportamento do eléctrodo quando na presença simultânea de anião sulfato e tetraborato (Fig. 5.3.1.1), efectuaram-se igualmente calibrações, em soluções tampão de pH e ajustadora de força iónica, com a composição indicada em 5.2.2. Pretendia-se, com este ensaio, verificar as alterações ocorridas nos respectivos parâmetros de calibração dos eléctrodos quando ensaiados em condições semelhantes às que seriam utilizadas nos doseamentos de modo a que estas pudessem ser ajustadas.

Os valores respeitantes aos diferentes parâmetros de calibração obtidos e indicados na Tabela 5.3.1.1 nas três condições de ensaio referidas, mostraram não existir alteração significativa nos correspondentes valores de limite inferior de resposta linear e limite prático de detecção, o que confirma a baixa interferência do anião sulfato e tetraborato nos eléctrodos (Tabela 5.3.5.1). Apenas se registou um decréscimo do declive das rectas de calibração quando os eléctrodos eram ensaiados em soluções de força iónica e pH ajustados, relativamente aos obtidos em soluções contendo apenas anião salicilato.

É dificil estabelecer uma comparação dos resultados obtidos com os apresentados na literatura para eléctrodos de condutor móvel sensíveis à mesma espécie aniónica [34,37-44,46-56], e com eles elaborar uma tabela

comparativa uma vez que, nalguns casos, são omissas muitas das condições experimentais em que foram determinados, e noutros, as determinações foram efectuadas em condições tão diversas que seria dificil relacioná-los. Esta falta de uniformidade, nas condições experimentais aquando da avaliação dos eléctrodos, reflete, na maioria dos casos descritos na literatura, objectivos difusos que terão motivado a preparação de novas unidades.

Apesar desta falta de uniformidade, quando se comparam os eléctrodos de salicilato por nós construídos com os de outros autores, sensíveis à mesma espécie aniónica, que usam, como permutador iónico um sal de amónio de cadeia curta [38,42,43,48-50,52,53] verifica-se uma melhoria significativa nos valores dos limites de resposta linear e detecção (cerca de uma década de concentração) bem como nos declives obtidos. Este resultado que apresenta uma certa semelhança com o obtido por Mitsana e colaboradores [39], para um eléctrodo de salicilato que usa o tetraoctilamónio como extractor iónico, é consequência da utilização de um sal de amónio com características menos solúveis do que os usados anteriormente para a preparação de unidades sensíveis ao mesmo anião [38,42,43,48-50,52,53].

Para o aumento da zona de resposta linear e do declive das rectas de calibração dos eléctrodos preparados, em relação a outros, sensíveis à mesma espécie aniónica e de condutor móvel [37-39,41-44,46-56], contribuiu a utilização de ortonitrofeniloctiléter como solvente mediador plastificante o que conjuga com os resultados obtidos por outros autores [40] que demonstraram ser este solvente, entre vários estudados, o que originava unidades sensíveis a salicilato, de membrana de PVC, com resposta linear mais alargada.

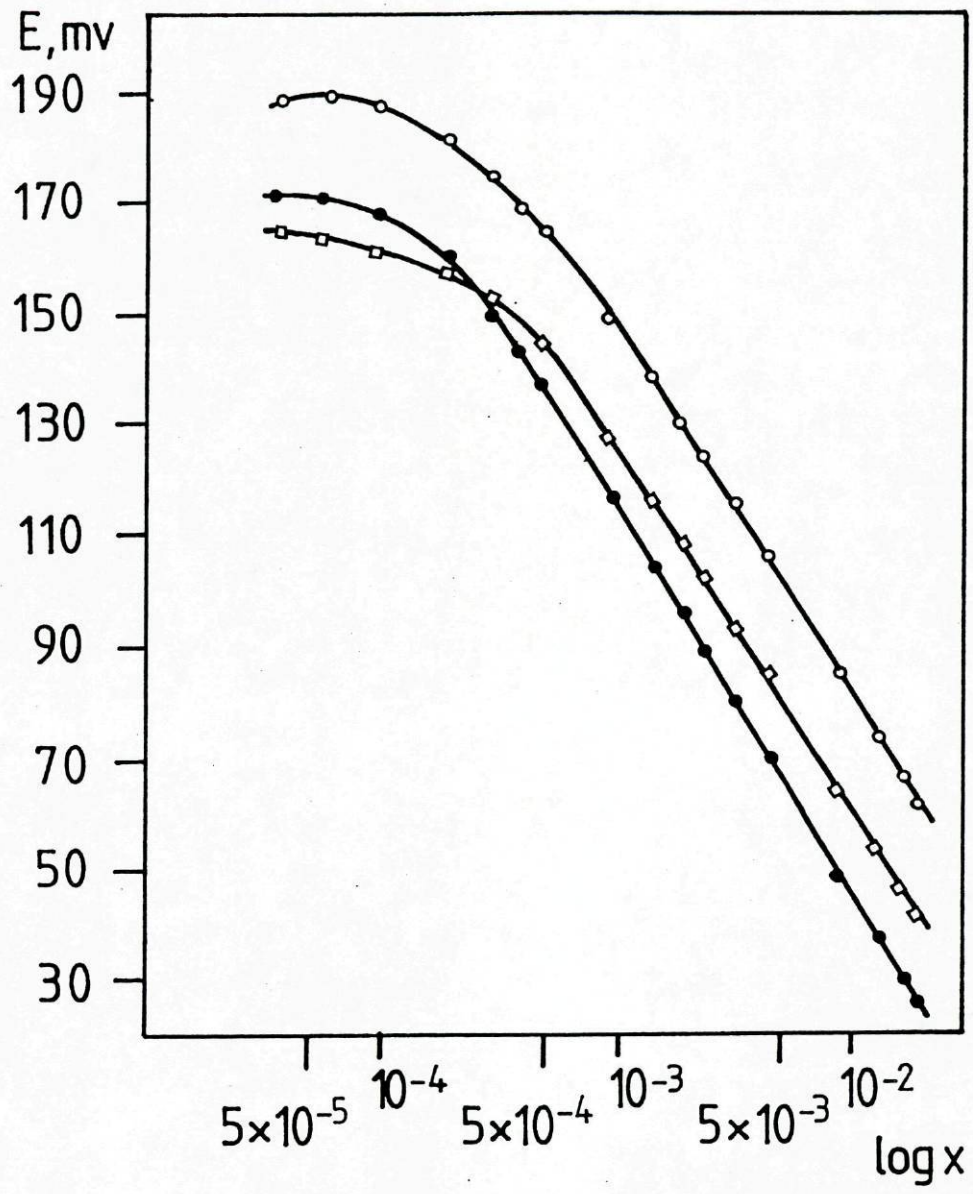


Figura 5.3.1.1- Curvas de calibração obtidas para um eléctrodo sensível a anião salicilato: (•) em soluções sem ajuste de força iónica; (¤) em soluções com a força iónica fixada a 0,1 M com K_2SO_4 0,033 M; (o) em soluções com a força iónica e o pH simultâneamente ajustados.

Tabela 5.3.1.1 - Parâmetros de calibração obtidos para eléctrodos do tipo convencional, sensíveis a anião salicilato [a].

Características		**Tipos de ensaios efectuados**		
		I [b]	**II** [c]	**III** [d]
L.I.R.L. (M)		$3x10^{-4}$	$5x10^{-4}$	$5x10^{-4}$
L.P.D. (M)		$1x10^{-5}$	$2x10^{-4}$	$2x10^{-4}$
Declive (-mv/dec.)		63±1	60±1	59±0,7
Tempo de resposta (s)		<30	<20	<20
Reprodutibilidade de potencial [e] (mv/dia)		~1	±1	±0,5
Tempo de vida operacional (dias)			>330	
Patamar de pH operacional [f]	10^{-1}M	6-12	—	—
	10^{-2}M	5,5-12	—	—
	10^{-3}M	4-12	—	—

a)-Valores correspondentes a duas determinações com três eléctrodos; b)-Determinações efectuadas em soluções puras de anião salicilato; c)-Determinações efectuadas em solução de K_2SO_4 0,033 M; d)-Determinações efectuadas em soluções com o pH e a força iónica simultâneamente ajustados; e)-Valores correspondentes à calibração de eléctrodos, três dias após construção; f)- Zonas de pH para o qual não se verificavam variações significativas do potencial dos eléctrodos quando as determinações eram efectuadas em soluções sem ajuste de força iónica.

5.3.2 - Reprodutibilidade dos potenciais e tempo de vida dos eléctrodos.

A reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos, ao longo do dia, foi avaliada efectuando calibrações, uma no princípio e outra no fim de um dia de trabalho, num intervalo de concentrações entre 10^{-4} M e $5x10^{-2}$ M em salicilato de sódio, em soluções com a força iónica ajustada ou ainda, com esta e o pH simultâneamente, ajustados.

O resultado da avaliação destas características de funcionamento dos eléctrodos, incluída na Tabela 5.3.1.1, indicaram-nos que as unidades construídas, apresentavam valores de reprodutibilidade próximos de 1mV, registando-se mesmo uma melhoria deste parâmetro quando o pH das soluções era mantido constante.

Embora para um grande número de eléctrodos de condutor móvel, sensíveis a salicilato, descritos na literatura [37-39,41-44,46-56], não seja referido nenhum valor para este parâmetro, no casos em que ele é indicado [38,42,43,46,-48,50,52,55] o valor apresentado pelos eléctrodos construídos encontra-se melhorado. Isto é uma consequência,da imobilização do sensor iónico em PVC o qual, para algumas unidades anteriormente descritas, se encontrava na forma líquida [43,46,48,50,55] e, sobretudo, do tipo de sistema sensor utilizado na preparação dos eléctrodos.

A qualidade dos resultados obtidos para este parâmetro, com eléctrodos de suporte epoxídico com grafite, relativamente a unidades de fio recoberto, sensíveis a salicilato [42], destaca-se, na perspectiva de utilização das unidades em ensaios por potenciometria directa, uma vez que elimina a necessidade de recorrer a calibrações sistemáticas.

Os eléctrodos de salicilato mantiveram-se em funcionamento, sem se registarem alterações significativas no seu modo de funcionamento, durante pelo menos onze meses, como o demonstram os resultados apresentados na

Tabela 5.3.2.1, para duas das unidades construídas e mantidas sob controlo durante esse período. Ao fim desse tempo, os declives das rectas de calibração baixaram para valores subnersntianos, a zona de resposta linear tornou-se mais reduzida e o tempo de estabilização dos potenciais para variações de concentração de anião salicilato aumentou significativamente.

Este excepcional tempo de vida para os eléctrodos, considerando que se trata de unidades de condutor móvel, e só comparável aos valores indicados para um eléctrodo de membrana cristalina heterogénea [33]. O resultado obtido poderá estar relacionado com o tipo de sensor iónico e a elevada percentagem deste na membrana, com a sua imobilização em PVC e sobretudo com a ausência de uma pressão hidrodinâmica que em determinadas unidades sensíveis a salicilato [38,40,41,53], estão presentes pela utilização de uma solução de referência interna.

Já em trabalho anterior [52], ao prepararem-se eléctrodos para salicilato com um tipo de construção semelhante à utilizada [60], em que a membrana de PVC formada por trioctilmetilamónio em dibutilflato era aplicada directamente sobre um suporte constituído por uma resina condutora, foram obtidos valores, para o tempo de vida dos eléctrodos, iguais a seis meses. Estes contrastavam com os indicados por outros autores (três meses)[38], que, ao utilizarem o mesmo tipo de sensor iónico, preparavam eléctrodos cujo processo de construção envolvia uma solução de referência interna. Os resultados alcançados, naquele trabalho, não eram, no entanto, comparáveis aos obtidos com os eléctrodos aqui apresentados, admitindo-se, naquele caso, uma maior probabilidade de perda de sensor por solubilização já que era utilizado como extractor iónico um sal de amónio de cadeia mais curta do que a do tetraoctilamónio.

Os bons resultados conseguidos confirmam os recentemente obtidos, num estudo comparativo [61] em que os autores construiram eléctrodos sensíveis a catião bário, com e sem solução de referência interna, usando ortonitrofeniloctiléter como mediador, e demonstraram que os segundos

apresentavam tempos de vida mais longos. Os mesmos autores [61], concluiram ser este facto uma consequência, por um lado, da utilização de um bom plastificante na preparação das membranas e por outro, da existência de uma só superfície de contacto com a solução, contrariamente ao que sucede nos eléctrodos com solução de referência interna para os quais se deve considerar ainda a contínua pressão hidrostática a que a membrana é sujeita.

A menor perda de sensor pela membrana que o tipo de construção proposto origina, é um dos aspectos importantes na perspectiva da utilização deste processo como metodologia de partida para a preparação de detectores potenciométricos tubulares (ver Cap.8) e também na da utilização sistemática dos eléctrodos em análises de rotina.

Tabela 5.3.2.1 - Reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos sensíveis a salicilato ao longo do seu tempo de vida [a].

	E_1			E_2		
Dias	**D** [b]	**E,mV** [c]	**R** [d]	**D** [b]	**E,mV** [c]	**R** [d]
1	64,2	120,1	0,9989	66,1	171,3	0,9999
1	65,7	105,8	0,9971	65,7	150,5	0,9994
4	62.1	104,6	0,9993	60,3	129,9	0,9991
4	61,0	103,7	0,9998	61,0	130,5	0,9997
7	60,5	102,8	0,9992	60,1	128,3	0,9997
7	60,9	102,5	0,9999	58,9	120,2	0,9993
16	60,8	116,3	0,9993	59,8	120,2	0,9995
23	59,3	109,3	0,9991	59,9	113,3	0,9998
41	59,9	91,8	0,9996	60,0	95,5	0,9998
77	60,1	127,8	0,9998	60,8	59,1	0,9992
94	60,2	111,5	0,9998	60,3	75,4	0,9992
112	60,4	102,9	0,9994	60,3	78,3	0,9996
157	61,1	107,3	0,9993	60,3	90,5	0,9998
199	60,8	100,5	0,9991	60,9	83,1	0,9999
210	60,7	95,3	0,9996	61,1	76,6	0,9999
250	60,5	58,9	0,9997	61,3	32,1	0,9977
270	59,7	33,1	0,9991	59,4	44,1	0,9989
300	57,4	34,7	0,9986	58,7	22,3	0,9990
310	53,2	-13,0	0,9933	55,3	14,5	0,9983
315	48,1	-50,8	0,9135	33,1	0,1	0,8990

a)-Valores obtidos de ensaios realizados em soluções com ajuste de força iónica; b)-Declive em mv/década (25°C); c)-Potencial (em mV) lidos directamente da curva de calibração, para a concentração de 10^{-2} M; d)-Coeficiente de correlação obtido pela regressão linear das curvas de calibração.

5.3.3 - Velocidade de resposta dos eléctrodos.

Esta característica, avaliada num intervalo de concentrações de ião salicilato compreendido entre 10^{-4} e $5x10^{-2}$ M, permitiu-nos concluir que os eléctrodos atingiam um potencial estável (± 0,2mV) num tempo inferior a 30 segundos, tempo este que inclui a resposta da célula electroquímica e a homogeneização da solução em que as determinações são realizadas (Fig. 5.3.3.1).

O curto tempo de resposta dos eléctrodos, comparado com aquele que é indicado para outras unidades de condutor móvel [37,41-43,46-50], deve-se, fundamentalmente, ao tipo de sistema sensor utilizado na preparação das membranas e à concentração relativa de plastificante presente. Quanto ao primeiro, e se compararmos com os resultados indicados para eléctrodos sensíveis a salicilato que usam um condutor neutro para a sua preparação [41,47], ele liga-se directamente com a maior ou menor resistência apresentada pelas membranas preparadas com condutores iónicos. Relativamente ao segundo, os resultados obtidos confirmam os anteriormente apresentados por Cattrall e colaboradores [62] que, ao prepararem eléctrodos sensíveis a catião cálcio, de fio recoberto, usando diferentes quantidades de solvente mediador na membrana, concluiram que o tempo de resposta aumentava com a diminuição da concentração de plastificante na membrana, já que se tornava reduzida a mobilidade iónica através dela.

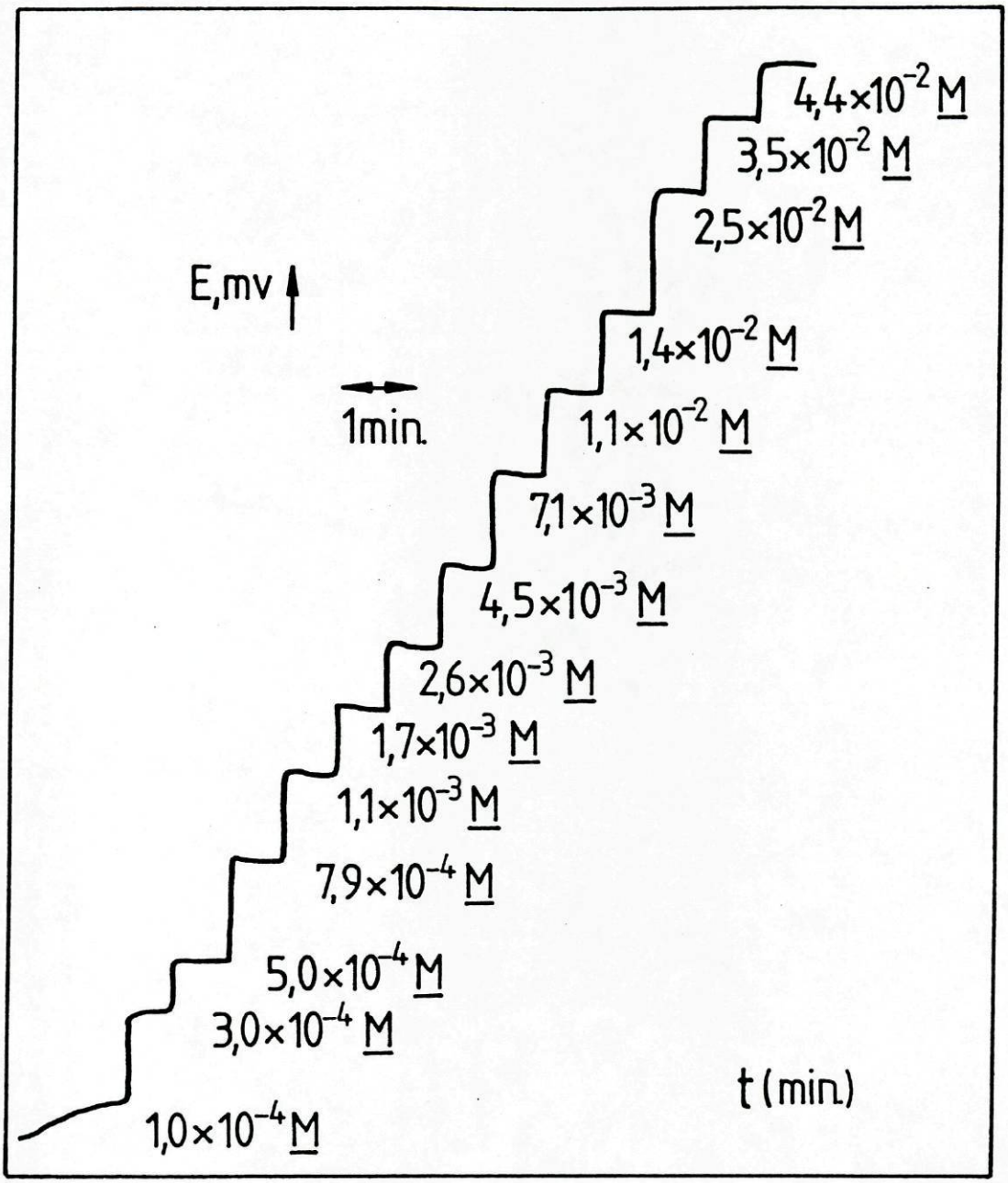


Figura 5.3.3.1 -Diagrama da velocidade de resposta para um eléctrodo de salicilato, obtido em soluções daquele anião, sem a força iónica ajustada.

5.3.4 - Efeito do pH no valor de potencial dos eléctrodos.

O efeito do pH na resposta dos eléctrodos foi avaliado pelo traçado dos diagramas de Reilley (Cap.2), em soluções que só continham salicilato de sódio com concentrações iguais a 10^{-1}, 10^{-2} e 10^{-3} M (Fig. 5.3.4.1).

As soluções em que se efectuaram os ensaios, eram aciduladas com ácido sulfúrico concentrado, usando-se hidróxido de sódio, também concentrado, para proceder à sua alcalinização (ver Cap.2).

Registou-se, para as soluções com concentrações de ião principal referidas, os correspondentes patamares operacionais dos eléctrodos (zona de pH para o qual o valor de potencial do eléctrodo não se alterava significativamente), cujas extensões dependiam da concentração de anião salicilato (Tabela 5.3.1.1).

Para valores de pH inferiores a 4-5 unidades, registou-se um decréscimo de potencial dos eléctrodos com a diminuição de pH, excepto para a concentração de 10^{-3} M onde o efeito era em sentido contrário.

O decréscimo de potencial registado poderá ser uma consequência de dois efeitos: para valores de pH ácidos, a presença de um grande número de iões protonados, aos quais o eléctrodo não é sensível, traduzir-se-ia numa subida do valor de potencial; contudo, a presença de grandes concentrações de anião sulfato resultantes do ácido utilizado para acidificar as soluções, bem como de hidrogenosulfato que, a estes níveis de pH parece existir, também em grandes quntidades [63,64], funciona como interferente, contribuindo, desta forma, para o decréscimo de potencial dos eléctrodos. A predominância do segundo efeito relativamente ao primeiro, produz os desvios apresentados na Figura 5.3.4.1 para as concentrações de anião salicilato iguais a 10^{-1} e 10^{-2} M.

Para valores de concentração iguais a 10^{-3} M, a formação de anião protonado, que ocorre neste caso para valores de pH mais alcalinos [44], predomina em relação à presença de interferentes (sulfato e hidrogenosulfato),

uma vez que, também eles, existem em menor concentração.

Apesar dos efeitos apresentados pelos eléctrodos em zonas de pH ácido, o patamar operacional é bastante mais extenso quando comparado com o indicado para outras unidades sensíveis à mesma espécie aniónica de condutor carregado [37-39,48,52], para as quais são referidos zonas operacionais com extensões que não excedem as 3-4 unidades de pH.

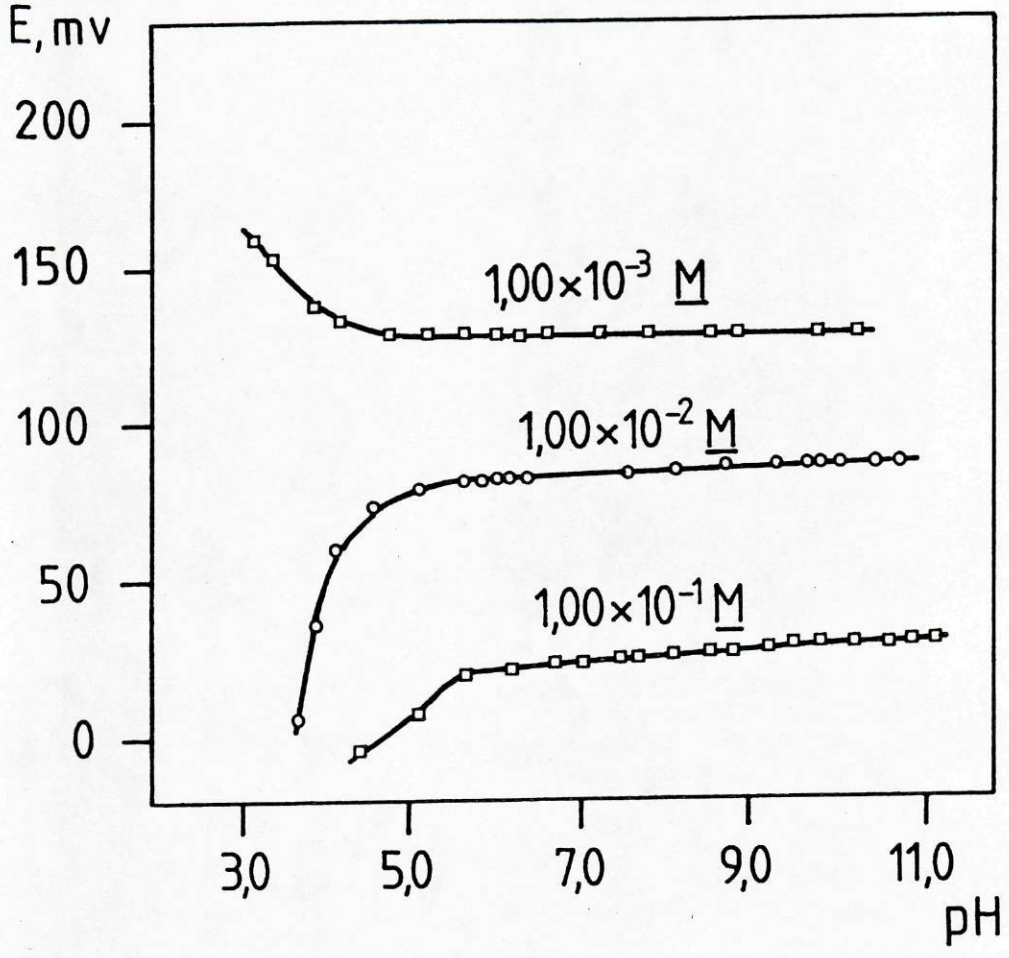


Figura 5.3.4.1 - Diagramas da variação de potencial com o pH das soluções, para eléctrodos de salicilato, ensaiados em soluções de ião principal a diferentes concentrações.

5.3.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos.

Foram determinados os coeficientes de selectividade potenciométricos, em relação a alguns aniões, pelo método das soluções separadas (Cap.2), para concentrações de ião principal e interferente iguais a 10^{-1}, 10^{-2} e 10^{-3} M, cujos valores se apresentam na Tabela 5.3.5.1.

Na Tabela 5.3.5.2 são referidos os valores deste parâmetro para os eléctrodos de suporte epoxídico condutor, comparados com os apresentados na literatura para algumas unidades sensíveis à mesma espécie aniónica [37-40.42.43,48,52,54]. A comparação só pode ser feita com algumas reservas uma vez que os referidos autores recorrem a diferentes processos de cálculo para a sua determinação e efectuam os ensaios a concentrações diferentes das que foram utilizadas neste trabalho. Contudo, poder-se-á afirmar, à parte das diferenças inerentes às condições experimentais em que foram realizados os ensaios, que os eléctrodos construídos apresentavam melhor selectividade face aos interferentes estudados do que os referidos anteriormente na literatura [37-40.42.43,48,52,54]. Esta situação decorre do tipo de sistema sensor usado na preparação dos eléctrodos (sal de amónio quaternário e solvente mediador), uma vez que é a associação destes dois compostos e a proporção relativa de cada um deles que condiciona, por um lado, a sequência de selectividade para os eléctrodos de condutor móvel e, por outro, o grau de interferência das espécies em solução.

Tabela 5.3.5.1 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) dos eléctrodos construídos [a].

Interferente	Concentração (M)		
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
Cloreto	-0,93 ± 0,21	-1,87 ± 0,17	-2,74 ± 0,13
Nitrato	-0,57 ± 0,07	-0,96 ± 0,05	-1,36 ± 0,04
Sulfato	-2,55 ± 0,11	-2,73 ± 0,05	-3,26 ± 0,09
Acetato	-1,80 ± 0,26	-2,71 ± 0,23	-2,98 ± 0,31
Nicotinato	-1,93 ± 0,37	-3,09 ± 0,35	-3,49 ± 0,31
Tetraborato	-2,47 ± 0,07	-2,65 ± 0,05	-2,99 ± 0,04

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações efectuadas com três eléctrodos.

Tabela 5.3.5.2 - Tabela comparativa dos valores de coeficientes de selectividade potenciométricos para os vários eléctrodos de condutor móvel, sensíveis a salicilato, descritos na literatura.

Interferentes	**Referências**									
	E_{SAL}[a)]	**[37]**[b)]	**[38]**[c)]	**[39]**[c)]	**[40]**[c)]	**[42]**[c)]	**[43]**[c)]	**[48]**[c)]	**[52]**[b)]	**[55]**
Cloreto	-2,7	-2,9	-1,5	-4,0	—	<-3,0	<-3	-2,4	-2,7	-4
Nitrato	-1,4	-1,1	-1,0	<-1,4	1,4	-0,4	-1,3	-1,3	-1,7	—
Sulfato	-3,3	-2,5	-2,7	<1,4	-1,7	-3,0	-2,2	-3,0	-1,8	—
Acetato	-2,9	-2,1	<2,7	<1,4	—	—	—	-2,5	-3,0	—
Tetraborato	-3,0	-1,4	-2,3	—	—	—	—	—	—	—

a)-E_{SAL}-Eléctrodo com sensor de salicilato de tetraoctilamónio em ortonitrofeniloctiléter; b)-Determinações efectuadas pelo método das soluções separadas; c)-Determinações efectuadas pelo método das soluções misturadas.

5.3.6 - Doseamento de salicilato em formulações farmacêuticas.

As determinações por potenciometria directa com o eléctrodo de salicilato foram efectuadas em formulações farmacêuticas contendo ácido acetilsalicílico e ácido salicílico, cuja preparação das amostras se referiu em 5.2.5.

Incluem-se na Tabela 5.3.6.1 os resultados obtidos na análise de ácido acetilsalicílico em comprimidos, por potenciometria (duas determinações com três amostras), comparados com os determinados pelo processo de referência, sugerido na farmacopeia Britânica [5], exprimindo-se o conteúdo dos mesmos em percentagem em massa de salicilato.

Para as formulações que continham ácido salicílico como princípio activo, para a quais a farmacopeia Britânica, como ficou referido anteriormente, não prevê uma metodologia de doseamento em formulações, a qualidade dos resultados foi avaliada determinando a razão de recuperação, que era igual a 98,9 ±2,0% (% em massa) em salicilato.

Os valores apresentados na Tabela 5.3.6.1, referentes às determinações potenciométricas realizadas e aos obtidos pelo processo de referência, estão em boa concordância, sendo de assinalar uma maior precisão dos resultados fornecidos pelas determinações potenciométricas do que a conseguida pela metodologia proposta pela farmacopeia Britânica.

Tabela 5.3.6.1 - Comparação dos valores obtidos (percentagem de salicilato expressa em massa) na determinação de ácido acetilsalicílico em comprimidos, por potenciometria directa e pelo método de referência. (M.R) [a].

Fórmula Farmacêutica	**Potenciometria**	**M.R.**
Aspirina Bayer	85,3 ± 0,8	84,0 ± 1,0
Toldex Retard	93,1 ± 2,0	93,7 ± 2,0
Salicilyna	83,6 ± 1,0	83,7 ± 0,6
A. A. S.	92,6 ± 2,0	91,2 ± 2,0
Toldex	70,7 ± 0,9	72,8 ± 1,6

a)-Valores correspondentes à média e desvio padrão para três determinações com três amostras diferentes do mesmo produto.

5.4 - Conclusões.

Por tudo o que ficou indicado ao longo deste capítulo, poderemos concluir que foi possível melhorar as características gerais de funcionamento dos eléctrodos de salicilato relativamente aos descritos anteriormente na literatura para a mesma espécie aniónica.

Contribuiu para essa melhoria o uso de um sal de amónio quaternário, de elevado peso molecular (tetraoctilamónio), a sua associação com um solvente mediador de boas características plastificantes (ortonitrofeniloctiléter), a imobilização da membrana sensora e a eliminação da solução de referência interna nos eléctrodos por aplicação directa da membrana sobre um suporte condutor.

O uso do sistema sensor referido forneceu eléctrodos com zona de resposta linear mais ampla, melhores selectividades e maior tempo de vida que as unidades anteriormente descritas. Por outro lado, a eliminação da solução de referência interna provou trazer vantagens relativamente à estabilidade, reprodutibilidade e durabilidade dos eléctrodos.

Estas melhorias globais favoreceram a aplicação analítica dos eléctrodos em doseamentos potenciométricos uma vez que dispensavam calibrações repetidas dos mesmos, tornando as determinações mais rápidas e precisas. Nos casos em que a aplicação dos eléctrodos foi efectuada no doseamento de produtos farmacêuticos [33,34,37-39], os valores obtidos apresentam-se genericamente mais precisos que os indicados nos trabalhos anteriores [33,34,37-39].

5.5 - Referências Bibliográficas.

[1]-Goodman e Gilman, *The Pharmacological Basis of The Therapeutics*, The Macmillan Company, New York, (1960)pag. 281.

[2]-F. Brandão e J.G. Monteiro, "Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas". *Manual de Farmacologia e Farmacoterapia, Porto Editora*, Lisboa, (1987)pag.169.

[3]-C. A. Kelly, *J. Pharm. Sci.*, **59**, 1053 (1970).

[4]-*USP Pharmacopeia*, U.S.Pharmacopeial Convention Inc., Rockville M.D., pag 77, (1985).

[5]-*British Pharmacopeia*, H.M.S.O., London, pag. 733 (1980).

[6]-G. Graham e M. J. Rowland, *J. Pharm. Sci.*, **61**, 1219 (1972).

[7]-Y. K. Tam, D. S. L. An e F. S. Abbott, *J. Chromatogr.*, **174**, 239 (1979).

[8]-J. N. Buskin, R. A. Upton e R. L. Williams, *Clin. Chem.*, **28**, 1200 (1982).

[9]-R. D. Kirchhoefer e W. E. Juhl, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 548 (1980).

[10]-R. N. Galante, A.J. Visalli e W.M. Grim, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 195 (1984).

[11]-J.D. Weber e J.Levine, *J. Pharm. Sci.*, **55**, 78 (1966).

[12]-J. Levine e J.D. Weber, *J. Pharm. Sci.*, **57**, 631 (1968).

[13]-D.E. Guttman e G.W. Salomon, *J. Pharm. Sci.*, **58**, 120 (1969).

[14]-R. G. Baum e F.F.Cantwell, *J. Pharm. Sci.*, **67**, 1066 (1978).

[15]-M. Furman e L. Firberg, *J. Pediatr.*, **70**, 287 (1967).

[16]-J. G. Nikelly, *Anal. Chem.*, **36**, 2248 (1964).

[17]-R.C. Reed e W.W. Davis, *J. Pharm. Sci.*, **54**, 1533 (1965).

[18]-N. Shane e R. Stillman, *J. Pharm. Sci.*, **60**, 114 (1971).

[19]-P. Mazzeo, M.G. Quaglia e F. Segnalini, *J. Pharm. Pharmacol.*, **34**, 470 (1982).

[20]-M. Maniel e M. Stiller, *Anal. Chem.*, **48**, 712 (1976).

[21]-M. Kleinerman, *Anal. Lett.*, **10**, 205 (1977).

[22]-C.I. Miles e G.H. Schenk, *Anal. Chem.*, **42**, 656 (1970).

[23]-N. Shane e D. Miele, *J. Pharm. Sci.*, **59** , 397 (1970).

[24]-C.L. Keegan, F. Ungemach, J. Simpson e A. Aden, *Clin. Chem.*, **31**, 942 (1985).

[25]-V.V. Cosofret, *Ion Select. Electrode Rev.*, **2**, 159 (1981).

[26]-V.V. Cosofret e R.P. Buck, *Ion Select. Electrode Rev.*, **6**, 59 (1984).

[27]-Z.Z-Rang e V.V. Cosofret, *Ion Select. Electrode Rev.*, **12**, 35 (1990).

[28]-K. Vytras, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **7**, 789 (1989).

[29]-V.V. Cosofret, *Membrane Electrodes in Drug-Substances Analysis*, Pergamon Press, Oxford (1982).

[30]-T.S. Ma e S.S.M. Hassan, *Organic Analysis Using Ion Selective Electrodes*, Academic Press, London (1982).

[31]-G.E. Baiulescu e V.V. Cosofret, *Application of Ion-Selective Membrane Electrodes in Organic Analysis*, Ellis Harwood, Chichester (1977).

[32]-K. Vytras, *Ion Select. Electrode Rev.*, **7**, 77 (1985).

[33]-X. W-Zhen, S. J-Lin e H. J-Hua, *Proc. of the 2nd Meeting on Chemical Sensors*, Bordéus, Comunicação 5 - 07 (1986).

[34]-W. H. Chan, M.S. Wong e C.W. Yip, *J. Chem. Ed.*, **63**, 915 (1986).

[35]-T. Fonong e G.A. Rechnitz, *Anal. Chim. Acta*, **158**, 357 (1984).

[36]-M.A.N. Rahni, G.G. Guilbault e G.N. Oliveira, *Anal. Chim. Acta*, **181**, 219 (1986).

[37]-S.S. M. Hassan e M.A. Hamada, *Analyst*, **113**, 1709 (1988).

[38]-K.K. Choi e K.W. Fung, *Anal. Chim. Acta*, **138**, 385 (1982).

[39]-A. Mitsana-Papazoglou, E.P. Diamandis e T.P. Hadjiioanou, *Anal. Chim. Acta*, **159**, 393 (1984).

[40]-G. Pethó, *5th Symposium on Ion Selective Electrodes*, Matrafured, pag. 519 (1988).

[41]-N. A. Chaniotakis, S. B. Park e M. E. Meyerhoff, *Anal. Chem.*, **61**, 586 (1989).

[42]-H. James, G. Carmack e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **44** , 856 (1972).

[43]-C.J. Coetzee e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **40**, 2071 (1968).

[44]-W.H. Haynes e J.H. Wangenknecht, *Anal. Lett.*, **4**, 491 (1971).

[45]-R.W. Hendler, H.S. Oruganti, R.I. Shrager, D.C. Songco e W.S. Frianf, *Rev. Sci. Instrum.*, **54**, 1749 (1983).

[46]-D. Midgley, *Anal. Chim. Acta*, **182**, 91 (1986).

[47]-Q. Chang e M.E. Meyerhoff, *Anal. Chim. Acta*, **186**, 81 (1986).

[48]-T. Shigematsu, A. Ota e M. Matsui, *Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ.*, **51**, 268 (1973).

[49]-E. Hopirtean e E. Veress, *Rev. Roum. Chim.*, **23**, 273 (1978).

[50]-C.J. Coetzee e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **41**, 1128 (1969).

[51]-K.J. Hellingwerf e P.Hoorn, *J. Biochem. Biophys. Methods*, **11**, 83 (1985).

[52]-J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro, A.A.S.C. Machado e A.M.R. Silva, *Rev. Port. Farm.*, **37**, 11 (1987).

[53]-N. Ishibashi, A. Jyo e K. Matsumoto, *Chem. Lett.*, 1297 (1973).

[54]-K. Kina, N. Maekawa, N. Ishibashi, *Bull. Chem. Soc. Japn.*, **46**, 2772 (1973).

[55]-J. Senkyr e J. Petr, *Conference on Ion Selective Electrodes*, E. Pungor (ed.), Budapeste (1977), Elsevier, Amsterdam, (1978) pag. 559.

[56]-J. Senkyr, J. Petr, I. Kolowos e G. Werner, *Math-Naturwiss R.*, **35**, 62 (1986).

[57]-E.A. Materova, S.A. Orchinnicova e S.A. Smekalova, *Electrokhimiya*, **14**, 71 (1978).

[58]-E.A. Materova, T.Ya Bart, V.S. Karaven e V.Yn Andreev, *Ionnyi Obmen Ionometriya*, **4**, 120 (1984).

[59]-R. Qin Yu, *Ion Select. Electrode Rev.*, **8**, 153 (1986).

[60]-J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Analyst*, **111** , 799 (1986).

[61]-G.J. Moody, J.D.R. Thomas, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado *Analyst*, **113**, 1023 (1988).

[62]-R.W. Cattrall e D.M. Drew, *Anal. Chim. Acta*, **76**, 269 (1975).

[63]-Z. Malá, J. Senkyr, *Talanta*, **35**, 591 (1988).

[64]-J. Senkyr e Z. Malá, *J. Electroanal. Chem.*, **233** , 267 (1987).

CAPÍTULO 6

ELÉCTRODOS SENSÍVEIS AOS ANIÕES 5,5-DIETILBARBITURATO E 5-ETIL-5-FENILBARBITURATO

6-ELÉCTRODOS SENSÍVEIS AOS ANIÕES 5,5-DIETILBARBITURATO E 5-ETIL-5-FENILBARBITURATO.

6.1 - Introdução.

Uma outra classe de compostos com interesse em farmácia que quisemos comtemplar quando da realização deste trabalho, foi o dos barbituratos, sobretudo a dos derivados 5,5'-dissubstituídos do malonilureia.

Este grupo que constitui a maioria dos derivados do ácido barbitúrico, é usado vulgarmente em prática clínica, como depressores do sistema nervoso central.

O ácido 5,5-dietilbarbitúrico, mais vulgarmente conhecido por barbital ou veronal, constitui o primeiro membro deste grupo de compostos, sendo introduzido em farmácia a partir de 1903 [1]. Embora o seu uso esteja hoje em dia limitado relativamente a outros compostos barbiturados, pela elevada dose e tempo necessários para o aparecimento dos efeitos hipnóticos desejáveis, a sua comercialização ainda ocorre, embora em escassas formulações.

O mesmo não pode ser afirmado em relação ao ácido 5-etil-5-fenilbarbitúrico (fenobarbital ou luminal) que continua a ser prescrito em diversas formulações, utilizadas para o tratamento da epilepsia e convulsões.

Os métodos oficiais descritos [2-5] para a análise destes produtos em

formulações, baseiam-se em processos de extracção com solventes orgânicos, envolvendo uma série de manipulações [2], doseamentos ácido-base em meio não aquoso [3,5], determinações espectrofotométricas [4], sendo a maioria deles, bastante morosos, pouco sensíveis e consequentemente pouco precisos.

Também nestes caso têm sido propostas metodologias alternativas para o doseamento destes barbitúricos em produtos farmacêuticos, tendo sido referidos métodos voltamétricos com corrente alterna [6] ou diferencial de pulsos [7], fluorimetria [8,9] e fosforimetria [9], titulações ácido-base em meio aquoso [10] e não aquoso [11], bem como métodos potenciométricos com eléctrodos selectivos de iões [12-14]. Em relação a estes últimos, há mesmo autores que afirmam [13,14] ser este método vantajoso em relação às metodologias convencionais, pela rapidez e precisão dos resultados que oferecem, confirmando, uma vez mais, a utilidade analítica revelada pelos eléctrodos selectivos de iões na análise de produtos farmacêuticos [15-19].

Contudo, as unidades, cuja construção e avaliação foi referida até ao momento na literatura [13,14,20,21], não oferecem características suficientemente boas para que o doseamento potenciométrico dos barbitúricos em formulações se pudessem impor perante as metodologias que envolvem outros métodos instrumentais de análise. Por um lado, a utilização do sensor, na forma líquida [21], originava eléctrodos com deficientes características mecânicas, traduzindo-se estas em falta de estabilidade dos potenciais e de tempos de resposta longos. No entanto, quando autores como Carmack [13], Shen [14] e Covington [20] procuravam superar estas deficiências, imobilizando o sensor iónico em PVC, nem sempre os resultados se traduziam em melhorias significativas. A utilização, nalguns casos, de um extractor iónico de baixo peso molecular, como é o caso de Aliquat 336S [13,20], associado a um mau plastificante, como é o decanol [13,20], originava unidades com pouca sensibilidade [20] e falta de reprodutibilidade [13]. Se num caso particular a modificação do processo de construção, ou mais propriamente a substituição do suporte condutor para a membrana sensora, tornou possível

unidades mais reprodutíveis [20], o difícil processo de preparação dos eléctrodos limitava a sua utilização à maioria dos laboratórios.

Esta situação justificou o nosso interesse em estudar a viabilidade de melhorar, para estas espécies, não só as características dos eléctrodos, mas também procurar implementar um processo de construção que obviasse as deficiências mecânicas mostradas por aqueles que utilizavam a membrana na forma líquida [21], diminuísse o ruído eléctrico apresentado pelos clássicos eléctrodos de fio recoberto [13], ou facilitasse o modo de preparação das unidades [20].

Por essa razão, propusemo-nos utilizar um sal de amónio quaternário com peso molecular mais elevado que os usados por outros autores [13,20,21], (tetraoctilamonio), como um extractor iónico e um solvente mediador de boas características plastificantes, (ortonitrofeniloctiléter), para a preparação das membranas. O objectivo seria o de tentar melhorar certas características de funcionamento tais como o limite de detecção e de resposta linear, tempos de resposta e de vida. Por outro lado, ao construir unidades sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato [22] e 5 etil-5-fenilbarbiturato [23], onde fosse eliminada a solução de referência interna e a membrana fosse aplicada directamente sobre um suporte condutor [24], tentaríamos tornar o processo de construção mais simples, contribuindo igualmente para o melhoramento global de funcionamento dos eléctrodos.

6.2 - Parte Experimental.

6.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos.

Foi utilizada a aparelhagem anteriormente referida (Cap. 2) para a avaliação das características de funcionamento dos dois tipos de eléctrodos construídos. Usou-se, na determinação dos valores da diferença de potencial das unidades, um eléctrodo de dupla junção com uma solução de sulfato de potássio 0,033 M, no compartimento exterior. A escolha desta solução decorreu da baixa interferência registada para o anião sulfato nos eléctrodos de 5,5-dietilbarbiturato e 5-etil-5-fenilbarbiturato (ver Tabelas 6.3.5.1. e 6.3.5.2.).

6.2.2 - Reagentes e soluções.

As soluções mais concentradas, utilizadas em todos os ensaios, eram obtidas por pesagem rigorosa de 5,5-dietilbarbiturato de sódio e 5-etil-5-fenilbarbiturato de sódio e seguida de diluição desses sais em balão volumétrico. Todas as outras soluções, mais diluídas, foram obtidas por diluições rigorosas das primeiras.

Para ajustar a força iónica das soluções a um valor constante, utilizou-se, pelas razões já indicadas em 6.2.1, uma solução de sulfato de potássio 0,033 M.

O pH das amostras a analisar potenciometricamente foi ajustado a um valor correspondente a 9,6 unidades, cuja justificação se fará mais adiante, utilizando uma solução de tetraborato de sódio 0,1 M, previamente ajustada a um valor de pH igual a 9,6, com hidróxido de sódio.

6.2.3 - Preparação dos sistemas sensores e membranas dos eléctrodos.

Os sistemas sensores, usados na execução das membranas dos eléctrodos sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato e a 5-etil-5-fenilbarbiturato, foram preparados, permutando o brometo do sal de amónio com ião primário, a partir de uma solução aquosa do respectivo sal sódico (Cap. 2).

O sistema sensor, 5,5-dietilbarbiturato de tetraoctilamónio em ortonitrofeniloctiléter (sensor 6A), foi obtido dissolvendo cerca de 0,2 g de brometo de tetraoctilamónio, previamente recristalizado em cerca de 1,6 g de ortonitrofeniloctiléter. Após agitação desta solução orgânica com uma solução de 5,5-dietilbarbirurato de sódio 0,1 M e posterior separação das duas fases, resultou a solução sensora, cuja composição se indica na Tabela 6.2.3.1, que foi posteriormente utilizada na preparação das membranas (membrana 6A).

Na Tabela 6.2.3.1, indicam-se também as composições respectivamente de sal de amónio quaternário, solvente mediador e PVC presentes na membrana (membrana 6A).

Para a preparação do sistema sensor para 5-etil-5-fenilbarbiturato em ortonitrofeniloctiléter (sensor 6B), utilizou-se, para proceder à extração, respectivamente 0,3 g de brometo de tetraoctilamónio e 2,0 g de ortonitrofeniloctiléter que, após dissolução, foram agitados com 5-etil-5-fenilbarbiturato de sódio 0,1 M. Esta solução sensora, cuja composição se indica também na Tabela 6.2.3.1, foi utilizada para a preparação das respectivas membranas (membrana 6B), cuja composição dos seus constituintes se indica igualmente na Tabela 6.2.3.1.

Tabela 6.2.3.1 - Composição (percentagem em massa) dos vários constituintes dos sistemas sensores e membranas,utilizadas na preparação de eléctrodos de 5,5-dietilbarbiturato e 5-etil-5-fenilbarbiturato.

Componentes	**Sensor 6A**	**Memb. 6A**	**Sensor 6B**	**Memb. 6B**
5,5-dietilbarbiturato de tetraoctilamónio	13,6	9,4	____	____
5-etil-5-fenilbarbiturato de tetraoctil amónio	____	____	15,4	10,6
Ortonitrofenil-octiléter	86,4	59,6	84,6	58,4
PVC	____	31,0	____	31,0

6.2.4 - Preparação dos eléctrodos.

Os eléctrodos sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato e 5-etil-5-fenilbarbiturato foram preparados com as membranas, cujos detalhes de composição se referiram em 6.2.3, segundo a metodologia anteriormente descrita no Cap. 2.

No final da construção, os dois tipos de eléctrodos foram imersos numa solução 0,1 M do respectivo anião, onde se mantiveram a condicionar sempre que não se encontravam em uso.

6.2.5 - Preparação das amostras de formulações farmacêuticas cujo conteúdo em ácido 5-etll-5-fenilbarbitúrico se visava determinar.

Para a determinação de 5-etil-5-fenilbarbital em formulações, foram pulverizados cerca de 20 comprimidos do mesmo lote. Pesaram-se, rigorosamente, cerca de 150 mg de produto, sendo este posteriormente transferido quantitativamente para um balão de 100,0 cm^3 aos quais se adicionaram 5,0 cm^3 de hidróxido de sódio 0,1 M. Consistia esta operação na transformação completa de ácido 5-etil-5-fenilbarbitúrico, presente nos comprimidos, no respectivo sal de sódio. A diluição era posteriormente completada com uma solução tampão de tetraborato a pH = 9,6 (ver 6.2.2).

Foi escolhido este valor de pH uma vez que, para além de estar incluído na zona onde não se registavam variações significativas do potencial dos eléctrodos com o pH das soluções (Fig. 6.3.4.2), garantia a desprotonação do fenobarbital, sem, no entanto, sujeitar o eléctrodo, durante os doseamentos, a uma interferência elevada de anião hidróxido.

As determinações potenciométricas foram efectuadas sobre um volume de 5,00 cm^3 de amostra diluída, cuja preparação se descreveu anteriormente, e igual volume de sulfato de potássio 0,066 M. As medidas efectuadas eram precedidas da calibração dos eléctrodos, em soluções com diferentes concentrações de 5-etil-5-fenilbarbiturato de sódio, na presença de iguais concentrações de ajustadores de força iónica e pH.

As determinações potenciométricas, pelo método de adição, foram efectuadas, por razões práticas, sobre as tomas doseadas por potenciometria directa, adicionando um volume (V_X), correspondente a 100 μL de uma solução de 5-etil-5-fenilbarbiturato de sódio, com concentração conhecida (C_X), calculando-se, pelo modo descrito no Cap. 2, a concentração real do ião a determinar.

6.3 - Resultados e sua Discussão.

6.3.1 - Parâmetros das curvas de calibração dos eléctrodos.

Os parâmetros gerais de calibração dos eléctrodos construídos, foram determinados a partir do traçado repetido de curvas de calibração, numa gama de concentrações entre cerca de $2x10^{-6}$ M e 10^{-1} M, em soluções que continham apenas o ião principal e o respectivo contra-ião ou em soluções em que a força iónica era ajustada a 0,1 M com sulfato de potássio 0,033 M.

No caso particular dos eléctrodos sensíveis a anião 5-etil-5-fenilbarbiturato, que posteriormente seriam aplicados no doseamento deste composto em formulações, nas quais o pH e a força iónica deveriam ser ajustados, efectuaram-se, após determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos em relação a tetraborato, ensaios de calibração em soluções que continham tampão (ver 6.2.2) para avaliar, nestas condições, o comportamento dos eléctrodos e registar as alterações do seu funcionamento quando eram sujeitos à presença contínua de um interferente.

Nas Figs. 6.3.1.1 e 6.3.1.2 representam-se as curvas de calibração típicas, obtidas, respectivamente, para os eléctrodos sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato e 5-etil-5-fenilbarbiturato quando efectuadas nas condições de ensaio referidas.

Não se observou, para os dois tipos de eléctrodos construídos, nenhuma alteração significativa do seu comportamento quando as determinações eram efectuadas sem e com ajuste de força iónica (Tabelas 6.3.5.1 e 6.3.5.2), confirmando-se uma baixa interferência do anião sulfato nos eléctrodos referidos.

O ajuste de força iónica contribuiu, nos dois casos, para um aumento da estabilidade dos eléctrodos, sobretudo na zona de resposta não linear, uma

vez que, para estes níveis de concentração de ião principal, em que a condutibilidade iónica da solução era baixa, a presença do electrólito ajustador (sulfato de potássio) facilitava a mobilidade dos iões, contribuindo para um aumento da estabilidade das membranas.

Tanto quanto se julga saber, pela pesquisa bibliográfica efectuada, poucas referências sobre eléctrodos, sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato e 5-etil-5-fenilbarbiturato, foram encontradas na literatura. Das poucas características referidas pelos seus autores em relação a um eléctrodo de membrana líquida sensível a 5,5-dietilbarbiturato, utilizando cetilpiridinium como extractor iónico, dissolvido em nitrobenzeno [21], apenas se destacam os deficientes limites inferiores de resposta linear e especialmente o baixo declive das rectas de calibração (50 mV/década de concentração). As melhorias registadas nos eléctrodos de 5,5-dietilbarbiturato, por nós construídos, relativamente a estes parâmetros, advêm não só do tipo de extractor iónico (tetraoctilamónio) e do solvente mediador (ortonitrofeniloctiléter) utilizados, mas também da elevada percentagem do primeiro componente na membrana (Tabela 6.2.3.1), relativamente aos 0,05% usados na construção de um eléctrodo sensível à mesma espécie aniónica referido anteriormente [21]. Se, por um lado, a menor solubilidade do tetraoctilamónio, relativamente ao cetilpiridinium usado [21], favorece a diminuição dos limites inferiores de resposta linear e de detecção dos eléctrodos, por outro, a presença de uma maior concentração de extractor na membrana, contribui para uma diminuição da resistência eléctrica e, consequentemente, para um aumento da sensibilidade do eléctrodo [25].

Os ensaios executados com o eléctrodo de 5-etil-5-fenilbarbiturato, em meio tampão de tetraborato, mostraram um ligeiro aumento do limite inferior de resposta linear devido à presença simultânea de anião tetraborato e de hidróxido (ver coeficientes de selectividade potenciométricos para estas espécies). No entanto, o valor obtido nestas condições não afectava os doseamentos efectuados, uma vez que, por dispormos de sólidos bastante solúveis para a preparação das amostras sobre as quais recaíam as análises, e

ser possível, sem grande dificuldade, dispor-se das quantidades pretendidas, poder-se-iam preparar amostras com concentrações em 5-etil-5-fenilbarbiturato, superiores a $5x10^{-4}$ M. Este valor encontrava-se incluído na zona de resposta linear do eléctrodo quando, na calibração, era usado o ajustador de pH referido.

Mesmo na presença dos dois interferentes (os constituintes do tampão), e admitindo que as interferências são aditivas, o acréscimo, registado para o valor de limite inferior de resposta linear, era, apesar de tudo, inferior ao encontrado por outros autores [13] quando ensaiavam as unidades, por eles construidas, sensíveis a 5-etil-5-fenilbarbiturato, usando como sensor iónico Aliquat 336S em decanol, na presença exclusivamente de hidróxido de sódio.

Na Tabela 6.3.1.3 apresentam-se os valores de alguns parâmetros de calibração dos eléctrodos construídos, comparados com os indicados por outros autores para eléctrodos sensíveis a 5-etil-5-fenilbarbiturato [13, 14, 20].

Também neste caso são marcantes as melhorias conseguidas, sobretudo no que diz respeito aos limites de resposta linear, de detecção e declives das rectas de calibração.

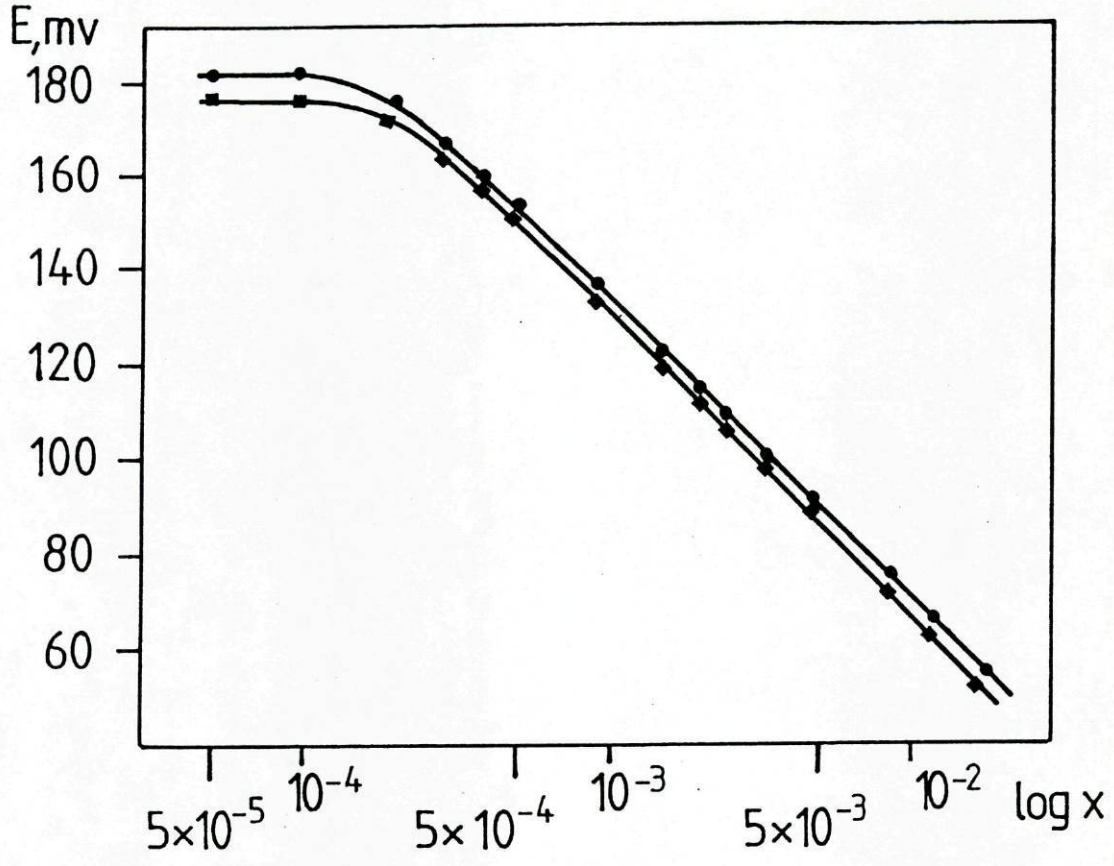


Figura 6.3.1.1 - Curvas de calibração para eléctrodos sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato em soluções (•) sem força iónica ajustada ou (■) com força iónica ajustada a 0,1 M.

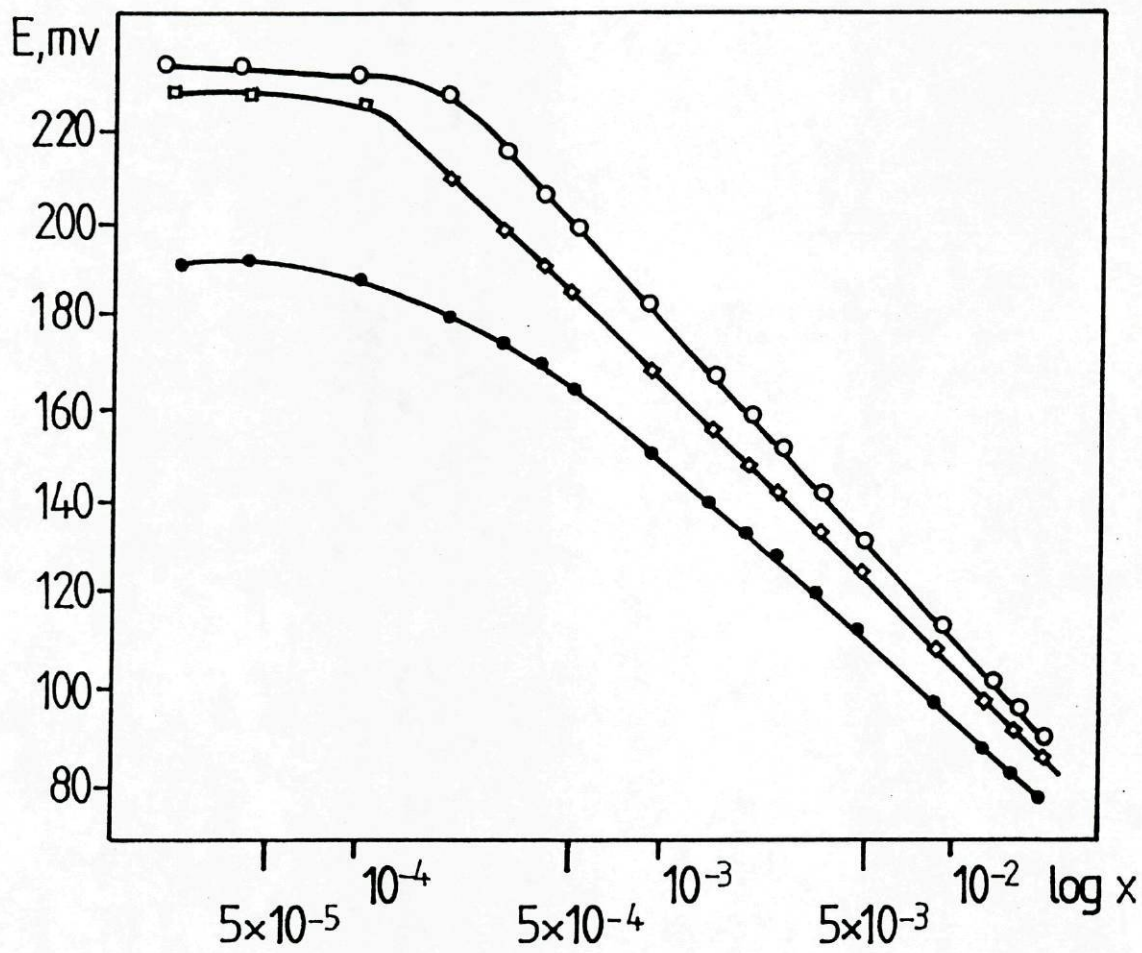


Figura 6.3.1.2 - Curvas de calibração para eléctrodos sensíveis a 5-etil-5-fenilbarbiturato em soluções (¤)sem a força iónica ajustada; (o) com a força iónica ajustada a 0,1 M; (•) em solução tampão de tetraborato de sódio a pH=9,6.

Tabela 6.3.1.1 - Características gerais das curvas de calibração dos eléctrodos de 5,5-dietilbarbiturato [a].

Características		I [b]	II [c]
LIRL (M)		$2,0 \times 10^{-4}$	$2,0 \times 10^{-4}$
LPD (M)		$1,2 \times 10^{-4}$	$9,0 \times 10^{-5}$
Declive (-mv/dec)		62 ± 1	$59,8 \pm 0,4$
Reprodutibilidade (mV/dia)		$\pm 0,5$	$\pm 0,3$
Patamar de pH	10^{-1} M	8,5-11,5	____
Operacional	10^{-2} M	8,0 -11,5	____
	10^{-3} M	8,03-11,5	____

a)-Valores correspondentes a duas determinações com três eléctrodos; b)-Ensaios efectuados em soluções puras de ião principal; c)-Ensaios efectuados em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M com K_2SO_4 0,033 M.

Tabela 6.3.1.2 - Características gerais das curvas de calibração para eléctrodos de 5-etil-5-fenilbarbiturato [a] .

Características		I [b]	II [c]	III [d]
LIRL (M)		$2,0 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-4}$	$4,9 \times 10^{-4}$
LPD (M)		8×10^{-5}	6×10^{-5}	6×10^{-5}
Declive (-mv/dec)		69,2 ± 0,9	60,7 ± 0,2	59,6 ± 0,3
Reprodutibilidade (mV/dia)		± 0,5	± 0,1	± 0,2
Patamar de pH	10^{-1} M	9,7-11	9-11,5	_____
Operacional	10^{-2} M	7,0 -11	8,8-11,5	_____
	10^{-3} M	8,0-11	8,5-11,5	_____

a)-Valores correspondentes a duas determinações com três eléctrodos; b)-Ensaios efectuados em soluções puras de ião principal; c)-Ensaios efectuados em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M com K_2SO_4 0,033 M; d)-Ensaios efectuados em solução tampão de tetraborato de sódio 0,1 M a pH 9,6.

Tabela 6.3.1.3 - Tabela comparativa das características gerais de resposta para eléctrodos, sensíveis a 5-etil-5-fenilbarbiturato.

Características	**[Ref.13]**	**[Ref.14]**[a)]	**[Ref.14]**[b)]	**[Ref..20]**	**Eléctrodo** [c)] **6A**	**Eléctrodo** [c)] **6B**
LIRL (M)	10^{-4}	$5x10^{-4}$	$7,9x10^{-4}$	10^{-4}	$2x10^{-4}$	$1,2x10^{-4}$
LID (M)	___	$2,2x10^{-4}$	2,5x10-4	___	$9,0x10^{-5}$	$6,0x10^{-5}$
Declive (-mv/dec)	57-57	57,1	56,6	57-59	59,8±0,4	60,7±0,2
Tempo. resp. (s)	<60	___	___	2	<20	<20
Reprod. (mv/h)	0,6	___	___	0,06	0,03	0,01
Tempo de vida (dias)	30	___	___	38	300	>200

a)-Eléctrodo cuja membrana sensora, à base de PVC, era constituída por hexadeciltrifenilfosfónio em n-decanol; b)-Eléctrodo cuja membrana sensora, à base de PVC, era constituída por hexadeciltrioctilamónio em n-decanol; c)-Valores correspondentes aos ensaios efectuados com eléctrodos de suporte epoxídico condutor, sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato (6A) e 5-etil-5-fenilbarbiturato (6B), em soluções com a força iónica ajustada.

6.3.2 - Velocidade de resposta dos eléctrodos.

Representam-se nas Figs. 6.3.2.1 e 6.3.2.2 os diagramas da variação de potencial dos eléctrodos, em função da variação da concentração da espécie principal em solução, respectivamente para as unidades sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato e 5-etil-5-fenilbarbiturato, efectuados de acordo com o procedimento descrito anteriormente (Cap. 2). Na Fig. 6.3.2.2 apresenta-se, adicionalmente e para efeitos de comparação, um outro diagrama, determinado com uma solução de 5-etil-5-fenilbarbiturato de sódio, cuja força iónica tinha sido previamente ajustada com sulfato de potássio 0,033 M.

Os valores obtidos permitiram-nos concluir que os dois tipos de eléctrodos apresentavam uma elevada velocidade de resposta, adquirindo um potencial estável (±0,2 mV) em cerca de 20 segundos quando se variava a concentração do ião principal no intervalo de resposta linear. Na zona de concentração incluída entre os limites inferiores de resposta linear e de detecção, a resposta era mais lenta, sendo necessário aguardar cerca de 1 a 2 minutos para que os eléctrodos apresentassem um potencial estável.

No caso do eléctrodo de 5-etil-5-fenilbarbiturato, quando ensaiado em soluções com força iónica ajustada, a velocidade de resposta era tão rápida que se poderia considerar que os eléctrodos, após a variação de concentração introduzida, apresentavam instantâneamente o potencial de equilíbrio.

Para ambos os eléctrodos (5,5-dietilbarbiturato e 5-etil-5-fenilbarbiturato) construídos, o valor deste parâmetro era inferior ao das unidades anteriormente descritas [13,14,20,21]. Relativamente ao eléctrodo de 5,5-dietilbarbiturato referido em [21], cujo sensor se apresentava imobilizado numa placa porosa, eram indicados tempos de resposta de 2 a 5 minutos para concentrações superiores a 10^{-3} M.

O valor desta característica, que assume aspectos de grande

importância quando os eléctrodos são aplicados a sistemas dinâmicos de fluxo, é dependente, nos eléctrodos de condutor iónico, de factores extrínsecos à membrana, nomeadamente do grau de agitação da solução onde estão imersos. Os valores obtidos para os tempos de resposta dos eléctrodos preparados, sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato, apresentavam-se melhorados quando comparados com os indicados para unidades com o sensor iónico suportado num material poroso, anteriormente descritas na literatura para a mesma espécie aniónica [21]. O PVC usado como material de suporte para o sensor na construção dos eléctrodos desenvolvidos facilitava, relativamente ao material poroso utilizado [21], uma mobilidade iónica maior na interface da membrana com a solução e, consequentemente, um aumento da velocidade de permuta.

Comparativamente com outros eléctrodos sensíveis a 5-etil-5-fenilbarbiturato, cuja membrana era de PVC [13, 20] e utilizavam, como sensor iónico, uma mistura de Aliquat 336S e decanol, as unidades por nós construídas, apresentavam melhores características dinâmicas de resposta. Este facto que pode eventualmente estar relacionado com o tipo de sensor iónico utilizado e também com a granulometria do polímero usado na preparação das membranas (Cap. 2).

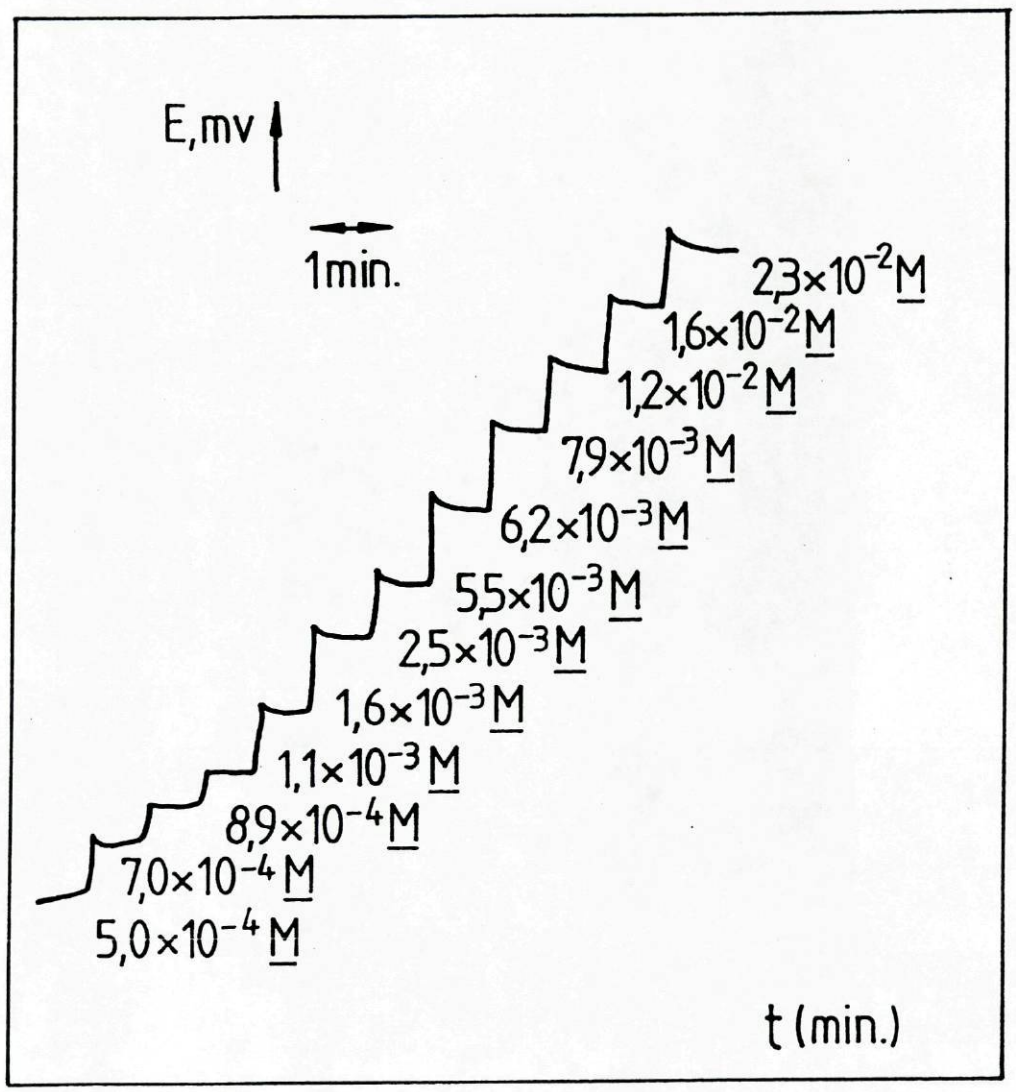


Figura 6.3.2.1- Velocidade de resposta para um eléctrodo sensível a anião 5,5-dietilbarbiturato, em soluções do ião sem ajuste de força iónica.

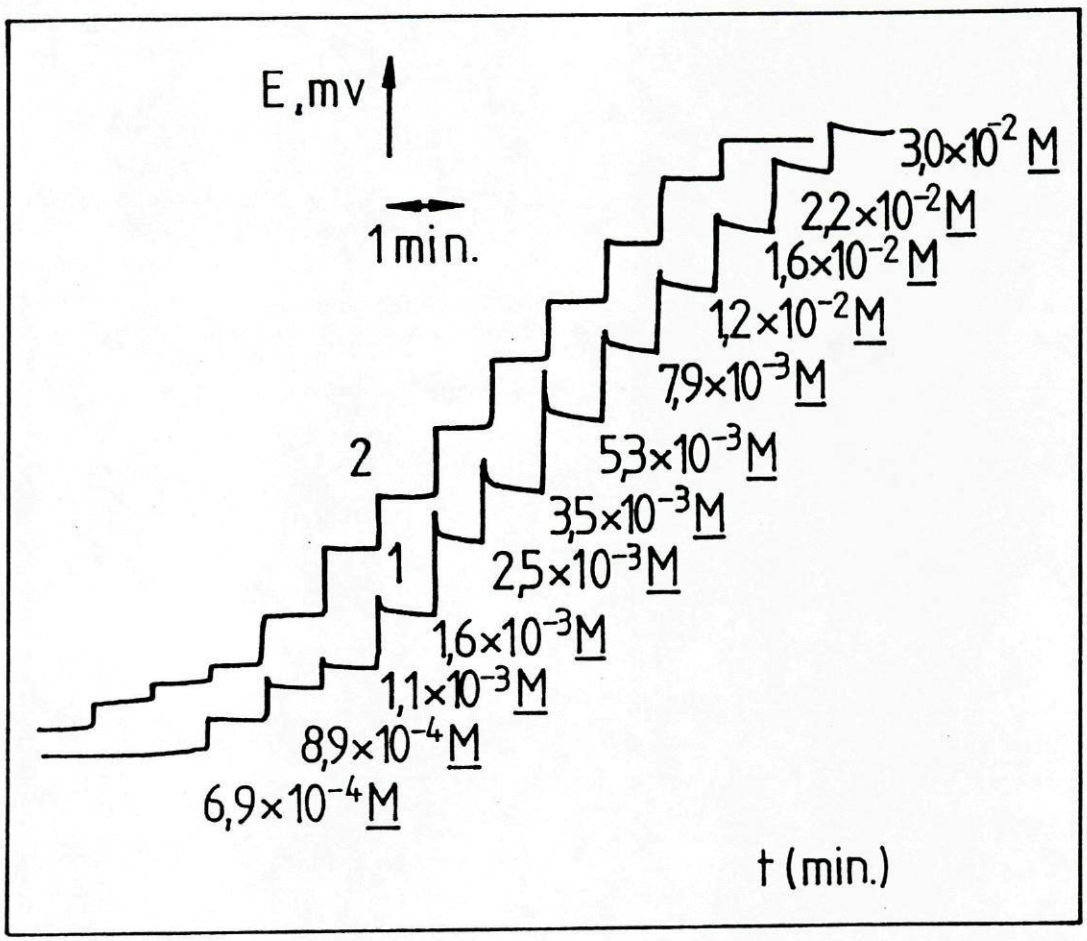


Figura 6.3.2.2- Velocidade de resposta para um eléctrodo sensível a anião 5-etil-5-fenilbarbiturato obtida: (**1**)-em solução de ião principal sem força iónica ajustada; (**2**)-em solução de ião principal com a força iónica fixada a 0,1 M.

6.3.3 - Tempos de vida e reprodutibilidade de resposta.

A avaliação do tempo de vida dos eléctrodos indicou que as unidades, sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato, se mantiveram sem se registarem alterações significativas nas suas características gerais de funcionamento, durante, pelo menos sete meses, como demonstram os resultados apresentados na Tabela 6.3.3.1.

Os resultados contidos na Tabela 6.3.3.2, para os eléctrodos sensíveis a 5-etil-5-fenilbarbiturato, demonstram que se mantiveram em boas condições de funcionamento, durante cerca de 10 meses, tempo ao fim do qual se começaram a registar aumentos nos valores do limite inferior de resposta linear, decréscimos de declive das rectas de calibração, tornando-se as unidades bastante instáveis. Estes sintomas levaram a considerar, como limite de tempo de vida, aquele que foi indicado.

Durante esta avaliação e quando se efectuavam ensaios de calibração repetidos, num dia de trabalho, verificou-se que os eléctrodos apresentavam reprodutibilidades de resposta que eram de cerca de 0,3 mV, para o eléctrodo de 5,5-dietilbarbiturato, e 0,1 mV, para os de 5-etil-5-fenilbarbiturato, quando a concentração das soluções, em que se efectuavam as determinações, era cerca de 10^{-2} M e tinham a força iónica fixada (ver Tabelas 6.3.1.1 e 6.3.1.2). Os valores, nelas indicados, correspondiam a ensaios efectuados após três dias de construção das referidas unidades.

Durante os primeiros tempos de vida dos eléctrodos, observou-se um deslizamento significativo do declive e potencial a que se seguia uma fase de estabilização. As causas deste efeito devem-se, fundamentalmente, à estabilização do sistema interno de referência que ocorre ao fim de algum tempo de construção dos eléctrodos, como consequência da hidratação da membrana e difusão do oxigénio através da mesma [26]. Efeito semelhante foi referido, em trabalhos anteriores, para eléctrodos sensíveis a espécies

inorgânicas [27,28].

A reprodutibilidade, apresentada para ambos os eléctrodos, poderá considerar-se excelente dado que se tratam de unidades de condutor móvel.

Em relação aos eléctrodos sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato não é possível fazer-se nenhuma comparação com o eléctrodo anteriormente descrito e sensível a esta espécie [21], por não haver informação suficiente na literatura a este respeito.

No entanto, em relação aos resultados apresentados por outros autores para uma unidade constituída por um fio de platina, recoberto com uma membrana de PVC sensível a 5-etil-5-fenilbarbiturato [13], os valores obtidos, para a estabilidade de potencial ao longo do tempo, revelam-se bastante superiores. Este facto poderá estar relacionado com a reversibilidade termodinâmica do sistema de referência interno que constitui os eléctrodos, por nós construídos, relativamente à platina usada pelos referidos autores [13].

Os elevados tempos de vida registados, tanto para os eléctrodos de 5,5-dietilbarbiturato como para os de 5-etil-5-fenilbarbiturato, em comparação com os indicados na literatura para unidades sensoras à mesma espécie orgânica [13,14,20], são uma consequência da imobilização do sensor iónico, da concentração relativa dos seus constituintes na membrana, do tipo de mediador usado e da eliminação da solução de referência interna nos eléctrodos construídos.

A utilização de um bom plastificante, como é o caso do ortonitrofeniloctiléter usado na preparação das membranas, associado à imobilização do sistema sensor em PVC, contribui para o aumento da durabilidade dos eléctrodos, relativamente aos de membrana líquida [21], e aos de membrana de PVC que usavam decanol como mediador [13,20], uma vez que, no primeiro caso, a exsudação do sensor está mais facilitada enquanto que, no segundo, as más características plastificantes do decanol contribuiam para a sua perda através da membrana [29]. A eliminação da solução de referência interna nos eléctrodos contribuiu igualmente para um aumento do

tempo de vida das unidades já que, por não existir uma pressão hidrodinâmica a que a membrana é contínuamente sujeita, como sucede nos eléctrodos cuja construção prevê uma solução interna de referência em contacto com a membrana de PVC, as probabilidades de perda do sensor iónico são menores.

Não foi calculado o limite de tempo de vida para as unidades sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato, porque, uma vez preparadas com um sistema sensor semelhante ao usado na construção de eléctrodos para 5-etil-5-fenilbarbiturato, era previsível que o comportamento de ambas fosse semelhante, eliminando-se, deste modo, a carga experimental decorrente da avaliação do tempo de vida daqueles eléctrodos.

Tabela 6.3.3.1 - Reprodutibilidade de resposta dos eléctrodos sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato, durante o tempo em que decorreram os ensaios[a].

	E_1			E_2		
Dias	D [b]	E,mV [c]	R [d]	D [b]	E,mV [c]	R [d]
1	71,2	35,3	0,9983	71,9	53,6	0,9891
1	71,3	78,1	0,9991	72,0	59,6	0.9981
3	60,0	101,0	0,9998	59,1	93,0	0,9999
3	60,3	101,5	0,9997	59,3	94,1	0.9993
4	60,2	105,5	0,9999	60,2	95,4	0,9999
6	59,9	107,8	0,9998	59,7	95.0	0,9997
6	60,3	101,6	0,9999	59,8	95,2	0,9998
10	60,5	103,1	0.9999	60,1	95,9	0,9995
10	61,3	103,8	0,9999	60,3	95,3	0,9993
16	62,8	88,3	0,9998	57,8	110,8	0.9998
16	61,8	88,1	0,9995	59,3	110,3	0,9996
31	61,3	100,4	0,9994	60,1	120,3	0,9998
51	60,9	115,3	0,9999	60,3	130,4	0,9997
80	61,2	122,4	0,9994	60,9	138,9	0,9993
130	62,0	157,4	0,9993	61,3	169,5	0,9994
160	61,3	137,5	0,9993	61,3	180,4	0,9988
201	61,8	160,4	0,9991	60,9	158,4	0,9991
224	60,4	153,4	0,9993	60,2	150,1	0,9995

a)-Valores correspondentes à realização de ensaios em soluções com a força iónica ajustada; b)-Declive em mV/década (25°C); c)-Valores de potencial (mV) lidos directamente da curva de calibração para uma concentração $2x10^{-2}$ M em anião 5,5-dietilbarbiturato; d)-Coeficiente de correlação obtido pelo cálculo da regressão linear da curva de calibração.

Tabela 6.3.3.2 - Reprodutibilidade para eléctrodos sensíveis a 5-etil-5-fenilbarbiturato, ao longo do seu tempo de vida [a].

	E_1			E_2		
Dias	**D** [b]	**E,mV** [c]	**R** [d]	**D** [b]	**E,mV** [c]	**R** [d]
1	78,5	151,7	0,9933	79,9	151,2	0,9899
1	75,4	133,2	0,9974	71,3	125,5	0.9989
3	67,0	110,4	0,9931	65,9	113,9	0,9991
3	63,1	115,4	0,9988	62,1	120,5	0.9938
4	60,9	119,0	0,9999	60,3	122,6	0,9994
4	60,8	119,7	0,9999	60,5	122.4	0,9998
7	60,3	120,1	0,9994	60,8	124,0	0,9995
8	60,7	128,7	0.9996	60,5	131,7	0,9997
17	60,4	134,1	0,9995	60,6	138,0	0,9999
30	61,4	156,8	0,9998	60,9	158,1	0.9996
32	62,1	158,5	0,9997	61,0	153,4	0,9996
51	61,3	172,0	0,9994	61,1	166,2	0,9989
64	60,3	187,6	0,9993	59,9	162,8	0,9997
82	59,9	173,9	0,9998	59,4	164,7	0,9995
97	60,4	157,6	0,9999	61,1	158,5	0,9994
112	59,5	156,0	0,9999	60,6	142,7	0,9999
150	61,9	155,2	0,9998	61,9	153,5	0,9994
165	62,4	173,2	0,9993	62,5	164,8	0,9997
180	60,3	150,1	0,9998	60,6	142,1	0,9997
210	60,1	140,4	0,9993	60,3	113,2	0,9994
240	60,7	113,2	0,9988	59,9	100,9	0,9954
270	60,8	151,2	0,9991	60,3	133,7	0,9985
310	51,3	127,4	0,9990	51,0	116,9	0,9944
312	53,6	131,3	0,9918	53,6	117,8	0,9877
333	45,1	128,0	0,8331	46,7	109,9	0,8999

a)-Valores correspondentes à realização de ensaios em soluções com a força iónica ajustada; b)-Declive em mV/década (25°C); c)-Valores de potencial (mV) lidos directamente da curva de calibração.para uma concentração $2x10^{-2}$ M em anião 5-etil-5-fenilbarbiturato; d)-Coeficiente de correlação obtido pelo cálculo da regressão linear da curva de calibração.

6.3.4 - Efeito do pH nos valores de potencial dos eléctrodos.

Avaliou-se este efeito nos eléctrodos sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato e 5-etil-5-fenilbarbiturato, traçando os diagramas de Reilley em soluções com concentrações iguais a 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} M (Figs. 6.3.4.1 e 6.3.4.2).

As soluções onde se efectuaram os ensaios, foram aciduladas com ácido sulfúrico concentrado ou alcalinizadas com hidróxido de sódio, também concentrado (ver Cap.2).

Para o caso do eléctrodo sensível a 5,5-dietilbarbiturato, os patamares operacionais, indicados na Tabela 6.3.1.1, localizavam-se entre aproximadamente, 8 e 11 unidades de pH. Para valores de pH inferiores a 8 unidades, observou-se uma subida dos valores de potencial dos eléctrodos, devendo-se esta à formação de ácido 5,5-dietilbarbitúrico para o qual a membrana não apresenta sensibilidade. A partir destes valores, o potencial dos eléctrodos tornava-se bastante instável, por um lado, pela não existência de anião em solução em quantidades detectáveis pelo eléctrodo e, por outro, pela presença de grande número de partículas sólidas em suspensão, resultantes da precipitação do ácido 5,5-dietilbarbitúrico.

Para o eléctrodo de 5-etil-5-fenilbarbiturato e conforme se pode observar dos diagramas apresentados na Figura 6.3.4.2, não se registou variação significativa do potencial dos eléctrodos, em zonas de pH compreendidas entre 9 e 11,5 unidades (Tabela 6.3.1.2).

Para valores de pH superiores a 11,5 unidades, há um aumento de potencial como consequência da hidrólise que sofre o anião barbiturato [31]. A interpretação dada para a subida dos potenciais, para valores de pH inferiores a 9 unidades, é semelhante à que se descreveu para o eléctrodo de 5,5-dietilbarbiturato. Também, neste caso, se regista uma instabilidade dos eléctrodos para estas zonas de pH, devida à diminuição da concentração da espécie aniónica para a qual o eléctrodo é sensível e à formação da espécie

protonada insolúvel.

Dada a falta de informação relativamente a este parâmetro para os eléctrodos descritos na literatura, sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato [21] ou 5-etil-5-fenilbarbiturato [13,14,20,] não é possível estabelecer-se nenhuma comparação. No entanto, os resultados dos patamares operacionais, para os eléctrodos construídos, são suficientemente alargados de modo a permitirem, com segurança, a sua aplicação analítica a diversas matrizes que necessitem de diferentes ajustes de pH, de acordo com o valor inicial que apresentam para esta grandeza.

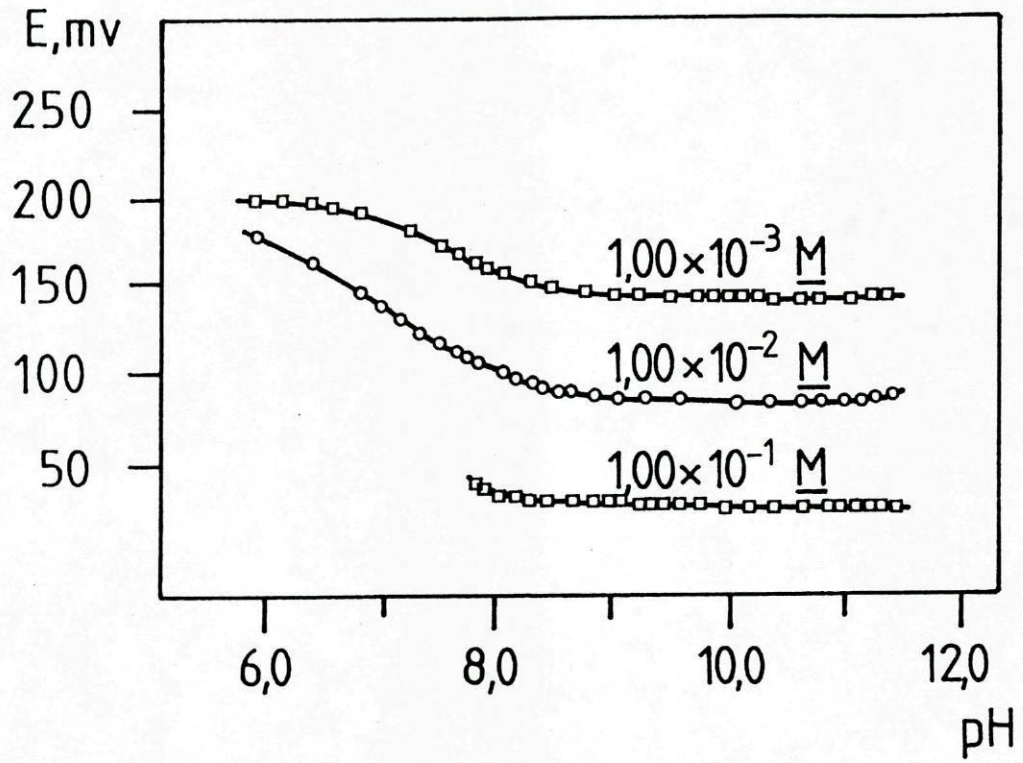


Figura 6.3.4.1 - Diagramas da variação do potencial com o pH das soluções, para um eléctrodo sensível a 5,5-dietilbarbiturato, obtidos às concentrações indicadas.

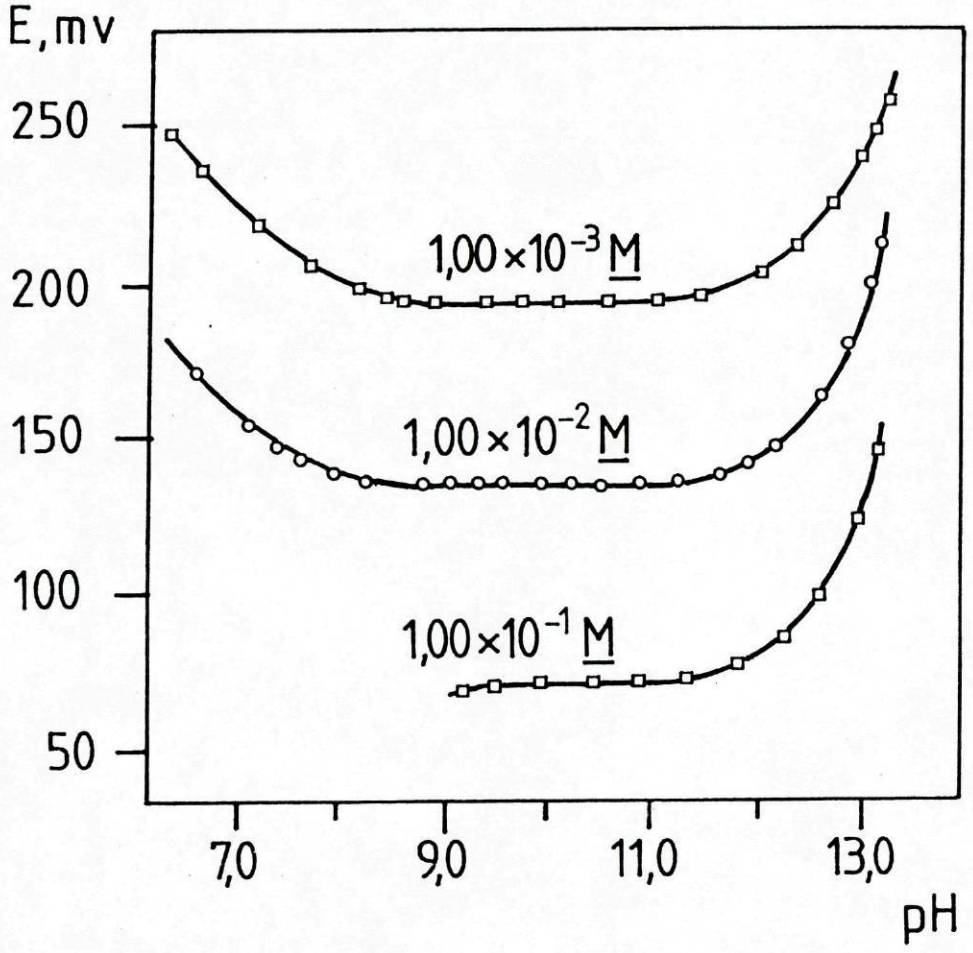


Figura 6.3.4.2 - Diagramas da variação de potencial com o pH das soluções, para um eléctrodo sensível a 5-etil-5-fenilbarbiturato, obtidos às concentrações indicadas.

6.3.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos.

Efectuou-se a determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para os eléctrodos referidos, para várias espécies aniónicas, utilizando o método das soluções separadas (Cap. 2) para diferentes concentrações de ião principal e interferente (Tabelas 6.3.5.1 e 6.3.5.2.).

Os valores destes parâmetros, relativos aos eléctrodos de 5,5-dietilbarbiturato, revelaram uma elevada interferência do anião nitrato, aliás esperada, já que, anteriormente, foi demonstrado que o nitrato de tetraoctilamónio era um bom sensor para a construção de eléctrodos, sensíveis a esta espécie [28,30]. No entanto, a extensão da interferência é menor para os eléctrodos de 5-etil-5-fenilbarbiturato, preparados com um sistema sensor semelhante, uma vez que a força de interacção, em relação ao mesmo interferente, é menor para o par iónico constituído por tetraoctilamónio e 5-etil-5-fenilbarbiturato do que para o de 5,5-dietilbarbiturato.

Na Tabela 6.3.5.3 apresentam-se os valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos para os eléctrodos de 5-etil-5-fenilbarbiturato comparados com os indicados na literatura, para unidades sensíveis à mesma espécie aniónica. Não se faz, no entanto, o mesmo tipo de comparação em relação ao eléctrodo de 5,5-dietilbarbiturato uma vez que nenhum dado na literatura é referido para esta propriedade.

Globalmente, os eléctrodos construídos apresentam melhor selectividade que os anteriores [13,20], sobretudo no que respeita à interferência de anião sulfato.

Este anião, umá vez usado como ajustador de força iónica nos ensaios de avaliação dos eléctrodos (ver 6.3.1), revelou não alterar significativamente o potencial dos mesmos quando a sua concentração era 30 vezes superior à do anião principal (zona de resposta não linear), o que se justifica pela elevada capacidade extractiva da membrana e, consequentemente, elevada

selectividade em relação a sulfato. No entanto, autores como Carmack [13], referem, para eléctrodos de condutor móvel, sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato, forte interferência daquele anião quando a sua concentração era dez vezes superior à do referido barbiturato e quando ambos estão presentes em solução, afectando inexplicavelmente a estabilidade dos eléctrodos.

A elevada selectividade apresentada pelos eléctrodos em relação aos da literatura [21,22], é consequência do tipo de extractor iónico (sal de amónio) e solvente mediador (ortonitrofeniloctiléter) utilizados, uma vez que é a associação destes dois componentes da membrana que regula a extracção competitiva entre os iões da solução (possíveis interferentes) e os da membrana.

Embora não sejam indicados na Tabela 6.3.5.2, os valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos de compostos como, por exemplo, cloridrato de efedrina e cloreto de tiamina, que, estão presentes, algumas vezes, em fórmulas farmacêuticas contendo fenobarbital, foi avaliado o comportamento dos eléctrodos de 5-etil-5-fenilbarbiturato na presença dos mesmos, utilizando o método das soluções misturadas (Cap. 2). Os ensaios que foram efectuados em soluções com concentrações fixas de interferente e iguais a 10^{-1}, 10^{-2} e 10^{-3} M, forneceram valores para log K^{POT} inferiores a -1,5, deduzindo-se que, para os compostos orgânicos referidos e em cuja molécula existia como contra-ião o cloreto, aquele valor de interferência se aproximava da que se obtinha, pelo método das soluções separadas, para anião cloreto (Tabela 6.3.5.2). Nos casos em que foi avaliada a extensão das interferências, relativamente a compostos como a cafeína e a .aminofilina, presentes nalgumas formulações contendo fenobarbital, não se registaram variações do potencial dos eléctrodos com o aumento da concentração dos referidos produtos.

Tabela 6.3.5.1 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato [a].

Interferente	Concentração (M)			
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}	$5x10^{-2}$
Sulfato	-2,60±0,02	-2,76±0,02	-2,84±0,02	-3,00±0,04
Cloreto	-0,64±0,04	-0,76±0,01	-0,82±0,01	-0,89±0,02
Nitrato	+1,43±0,02	+1,34±0,03	+1,32±0,03	+1,27±0,03
Malonato	-0,99±0,07	-1,61±0,03	-1,80±0,07	-2,24±0,08
5-etil-5-fenil barbiturato	+0,71±0,04	+0,58±0,04	+0,53±0,03	+0,31±0,03

a)-Determinações efectuadas pelo método das soluções separadas, à concentração indicada, quer para o ião interferente quer para o ião principal; os valores apresentados são a média de duas determinações com três eléctrodos.

Tabela 6.3.5.2 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos sensíveis a 5-etil-5-fenilbarbiturato [a].

Interferente	Concentração (M)			
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}	$5x10^{-2}$
Sulfato	-3,21±0,04	-3,26±0,04	-3,4±0,03	-3,43±0,03
Cloreto	-1,22±0,01	-1,44±0,01	-1,59±0,01	-1,81±0,01
Nitrato	+0,16±0,02	+0,08±0,01	+0,03±0,01	+0,07±0,01
Benzoato	-0,64±0,01	-0,79±0,01	-0,86±0,01	-0,93±0,04
Tetraborato	-2,31±0,02	-2,47±0,01	-2,51±0,02	-2,56±0,02

a)-Determinações efectuadas pelo método das soluções separadas, à concentração indicada, quer para o ião interferente quer para o ião principal; os valores apresentados são a média de duas determinações com três eléctrodos.

Tabela 6.3.5.3 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) dos vários eléctrodos sensíveis a anião 5-etil-5-fenilbarbiturato.

Interferentes	**[Ref.21]**[a)]	**[Ref.24]**[a)]	**Electrodo** [b)] **6B**
Cloreto	+1,2	-2,3	-1,8
Nitrato	+1,0	-0,7	+0,07
Sulfato	+0,4	interfere[c)]	-3,4

a)-Valores obtidos de ensaios realizados pelo método das soluções misturadas; b)-Os valores indicados, referentes ao eléctrodo sensível a 5-etil-5-fenilbarbiturato construído, foram determinados pelo método das soluções separadas, para uma concentração de ião interferente igual a 5×10^{-2} M; c)-Segundo os autores, a interferência é negligível quando a concentração de sulfato é aproximadamente igual à de 5-etil-5-fenilbarbiturato, mas para valores superiores os eléctrodos tornavam-se inexplicavelmente instáveis.

6.3.6 - Doseamento de 5-etil-5-fenilbarbiturato em formulações farmacêuticas.

As características de funcionamento, referidas para o eléctrodo sensível a 5-etil-5-fenilbarbiturato, sugeriram que o mesmo poderia ser utilizado na determinação analítica daquele anião, em fórmulas farmacêuticas por potenciometria.

A Tabela 6.3.6.1 mostra os resultados obtidos da determinação potenciométrica (potenciometria directa e método de adição) do referido composto em certas preparações farmacêuticas, vulgarmente comercializadas em Portugal, cujo processo de preparação das amostras se indicou em 6.2.5, bem como da sua determinação pelo método indicado na farmacopeia Britânica [2].

Os ensaios potenciométricos efectuados estão em bom acordo com os obtidos pelo processo de referência [2], executado sobre tomas do mesmo lote de produto pulverizado. Este último, por recorrer a uma série de extracções e manipulações, apresenta uma dispersão dos resultados, traduzindo-se numa menor precisão do que a conseguida por potenciometria, o que recomenda o uso desta técnica em análises de rotina.

Tabela 6.3.6.1 - Determinação potenciométrica (percentagem em massa) do conteúdo de ácido feniletilbarbitúrico em alguns comprimidos comerciais a).

Amostra	**Potenciometria Directa**	**Método Adição**	**Método Referência**
Luminal	38,4 ± 0,2	38,4 ± 0,2	39,8 ± 0,5
Luminaletas	22,9 ± 0,2	22,5 ± 0,2	21,4 ± 0,9
Bialminal fortíssimo	55,4 ± 0,4	56,7 ± 0,1	57,2 ± 0,7
Alepsal fraco	43,9 ± 0,1	43,5 ± 0,1	43,4 ± 0,1
Fenobarbital Unitas	35,5 ± 0,2	34,9 ± 02	32,9 ± 0,1

a)-Resultados correspondentes à média e desvio padrão da média, obtidos em três amostras diferentes da mesma preparação farmacêutica.

6.4 - Conclusões.

Dos resultados aqui apresentados, referentes à construção e avaliação de eléctrodos sensíveis a 5,5-dietilbarbiturato e 5-etil-5-fenilbarbiturato, poderá conclui-se que a substituição do sal de amónio quaternário, usado anteriormente na construção de eléctrodos sensíveis a estas duas espécies [13,14,20,21], por outro de cadeia mais longa (tetraoctilamónio), originou unidades de melhores características de funcionamento, relativamente ao limite de resposta linear e de detecção. Também a utilização de um solvente mediador de boas características plastificantes (ortonitrofeniloctiléter), conjuntamente com o processo de construção utilizado, tornou possível a obtenção de unidades mais estáveis, mais selectivas, robustas e duradouras.

Estas características deram como resultado, unidades sensíveis a 5-etil-5-fenilbarbiturato que, quando aplicadas no doseamento de fenobarbital em fórmulas farmacêuticas, forneciam resultados semelhantes aos obtidos pelo método de referência [2]. Para além disso, obtinham-se resultados analíticos em cerca de 15 minutos, o que contrastava com os 60 minutos necessários à execução do método proposto pela farmacopeia Britânica [2]. Este último facto, já admitido anteriormente [24], tem ainda a vantagem de poder ser efectuado agora com eléctrodos de melhores características de funcionamento, sobretudo no que se refere à reprodutibilidade dos potenciais, evitando-se, assim, calibrações sistemáticas das unidades.

6.5- Referências Bibliográficas.

[1]-*Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal on Pharmaceutical Chemistry*, R. F. Doerge, (ed.), J.B. Lippincott Company, Toronto, (1982) pag. 340.

[2]-*British Pharmacopeia*, H.M.O.S., pag. 984, London (1988).

[3]-*Pharmacopée Française*, VIII Edition, pag. 795,Paris (1965)

[4]-*USP Pharmacopeia*, U:S: Pharmacopeial Convention Inc., Rockville M.D., pag. 490 (1985).

[5]-*Pharmacopée Européenne*, I Edição, Maisonneuve, pag. 367 (1969)

[6]-N.G. Lordi, E.M. Cohen e B.L. Taylor, *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, **49**, 371 (1960).

[7]-A. Temizer e A. O. Solak, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **319** , 149 (1986).

[8]-C.I. Miles e G.H. Schenk, *Anal. Lett.*, **4**, 61 (1971).

[9]-C.I. Miles e G.H. Schenk, *Anal. Chem.*, **45**, 130 (1973).

[10]-R. Staróscik, E. Maskiewicz e F. Malecki, *Fresenius, Z. Anal. Chem.*, **329**, 472 (1987).

[11]-S.A. Soliman, Y. A. Beltagy e I. M. Roushdi, *J. Pharm. Pharmac.*, **21**, 445 (1969).

[12]-W.H. Thomas e R. Mccormack, *J. Pharm. Pharmacol.*, **23**, 490 (1971).

[13]-G.D. Carmack e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **49**, 1577 (1977).

[14]-G. Shen, X. Shi e R. Yu, *Yaoxue Xuebao*, **22**, 841 (1987).

[15]-V.V. Cosofret, *Ion Select. Electrode Rev.*, **2**, 159 (1981).

[16]-V.V. Cosofret, *Membrane Electrodes in Drug Substances Analysis*, Pergamon Press, Oxford (1982).

[17]-V.V. Cosofret e R.P. Buck, *Ion Select. Electrode Rev.*, **6**, 59 (1990).

[18]-Z. Z. Rang e V. V. Cosofret, *Ion Select. Electrode Rev.*, **12**, 35 (1990).

[19]-K. Vytras, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **7**, 789 (1989).

[20]-A.K. Covington, T.R. Harbinson e A. Sibbald, *Anal. Lett.*, **15**, 1423 (1982).

[21]-E. Hopirtean e E. Veress, *Rev. Roum. Chim.*, **23**, 273 (1977).

[22]-J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro e A.M.R. Silva, *Port. Electrochim. Acta*, **6**, 69 (1988).

[23]-J.L.F.C. Lima , M.C.B.S. M, Montenegro e A.M.R. Silva, *J. Pharm. Biom. Anal.*, 8, 701 (1990).

[24]-R.A.S. Lapa, J.L.F.C. Lima e A.M.R. Silva, *IL Farmaco*, **45**, 901 (1990).

[25]-D. Feng, *Ion Select. Elecrode Rev.*, **9**, 95 (1987).

[26]-R.W. Cattrall e D.M. Drew, *Anal. Chim. Acta*, **76** , 269 (1975).

[27]-J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Analyst*, **111**, 799 (1986).

[28]-J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado, A. Florido, S. Alegret e J.M. Paulis, *Quim. Anal.*, **4** , 145 (1985).

[29]-A. Craggs, L. Keil, G.J. Moody e J.D.R. Thomas, *Talanta*, **22**, 907 (1975).

[30]-H.J. Nielsen e E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **85**, 1 (1976).

[31]-*Martindale, The Extra Pharmacopeia*, J.E.F. Reynolds (ed.), The Pharmaceutical Press, Londres (1982), pag. 811.

CAPÍTULO 7

ELÉCTRODOS SENSÍVEIS AOS CATIÕES TIAMINA (VITAMINA B_1) E PIRIDOXINA (VITAMINA B_6)

7-ELÉCTRODOS SENSÍVEIS AOS CATIÕES TIAMINA (vitamina B_1) E PIRIDOXINA (vitamina B_6).

7.1 - Introdução.

A descoberta em 1912, por Funk [1], de que uma substância, vulgarmente presente na casca do arroz, curava polineurites em pássaros e béri-béri em seres humanos, marcou o aparecimento das denominadas "vitaminas", designadas, desta forma, por a sua estrutura corresponder à de uma amina essencial à vida humana.

Usualmente, classificam-se as vitaminas de acordo com a sua polaridade, em vitaminas hidrossolúveis e lipossolúveis. Incluídas no primeiro grupo estão as vitaminas do complexo B e ácido ascórbico, tendo sido a tiamina o primeiro membro do complexo vitamínico a ser identificado quimicamente.

Embora nos anos 30, fosse considerado, por alguns grupos de investigadores, como sendo as vitaminas do complexo B os factores essenciais da nutrição animal, só muitos anos mais tarde se concluiu que a piridoxina era a que correspondia exactamente ao factor essencial [2]. Foi em 1936, após os trabalhos de Birch [2] que conduziram à sua identificação e síntese química que lhe foi atribuído o nome de vitamina B_6. A piridoxina foi considerada como fazendo parte de uma das três formas químicas sob as quais a vitamina

B_6 aparece na natureza. As outras duas, e que correspondem às fisiologicamente activas, são o fosfato de piridoxal e piridoxamina, sendo, no entanto, sob a forma de piridoxina que a vitamina B_6 figura nas fórmulas farmacêuticas.

Porque, tanto a tiamina como a piridoxina se alteram facilmente por acção da luz e variações de pH, é de todo importante importante o seu controlo analítico em fórmulações farmacêuticas.

Os métodos de referência, usualmente aconselhados para a determinação de tiamina em preparações farmacêuticas [3-5], são baseados em determinações fluorimétricas do tiocromo resultante da oxidação da tiamina em meio não alcalino, ou na determinação gravimétrica da tiamina por precipitação com ácido silicotúngstico.

Para o doseamento da piridoxina as farmacopeias, dos Estados Unidos da América [3] e Britânica [4] aconselham métodos espectrofotométricos baseados na medição da absorção da radiação pelo composto resultante da reacção do grupo fenólico da vitamina com a clorimida.

A aplicação do método fluorimétrico a preparações farmacêuticas é limitado quando é efectuado na presença de grandes quantidades de oxidante ou de excipientes farmacêuticos que interferem no processo de emissão.

Para o método gravimétrico da farmacopeia Britânica [4] são apontadas inúmeras interferências resultantes da presença de bases orgânicas em alguns produtos farmacêuticos [6] enquanto que, para as determinações de vitamina B_6 realizados por espectrofotometria, a presença de ácido ascórbico, em preparações polivitamínicas, pode falsear os resultados devido à forte interferência que ele exerce [7]. Para além disto, todas as metodologias referidas são muito morosas, exigindo um tratamento prévio às amostras e originando resultados com baixa precisão.

Várias outras metodologias têm sido propostas para o doseamento destes compostos em formulações farmacêuticas, nomeadamente volumetrias ácido-base [8], gravimetria [9], neflometria [10], amperometria [11-13],

espectrofotometria [14-17], coulombimetria [18], cromatografia [19-21] e espectroscopia de ressonância magnética nuclear [22].

Contudo, a maioria destes métodos apresenta diversas desvantagens, designadamente: falta de sensibilidade, recorrem a procedimentos complicados e demorados, utilizam instrumentação analítica dispendiosa e reagentes cuja manipulação requer diversos cuidados.

Os recentes desenvolvimentos, na área das análises farmacêuticas com eléctrodos selectivos de iões [23-25], têm demonstrado que a potenciometria poderá constituir um método alternativo, com vantagens positivas relativamente aos procedimentos clássicos adoptados muitas vezes pelos laboratórios de controlo analítico em produtos farmacêuticos.

E assim é que, a aplicação de eléctrodos selectivos de iões ao doseamento de vitamina B_1 [26-31] e vitamina B_6 [28] em formulações farmacêuticas, se tem revelado como sendo um método mais selectivo, mais preciso e, sobretudo, mais rápido que as metodologias de referência.

Mas mesmo no caso particular da vitamina B_1, para a qual têm surgido na literatura referências a eléctrodos com boas características de resposta no que respeita, por exemplo, aos limites de resposta linear e de detecção [26,31,32], a sua aplicabilidade a determinações de rotina é limitada. O uso do sensor iónico na forma líquida [30,31,33,34], ou a utilização da membrana imobilizada em contacto com uma solução de referência interna [26,28,32], impõe precauções na sua utilização em análises de rotina.

Nos casos onde a modificação do processo de construção deu origem a unidades em que um sólido condutor (bastão de grafite) era directamente recoberto com uma membrana de PVC [27,29] com vista a tornar as unidades mais versáteis, a alteração proposta não foi devidamente acompanhada de uma modificação do sistema sensor, resultando, nestes casos, eléctrodos cujas deficiências de funcionamento se traduziam especialmente em falta de reprodutibilidade e reduzidos tempos de vida.

Por isso, propusémo-nos construir eléctrodos sensíveis a tiamina e

piridoxina, aplicando directamente a membrana à base de PVC sobre um suporte epoxídico com grafite.

Utilizaram-se, como permutadores iónicos, o tetrafenilborato, o tetra-p-clorofenilborato de tiamina e o tetra-p-clorofenilborato de piridoxina dissolvidos em dibutilftalato ou ortonitrofeniloctiléter.

A utilização de tetrafenilborato, para a preparação de membranas sensíveis a tiamina, composto já anteriormente usado na preparação de eléctrodos para a mesma espécie catiónica, justificou-se, na medida em que, ao utilizarem-se solventes mediadores de características físicas diferentes, se procurou avaliar a sua influência nas características de funcionamento dos eléctrodos sensíveis a catiões. Objectivo semelhante foi descrito para a preparação de eléctrodos sensíveis a aniões (Cap. 4).

A utilização de tetra-p-clorofenilborato como agente extractor para a preparação de membranas sensíveis a vitamina B_1 e B_6, teve como objectivo tentar melhorar as características dos eléctrodos, sobretudo no que respeita à amplitude da zona de resposta linear já que, tratando-se de um composto mais lipofílico que o tetrafenilborato, formaria, consequentemente, uma espécie electroactiva mais insolúvel.

Porque, após avaliação geral dos diferentes tipos de eléctrodos construídos sensíveis a tiamina, se verificou que os que utilizavam tetra-p-clorofenilborato de tiamina como permutador iónico forneciam unidades mais selectivas, de maior durabilidade e zona de resposta linear mais ampla, concluíu-se que seria de optar por um sistema sensor semelhante para a preparação de eléctrodos de piridoxina. Também aqui, ao utilizar-se dois solventes mediadores diferentes, se pretendia avaliar o seu grau de influência nas características dos eléctrodos.

Após avaliação dos diferentes tipos de eléctrodos construídos, foram selecionados os que possuiam características mais adequadas para o doseamento potenciométrico de vitamina B_1 e B_6 em formulações farmacêuticas.

7.2 - Parte Experimental.

7.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos.

Em todas as determinações efectuadas com os eléctrodos, utilizou-se a aparelhagem previamente especificada no Cap. 2. Usou-se, como referência, um eléctrodo de cloreto de prata/prata, de dupla junção, com cloreto de lítio 0,1 M no compartimento exterior. A utilização deste composto justificou-se pela pequena interferência do catião lítio nas membranas sensíveis a vitamina B_1 e B_6 (ver Tabelas de 7.3.5.1 a 7.3.5.6).

Para as determinações de tiamina e piridoxina em formulações farmacêuticas, pelos métodos de referência, usaram-se, respectivamente, um espectrofluorímetro, da marca Shimazu modelo RF-540 e um espectrofotómetro Phillips PU 8625.

7.2.2 - Reagentes e soluções.

As soluções mais concentradas de tiamina e piridoxina foram preparadas, diariamente, por pesagem rigorosa dos respectivos cloretos (Roche, com pureza química garantida pelo referido laboratório). As de menor concentração foram obtidas por diluição, também rigorosa, das mais concentradas.

Como ajustador de força iónica utilizou-se uma solução de cloreto de lítio 0,1 M.

Para proceder ao ajuste de pH e de força iónica das amostras de formulações farmacêuticas doseadas potenciometricamente, utilizou-se uma

solução 0,2 M de ácido fórmico com o pH ajustado a 4 unidades, à custa de hidróxido de lítio.

7.2.3 - Preparação dos sistemas sensores, das membranas e dos eléctrodos.

Na construção de eléctrodos sensíveis a tiamina e a piridoxina seguiu-se o procedimento referido no Cap. 2, utilizando quatro tipos diferentes de sistemas sensores. Dois deles (tipo 7A e tipo 7B) eram constituídos por tetrafenilborato (TFB) de tiamina dissolvido, respectivamente, em dibutilftalato (DBF) e em ortonitrofeniloctiléter (ONFOE). Os sensores tipos 7C e 7D eram resultantes da dissolução de tetra-p-clorofenilborato(TpCFB) de tiamina dissolvido em dibutilftalato e ortonitrofeniloctiléter, respectivamente.

O tetrafenilborato de tiamina, foi obtido por precipitação de uma solução de tetrafenilborato de potássio (10^{-2} M) com uma solução aquosa de cloreto de tiamina (10^{-1} M), numa proporção correspondente a 10 cm^3 da primeira para 1 cm^3 da segunda.

O precipitado cristalino formado foi lavado três vezes com água desionizada e filtrado através de papel de filtro Whatmam 540. Por fim, procedeu-se à sua secagem num sistema onde era efectuado o vácuo, guardando-se, em seguida, num exsicador até posterior utilização.

Para a preparação do sistema sensor tipo 7A, misturaram-se cerca de 0,2 g de precipitado seco com aproximadamente 2,3 g de dibutilftalato, enquanto que para o de tipo 7B, a mesma quantidade de precipitado era misturada com cerca de 3,0g de ortonitrofeniloctiléter. As suspensões, assim obtidas, eram agitadas energicamente durante cerca de 15 minutos, procurando garantir a dissolução do sólido na máxima extensão. O sólido não dissolvido era separado por centrifugação, utilizando-se posteriormente a

solução sobrenadante para a preparação das membranas respectivas.

Indicam-se nas Tabelas 7.2.3.1 e 7.2.3.2, respectivamente a composição dos sensores iónicos referidos e das membranas usadas na preparação dos eléctrodos de tiamina.

Na preparação do tetra-p-clorofenilborato de tiamina, dissolveu-se 0,4 g de tetra-p-clorofenilborato de potássio, num pequeno volume de acetona (cerca de 2 cm^3), adicionando-se a esta solução, cerca de 25 cm^3 de uma solução aquosa de cloreto de tiamina 0,1 M. A espécie insolúvel formada era lavada em água e filtrada. A acetona remanescente era eliminada, por evaporação, num banho a 40°C. Finalmente, os cristais formados eram guardados em exsicador até posterior utilização. Os sistemas sensores do tipo 7C e 7D (Tabela 7.2.3.1) eram preparados, dissolvendo cerca de 0,1 g tetra-p-clorofenilborato de tiamina, em cerca de 4,1 g e 3,7 g de dibutilftalato e ortonitrofeniloctiléter respectivamente.

As membranas dos eléctrodos de tiamina, constituídas por tetrafenilborato e tetra-p-clorofenilborato, foram preparadas, segundo a metodologia descrita anteriormente no Cap. 2, com os constituintes nas percentagens indicadas na Tabela 7.2.3.2.

Para a construção dos eléctrodos sensíveis a piridoxina, utilizaram-se dois tipos de sistemas sensores (tipo 7E e tipo 7F), constituídos respectivamente, por tetra-p-clorofenilborato de piridoxina em dibutilftalato e ortonitrofeniloctiléter (Tabela 7.2.3.1).

O tetra-p-clorofenilborato de piridoxina foi preparado usando soluções e concentrações semelhantes às indicadas para a tiamina, sendo, os cristais obtidos, os resultantes da precipitação do tetra-p-clorofenilborato de potássio com uma solução aquosa de cloreto de piridoxina 0,1 M.

Os sistemas sensores para piridoxina, tipos 7E e 7F, foram preparados, dissolvendo 0,06 g de tetra-p-clorofenilborato de piridoxina, em cerca de 1,7 g de dibutilftalato e igual quantidade de ortonitrofeniloctiléter (Tabela 7.2.3.1). Na Tabela 7.2.3.2 apresenta-se igualmente a composição das respectivas

membranas utilizadas para a construção dos eléctrodos sensíveis a piridoxina.

Tabela 7.2.3.1 - Composição dos sistemas sensores (percentagem em massa) para os eléctrodos de tiamina (7A, 7B, 7C, e 7D) e piridoxina (7E, 7F).

	Composição dos sistemas sensores					
Componentes	**7A**	**7B**	**7C**	**7D**	**7E**	**7F**
TFB-Vitamina	4,7	5,0	—	—	—	—
TpCFB-Vitamina	—	—	2,4	2,7	3,5	3,8
DBF	95,3	—	97,6	—	96,5	—
ONFOE	—	95,0	—	97,3	—	96,2

Tabela 7.2.3.2 - Composição das membranas (percentagens em massa) para os eléctrodos de tiamina (7A, 7B, 7Ce 7D) e piridoxina (7E, 7F).

	Composição das membranas					
Componentes	**7A**	**7B**	**7C**	**7D**	**7E**	**7F**
TFB-Vitamina	3,3	3,4	—	—	—	—
TpCFB-Vitamina	—	—	1,7	1,7	2,4	2,6
DBF	65,6	—	67,3	—	66,5	—
ONFOE	—	65,3	—	67,1	—	66,4
PVC	31,1	31,3	31,0	31,2	31,1	31,0

7.2.4 - Preparação das amostras de formulações farmacêuticas cujo conteúdo em vitamina B_1 e B_6 se visava determinar.

Para avaliar a utilidade analítica dos eléctrodos sensíveis a vitaminas B_1 e B_6, e também a qualidade dos resultados que podiam fornecer, procurou-se, no mercado português, um conjunto de formulações farmacêuticas que contivessem as referidas vitaminas quer isoladas ou em associção com outros compostos de acção terapêutica. Adicionalmente houve o cuidado de selecionar preparações que se apresentassem em diversas fórmulas farmacêuticas, nomeadamente injectáveis, xaropes e comprimidos o que permitiria estudar qual o processo mais simples de as preparar para serem submetidas a determinações potenciométricas.

Optou-se por tomar uma grande quantidade de cada um dos produtos, por questões de homogeneidade e também para que se obtivesse uma quantidade de amostra tal que todas as determinações pudessem ser referidas à mesma toma.

7.2.4.1 - Fórmulas injectáveis e xaropes, contendo vitamina B_1.

O conteúdo de cerca de dez ampolas ou de um frasco de xarope era homogeneizado. Um determinado volume do produto a analisar, cujo teor em tiamina se previa ser equivalente a aproximadamente 10 g, era diluído, em balão volumétrico de 50,00 cm^3, com água desionizada.

Um volume, correspondente a 5,00 cm^3 da solução anteriormente preparada, era colocado num vaso onde os eléctrodos eram imersos, adicionando-se igual volume de uma solução de ácido fórmico 0,2 M, cujo pH

tinha sido inicialmente ajustado a 4 unidades, com hidróxido de lítio (ver 7.2.2) para promover o ajuste de força iónica e pH.

Depois dos eléctrodos (indicador e referência) atingirem um potencial estável (±0,2mV), o valor de potencial obtido era comparado com os fornecidos pelas mesmas unidades, numa calibração prévia, efectuada em condições de ajuste de pH e força iónica semelhantes.

Para as diferentes amostras, efectuaram-se também determinações, pelo método de adição (Cap. 2), juntando à toma anterior um volume correspondente a 100 μL de uma solução de cloreto de tiamina 0,1 M.

Para as amostras, contendo vitamina B_1 na forma de nitrato de tiamina, o traçado prévio das curvas de calibração e as medidas pelo método de adição, era efectuado, utilizando uma solução padrão de nitrato de tiamina.

7.2.4.2 - Comprimidos contendo tiamina e piridoxina.

As fórmulas farmacêuticas sólidas (comprimidos), contendo tiamina ou piridoxina, eram preparadas pulverizando inicialmente cerca de vinte comprimidos do mesmo lote. Uma quantidade de pó, rigorosamente pesada, era dissolvida com água desionizada até um volume final igual a 50,00 cm^3, de forma a que a concentração final de ambos os compostos fosse próxima de 10^{-2} M.

Um volume de 5,00 cm^3, da solução resultante, era diluído com igual volume de uma solução de ácido fórmico/formiato de lítio com concentração igual a 0,2 M e pH igual a 4 unidades, sobre o qual se realizavam as medidas potenciométricas. As medidas posteriormente efectuadas, eram feitas de forma semelhante às descritas no ponto 7.2.4.1, visando o doseamento das vitaminas em injectáveis.

7.3 - Resultados e sua Discussão

7.3.1 - Parâmetros das curvas de calibração.

A avaliação dos parâmetros de calibração para os eléctrodos sensíveis a tiamina e piridoxina, foi efectuada procedendo ao traçado de curvas de calibração (Cap. 2), numa gama de concentrações entre, aproximadamente $2x10^{-6}$ e 10^{-1} M, em soluções dos respectivos cloretos, sem ajustar a força iónica (Figs. 7.3.1.1 a 7.3.1.5).

Para cada tipo de unidades construída, foi avaliado o limite inferior de resposta linear, o limite prático de detecção, o declive das respectivas curvas de calibração, bem como o valor de reprodutibilidade dos potenciais, quando se executava um ensaio no início e outro ao fim de um dia de trabalho (Tabelas. 7.3.1.1 a 7.3.1.3).

Porque os eléctrodos de tiamina preparados com tetra-p-clorofenilborato como extractor iónico, forneciam características gerais de funcionamento superiores, aos que usavam tetrafenilborato, optou-se pelo primeiro tipo de unidades para a realização dos doseamentos potenciométricos. Por estas razões, houve necessidade de, com estes eléctrodos e também com as unidades sensíveis a piridoxina, efectuar calibrações em soluções cuja força iónica e o pH eram simultâneamente ajustados de modo a avaliar as suas características de funcionamento em condições semelhantes aos doseamentos a efectuar, para que se pudessem fixar as condições de análise potenciométrica das duas vitaminas (Figs. 7.3.1.2 a 7.3.1.5).

Comparando os resultados obtidos com os quatro tipos de eléctrodos construídos para tiamina, é possível concluir-se que o uso de tetra-p-clorofenilborato de tiamina, espécie menos solúvel que o tetrafenilborato de

tiamina, originou um aumento da zona de resposta linear, nos eléctrodos, de cerca de meia década de concentração (ver Figs. de 7.3.1.1 a 7.3.1.4).

Nos eléctrodos sensíveis a tiamina usando ortonitrofeniloctiléter como solvente mediador plastificante, registou-se, no entanto, uma diminuição da zona de resposta linear, relativamente aos que eram preparados com dibutilftalato. Estes resultados, estão de acordo com os obtidos por outros autores [35] ao prepararem eléctrodos sensíveis a aminas, com sensor de tetrafenilborato dissolvido em dibutilftalado e em compostos nitroaromáticos, tendo-se, no entanto, obtido uma maior amplitude de resposta linear para os eléctrodos que usavam dibutilftalato como plastificante. Os resultados conseguidos podem ser atribuídos a diferenças de solubilidade dos pares iónicos nas membranas, condicionadas pela utilização de solventes mediadores com diferentes polaridades.

Contudo, o uso de ortonitrofeniloctiléter, como solvente mediador, favoreceu um conjunto de outras características dos eléctrodos, nomeadamente aumentos de estabilidade dos potenciais, e de selectividade, especialmente aos iões de carga unitária, factos que confirmam resultados anteriores [36], obtidos em relação a um eléctrodos para catião potássio, preparado com tetra-p-clorofenilborato de potássio dissolvido em ortonitrofeniloctiléter.

Comparando os resultados obtidos para os valores de limite de resposta linear e de detecção dos eléctrodos sensíveis a tiamina e piridoxina, construídos com tetra-p-clorofenilborato (Tabelas 7.3.1.2 a 7.3.1.3), verifica-se que os segundos apresentam uma zona de resposta linear mais limitada. Este facto é atribuível à maior lipofilia do par iónico, constituído por tetra-p-clorofenilborato de tiamina relativamente ao de tetra-p-clorofenilborato de piridoxina [28].

Quando os ensaios de calibração eram executados em soluções cuja força iónica não estava ajustada, observou-se, para concentrações de ião principal superiores a 10^{-2} M, um ligeiro desvio de linearidade, atribuível ao

facto de se tomarem valores de logaritmo da concentração em vez de logaritmo de actividade, para o traçado gráfico das rectas de calibração. Neste caso a utilização da fómula simplificada de Debye Huckel (Cap. 2) para o cálculo dos respectivos factores de actividade não fazia sentido. O uso da fórmula não simplificada de Debye Huckel para o cálculo dos factores de actividade, estava limitada por se desconhecerem os valores de raios iónicos das duas vitaminas.

Todos os eléctrodos que incorporavam membranas em que o solvente mediador era o dibutilftalato, revelaram uma resposta super-nerstiana quando ensaiadas em soluções contendo apenas o ião principal. Porém, quando a força iónica era fixada (medidas efectuadas na presença de um electrólito), verificou-se um decréscimo do declive, para valores próximos dos teoricamente previstos à temperatura em que se efectuavam os ensaios. Um efeito semelhante, mas muito menos acentuado, foi também obtido com os eléctrodos cujas membranas incorporavam ortonitrofeniioctiléter como mediador.

Uma vez que o valor de declive para os eléctrodos é controlado pelo equilíbrio de permuta, entre os iões da solução e os da membrana, e pela dissolução-adsorção dos iões na sua superfície, efeitos que são comandados pelo solvente mediador, a baixa selectividade em relação ao catião lítio apresentada pelo sistema sensor de tetra-p-clorofenilborato em dibutilftalato relativamente ao que usa ortonitrofeniloctiléter, justifica uma maior diferença na variação do declive que se observa nos eléctrodos preparados com dibutilftalto como mediador do que os que usam ortonitrofeniloctiléter.

Nas Tabelas 7.3.1.4 e 7.3.1.5, incluem-se, para efeitos de comparação, os resultados dos valores dos parâmetros de calibração dos eléctrodos construídos, com os indicados na literatura para outros eléctrodos sensíveis a vitamina B_1 e B_6.

Poder-se-á concluir que os eléctrodos construídos, sensíveis a tiamina e piridoxina, apresentam genericamente melhores características de

funcionamento do que as unidades, descritas anteriormente na literatura [26-34], considerando os casos em que era usado o tetrafenilborato como permutador [27,29,33,34] ou mesmo naqueles em que, como sensor iónico, era empregue o dipicrilaminato [33,34], dinonilnaftalenosulfonato [28], picronolato [30] ou o reinecato [31].

A utilização do tetra-p-clorofenilborato em alternativa a outros permutadores catiónicos, anteriormente utilizados [27-31,33,34], forneceu unidades com melhores limites de resposta linear e detecção, consequência da utilização de um derivado halogenado do tetrafenilborato com características menos solúveis que as do tetrafenilborato e que, em trabalho anterior [26,32], provou ser favorável. Por outro lado, o uso de mediadores com elevada viscosidade e elevado grau de plasticidade assim como a imobilização do sensor iónico em PVC, contribuiu para uma melhoria geral de resposta dos eléctrodos relativamente a unidades que usavam, como mediador, o nitrobenzeno [30,31,33,34] ou a membrana não plastificada [30,31,33,34].

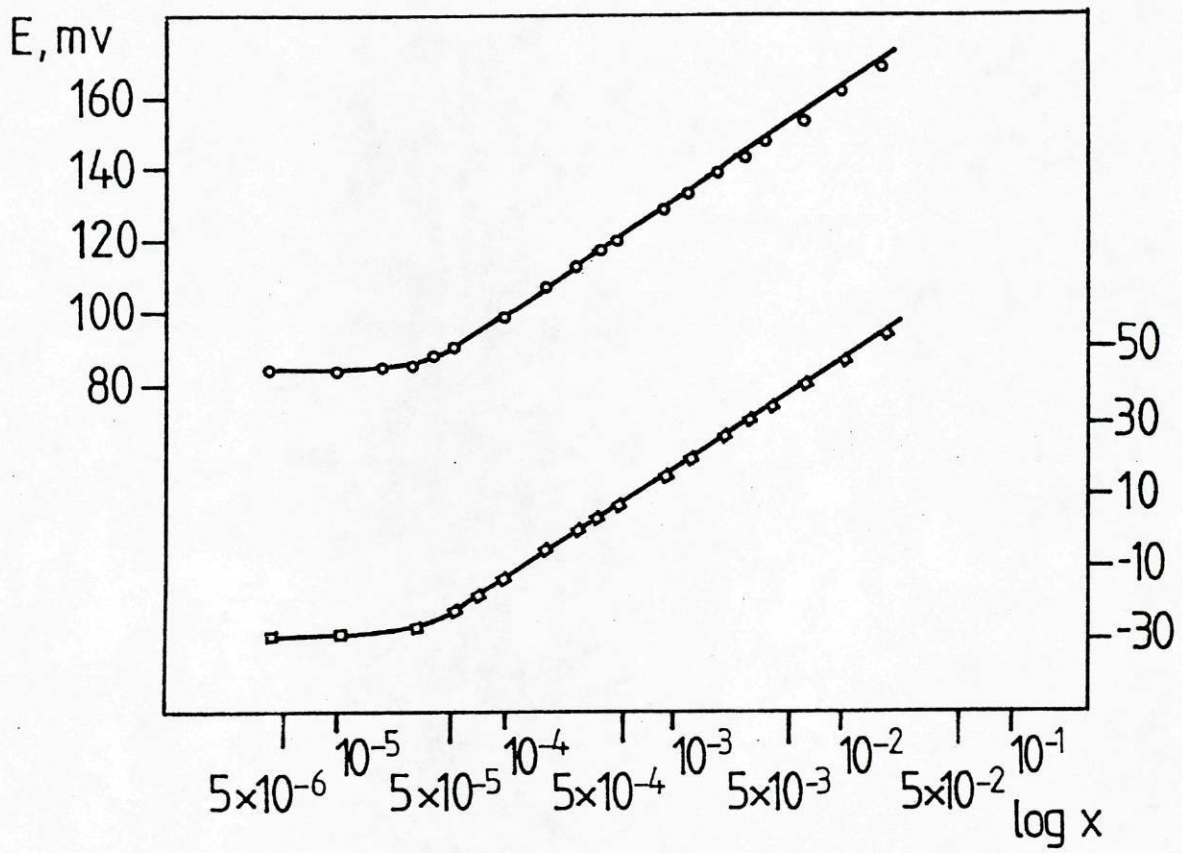


Figura 7.3.1.1 - Curvas de calibração para eléctrodos sensíveis a tiamina preparados com : (¤) tetrafenilborato de tiamina dissolvido em dibutilftalato e (•) tetrafenilborato de tiamina dissolvido em ortonitrofeniloctiléter.

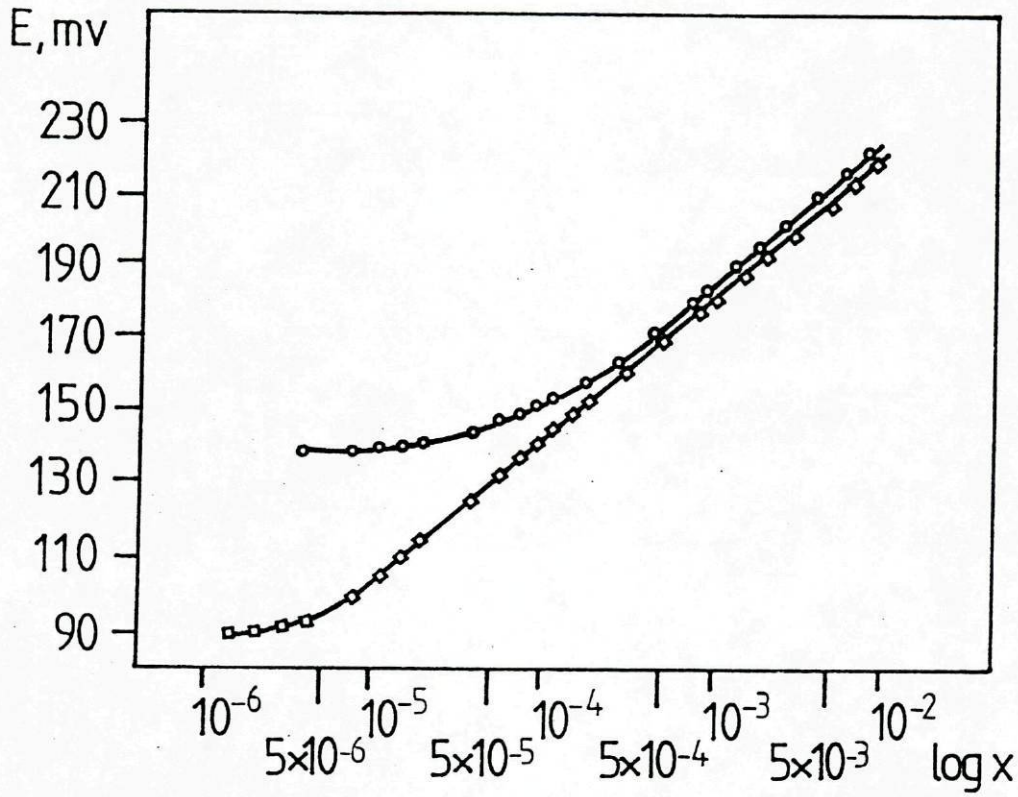


Figura 7.3.1.2 - Curvas de calibração para eléctrodos sensíveis a tiamina preparados com tetra-p-clorofenilborato de tiamina dissolvido em dibutilftalato, ensaiados em: (¤) soluções de ião principal sem a força iónica ajustada e (o) soluções com a força iónica fixada a 0,1 M com cloreto de lítio.

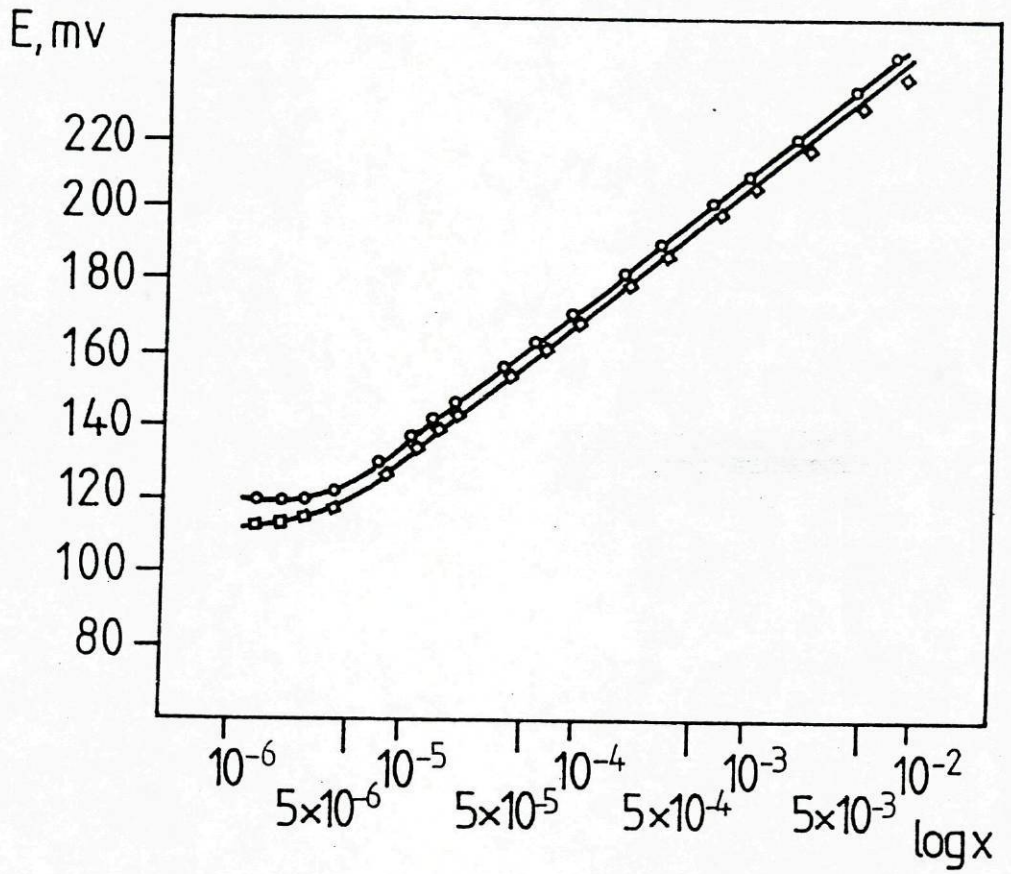


Figura 7.3.1.3 - Curvas de calibração para eléctrodos sensíveis a tiamina preparados com tetra-p-clorofenilborato de tiamina dissolvido em ortonitrofeniloctiléter, ensaiados em: (¤) soluções de ião principal sem a força iónica ajustada e (o) soluções com a força iónica fixada a 0,1 M com cloreto de lítio.

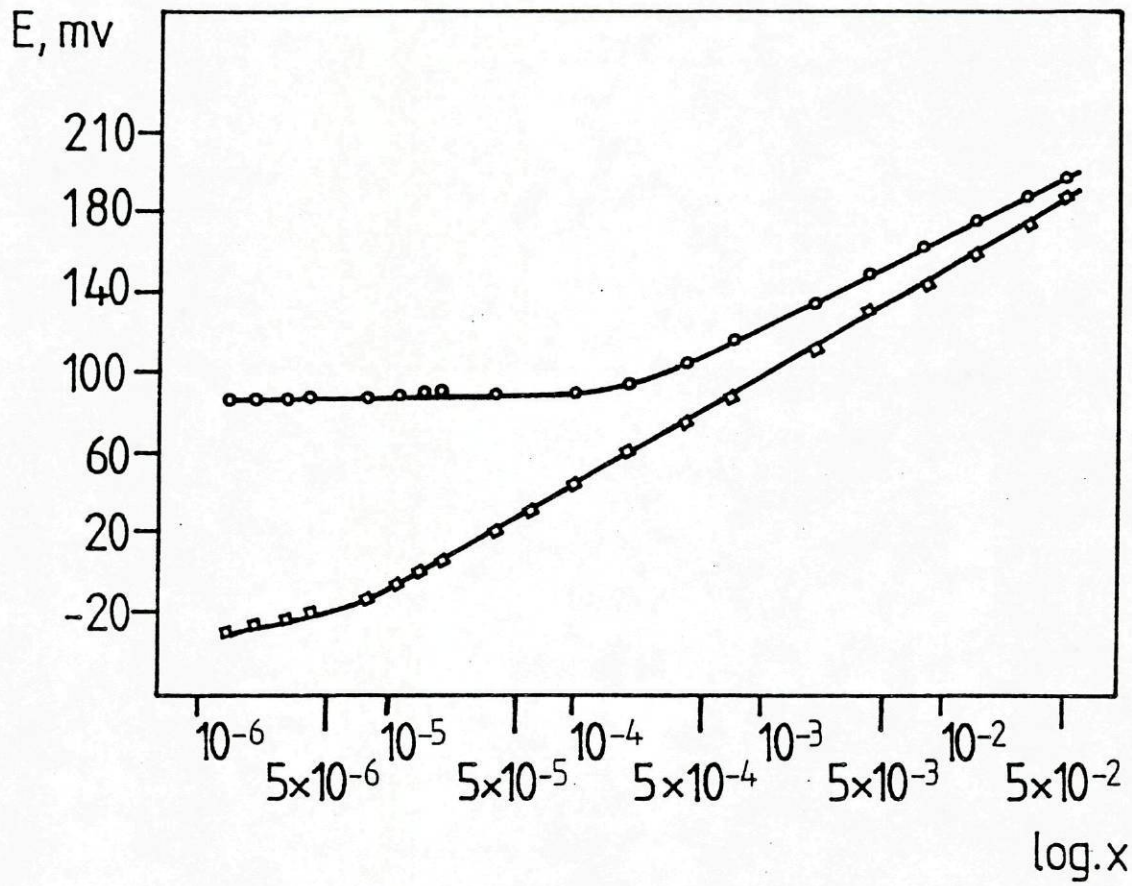


Figura 7.3.1.4 - Curvas de calibração para eléctrodos sensíveis a piridoxina preparados com tetra-p-clorofenilborato de piridoxina dissolvido em dibutilftalato, ensaiados em: (¤) soluções de ião principal sem a força iónica ajustada e (o) soluções com a força iónica fixada a 0,1 M com cloreto de lítio.

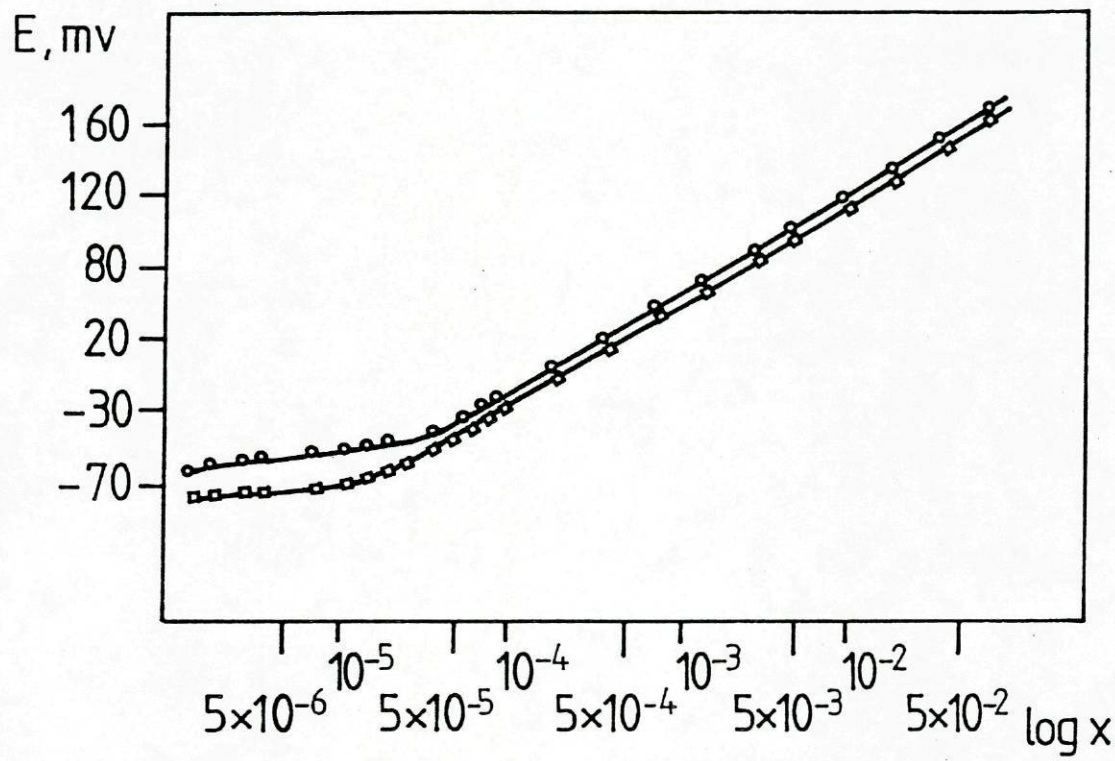


Figura 7.3.1.5 - Curvas de calibração para eléctrodos sensíveis a piridoxina preparados com tetra-p-clorofenilborato de piridoxina dissolvido em ortonitrofeniloctiléter, ensaiados em (¤) soluções de ião principal sem a força iónica ajustada e (o) soluções com a força iónica fixada a 0,1 M com cloreto de lítio.

Tabela 7.3.1.1- Parâmetros das curvas de calibração dos eléctrodos sensíveis a tiamina, usando como sensor o tetrafenilborato (TBF) de tiamina e, como solvente mediador, o dibutilftalato (DBF) e o ortonitrofeniloctiléter (ONFOE)[a].

	Tipos de Eléctrodos	
Características	**TFB - DBF**	**TFB - ONFOE**
L.I.R.L. (M)	$4{,}0\times10^{-5}$	$5{,}0\times10^{-5}$
L.P.D. (M)	$2{,}9\times10^{-5}$	$3{,}0\times10^{-5}$
Declive (mV/dec. conc.)	34,3±0,3	31,4±0,6
Reprodutibilidade (mV/dia)	±0,4	±0,5
Velocidade de resposta (s)	<30	<20

a)-Valores calculados de dois ensaios repetidos, com três eléctrodos de cada tipo.

Tabela 7.3.1.2 - Parâmetros das curvas de calibração dos eléctrodos sensíveis a tiamina usando, como sensor, o tetra-p-clorofenilborato (TpCFB) de tiamina e, como solvente mediador, o dibutilftalato (DBF) e ortonitrofeniloctiléter (ONFOE) [a].

	Tipos de Eléctrodos			
Características	**TpFB - DBF**		**TpFB - ONFOE**	
	I[b]	**II**[c]	**I**[b]	**II**[c]
L.I.R.L. (M)	$8,0\times10^{-6}$	$8,0\times10^{-4}$	$8,0\times10^{-6}$	$8,0\times10^{-6}$
L.P.D. (M)	$5,0\times10^{-6}$	$7,0\times10^{-5}$	$4,0\times10^{-6}$	$4,0\times10^{-6}$
Declive (mV/dec. conc.)	34,6±0,3	28,4±0,5	31,7±0,4	30,9±0,5
Reprodutib. (mV/dia)	±0,6	±0,3	±0,5	±0,2
Velocid. de resposta (s)	<30	<20	<10	<10

a)-Valores calculados de dois ensaios repetidos com três eléctrodos de cada tipo; b)-Ensaios efectuados em solução de ião principal, sem ajuste de força iónica; c)-Ensaios efectuados em solução de ião principal com a força iónica ajustada a 0,1 M com cloreto de lítio.

Tabela 7.3.1.3 - Parâmetros das curvas de calibração para eléctrodos sensíveis a piridoxina, usando, como sensor, o tetra-p-clorofenilborato (TpCFB) de piridoxina e, como solvente mediador o dibutilftalato (DBF) e ortonitrofeniloctiléter (ONFOE) [a].

	Tipos de Eléctrodos			
Características	**TpFB - DBF**		**TpFB - ONFOE**	
	I[b]	**II**[c]	**I**[b]	**II**[c]
L.I.R.L. (M)	$1,2x10^{-5}$	$3,0x10^{-4}$	$2,1x10^{-5}$	$4,0x10^{-5}$
L.P.D. (M)	$7,0x10^{-6}$	$2,0x10^{-4}$	$1,1x10^{-5}$	$3,0x10^{-5}$
Declive (mV/dec. conc.)	63,4±0,4	52,8±0,2	62,0±0,2	61,5±0,3
Reprodutib. (mV/dia)	±1,5	±1,4	±1,3	±1,2
Velocid. de resposta (s)	<30	<20	<10	<10

a)-Valores calculados de dois ensaios repetidos com três eléctrodos de cada tipo; b)-Ensaios efectuados em solução de ião principal, sem ajuste de força iónica; c)-Ensaios efectuados em solução de ião principal com a força iónica ajustada a 0,1 M com cloreto de lítio.

Tabela 7.3.1.4 - Parâmetros de calibração dos eléctrodos sensíveis a tiamina, anteriormente descritos na literatura.

	Características				
[Ref.]	**Declive (mV/dec.)**	**Z.O.R**[a] **(M)**	**Rep. (mV)**	**Vel.Resp. (s)**	**Tempo vida (meses)**
[26]	29,6±0,7	10^{-2}-$10^{-7,5}$	—	10	490
[27]	27,0±1	10^{-1}-10^{-5}	—	—	—
[28][b]	27,1±0,5	10^{-1}-10^{-5}	±0,5	10-30	60
[28][c]	28,0±0,4	10^{-1}-10^{-5}	±0,4	10-30	60
[29]	27,0±1	10^{-1}-10^{-5}	—	10-30	—
[30]	40,0	10^{-2}-5x10^{-5}	±0,1	20	60
[31]	31,6±0,7	10^{-3}-10^{-6}	±0,5	60-120	48
[32]	30,0	10^{-2}-$10^{-7,5}$	<2	60	70
[33]	30,0	10^{-1}-10^{-5}	—	—	—
[34]	30,0	10^{-2}-10^{-5}	—	—	—

a)-Zona operacional de resposta do eléctrodo (usa-se esta expressão, não reconhecida pela IUPAC, devido aos resultados serem apresentados, pelos autores, com a designação de "operational range" e que inclui a zona de resposta linear e o intervalo de concentrações até ao limite prático de detecção; b)-Eléctrodo preparado com tetra-p-clorofenilborato como agente extractor; c)-Eléctrodo preparado com dinonilnaftalenosulfonato como agente extractor.

Tabela 7.3.1.5 - Parâmetros de calibração dos eléctrodos sensíveis a piridoxina ,anteriormente descritos na literatura.

	Características				
[Ref.]	**Declive (mV/dec.)**	**Z.O.R[a)] (M)**	**Rep. (mV)**	**Vel.Resp. (s)**	**Tempo vida (meses)**
[28][b)]	55,3±0,8	10^{-1}-1,2x10^{-4}	±1,0	10-30	60
[28][c)]	55,6±0,7	10^{-1}-7,1x10^{-4}	±1,2	10-30	60
[33]	57	10^{-1}-10^{-5}	—	10	—
[34]	57	10^{-1}-10^{-5}	—	—	—

a)-Zona operacional de resposta do eléctrodo (usa-se esta expressão, não reconhecida pela IUPAC, devido aos resultados serem apresentados, pelos autores, com a designação de "operational range" e que inclui a zona de resposta linear e o intervalo de concentrações até ao limite prático de detecção; b)-Eléctrodo preparado com tetra-p-clorofenilborato como agente extractor; c)-Eléctrodo preparado com dinonilnaftalenosulfonato como agente extractor.

7.3.2 - Reprodutibilidade dos potenciais e tempos de vida dos eléctrodos.

A reprodutibilidade de resposta, ao longo de um dia, foi determinada, efectuando calibrações dos eléctrodos no princípio e ao fim de um dia de trabalho, revelou-se semelhante, para as unidades sensíveis a tiamina, preparadas com dibutilftalato ou com ortonitrofeniloctiléter quando os ensaios decorriam em soluções de ião principal, sem força iónica ajustada (Tabelas 7.3.1.1 e 7.3.1.2). No entanto, quando se fixava a força iónica, os respectivos eléctrodos apresentavam maior reprodutibilidade.

O mesmo efeito se observava com os dois tipos de eléctrodos sensíveis a piridoxina, que se apresentavam, comparativamente com os de tiamina, menos reprodutíveis quando os ensaios decorriam em soluções de composição semelhante (Tabela 7.3.1.3).

A reprodutibilidade de resposta, ao longo do tempo de vida, para os diversos tipos de eléctrodos construídos, foi avaliada efectuando, periodicamente, o traçado de rectas de calibração, em soluções contendo apenas o ião principal, numa zona de concentrações entre 10^{-4} e $2x10^{-2}$ M (Cap.2). Este intervalo de concentrações estava incluído na zona de resposta linear do eléctrodo e, por sua vez, na zona onde foram efectuadas as determinações das espécies vitamínicas, em formulações farmacêuticas.

Durante o tempo de vida, os eléctrodos apresentavam valores de potencial bastante reprodutíveis (Tabelas de 7.3.2.1 a 7.3.2.6), principalmente os eléctrodos que utilizavam ortonitrofeniloctiléter como mediador.

Nas Tabelas 7.3.2.1 a 7.3.2.6, representam-se, para duas unidades de cada tipo, os valores dos respectivos declives das rectas de calibração, os correspondentes valores de coeficiente de correlação e o valor de potencial dos eléctrodos, respeitante a uma concentração de ião principal igual a 10^{-2} M.

Nos eléctrodos sensíveis a tiamina, em cuja preparação se utilizou o

tetrafenilborato, os tempos de vida registados eram mais curtos (cerca de 90 dias) do que os obtidos com unidades para a mesma espécie catiónica, preparados com tetra-p-clorofenilborato como extractor iónico. Estes últimos apresentavam uma duração aproximadamente de 270 dias. Justifica-se este comportamento, pela menor perda de sensor iónico pela membrana, condicionada pela menor solubilidade do tetra-p-clorofenilborato relativamente ao tetrafenilborato [37].

Observou-se, também, que todos os tipos de eléctrodos construídos (sensíveis a vitamina B_1 ou B_6) e que usavam dibutilftalato como solvente mediador, apresentavam tempos de vida ligeiramente inferiores aos que eram preparados com ortonitrofeniloctiléter. Este facto, associado a um conjunto de características apresentadas por estes tipos de eléctrodos, nomeadamente reprodutibilidade ao longo do tempo de vida, contribuiu para a escolha destas unidades para as determinações potenciométricas em produtos farmacêuticos.

Comparando os tempos de vida registados para os eléctrodos de tiamina e piridoxina, verificou-se que os segundos perdiam, mais rapidamente as suas características de funcionamento do que os primeiros, detectáveis pelo decréscimo de declive e perda de linearidade.

Se se compararem os valores dos tempos de vida, para as diferentes unidades construídas, e o que é indicado na literatura, por outros autores, para eléctrodos sensíveis às mesmas espécies catiónicas [26,28,30-32], poder-se-á afirmar, que os eléctrodos cuja construção se refere neste trabalho, são significativamente mais duráveis (Tabelas 7.3.1.4 e 7.3.1.5). Naqueles casos, a utilização de sensor iónico na forma líquida [30,31] ou a existência de uma pressão hidrostática sobre a membrana [26,28,32] contribui para uma menor durabilidade dos eléctrodos.

Tabela 7.3.2.1- Reprodutibilidade de resposta, ao longo do tempo de vida, para eléctrodos sensíveis a tiamina, preparados com tetrafenilborato de tiamina em dibutilftalato.

Dias	E_1			E_2		
	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]
3	34,4	-5,8	0,9997	33,9	11,1	0,9994
3	34,8	-4,0	0,9998	33,9	10,5	0,9998
4	35,0	-7,0	0,9995	33,0	7,3	0,9994
4	34,6	-7,8	0,9994	34,1	7,5	0,9998
9	34,4	-10,0	0,9998	34,5	5,1	0,9994
9	34,4	-10,9	0,9995	34,8	4,1	0,9997
18	32,9	-11,9	0,9992	34,0	3,2	0,9998
33	33,7	-18,1	0,9991	34,5	-2,5	0,9994
49	34,2	-24,9	0,9995	34,1	-9,4	0,9993
64	34,2	-29,5	0,9991	35,0	-16,3	0,9995
81	29,9	-38,4	0,9990	28,3	-24,3	0,9993
96	25,8	-50,6	0,9980	22,4	-124,0	0,9900
126	21,6	140,3	0,9794	14,9	123,7	0,8870

a)-Declive das rectas de calibração em mV/década de concentração; b)-Potencial (mV) obtido a partir das rectas de calibração para uma concentração de catião tiamina igual a 10^{-2} M; c)-Coeficiente de correlação das respectivas rectas de calibração.

Tabela 7.3.2.2- Reprodutibilidade de resposta, ao longo do tempo de vida,para eléctrodos sensíveis a tiamina, preparados com tetrafenilborato em ortonitrofeniloctiléter.

Dias	E_1			E_2		
	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]
3	31,9	107,3	0,9998	31,8	41,1	0,9994
3	31,4	106,5	0,9997	31,8	40,5	0,9999
4	30,9	103,8	0,9995	32,0	37,5	0,9999
4	31,2	103,1	0,9996	31,9	37,0	0,9998
9	31,3	100,6	0,9997	30,8	34,1	0,9998
9	31,3	100,7	0,9995	30,9	33,3	0,9994
18	32,0	87,4	0,9993	31,5	20,3	0,9995
33	31,7	55,4	0,9995	31,6	-11,7	0,9998
49	30,9	39,4	0,9997	31,4	-43,1	0,9995
64	31,8	21,1	0,9993	31,2	-25,2	0,9994
81	30,9	-2,0	0,9994	30,3	-45,4	0,9990
96	29,5	-32,1	0,9993	27,5	60,2	0,9989
126	30,1	65,4	0,9794	31,9	-95,4	0,9997
159	25,8	107,5	0,9887	28,5	200,1	0,8810

a)-Declive das rectas de calibração em mV/década de concentração; b)-Potencial (mV) obtido a partir das rectas de calibração para uma concentração de catião tiamina igual a 10^{-2} M; c)-Coeficiente de correlação das respectivas rectas de calibração.

Tabela 7.3.2.3- Reprodutibilidade de resposta, ao longo do tempo de vida, para eléctrodos sensíveis a tiamina, preparados com tetra-p-clorofenilborato em dibutilftalato.

Dias	E_1			E_2		
	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]
5	34,1	108,4	0,9995	33,9	117,1	0,9995
5	34,4	107,5	0,9994	34,2	116,5	0,9998
9	34,6	105,3	0,9993	34,1	114,0	0,9994
9	34,9	04,8	0,9999	34,5	113,1	0,9993
15	34,5	100,8	0,9994	34,4	109,9	0,9996
15	34,2	100,1	0,9995	34,1	109,2	0,9997
31	34,1	91,5	0,9995	32,7	100,7	0,9995
47	34,4	75,8	0,9996	33,9	116,4	0,9994
77	34,3	79,4	0,9995	33,8	112,8	0,9995
109	33,9	60,2	0,9996	34,0	93,5	0,9996
127	33,8	55,3	0,9994	33,8	98,9	0,9995
152	33,7	42,1	0,9998	33,1	112,1	0,9984
189	33,1	60,4	0,9997	32,7	94,8	0,9993
204	32,5	67,7	0,9998	32,5	87,5	0,9992
239	31,6	70,9	0,9994	31,6	95,3	0,9995
265	29,7	99,2	0,9990	30,4	74,2	0,9996
295	28,4	83,3	0,9921	28,5	58,5	0,9997
299	25,3	22,1	0,9901	27,7	8,9	0,9899
310	22,1	-10,8	0,9888	23,2	-32,1	0,9881
331	20,1	-51,4	0,9980	19,1	-15,8	0,9800

a)-Declive das rectas de calibração em mV/década de concentração; b)-Potencial (mV) obtido a partir das rectas de calibração para uma concentração de catião tiamina igual a 10^{-2} M; c)-Coeficiente de correlação das respectivas rectas de calibração.

Tabela 7.3.2.4- Reprodutibilidade de resposta, ao longo do tempo de vida, para eléctrodos sensíveis a tiamina, preparados com tetra-p-clorofenilborato em ortonitrofeniloctiléter.

Dias	E_1			E_2		
	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]
5	31,6	225,0	0,9998	30,9	220,1	0,9999
5	31,4	225,5	0,9999	31,3	219,7	0,9993
9	31,6	223,8	0,9999	30,9	221,3	0,9999
9	31,5	224,3	0,9997	31,1	220,9	0,9997
15	31,0	221,6	0,9996	31,4	218,5	0,9998
15	32,1	221,0	0,9997	31,0	218,2	0,9997
31	31,6	214,8	0,9998	31,8	210,9	0,9998
47	30,9	208,5	0,9994	31,9	204,7	0,9997
77	31,1	197,3	0,9992	31,7	191,8	0,9998
109	31,4	210,4	0,9997	31,4	203,5	0,9998
127	31,5	203,2	0,9994	31,3	196,4	0,9997
152	31,9	194,9	0,9998	30,3	185,7	0,9985
189	31,5	180,3	0,9997	32,0	171,4	0,9996
204	30,9	186,7	0,9997	32,1	166,2	0,9999
239	32,5	172,5	0,9999	31,8	151,9	0,9996
265	31,8	60,1	0,9998	31,5	129,7	0,9997
295	31,0	121,3	0,9993	31,0	89,9	0,9994
299	30,4	119,8	0,9991	30,0	88,4	0,9900
310	29,9	125,7	0,9990	30,0	92,1	0,9993
331	27,5	134,9	0,9990	26,4	101,6	0,9991
342	28,5	64,3	0,9899	29,9	22,9	0,9900
352	23,2	15,1	0,9190	22,1	-10,8	0,9870

a)-Declive das rectas de calibração em mV/década de concentração; b)-Potencial (mV) obtido a partir das rectas de calibração para uma concentração de catião tiamina igual a 10^{-2} M; c)-Coeficiente de correlação das respectivas rectas de calibração.

Tabela 7.3.2.5- Reprodutibilidade de resposta, para eléctrodos sensíveis a piridoxina, preparados com tetra-p-clorofenilborato em dibutilftalato.

Dias	E_1			E_2		
	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]
3	61,7	199,7	0,9998	62,1	205,2	0,9995
3	61,6	198,2	0,9997	62,4	204,3	0,9998
7	62,0	193,7	0,9997	63,1	198,7	0,9997
7	62,1	191,4	0,9995	63,4	196,5	0,9999
14	62,3	180,9	0,9993	63,3	186,0	0,9997
14	62,4	179,4	0,9994	63,0	183,9	0,9995
27	62,7	173,0	0,9996	62,8	121,8	0,9997
34	63,6	154,7	0,9997	62,7	110,0	0,9998
41	63,5	150,6	0,9997	61,1	105,9	0,9993
48	63,9	158,7	0,9998	61,6	100,1	0,9995
55	63,8	154,0	0,9999	63,8	87,2	0,9995
62	63,4	155,5	0,9997	64,0	85,9	0,9987
69	62,9	150,0	0,9997	62,9	89,5	0,9998
76	62,8	160,2	0,9995	63,0	114,3	0,9989
89	63,8	184,7	0,9998	63,1	125,2	0,9995
97	63,5	192,2	0,9995	63,7	127,7	0,9997
104	64,0	195,8	0,9997	60,5	122,0	0,9996
111	63,7	183,8	0,9995	61,2	118,3	0,9994
118	58,4	184,0	0,9980	58,9	107,6	0,9990
125	53,8	207,0	0,9995	59,4	112,3	0,9991
135	50,9	238,3	0,9950	57,1	172,0	0,9980
145	46,4	243,9	0,9941	55,9	167,6	0,9931
169	44,2	245,5	0,9940	54,0	192,8	0,9901

a)-Declive das rectas de calibração em mV/década de concentração; b)-Potencial (mV) obtido a partir das rectas de calibração para uma concentração de catião piridoxina igual a 10^{-2} M; c)-Coeficiente de correlação das respectivas rectas de calibração.

Tabela 7.3.2.6- Reprodutibilidade de resposta, ao longo do tempo de vida,

para eléctrodos sensíveis a piridoxina, preparados com tetra-p-clorofenilborato em ortonitrofeniloctiléter.

Dias	E_1			E_2		
	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]	D[a)]	E,mV[b)]	R[c)]
3	61,9	219,5	0,9998	61,4	242,7	0,9991
3	62,0	218,2	0,9999	61,8	241,4	0,9997
7	62,1	213,4	0,9997	62,0	236,2	0,9998
7	62,3	212,1	0,9998	62,1	234,8	0,9999
14	62,1	203,0	0,9998	61,9	225,8	0,9999
14	61,9	201,5	0,9999	61,8	222,2	0,9997
27	60,9	190,1	0,9997	60,9	165,3	0,9998
34	62,3	197,3	0,9998	60,8	162,8	0,9995
41	62,4	202,7	0,9996	61,3	160,2	0,9997
48	61,7	198,4	0,9999	61,4	181,6	0,9998
55	61,9	198,6	0,9997	61,7	171,5	0,9997
62	60,3	206,5	0,9998	61,5	174,5	0,9998
69	60,4	208,6	0,9999	61,4	189,7	0,9996
76	62,9	205,8	0,9999	61,5	203,0	0,9997
89	62,4	211,5	0,9998	61,8	204,6	0,9998
97	61,3	212,4	0,9997	61,9	214,9	0,9998
104	61,4	222,1	0,9997	61,3	213,8	0,9997
111	61,7	202,2	0,9995	61,0	200,5	0,9998
118	62,0	201,6	0,9996	60,9	191,5	0,9999
125	62,0	225,1	0,9995	62,7	215,0	0,9999
135	62,8	216,1	0,9993	62,0	206,4	0,9995
145	62,4	225,2	0,9993	61,8	214,1	0,9994
169	60,3	221,8	0,9989	61,0	213,7	0,9993
173	61,3	216,8	0,9992	60,4	217,9	0,9992
183	59,3	220,9	0,9991	58,5	221,5	0,9990
190	55,2	231,7	0,9901	53,4	244,5	0,9990
210	53,1	257,9	0,8991	50,2	289,5	0,9980

a)-Declive das rectas de calibração em mV/década de concentração; b)-Potencial (mV) obtido a partir das rectas de calibração para uma concentração de catião piridoxina igual a 10^{-2} M; c)-Coeficiente de correlação das respectivas rectas de calibração.

7.3.3 - Velocidade de resposta dos eléctrodos.

A velocidade de resposta para os diferentes eléctrodos preparados, foi determinada calculando o tempo necessário para que as unidades atingissem um potencial estável (± 0,2 mV) quando, durante o traçado das rectas de calibração se fazia variar na solução onde os eléctrodos estavam imersos, a concentração de ião principal (Tabelas 7.3.1.1 a 7.3.1.3).

De um modo geral todas as unidades atingiam rapidamente um potencial estável, na zona de resposta linear, embora, para a zona não linear da curva de calibração, o tempo de estabilização fosse mais longo, não ultrapassando, no entanto, os 60 segundos.

Genericamente, os eléctrodos construídos com ortonitrofeniloctiléter apresentavam uma resposta mais rápida que os de dibutilftalato sobretudo quando a força iónica da solução era ajustada. A resposta, neste caso, poderia considerar-se instantânea e apenas dependente do tempo de homogeneização da solução. As diferenças registadas estão provavelmente relacionadas com a influência exercida pelos mediadores na mobilidade relativa dos iões constituintes da membrana.

Ao relacionarmos o valor deste parâmetro com o apresentado por outros autores para eléctrodos de tiamina [26,28-32] ou de piridoxina [26,28], nos casos em que é indicado, concluiremos que, em unidades com o sensor na forma líquida [30,31], o valor fornecido pelos eléctrodos construídos apresenta-se melhorado (Tabelas 7.3.1.1, 7.3.1.2 e 7.3.1.4).

Mesmos nos casos onde foi eliminada a solução de referência interna dos eléctrodos sensíveis a tiamina [29], a resposta obtida com as unidades, cuja preparação aqui se descreve, era mais rápida. Os referidos autores [29], indicavam tempos que variavam entre os 10 e 30 segundos quando os eléctrodos eram ensaiados numa zona de concentrações correspondentes à zona de resposta linear das unidades.

As diferenças registadas decorrem provavelmente da forma como o sensor iónico era imobilizado, do tipo de metodologia usada para a avaliação deste parâmetro, do volume e tempo de homogeneização das soluções onde se realizavam os ensaios e ainda da espessura da membrana dos eléctrodos preparados, comparativamente com os anteriormente descritos [29-31].

7.3.4 - Efeito do pH no valor de potencial dos eléctrodos.

Para a avaliação deste parâmetro, foram efectuados diagramas da variação de potencial dos eléctrodos com o pH (Cap. 2) quando os mesmos estavam imersos em soluções de concentração igual a 10^{-2}, 10^{-3} e 10^{-4} M no respectivo ião principal.

Para as diferentes concentrações indicadas, não se observou, quer para os eléctrodos de tiamina quer para os de piridoxina, variação significativa na extensão do patamar operacinal (zona de pH correspondente a variações pouco significativas do potencial dos eléctrodos), pelo que se apresentam, nas Figs. 7.3.4.1 a 7.3.4.3, os respectivos diagramas correspondentes à concentração de 10^{-2} M em cloreto de tiamina ou cloreto de piridoxina.

Os diagramas foram obtidos, utilizando amoníaco (pela sua baixa interferência nos eléctrodos) para alcalinizar a solução e, ácido clorídrico para acidificá-la. A utilização deste último teve, como objectivo, procurar que apenas existisse em solução o mesmo tipo de contra-ião que o da vitamina usada, minimizando, deste modo, qualquer interferência que, por hipótese pudesse surgir da parte deste.

Para os diferentes eléctrodos construídos, verificou-se que o potencial não era praticamente afectado, entre aproximadamente 2 a 4 unidades de pH, valores estes que correspondem à zona de pH para o qual as vitaminas B_1 e B_6 são quimicamente estáveis. Por esta razão, e neste caso, o patamar

operacional para os eléctrodos construídos, é menos dependente dos componentes da membrana tornando-se quase exclusivamente dependente da estabilidade química das próprias vitaminas.

Para valores de pH superiores a 4 unidades, registou-se uma gradual diminuição do potencial dos eléctrodos, devido ao aumento, também gradual, na concentração de vitamina não protonada. O decréscimo de potencial para valores de pH abaixo de 2 unidades é atribuível à interferência do protão do ácido utilizado para acidificar as soluções.

É de registar, contudo, que este decréscimo se faz sentir de um modo menos gradual, nos eléctrodos construídos com dibutilftalato como mediador, do que nos que usavam ortonitrofeniloctiléter, o que está de acordo com os correspondentes valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos,em relação a este interferente (ver Tabelas 7.3.5.1, 7.3.5.3 e 7.3.5.5).

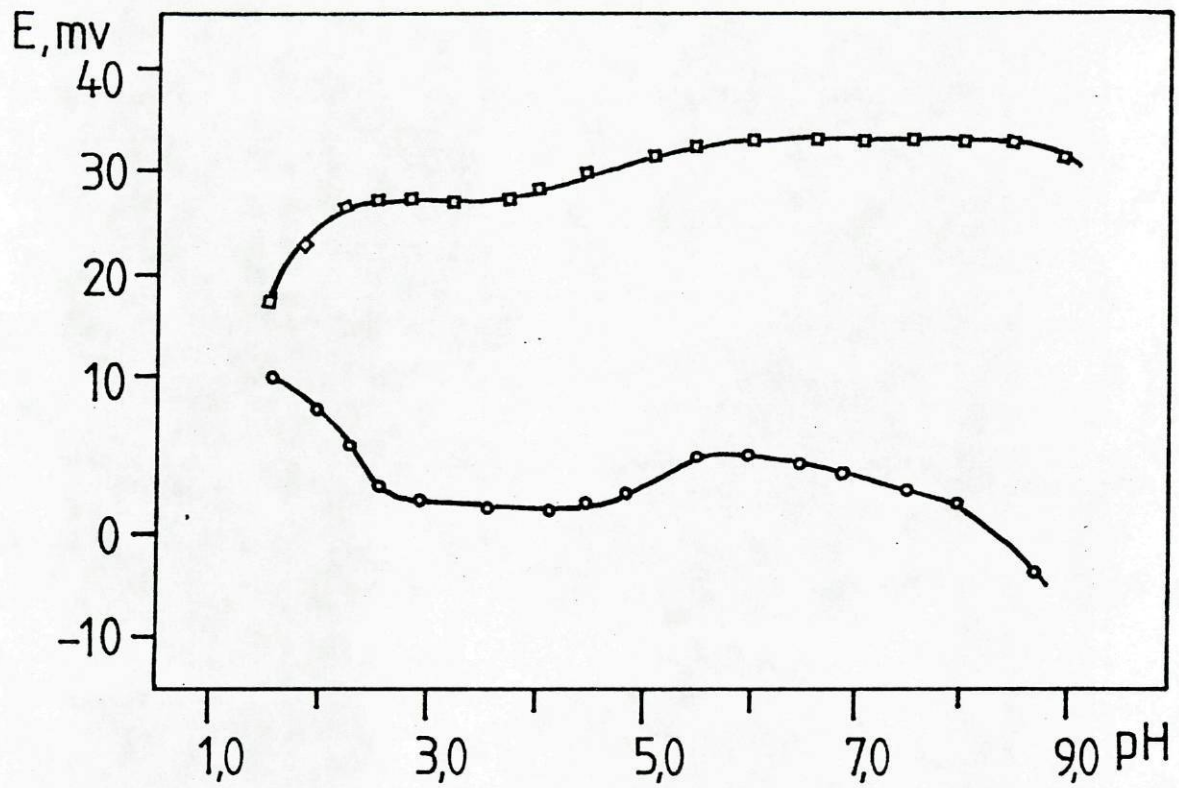


Figura 7.3.4.1 - Diagramas da variação de potencial dos eléctrodos sensíveis a tiamina com o pH das soluções, efectuados para uma concentração de ião principal igual a 10^{-2} M. Ensaios efectuados com: (o)-um eléctrodo preparado com tetrafenilborato de tiamina em ortonitrofeniloctiléter como solvente mediador; (¤)-um eléctrodo preparado com tetrafenilborato de tiamina em dibutilftalato como solvente mediador.

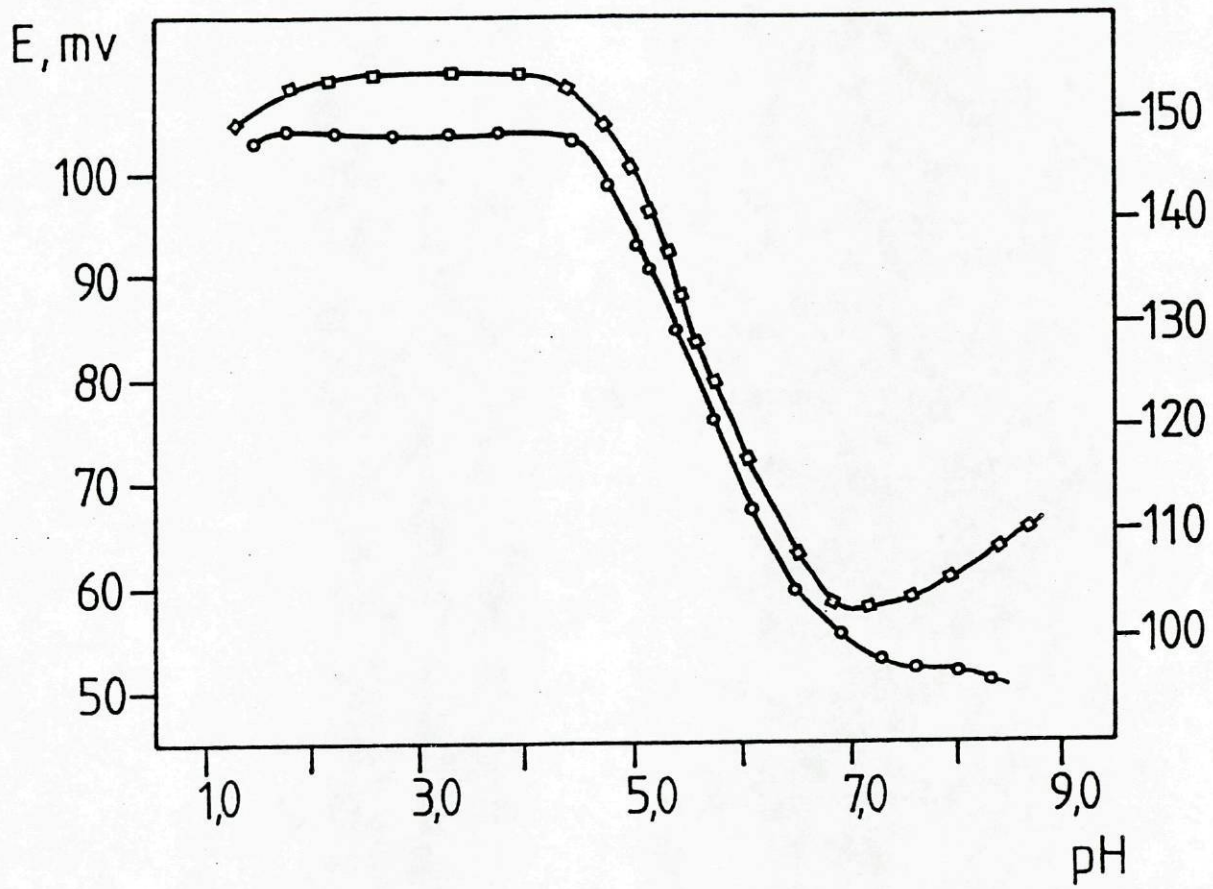


Figura 7.3.4.2 - Diagramas da variação de potencial dos eléctrodos sensíveis a tiamina com o pH das soluções, efectuados para uma concentração de ião principal igual a 10^{-2} M. Ensaios efectuados com: (o)-um eléctrodo preparado com tetra-p-clorofenilborato de tiamina em ortonitrofeniloctiléter como solvente mediador; (¤)-um eléctrodo preparado com tetra-p-clorofenilborato de tiamina em dibutilftalato como solvente mediador.

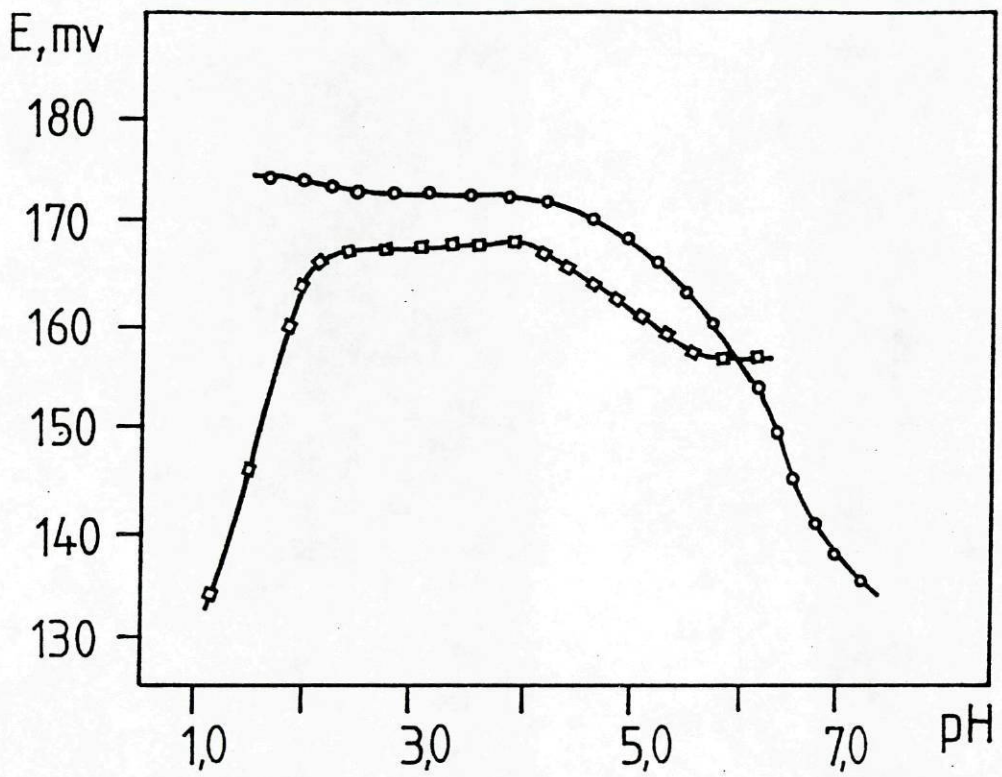


Figura 7.3.4.3 - Diagramas da variação de potencial dos eléctrodos sensíveis a piridoxina com o pH das soluções, efectuados para uma concentração de ião principal igual a 10^{-2} M. Ensaios efectuados com: (o)-um eléctrodo preparado com tetra-p-clorofenilborato de piridoxina em ortonitrofeniloctiléter como solvente mediador; (¤)-um eléctrodo preparado com tetra-p-clorofenilborato de piridoxina em dibutilftalato como solvente mediador.

7.3.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos.

Determinaram-se os coeficientes de selectividade potenciométricos em relação a alguns catiões inorgânicos e, no caso dos eléctrodos de tiamina e piridoxina preparados com tetra-p-clorofenilborato, fizeram-se determinações deste parâmetro em relação a alguns tipos de vitaminas, correntemente presentes em preparações de polivitamínicas .

Para os interferentes, com a mesma carga que o ião principal, utilizou-se o método das soluções separadas (Cap. 2) enquanto que nos casos em que os dois catiões possuiam cargas diferentes, os ensaios foram efectuados pelo método das soluções misturadas (Cap. 2). Em ambas as situações fixou-se a concentração de interferente a 10^{-2}, $5x10^{-3}$ e 10^{-3} M, sendo os resultados determinados para os diferentes eléctrodos construídos, aqueles que se apresentam nas Tabelas 7.3.5.1 a 7.3.5.6.

Os valores obtidos para os coeficientes de selectividade potenciométricos dos eléctrodos, nomeadamente para a interferência de cálcio e magnésio, permitem concluir que, para aqueles que usavam tetrafenilborato como extractor iónico, a selectividade era nitidamente diferente quando, na sua preparação, se usava ortonitrofeniloctiléter e dibutilftalato como solventes mediadores, o que demonstra o papel importante destes compostos na interferência das espécies em solução.

Quando se usava, como permutador iónico, o tetra-p-clorofenilborato em vez do tetrafenilborato, os eléctrodos, sensíveis a tiamina, eram bastante mais selectivos, confirmando-se assim que o tetra-p-clorofenilborato possui superiores capacidades extractivas em relação ao tetrafenilborato (Tabelas 7.3.5.1 a 7.3.5.4). Este facto evidencia também a forte influência que o extractor iónico exerce na selectividade dos eléctrodos.

Um aumento de selectividade foi igualmente registado para os eléctrodos (de tiamina e piridoxina), preparados com tetra-p-clorofenilborato,

usando ortonitrofeniloctiléter em vez de dibutilftalato como solventes mediadores, razão que justificou a escolha dos primeiros para o doseamento das vitaminas em formulações farmacêuticas.

Os eléctrodos de tiamina, comparativamente com os de piridoxina, apresentavam-se mais selectivos quando, na sua preparação, se usavam sistemas extractores semelhantes. Este facto decorre do maior grau de lipofilia apresentado pelo tetra-p-clorofenilborato de tiamina comparado com tetra-p-clorofenilborato de piridoxina. Esta situação condicionou a aplicação analítica das unidades sensíveis a piridoxina em formulações, sobretudo naquelas que possuiam vitamina B_1 na sua composição, já que este composto funcionava como um forte interferente para os eléctrodos sensíveis a vitamina B_6.

Nas Tabelas 7.3.5.7 e 7.3.5.8, e para efeitos de comparação, encontram-se indicados os valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos para eléctrodos já anteriormente descritos na literatura, sensíveis respectivamente a tiamina e piridoxina. A falta de informação relativa às condições em que foram efectuados os ensaios de avaliação deste parâmetro, assim como os diferentes processos de cálculo utilizados para a sua determinação, dificultam a comparação dos resultados.

Tabela 7.3.5.1 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos de tiamina, preparados com tetrafenilborato de tiamina dissolvido em dibutilftalato [a].

Interferente	**Concentração (M)**		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Sódio[b]	+1,87±0,06	+1,31±0,01	+0,90±0,04
Potássio[b]	+2,72±0,01	+1,61±0,01	+1,15±0,06
Amónio[b]	+2,69±0,02	+1,53±0,03	+1,10±0,01
Protão[b]	+3,65±0,05	+1,74±0,07	forte interferência
Cálcio[c]	-2,91±0,05	-3,33±0,05	-3,61±0,05
Magnésio[c]	-2,15±0,05	-2,37±0,09	-2,72±0,02
Piridoxina[b]	+2,62±0,08	+1,61±0,04	forte interferência

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos; b)-Valores calculados pelo método das soluções misturadas; c)-Valores calculados pelo método das soluções separadas.

Tabela 7.3.5.2 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos de tiamina preparados com tetrafenilborato de tiamina dissolvido em ortonitrofeniloctiléter [a].

Interferente	**Concentração (M)**		
	10^{-3}	**$5x10^{-3}$**	**10^{-2}**
Sódio[b]	+1,88±0,06	+0,47±0,07	-0,41±0,01
Potássio[b]	+1,90±0,01	-0,39±0,01	-0,48±0,06
Amónio[b]	+2,37±0,04	+0,56±0,02	+0,07±0,02
Protão[b]	+3,66±0,07	+1,67±0,05	forte interferência
Cálcio[c]	--1,49±0,06	--2,32±0,09	-2.59±0,09
Magnésio[c]	+1,71±0,07	-0,02±0,05	-2,20±0,04
Piridoxina[b]	+2,89±0,07	+1,61±0,01	+0,97±0,08

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos; b)-Valores calculados pelo método das soluções misturadas; c)-Valores calculados pelo método das soluções separadas.

Tabela 7.3.5.3 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos de tiamina preparados com tetra-p-clorofenilborato de tiamina dissolvido em dibutilftalato [a].

Interferente	Concentração (M)		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Sódio[b]	+1,43±0,01	+0,24±0,04	-0,76±0,05
Potássio[b]	+1,71±0,01	+0,32±0,03	+0,16±0,06
Amónio[b]	+1,53±0,04	-0,09±0,01	-0,50±0,05
Protão[b]	+1,81±0,01	+0,06±0,03	-0,39±0,05
Lítio[b]	-2,22±0,04	-0,23±0,01	-0,74±0,04
Cálcio[c]	-2,64±0,02	-3,14±0,07	-3,45±0,05
Magnésio[c]	-3,64±0,07	-4,23±0,05	-4,44±0,01
Piridoxina[b]	+2,28±0,05	+1,18±0,02	+0,98±0,07
Nicotinamida[b]	+0,02±0,02	-0,01±0,07	-0,15±0,04
Cianocobalamina[b]	-0,94±0,05	-1,11±0,03	-1,21±0,04

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos; b)-Valores calculados pelo método das soluções misturadas; c)-Valores calculados pelo método das soluções separadas.

Tabela 7.3.5.4 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos de tiamina preparados com tetra-p-clorofenilborato de tiamina dissolvido em ortonitrofeniloctiéter [a].

Interferente	**Concentração (M)**		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Sódio[b]	+1,45±0,06	-0,68±0,07	-1,37±0,04
Potássio[b]	+1,99±0,06	-0,36±0,03	-0,39±0,03
Amónio[b]	+1,94±0,09	-0,43±0,02	-0,95±0,05
Protão[b]	+1,58±0,04	-0,21±0,03	-0,69±0,04
Lítio[b]	+0,86±0,02	-0,54±0,04	-1,40±0,05
Cálcio[c]	-2,62±0,01	-3,11±0,01	-3,56±0,01
Magnésio[c]	-3,35±0,07	-3,91±0,06	-4,21±0,08
Piridoxina[b]	+1,73±0,04	+0,41±0,08	+0,09±0,01
Nicotinamida[b]	-0,02±0,01	-0,47±0,05	-1,27±0,03
Cianocobalamina[b]	-1,01±0,03	-1,32±0,02	-1,57±0,02

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos; b)-Valores calculados pelo método das soluções misturadas; c)-Valores calculados pelo método das soluções separadas.

Tabela 7.3.5.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos de piridoxina preparados com tetra-p-clorofenilborato de tiamina dissolvido em dibutilftalato [a].

Interferente	**Concentração (M)**		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Sódio[b]	-1,39±0,08	-1,64±0,06	-1,80±0,02
Potássio[b]	-0,89±0,04	-1,03±0,03	-1,09±0,02
Amónio[b]	-1,23±0,01	-1,40±0,02	-1,50±0,01
Protão[b]	-1,33±0,06	-1,59±0,05	-1,78±0,05
Lítio[c]	-1,52±0,05	-2,04±0,05	-2,20±0,08
Cálcio[c]	-2,87±0,06	-3,02±0,06	-3,14±0,06
Magnésio[c]	-2,99±0,04	-3,14±0,02	-3,27±0,03
Tiamina[c]	-1,22±0,05	-1,47±0,03	-1,55±0,03
Nicotinamida[c]	-2,01±0,03	-2,21±0,02	-2,34±0,04
Cianocobalamina[c]	-2,65±0,03	-2,70±0,04	-2,89±0,04

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos; b)-Valores calculados pelo método das soluções separadas; c)-Valores calculados pelo método das soluções misturadas.

Tabela 7.3.5.6 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos de piridoxina preparados com tetra-p-clorofenilborato de tiamina dissolvido em ortonitrofeniloctiéter [a].

Interferente	**Concentração (M)**		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Sódio[b]	-1,96±0,01	-2,38±0,05	-2,57±0,02
Potássio[b]	-1,19±0,04	-1,34±0,02	-1,44±0,03
Amónio[b]	-1,47±0,05	-1,62±0,01	-1,71±0,01
Protão[b]	-1,64±0,07	-2,08±0,06	-2,39±0,06
Lítio[c]	-1,76±0,06	-2,38±0,06	-2,67±0,05
Cálcio[c]	-3,03±0,05	-3,20±0,07	-3,42±0,06
Magnésio[c]	-3,48±0,03	-3,66±0,03	-3,80±0,02
Tiamina[c]	-1,14±0,05	forte interferência	forte interferência
Nicotinamida[c]	-2,04±0,03	-2,23±0,04	-2,78±0,01
Cianocobalamina[c]	-1,95±0,03	-2,24±0,05	-2,57±0,03

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três eléctrodos; b)-Valores calculados pelo método das soluções separadas; c)-Valores calculados pelo método das soluções misturadas.

Tabela 7.3.5.7 - Coeficientes de selectividade potenciométricos(log K^{POT}) para eléctrodos de tiamina referidos anteriormente na literatura.

Interferentes	**Referências**						
	[26][a)]	**[28]**[b)]	**[29]**[a)]	**[32]**[a)c)]	**[33]**[a)d)]	**[33]**[b)]	**[34]**[b)]
Sódio	-4,1	—	—	—	—	<-4	-4
Potássio	-3,2	—	—	—	—	<-4	-4
Amónio	-3,7	—	—	—	—	—	-4
Cálcio	-3,6	-4,4	-1,3	—	—	-4,0	—
Magnésio	-4,8	-5,2	—	—	—	—	—
Piridoxina	-0,25	—	-2,8	-3,9	-3,9	+1,9	+1,9
Cianocobalina	—	—	-2,1	—	—	—	—
Nicotinamida	—	—	-1,7	—	—	—	—

a)-Ensaios efectuados pelo método das soluções misturadas; b)-Ensaios efectuados pelo método das soluções separadas; c)-Eléctrodo usando como extractor iónico o dinonilnaftalenosulfonato; d)-Eléctrodo usando como extractor iónico o tetra-p-clorofenilborato.

Tabela 7.3.5.8 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para eléctrodos de piridoxina referidos até ao momento na literatura.

Interferentes	**Referências**			
	[32][a)c)]	**[32]**[a)d)]	**[33]**[b)]	**[34]**
Sódio	—	—	<-4	-3,2
Potássio	—	—	<-1,6	-1,6
Amónio	—	—	—	—
Cálcio	—	—	-2,1	-2,1
Magnésio	—	—	—	—
Tiamina	-0,46	-0,37	-1,0	-1,0

a)-Ensaios efectuados pelo método das soluções misturadas; b)-Ensaios efectuados pelo método das soluções separadas; c)-Eléctrodo usando como extractor iónico o dinonilnaftalenosulfonato; d)-Eléctrodo usando como extractor iónico o tetra-p-clorofenilborato.

7.3.6 - Doseamento de tiamina e piridoxina em fórmulas farmacêutias.

Sobre amostras de proveniência comercial, contendo tiamina ou piridoxina, ou ainda sobre produtos farmacêuticos onde os dois tipos de vitaminas estavam associados, determinou-se o conteúdo de cada uma das vitaminas, por potenciometria directa e pelo método de adição.

Encontram-se resumidos, na Tabela 7.3.6.1, os resultados referentes às determinações efectuadas com os eléctrodos sensíveis a tiamina em formulações farmacêuticas. Na mesma Tabela indicam-se igualmente os resultados obtidos para as mesmas amostras quando se efectuavam os ensaios recorrendo ao procedimento indicado na Farmacopeia dos Estados Unidos da América [3].

Como ficou referido em 7.3.5, a utilização do eléctrodo de piridoxina em produtos onde estavam presentes simultâneamente a vitamina B_1e B_6, era limitada pela baixa selectividade das unidades em relação à vitamina B_1. Por estas razões, apenas se executaram, sobre seis amostras diferentes de Bénedon, ensaios por potenciometria directa e pelo método de adição, e sobre quatro amostras do mesmo lote de comprimidos, ensaios pelo método de referência [3]. Os resultados obtidos foram respectivamente: 38,8±0,6, 39,0±0,1 e 39,1±0,9 mg de piridoxina/comprimido.

Os três métodos para a determinação de vitamina B_1 e B_6 apresentam-se bastante concordantes, verificando-se no entanto, que a tiamina era determinada com menor precisão na maioria dos casos, do que a piridoxina. Isto é devido ao erro relativo da concentração, em função do erro absoluto do potencial que, em eléctrodos de carga dois (tiamina), se faz sentir com maior intensidade.

É de destacar, contudo, que o tempo necessário à execução das determinações por potenciometria era cerca de quinze minutos, incluindo o de

preparação das amostras, enquanto que eram necessárias cerca de três horas para a determinação de ambos os produtos pelo método de referência.

Tabela 7.3.6.1 - Doseamento de tiamina, em formulações farmacêuticas, por potenciometria directa, método de adição e pelo método de referência [a].

Produto	**Potenciometria[b] Directa**	**Método de[b] Adição**	**Método de[c] Referência**
Totaforte (2,6)[a]	2,6±0,2	2,5±0,3	2,5±0,2
Dragavit B_1 Retard (53.9)	52,9±0,6	52,9±0,1	53,8±2,2
Becozyme xarope (0,10)	0,11±0,02	0,11±0,01	0,11±0,03
Vigorvil xarope (0,98)	0,92±0,01	0,90±0,03	0,93±0,08
Vitamina B_1 fortíssima (5,0)	5,2±0,5	5,2±0,3	4,6±1,3
Aboplex (1,5)	1,61±0,09	1,5±0,03	1,6±0,2
Bê-Cê oral (0,20)	0,26±0,02	0,26±0,01	0,29±0,04

a)-Resultados expressos em percentagem de tiamina por massa de produto; b)-Valores correspondentes à média de seis determinações com três eléctrodos; c)-Valores correspondentes à média de quatro determinações.

7.4 - Conclusões.

Os resultados obtidos permitem concluir que, tal como acontecia com os eléctrodos sensíveis a aniões usando sais de amónio quaternário como extractores iónicos, o aumento do peso molecular de um permutador catiónico e consequentemente uma diminuição de solubilidade, contribui para a obtenção de eléctrodos sensíveis a tiamina, com menor limite inferior de resposta linear, maior reprodutibilidade e maior tempo de vida.

O uso de solventes mediadores com diferentes características físicas provocou, quer nas unidades sensíveis a tiamina quer nas de piridoxina, uma modificação dos valores de selectividade sem, no entanto, produzir nenhuma alteração na ordem relativa de interferência.

A utilização de mediadores com boas características plastificantes, nomeadamente o ortonitrofeniloctiléter, favoreceu a obtenção de eléctrodos mais duradouros, mais estáveis e mais selectivos.

A eliminação da solução de referência interna nos eléctrodos, associada à utilização de um sistema sensor conveniente, permitiu obter unidades sensíveis a tiamina e piridoxina com melhores características de funcionamento, do que as anteriormente descritas para as mesmas espécies catiónicas.

Consequentemente, tornou-se possível o doseamento potenciométrico destes dois tipos de vitaminas em formulações farmacêuticas, obtendo-se, de um modo fácil, rápido e preciso, resultados que competiam favoravelmente com as metodologias de referência descritas para estes dois compostos.

É de assinalar que as determinações potenciométricas realizadas, conduziram a resultados mais reprodutíveis do que aqueles que eram obtidos pelas metodologias de referência, reforçando as vantagens daquele método face a outros procedimentos analíticos.

7.5 - Referências Bibliográficas

[1]-J.N. Delgado, *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, R.F. Doerge (ed.), 8ª Edição, J. B. Lippincott Company, Philadelfia, (1982) pag. 781.

[2]-L. S. Goodman e A. Gilman (eds.), *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 4ª Edição, The Macmillan Company, Londres, (1970) pag. 1643.

[3]-*USP Pharmacopeia*, United States Pharmacopoeial Convention Inc., Rockville, M.D., pag. 276 (1985).

[4]-*British Pharmacopeia*, H.M.S.O., London, pags. 405 e 471 (1980).

[5]-*Official Methods of Analysis*, 12ª Edição, A.O.A.C. Washington DC Series 39.024-39.03 (1975).

[6]-R. Strohecker e H.M. Henning, *Vitamin Assay*, Verlag Chimie (1965).

[7]-D.C. Garratt,*The Quantitative Analysis of Drugs*, 3ª Edição, Chapman and Hall LTD , London, (1964) pag. 668.

[8]-C.W. Pifer e E. G. Wollish, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **40**, 609 (1951).

[9]-A.K. Mehta, S.G. Wadodkar e A. V. Kasture, *Indian Drugs*, **19**, 165 (1982).

[10]-V.N. Bernshtein, *Zh. Anal. Khim.*, **13**, 365 (1958).

[11]-K. Kusube, K. Abe, O. Hiroshima, Y. Ishiguro, S. Ishikawa e H. Hoshida, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 3589 (1983).

[12]-C. Calu e E. Eugenia, *Rev. Roum. Chim.*, **27** , 667 (1983).

[13]-T. Vergara, D. Marin e J. Vera, *Anal. Chim. Acta.*, **120**, 347(1980).

[14]-G.M. Sergeev, I.V. Dorofeeva e L.G. Stepanova, *Zh. Anal. Kim.*, **41**, 1694 (1986).

[15]-W. Ciesielski, *Chem. Anal. (Warszaw)*, **31**, 469 (1986).

[16]-J. M. Lopes Gimenez e F. B. Serrat, *An. Real. Acad. Farm.*, **53**, 261 (1987).

[17]-N. Grekas, A.C. Calokerinos e T.P. Hadjiioannou, *Analyst*, **114**, 1283 (1989).

[18]-K. Kalinowski e Z. Sykulska, *Acta Pol. Pharm.*, **16**, 111(1959).

[19]-R. E. Echols, R. H. Miller e L. Thompson, *J. Chromatogr.*, **347**, 89 (1985).

[20]-M. Amin e J. Reush, *J. Choromatogr.*, **390**, 448 (1987).

[21]-J. P. Hart e P. J. Hayler, *Anal. Proc.*, **23**, 439 (1986).

[22]-S. S. M. Hassan, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **61**, 111 (1978).

[23]-V.V. Cosofret, *Membrane Electrodes in Drug-Substances Analysis*, Pergamon Press, Oxford (1982).

[24]-V.V. Cosofret e R. P. Buck, *Ion Select. Electrode Rev.*, **6**, 59 (1984).

[25]-Z. R. Zhang e V.V. Cosofret, *Ion Select. Electrode Rev.*, **12,** 35 (1990).

[26]-G. H. Zhang, T. Imato, Y. Asano, T. Sonoda, H. Kobayashi e N.Ishibashi, *Anal. Chem.*, **62**, 1644 (1990).

[27]-C. Wang, Y. Guo, *Yaoxue Tougbao*, **21**, 143 (1986).

[28]-Z. R. Zhang, Y. X. Li, D. Y. Mao e V. V. Cosofret, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **8**, 385 (1990).

[29]-C. Y. Wang e Y. L. Guo, *Mikrochem. J.*, **35**, 309 (1987).

[30]-S. S. M. Hassan, M. L. Iskander e N. E. Nashed, *Fresenius, Z. Anal. Chem.*, **320**, 584 (1985).

[31]-S. S. M. Hassan e E. Elnema, *Analyst*, **114**, 735 (1989).

[32]-N. Ishibashi, T. Imato, G. H. Zhang, Y. Asano, T. Sonoda e H. Kobayashi, *Anal. Sci.*, **4**, 527 (1988).

[33]-K. Kina, N. Maekawa e N. Ishibashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **46**, 2772 (1973).

[34]-N. Ishibashi, K. Kina e N. Maekawa, *Chem. Lett.* 119 (1973).

[35]-K.Selinger e R. Staroscik, *Chem. Anal.*, **27**, 223 (1982).

[36]-G. Baum eM. Lynn, *Anal. Chim. Acta*, **65**, 393 (1973).

[37]-N. Nishida, N. Takeda, M. Yoshimura, T. Sonoda e H. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **57**, 2600 (1984).

CAPÍTULO 8

DETECTOR POTENCIOMÉTRICO TUBULAR SENSÍVEL AO ANIÃO SALICILATO.

8 - DETECTOR POTENCIOMÉTRICO TUBULAR SENSÍVEL AO ANIÃO SALICILATO.

8.1 - Introdução.

Os métodos automáticos de análise têm evidênciado, nos últimos anos, um significativo incremento em diferentes áreas, nomeadamente em análises clínicas [1,2] e farmacêuticas [3], reconhecendo-se vantagens na sua utilização relativamente aos procedimentos de referência, correntemente usados.

O controlo de qualidade de produtos, comercializados pela indústria farmacêutica, impõe, cada vez mais, a utilização de técnicas analíticas expeditas, envolvendo instrumentação simples e económica de modo a reduzir os custos de produção. Sendo assim, torna-se necessário o aprefeiçoamento das técnicas de análise anteriormente desenvolvidas e a sua aplicação a um maior número de produtos com interesse farmacêutico.

Os métodos automáticos, mais vulgarmente utilizados, envolvem as análises por fluxo segmentado (SFA) e, mais recentemente, as análises por injecção em fluxo (FIA) [4].

Estas últimas têm sido utilizadas com praticamente todos os processos de detecção, predominando a espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta e visível. A potenciometria, embora tenha sido um dos primeiros processos de detecção a ser usado em análise por injecção em fluxo [5], caiu

rapidamente em desuso devido às deficiências mecânicas apresentadas pelos sistemas de detecção utilizados inicialmente. Esta situação decorria do uso de eléctrodos selectivos de iões de construção convencional em montagens com configuração em cascata [5].

Apesar das dificuldades que a utilização dessa montagem envolvia, não deixa de ser evidente que a potenciometria é um processo adequado para a análise automática por FIA, uma vez que, com a utilização de montagens simples e aparelhagem económica, é possivel fazer-se um número elevado de determinações, num amplo intervalo de concentrações, sem que para isso seja necessário recorrer a complexas preparações das amostras.

Assim, a utilidade das determinações potenciométricas em FIA passa pelo desenvolvimento de sistemas de detecção que possam ser rigidamente fixados ao sistema de análise sem que daí resultem problemas de origem mecânica.

Recentemente, algumas soluções, dirigidas para estes objectivos, foram apresentadas, construindo-se detectores potenciométricos tubulares para espécies inorgânicas, baseados em membranas cristalinas homogéneas [6,7] e heterogéneas [8], e ainda de condutor iónico [9-11].

Estas unidades, sem solução de referência interna, apresentavam vantagens adicionais, relativamente a outras, em que o processo de construção desenvolvido não as isentava da solução e eléctrodo de referência interna [12,13].

Até ao momento, poucos esforços têm sido feitos no sentido de estender o processo de construção de detectores potenciométricos tubulares a espécies orgânicas, nomeadamente as de interesse farmacêutico, embora para estes compostos sejam reconhecidas vantagens do doseamento por FIA, relativamente aos processos de referência [3].

Uma vez que a avaliação de eléctrodos convencionais, sensíveis a alguns aniões de interesse farmacêutico, referidos ao longo dos Caps. 3 a 6 deste trabalho, forneceu unidades com características de funcionamento que

recomendavam o seu uso em análises por injecção em fluxo e porque o processo de construção utilizado permitia uma fácil adaptação à construção de eléctrodos de configuração tubular, para serem intercalados em sistemas FIA, estudou-se a possibilidade de desenvolver uma metodologia de preparação de detectores potenciométricos tubulares para análise automática de espécies orgânicas aniónicas em formulações farmacêuticas.

Considerando os vários eléctrodos selectivos, sensíveis a espécies aniónicas, referidos no presente trabalho, escolheu-se o salicilato por se ter encontrado apenas um único eléctrodo tubular descrito anteriormente na literatura. O eléctrodo tubular descrito [14] foi utilizado na determinação de salicilato em urina e soro, sendo possível deduzir, dos comentários dos seus autores, que o seu funcionamento traduzia deficiências de reprodutibilidade, estabilidade e, sobretudo, durabilidade.

Aliás, a automatização das determinações de salicilato, em formulações farmacêuticas, já mereceu anteriormente a atenção de outros investigadores [15] que desenvolveram um sistema automático para esta espécie, baseado na metodologia FIA, recorrendo à espectrofotometria de absorção molecular como processo de detecção.

O eléctrodo tubular, sensível ao anião salicilato, era constituído por uma membrana de PVC, onde se imobilizava uma solução de salicilato de tetraoctilamónio dissolvido em ortonitrofeniloctiléter, aplicada directamente num suporte condutor. Esta metodologia de preparação das unidades (ver Cap. 2) não se afasta, significativamente, do processo usado anteriormente na preparação de detectores tubulares, sensíveis ao anião nitrato [9].

As características de funcionamento dos eléctrodos tubulares construídos foram determinadas em sistemas FIA de baixa dispersão e utilizando as montagens automáticas desenhadas, procedendo-se ao doseamento de salicilato em formulações farmacêuticas.

8.2 - Parte Experimental.

8.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos.

As montagens FIA foram estabelecidas, usando o equipamento modular referido no Cap. 2.

Na maioria das determinações efectuadas, foi usado um eléctrodo de referência, de prata, recoberto electrolíticamente com cloreto de prata (descrição da sua preparação no Cap. 2).

Embora a maioria das determinações em FIA tenha sido realizada, usando uma válvula de operação manual (Cap. 2), avaliou-se também a possibilidade de usar um sistema completamente automático. Neste caso, integrou-se, na montagem, um amostrador automático, da marca Gilson, modelo 221, controlado por um microprocessador, e uma válvula universal da mesma marca.

8.2.2 - Reagentes e soluções.

Para a preparação das soluções de anião salicilato, usadas na avaliação dos detectores potenciométricos tubulares, utilizou-se salicilato de sódio, pesado rigorosamente e diluído até ao volume pretendido. As soluções mais diluídas foram preparadas a partir daquela, por diluição rigorosa.

Como ajustador de força iónica, nos ensaios que visavam determinar as características intrínsecas de funcionamento dos detectores, foi usada uma solução de sulfato de amónio com concentração igual a 0,033 M. O ajuste da força iónica e do pH das amostras de produtos farmacêuticos foi efectuado,

numa montagem FIA de duplo canal, com uma solução constituida por tetraborato de sódio $5x10^{-3}$ M e sulfato de amónio 0,1 M, cujo pH final era igual a 8,6 unidades.

8.2.3 - Preparação do sistema sensor, membranas e detectores potenciométricos tubulares.

O sistema sensor, utilizado na preparação das membranas, era constituido por salicilato de tetraoctilamónio dissolvido em ortonitrofeniloctiléter, em percentagens semelhantes às usadas anteriormente na preparação dos correspondentes eléctrodos de construção convencional (ver 5.2.3).

Na preparação dos detectores potenciométricos tubulares, para serem usados em FIA, seguiu-se a metodologia descrita no Cap. 2, procedendo-se à aplicação da membrana sensora sobre as paredes condutoras do orifício central da unidade sensora. O detector potenciométrico era constituido pelo eléctrodo de configuração tubular, incorporado num sistema que alojava os eléctrodos tubular indicador e de referência (Fig. 2.3.7.1). Este último era constituido por um fio de prata, recoberto electrolíticamente com cloreto de prata.

As unidades sensoras, depois de construidas, eram mantidas em contacto com uma solução de salicilato de sódio com concentração igual a 10^{-2} M, para que, com a membrana sensora hidratada, estivessem aptas a serem utilizadas no momento em que eram intercaladas na montagem FIA.

Quando não estavam em uso, os eléctrodos tubulares eram desalojados do sistema que constituía o detector potenciométrico (sistema modular constituído por um monobloco) e eram guardadas, sem quaisquer precauções, ao ar, até posterior utilização.

8.2.4 - Montagens FIA utilizadas.

A avaliação das características gerais de funcionamento dos detectores potenciométricos preparados foi efectuada, utilizando um sistema FIA monocanal de baixa dispersão (Fig. 8.2.4.1), procurando reproduzir, no sistema de fluxo condições experimentais tão semelhantes, quanto possível, às usadas na avaliação dos eléctrodos de configuração convencional.

A solução transportadora da amostra era constituida por sulfato de amónio 0,033 M e salicilato de sódio 10^{-5} M, fluindo com um caudal de 5,6 mL/min.

A presença na solução transportadora da espécie a que o eléctrodo é sensível, em pequena concentração, visava a estabilização da linha de base, fornecendo ao detector um potencial razoavelmente estável porque, ao mantê-lo contínuamente em contacto com o ião principal, reduzia a extensão da solubilização do sensor.

Considerando que a amplitude do sinal analítico, fornecido pelos detectores, era medida a partir do valor fixado pela linha de base, era de todo conveniente que esta apresentasse um valor estável para ser possível efectuarem -se cálculos correctos. A ausência de ião principal, na solução transportadora, para além de provocar instabilidade dos potenciais da linha de base também originava um retorno, bastante lento, do sinal analítico a esta. Contudo, a fixação de um valor de concentração de ião principal na solução transportadora condiciona o valor da diferença de potencial a partir do qual o detector tubular efectua as medidas, e está limitado aos níveis de concentração de salicilato nas amostras a dosear. A utilização de uma elevada concentração de ião principal no transportador contribui para um aumento do limite inferior de resposta linear do detector tubular, condicionando as medidas a efectuar nas amostras em que a concentração em salicilato era baixa.

Considerando que se visava, inicialmente, uma avaliação das

características intrínsecas do detector tubular em fluxo, seleccionou-se uma solução transportadora que contivesse, na sua composição, salicilato de sódio em concentração igual a 10^{-5} M. O valor fixado era menor que o limite inferior de resposta linear apresentado pelos eléctrodos de configuração convencional, evitando-se que as condições experimentais seleccionadas modificassem demasiado as características dos detectores potenciométricos construídos.

Verificou-se que um aumento da concentração de anião salicilato no transportador podia ser vantajoso, na medida em que se obtinham linhas de base mais estáveis e ritmos de amostragem superiores, como consequência de um mais rápido retorno à linha de base. Efectivamente, quanto maior for a concentração de ião principal no transportador menor será a variação de concentração a que o eléctrodo é sujeito e, portanto, mais rapidamente a solução transportadora reconstitui o nível de concentração constante, em contacto com a unidade sensora.

A utilização de uma solução transportadora constituida apenas pelo ião principal e respectivo contra-ião não é, na maioria das vezes, suficiente para promover um bom contacto eléctrico entre o eléctrodo indicador e o de referência. Para isso, é necessária a utilização de um electrólito com uma concentração relativamente elevada. A escolha deste deve ser feita de modo a que as espécies que o constituem, interfiram, o menos possível, no comportamento do sistema sensor. Os valores obtidos para os coeficientes de selectividade potenciométricos de membranas sensíveis a salicilato (ver Tabela 5.3.5.1) sugeriam a escolha de anião sulfato como principal electrólito para a constituição do transportador.

Para garantir o menor valor de dispersão possível do troço de amostra, no interior da montagem, o comprimento da tubagem entre a válvula de injecção e o detector foi reduzido ao mínimo (25 cm) imposto pelo estabelecimento das ligações entre os diferentes componentes do sistema FIA.

Os restantes parâmetros da montagem FIA, foram determinados, seguindo um processo univariante, isto é, optimizando um parâmetro e

mantendo fixos os restantes. Assim, variou-se a velocidade de fluxo e o volume de injecção, mantendo constante o comprimento do tubo de reacção para determinar a sua influência na amplitude do sinal transiente, fornecido pelo detector.

Apresentam-se, nas Figs. 8.2.4.2 e 8.2.4.3 respectivamente, as variações de potencial do detector, em função do volume de injecção a um fluxo constante de 5,6 mL/min., e a variação do tempo de resposta do detector, em função da velocidade de fluxo, utilizando diferentes volumes de injecção.

Considerando os valores obtidos, fixou-se um caudal para o transportador da amostra igual a 5,6 mL/min. e um volume de injecção correspondente a 200 μL, já que, por um lado, permitiam obter um sinal analítico muito próximo do estado estacionário (95%) e, por outro, um rápido retorno à linha de base.

Para os valores fixados, a dispersão do sistema era igual a 1,04, quando se efectuava o seu cálculo, seguindo o procedimento descrito por Ruzicka [16], Este era executado substituindo o detector por uma célula de fluxo espectrofotométrica, a operar ao comprimento de onda correspondente ao máximo de absorção do corante que era introduzido no sistema para realizar a determinação deste parâmetro.

Volumes de injecção superiores eram desaconselháveis, uma vez que a sua utilização não apresentava vantagens significativas no tocante à amplitude do sinal analítico e comprometia, desnecessariamente, o ritmo de amostragem, devido ao lento retorno à linha de base.

A eliminação das interferências eléctricas do sistema foi conseguida pela introdução, na montagem FIA, de um contacto de terra (LT) enquanto que, para minimizar a natureza pulsante do fluxo originada pelo sistema utilizado para promover a propulsão dos líquidos (bombas peristálticas), se usou um amortecedor de pulsos (A).

Desde o aparecimento da técnica FIA, na maioria dos detectores potenciométricos construídos, utilizava-se o eléctrodo de referência separado

do eléctrodo indicador, devido, provavelmente, à simplicidade exigida na sua adaptação ao sistema FIA ou à experiência prévia adquirida com o seu uso, noutros tipos de sistemas de fluxo [17,18]. No entanto, estudos efectuados em relação a diferentes localizações do eléctrodo de referência, nas montagens FIA [19], demonstraram que a sua colocação, após o indicador, era mais vantajosa na medida em que não provocava alteração do perfil hidrodinâmico do fluxo.

Para tornar as montagens FIA ainda mais simples, e sobretudo mais fáceis de utilizar, procurou construir-se um sistema modular que incorporasse conjuntamente o eléctrodo indicador e o de referência num só bloco (Fig. 2.3.7.1). Assim, foi possível, por um lado, miniaturizar-se o eléctrodo de referência e, por outro, deixar de utilizar um eléctrodo comercial (habitualmente usado), tornando a montagem mais económica. A sua colocação no sistema modular construído, foi feita depois do eléctrodo indicador, para que não produzisse distorções no perfil hidrodinâmico do fluxo.

Uma vez estudadas, num sistema de baixa dispersão, as características do detector potenciométrico tubular de salicilato, desenvolveu-se um sistema vocacionado para as determinações analíticas daquele anião, em formulações, em que o ajuste de força iónica e pH das amostras fosse efectuado no interior da montagem.

Para isso, modificou-se ligeiramente a montagem FIA usada na avaliação dos detectores (Fig. 8.2.4.1), introduzindo-se, pelo canal principal, uma solução de salicilato de sódio $5x10^{-5}$ M e, por um canal secundário, uma outra solução ajustadora de força iónica e pH (ver 8.2.2) com os constituintes que a formavam em concentrações duplas das que aí foram indicadas.

A seguir à válvula de injecção, colocou-se uma confluência, ocorrendo a mistura das duas soluções, ao longo do tubo de reacção (R), com comprimento igual a (50 cm). Este valor foi escolhido porque, pelo tipo de sistema de propulsão utilizado, poderia existir um desajustamento de fluxos das

soluções que fluiam pelos dois canais (principal e secundário), proporcionando uma mistura deficiente do troço de amostra com o ajustador de pH e força iónica. Com o comprimento utilizado para o tubo de reacção garantia-se que a mistura do transportador com o ajustador de força iónica e pH fosse completa, traduzindo-se isto numa estabilização da linha de base (Fig. 8.2.4.4).

Fixando a velocidade de fluxo ao valor referido anteriormente (5,6 mL/min.) e o volume de injecção a 200 μL, determinou-se, para a montagem FIA estabelecida, o valor de dispersão, seguindo o mesmo procedimento anteriormente indicado [16]. Obteve-se, neste caso, um valor correspondente a 2,1, o que determinava o grau de diluição que sofria a amostra no interior do sistema, antes de atingir o detector.

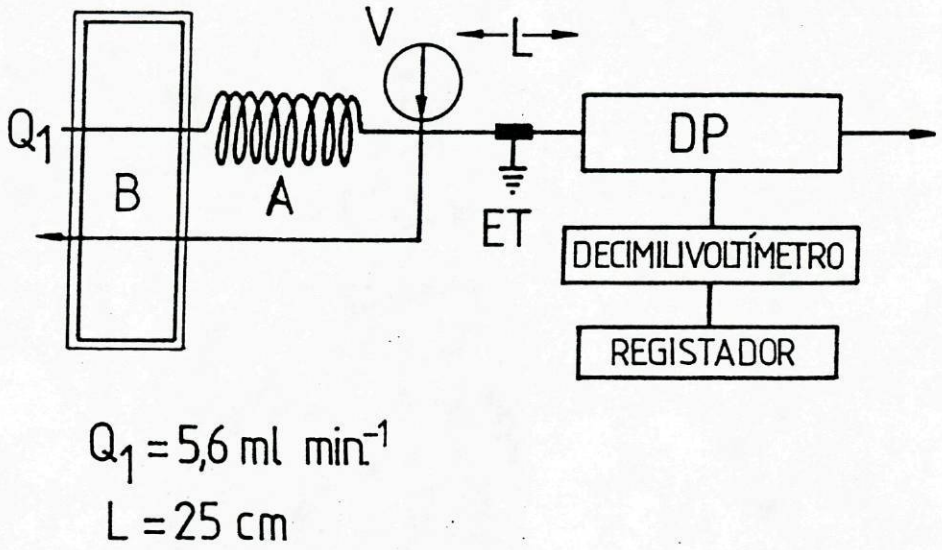


Figura 8.2.4.1 - Montagem FIA com um único canal, utilizada para a avaliação das características de resposta dos detectores potenciométricos sensíveis a salicilato.

(B)-bomba peristáltica; (VI)- válvula de injecção; (A)-amortecedor de pulsos; (ET)- sistema de ligação à terra; (DP)-detector potenciométrico tubular com eléctrodo de referência incorporado; (D)-descarga.

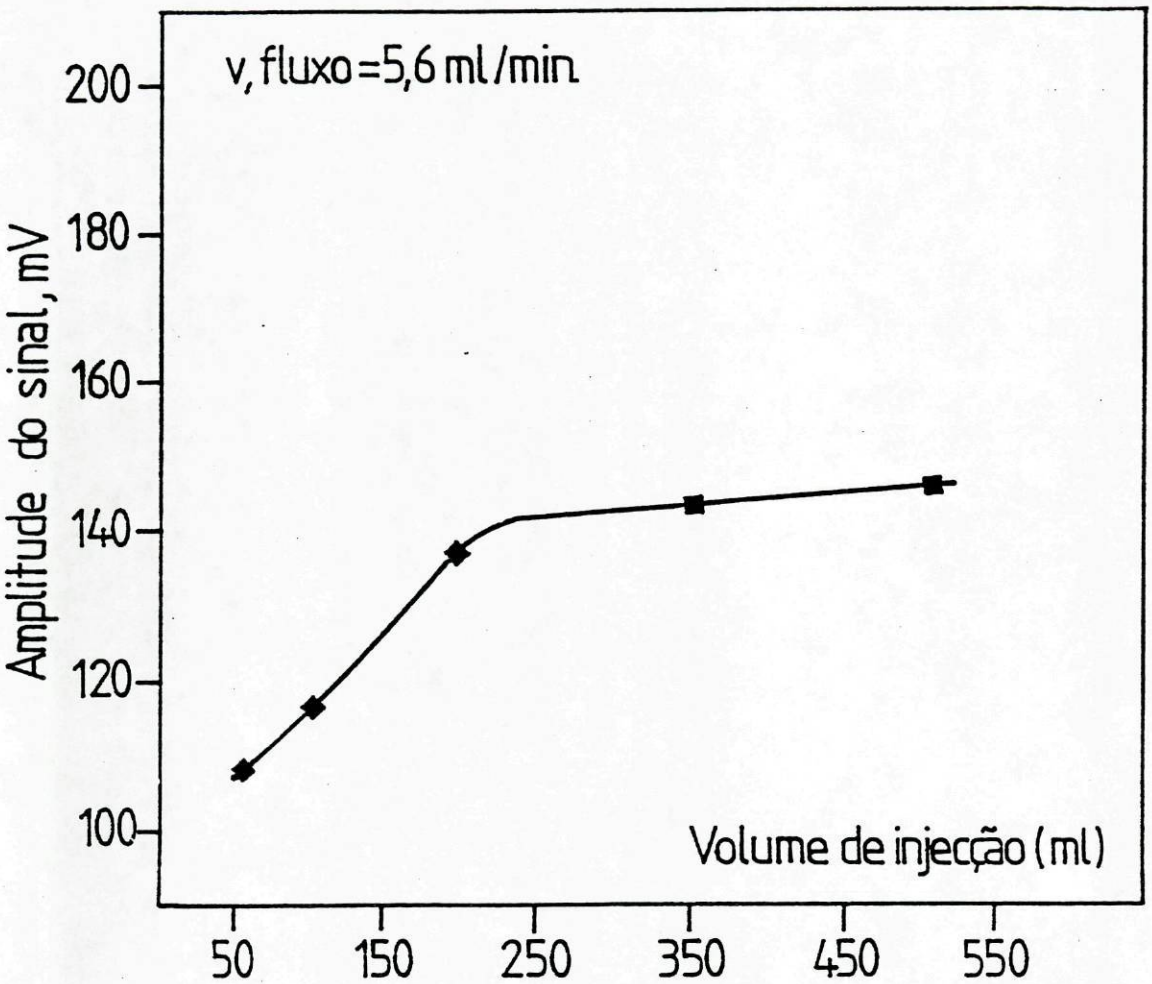


Figura 8.2.4.2 - Estudo da influência do volume de injecção na amplitude do sinal analítico, em sistema de fluxo de canal único.

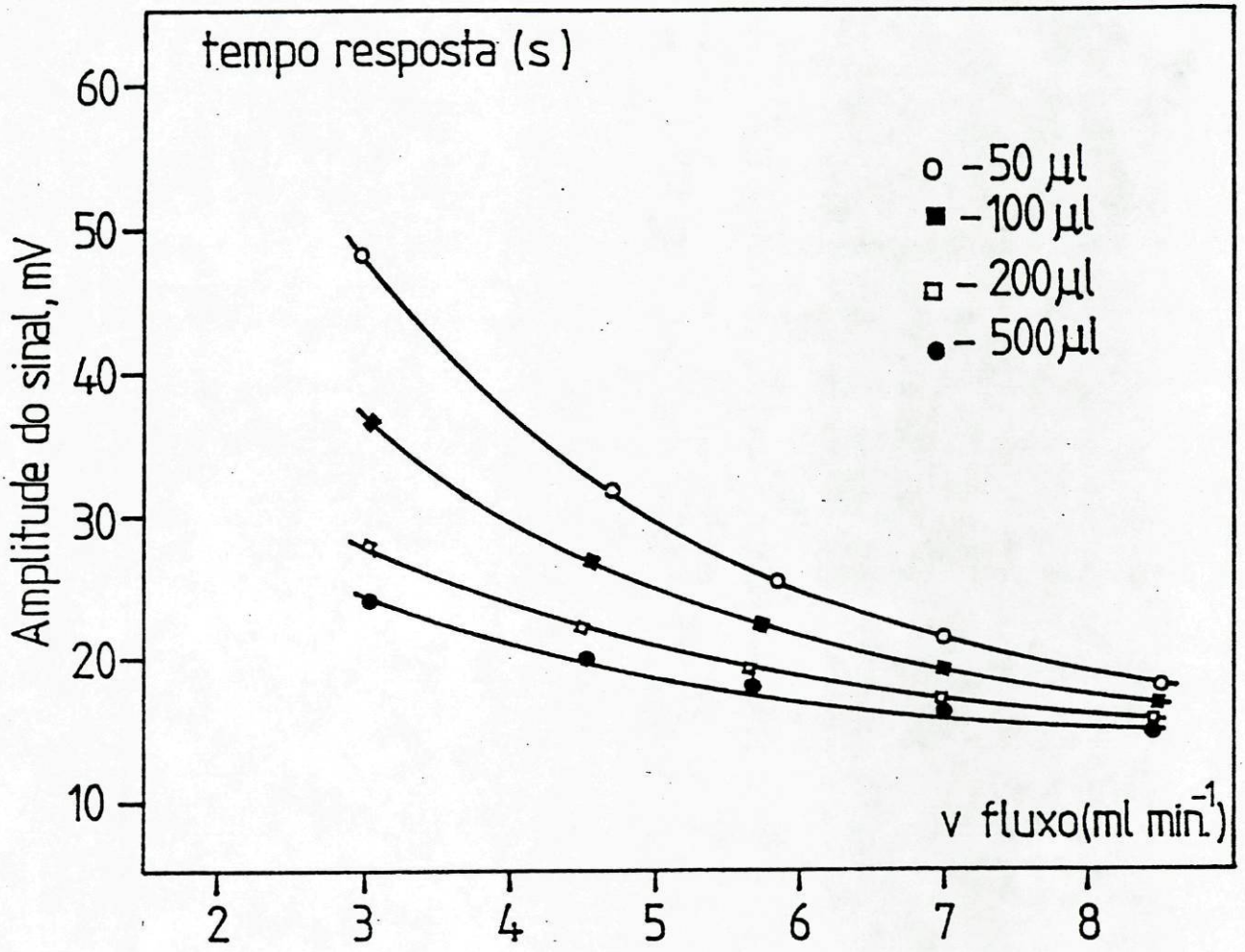
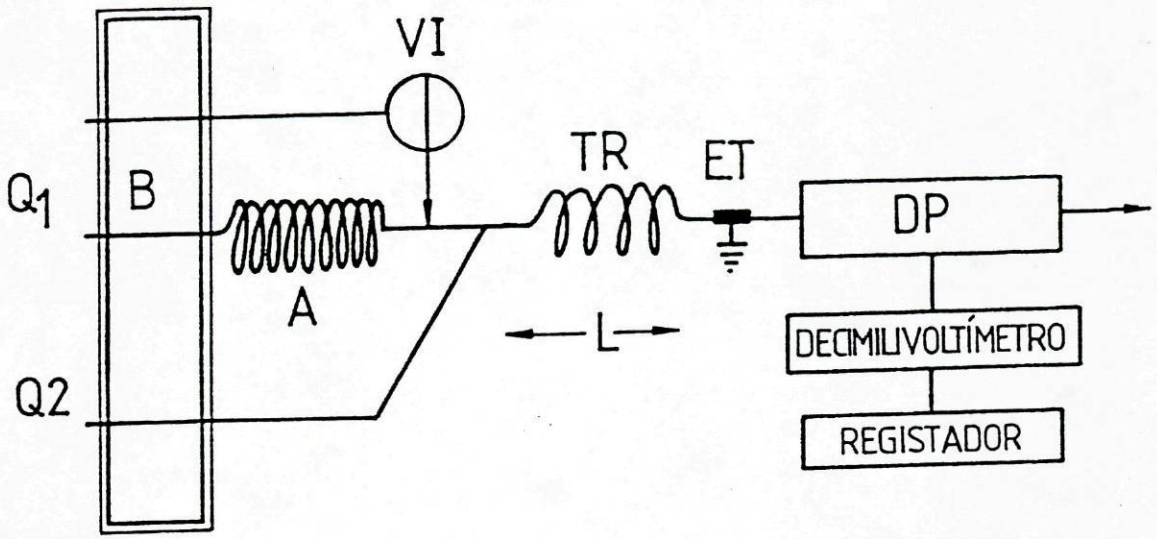


Figura 8.2.4.3 - Variação da amplitude do sinal analítico com o volume de injecção.



$Q_1 = Q_2 = 5{,}6$ ml min^{-1}

L= 50 cm

Figura 8.2.4.3 - Montagem FIA com duplo canal, utilizada para a determinação de salicilato em formulações.

(B)-bomba peristáltica; (VI)- válvula de injecção; (A)-amortecedor de pulsos; (ET)-sistema de ligação à terra; (TR)-tubo de reacção; (DP)-detector potenciométrico tubular com eléctrodo de referência incorporado; (D)-descarga.

8.2.5 - Preparação das amostras de formulações cujo conteúdo em anião salicilato se visava determinar por FIA.

A preparação das amostras de formulações farmacêuticas, antes da introdução no sistema FIA, em que se visava o doseamento de ácido salicílico e acetilsalicílico, foi realizada de forma semelhante à descrita para o seu doseamento por potenciometria directa com eléctrodos de configuração convencional (ver 5.2.5). É, pois, de vincar que o doseamento automático não originou um acréscimo de manipulações prévias nas formulações.

A concentração inicial das amostras, antes da injecção no sistema FIA e que se previa ser aproximadamente igual a $5x10^{-3}$ M em salicilato, atingia o detector, com concentração de cerca de 10^{-3} M após diluição com o ajustador de força iónica e de pH.

As soluções resultantes da dissolução dos comprimidos, contento ácido acetilsalicílico, apresentavam alguns sólidos em suspensão, resultantes da presença dos excipientes, utilizados na preparação dos comprimidos. Porque a sua granulometria não era suficiente para provocar qualquer obstrução da válvula de injecção ou no interior do próprio sistema, não se justificou proceder à filtração da amostra antes da injecção. Aliás, este facto constitui uma das vantagens da detecção potenciométrica, relativamente a outro tipo de sistema de detecção como, por exemplo, a espectrofotometria.

8.3 - Resultados e sua Discussão.

8.3.1-Parâmetros de calibração dos detectores de salicilato.

Para a determinação das características de resposta dos detectores tubulares de salicilato, utilizou-se o sistema de fluxo, representado na Fig. 8.2.4.1, onde, por injecções sucessivas de soluções de salicilato de sódio com diferentes concentrações, se efectuou o traçado das curvas de calibração correspondentes (Fig. 8.3.1.1), determinando-se, posteriormente e a partir delas, os parâmetros de calibração que se resumem na Tabela 8.3.1.1. Na mesma Tabela, indicam-se, também, para efeitos de comparação, as características de resposta dos correspondentes eléctrodos convencionais.

Os resultados obtidos mostram que, quando os eléctrodos tubulares de salicilato são avaliados em sistemas de fluxo que mimetizam condições experimentais, utilizadas nos ensaios com eléctrodos de configuração convencional, as suas características são muito semelhantes. As ligeiras diferenças obtidas, para alguns dos parâmetros indicados (Tabela 8.3.1.1), não são significativas, permitindo afirmar que o comportamento de um eléctrodo deste tipo é semelhante em condições estáticas ou de fluxo dinâmico.

Porque em sistemas de fluxo com dois canais, o valor de dispersão se torna apreciável, relativamente à montagem monocanal estabelecida, e porque o uso de um sistema deste tipo era recomendável para a realização das determinações analíticas de salicilato em formulações, avaliaram-se, igualmente, naquela montagem (Fig. 8.2.4.4), as características do eléctrodo tubular de salicilato. Esta avaliação tinha como objectivo, perante os resultados obtidos, fixar as condições de doseamento das amostras contendo salicilato, ao valor das características de resposta apresentado pelos detectores potenciométricos.

A avaliação do comportamento dos detectores, foi feita, neste caso, utilizando a montagem FIA, representada na Figura 8.2.4.4, fazendo circular pelo canal principal uma solução de salicilato de sódio com concentração igual a $5x10^{-5}$ M e pelo canal auxiliar, o ajustador de força iónica, constituido por sulfato de amónio 0,066 M.

Também, aqui, os valores para os parâmetros de calibração determinados não se afastavam significativamente dos que foram obtidos quando os detectores eram ensaiados em sistemas de fluxo com um único canal, sendo, as diferenças registadas, atribuíveis à dispersão a que o troço de amostra é sujeito no interior da montagem.

Para que se pudesse avaliar o comportamento das unidades, construídas numa situação semelhante à dos doseamentos de salicilato realizados (com as amostras sujeitas a um ajuste simultâneo de pH e força iónica), determinaram-se as características de resposta dos detectores tubulares, em montagem FIA de duplo canal (Fig.8.2.4.4), utilizando, como transportador, uma solução de salicilato de sódio $5x10^{-5}$ M e fazendo passar, através do canal secundário, uma solução de sulfato de amónio e tetraborato de sódio nas concentrações indicadas em 8.2.2.

Os resultados obtidos, e apresentados na Tabela 8.3.1.1, demonstraram haver um ligeiro acréscimo para os valores de limite inferior de resposta linear e de detecção, assim como uma diminuição do declive. Isto é o resultado de a amostra atingir o detector com uma concentração diferente daquela que é injectada e, sobretudo, da interferência simultânea dos aniões tetraborato e sulfato.

Registou-se, contudo, neste caso, uma ligeira melhoria no valor da estabilidade do potencial dos eléctrodos relativamente à que era obtida com as mesmas unidades em sistema monocanal. Este comportamento é um bom indicativo do excelente ajuste, quer de pH quer de força iónica que proporciona o tipo de montagem estabelecida.

Não é possível estabelecer nenhuma comparação dos resultados

obtidos com os detectores construídos, nas condições anteriormente descritas, com os apresentados na literatura para um eléctrodo tubular sensível à mesma espécie [14], já que, naquele trabalho, não são apresentados nenhuns resultados concretos relativos ao funcionamento dos detectores em sistema FIA, excepto no que se refere à reprodutibilidade de resposta que, em pormenor, será referida em 8.3.3.

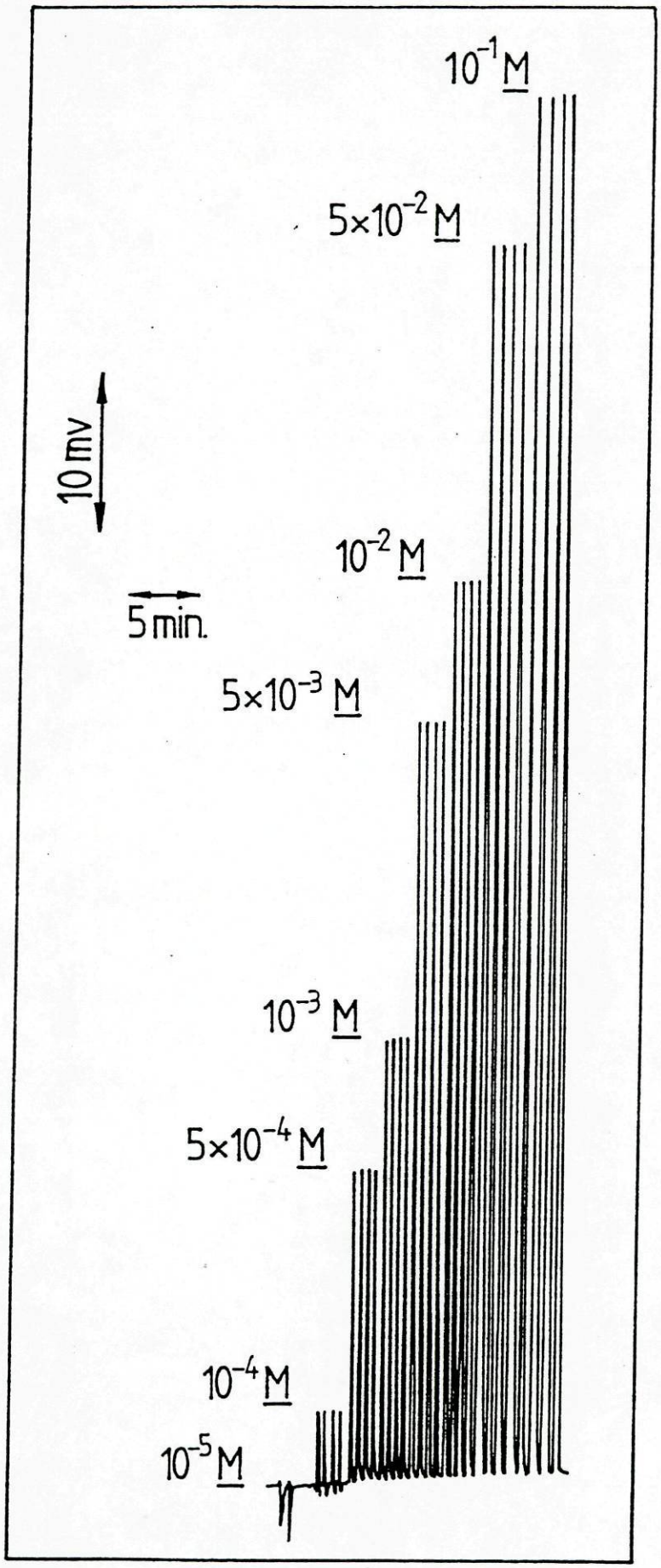


Figura 8.3.1.1- Registo de uma curva de calibração obtida em sistema de canal único com um detector potenciométrico sensível a salicilato.

Tabela 8.3.1.1 - Características de resposta dos eléctrodos de configuração convencional e detectores potenciométricos tubulares sensíveis a anião salicilato [a].

Características	**Eléctrodo convencional**	**Detector tubular**	
		Sistema Monocanal	**Sistema Duplo Canal**
L.I.R.L.(M)	$2x10^{-4}$	$1x10^{-4}$	$2x10^{-4}$
L.P.D.(M)	$5x10^{-5}$	$2x10^{-5}$	$1x10^{-4}$
Declive (-mv/dec)	60±1	60±1	58±1
Reprodutibilidade (mV)	±1	±0,2	±0,1

a)-Valores médios correspondentes a duas determinações com três eléctrodos de configuração convencional e três detectores potenciométricos.

8.3.2 - Velocidade de resposta do sistema FIA.

Efectuando injecções sucessivas de soluções de salicilato de sódio com concentrações iguais a 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} e 10^{-1} M, concluiu-se que a velocidade de resposta do sistema, era de cerca de 30 segundos quando mediavam duas injecções sucessivas, o que permitia a realização de cerca de 120 determinações por hora.

Aumentando, no entanto, a velocidade de fluxo do sistema, e a concentração do ião principal no transportador, atingiam-se valores de cerca de 200 determinações por hora, limitando, contudo, o intervalo de concentrações em que se podiam efectuar as medidas.

Este valor é consideravelmente superior ao que é descrito, por outros autores para um detector tubular sensível a salicilato [14], já que, pela configuração do sistema FIA utilizado e também pela diálise prévia efectuada às amostras, não era possível ultrapassarem-se as 20 determinações por hora.

8.3.3 - Reprodutibilidade de resposta dos detectores.

A reprodutibilidade dos sinais analíticos foi determinada fazendo injecções repetidas de soluções de salicilato de sódio com concentrações iguais a 10^{-4}, 10^{-3} e 10^{-2} M, utilizando o sistema FIA de canal único (Fig. 8.3.3.1).

Obtiveram-se, para as concentrações indicadas, uma amplitude dos sinais analíticos, com desvio padrão, cujo valor não excedia ±0,5 mV. Este valor é, comparativamente ao indicado por outros autores, para um eléctrodo tubular de salicilato [14], consideravelmente melhor. No trabalho referido [14], são indicados, para esta característica do eléctrodo, valores de ±1,4 mV quando os ensaios decorriam ao mesmo nível de concentrações por nós

utilizadas para a determinação deste parâmetro.

A utilização, pelos autores [14], de um eléctrodo de condutor neutro, onde a resistência eléctrica das membranas era elevada, e de um sistema de diálise em que ocorria uma pré concentração de salicilato nas amostras a injectar, deve estar na origem da falta de reprodutibilidade indicada.

A reprodutibilidade de resposta, ao longo do tempo em que foram ensaiados os detectores potenciométricos, determinou-se, efectuando curvas de calibração periódicas, num intervalo de concentrações correspondente à zona de resposta linear, não se registando desvios de potencial para os sinais analíticos superiores a 10 mV, durante os seis meses de utilização dos detectores.

Durante um dia de trabalho, os valores para a reprodutibilidade dos potenciais (ver Tabela 8.3.1.1) era suficientemente boa, concluindo-se não haver necessidade de se fazerem calibrações repetidas, durante pelo menos um dia. Faz-se notar, contudo, que caso se viesse a fazer uma calibração de hora a hora, sendo o ritmo de amostragem de 120 amostras/hora, o número de determinações baixaria de 120 para 115 determinações/hora, valor que se poderá considerar excepcional dado que se trata de um eléctrodo de condutor móvel, além de ser utilizado em fluxo contínuo.

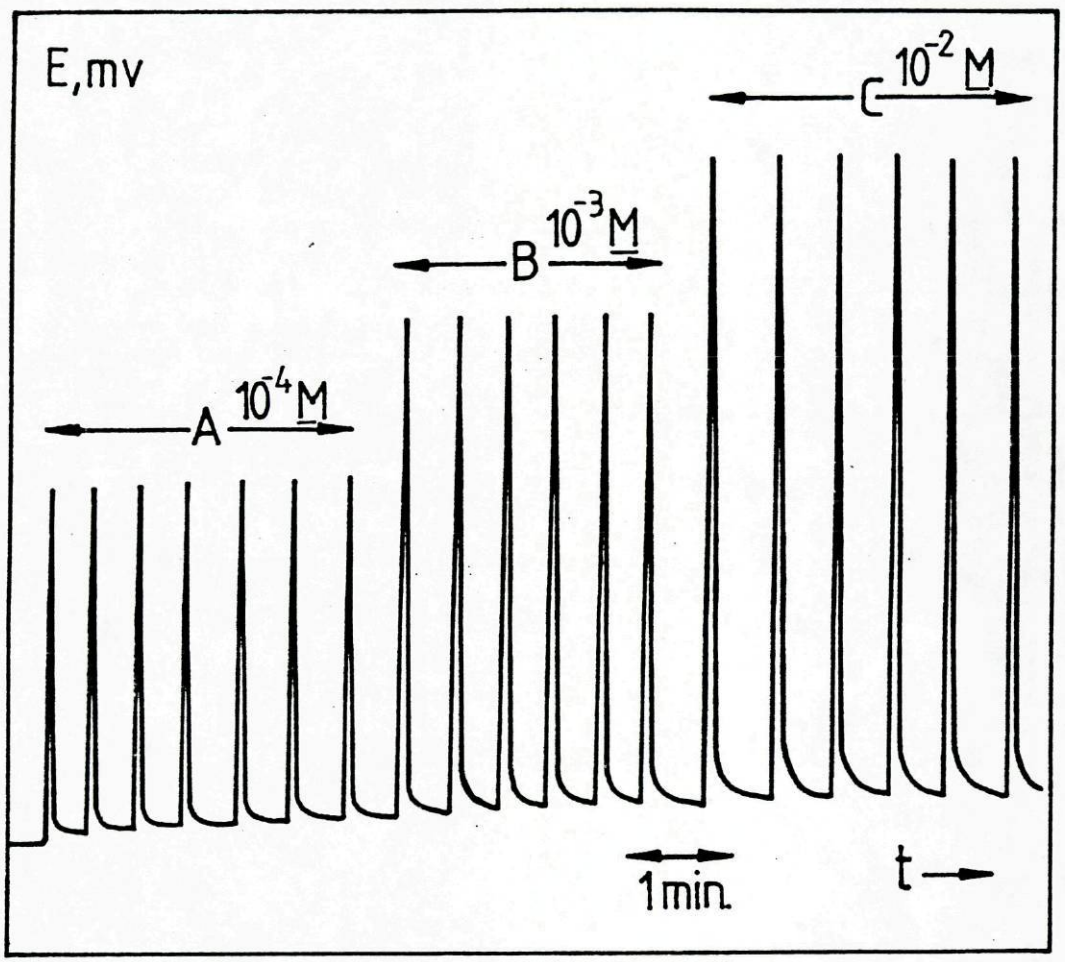


Figura 8.3.3.1 - Avaliação da reprodutibilidade dos sinais analíticos fornecidos por um detector tubular de salicilato, determinada num sistema FIA de canal único, as diferentes concentrações (valores indicados na Fig.) de anião salicilato.

8.3.4 - Tempo de vida dos detectores tubulares.

Os detectores potenciométricos tubulares mantiveram-se em funcionamento sem terem sido registadas quaisquer alterações no seu comportamento, durante pelo menos 6 meses.

Os valores elevados obtidos para os tempos de vida dos eléctrodos convencionais faziam prever um tipo de comportamento semelhante para unidades de configuração tubular, quando ensaiadas em FIA. Contudo, as dificuldades inerentes ao controlo da espessura da membrana, no interior do orifício central da unidade sensora, e ao número de utilizações diárias do detector (pelo menos durante 5 horas), dificultavam a determinação, sem equívocos, do seu tempo de vida, de modo a poder ser comparado com os valores obtidos pelos correspondentes eléctrodos de configuração convencional. A facilidade de construção, de fixação e de substituição, na montagem FIA, dos detectores potenciométricos construídos, não justificava que, se avaliasse rigorosamente aquele parâmetro de funcionamento das unidades sensoras que os constituiam.

Se se compararem os valores do tempo de funcionamento dos detectores tubulares construídos com aquele que é indicado por Meyerhoff e colaboradores [14] para um eléctrodo tubular de salicilato preparado com uma solução de referência interna (7 a 10 dias), poder-se-á concluir que o uso de ortonitrofeniloctiléter e, sobretudo, da eliminação da solução de referência interna, foram os principais responsáveis para um aumento da sua durabilidade.

8.3.5 - Efeito do pH nos valores de potencial dos detectores.

Para conhecer o intervalo em que o valor do sinal analítico dos detectores potenciométricos se mantinha inalterado quando variava o pH das soluções injectadas, efectuou-se o traçado dos diagramas de Reilley (variação do potencial do detector em função do pH da solução), injectando, sucessivamente, uma solução de salicilato de sódio 10^{-2} M (Fig. 8.3.5.1) com diferentes valores de pH, conseguidas por adição de uma solução concentrada de hidróxido de sódio ou ácido sulfúrico.

Os valores obtidos para a avaliação deste parâmetro, cuja determinação foi executada no sistema FIA, representado na Fig. 2.5.4.1, revelaram uma diferença significativa entre o patamar operacional para os detectores potenciométricos construídos e para os correspondentes eléctrodos de configuração convencional, quando os ensaios eram efectuados ao mesmo nível de concentração. Essa diferença traduzia-se num decréscimo da amplitude do patamar operacional que, para os eléctrodos convencionais, era de 6 a 12 unidades e, para os tubulares, se situava entre 6 a 9 unidades.

A diminuição de cerca de 3 unidades de pH na zona correspondente a valores de pH alcalinos (entre, especificamente, 9 e 12 unidades), é provavelmente devida à maior mobilidade do anião hidróxido o que origina, nas interfaces do troço da amostra com a superfície sensora do detector tubular, uma maior relação entre a concentração do anião hidróxido e do salicilato que a sugerida pelo pH da solução ao ser introduzida na montagem FIA.

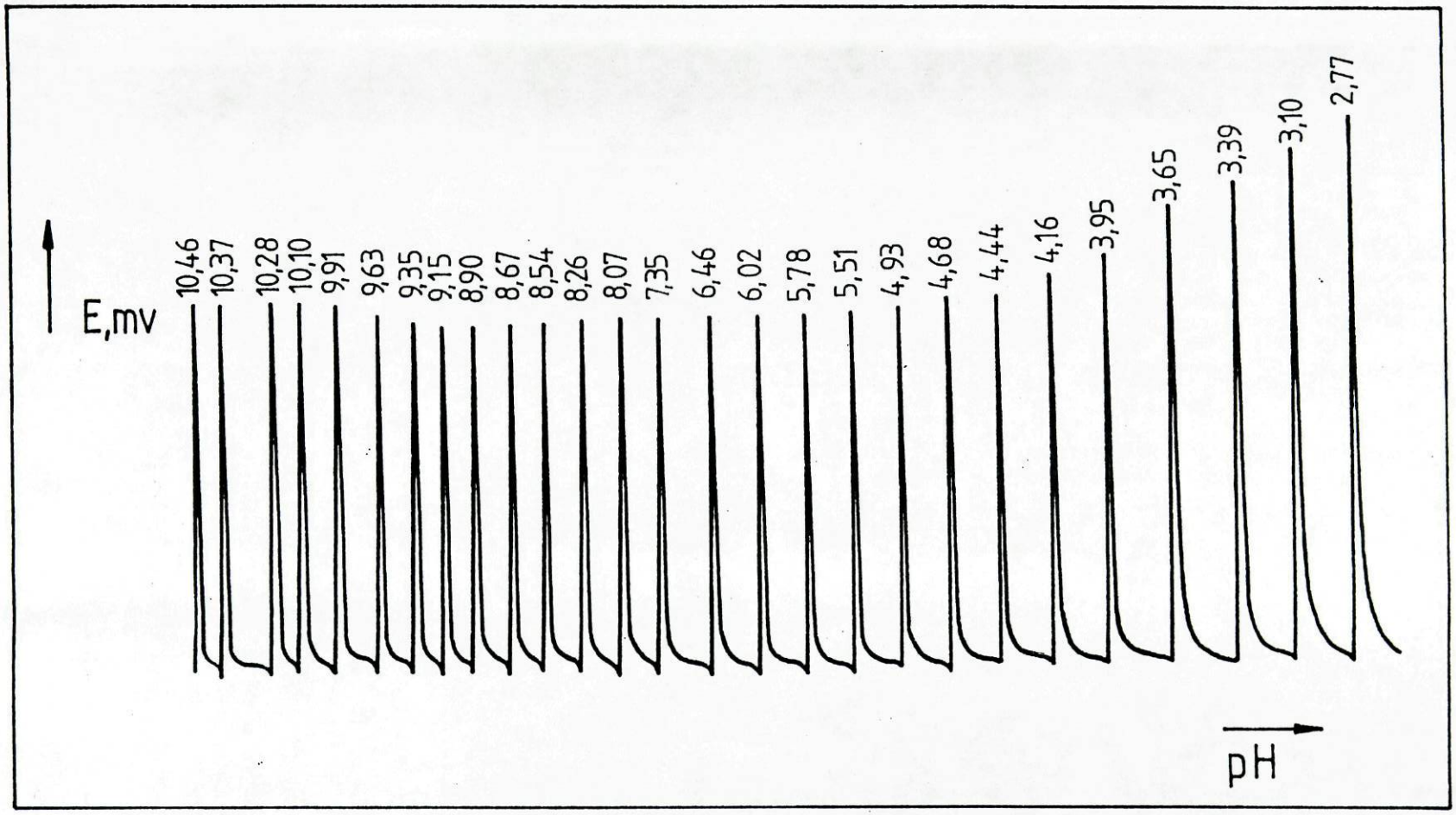


Figura 8.3.5.1 - Diagrama da variação de potencial dos detectores tubulares sensíveis a salicilato com opH de uma solução de salicilato de sódio com concentração igual a 0,1 M.

8.3.6 - Coeficientes de selectividade potenciométricos.

Este parâmetro foi determinado seguindo um processo que se procurou que fosse tão semelhante, tanto quanto possível, ao método das soluções separadas, usado na determinação das interferências com eléctrodos de configuração convencional (Cap. 2).

Para isso, foram injectadas soluções, de concentração igual a 10^{-3}, 10^{-2} e 10^{-1} M, em anião salicilato, seguidas da injecção de soluções contendo o ião interferente na mesma concentração que as anteriores (Tabela 8.3.6.1).

Tendo em conta que os coeficientes de selectividade potenciométricos dependem grandemente das condições experimentais em que são determinados, e que, no caso particular das determinações por FIA, as avaliações foram efectuadas com a força iónica ajustada, poderemos concluir que não existem diferenças significativas nos valores obtidos com as unidades de diferente configuração (detector potenciométrico e eléctrodos de configuração convencional) (ver Tabela 5.3.5.1).

O ligeiro aumento da selectividade registada para os detectores tubulares, quando incorporados no sistema FIA, deve-se provavelmente ao facto de, com esta técnica, o tempo de contacto da membrana sensora do detector tubular com o interferente, não ser suficiente para que se efectue uma permuta extensa entre o ião principal e o interferente o que não se passa em sistemas estáticos [20]. Para além disso, a probabilidade de uma substituição total dos iões, na camada superficial da membrana, por interferentes fortes, (como é o caso do nitrato para este tipo de sistema sensor) é menor, quando o eléctrodo é ensaiado em fluxo, do que quando é avaliado em condições estáticas. Consequentemente, a recuperação do eléctrodo tubular, após presença de interferentes, é mais rápida do que a dos eléctrodos de configuração convencional, para os quais era necessário um condicionamento posterior, em solução de salicilato, durante pelo menos seis horas. Para os

detectores tubulares a recuperação era imediata, não sendo necessário qualquer tipo de condicionamento.

Tabela 8.3.6.1 - Coeficientes de selectividade potenciométricos ($logK^{POT}$) para detectores tubulares sensíveis a salicilato, determinados em sistema de fluxo com um único canal [a)].

Interferente	Concentração (M)		
	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}
Cloreto	-1,93±0,03	-2,22±0,05	-2,71±0,11
	(-2.74)	(-1,87)	(-0.93)
Nitrato	-0,42±0,08	-0,71±0,04	-1,02±0,02
	(-1.36)	(-0,96)	(-0,57)
Acetato	-2,01±0,03	-2,89±0,04	-3,01±0,01
	(-2.98)	(-2,71)	(-1.80)
Nicotinato	-2,23±0,09	-2,52±0,09	-3,21±0,09
	(-2.99)	(-2,65)	(-2,47)

a)- Valores médios correspondentes a quatro determinações com os eléctrodos tubulares. Representam-se entre parêntesis os valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos obtidos para os eléctrodos de configuração convencional, aos mesmos níveis de concentração indicados.

8.3.7 - Doseamento de salicilato em formulações farmacêuticas

A qualidade das determinações efectuadas em formulações farmacêuticas contendo ácido acetilsalicílico foi avaliada, comparando os valores obtidos por FIA com os fornecidos por potenciometria directa com os eléctrodos de configuração convencional e recorrendo ainda ao procedimento previsto na farmacopeia Bratânica [21] (Tabela 8.3.7.1).

As determinações por FIA foram efectuadas com a montagem de duplo canal, referida anteriormente (Fig. 8.2.4.4) em que, pelo canal Q_1, era introduzida uma solução de salicilato de sódio $5x10^{-5}$ M, que transportava a amostra, e pelo canal Q_2 fluia uma solução ajustadora de pH e de força iónica com um caudal próximo do da amostra.

Os resultados do doseamento de ácido acetilsalicílico por FIA estão em bom acordo, quer com os fornecidos pelo método potenciométrico com eléctrodos convencionais, quer segundo o procedimento de referência [21].

Para formulações que continham salicilato como princípio activo e para as quais a farmacopeia Britânica não previa expressamente uma metodologia de doseamento, os resultados obtidos em três ensaios realizados com dois detectores tubulares, para amostras de Diprosalic, foram de 2,16 ±0,02 (percentagens em massa) de salicilato. A qualidade dos valores indicados foi avaliada, determinando a percentagem de recuperação para a qual se obteve um valor igual a 99,6 ±1,9 (percentagem em massa).

Tabela 8.3.7.1 - Determinação de ácido acetilsalicílico em comprimidos, por potenciometria directa (POT), análises por injecção em fluxo (FIA) e procedimento de referência (M.R.)[a].

Designação comercial	**POT**	**FIA**	**M.R**
Aspirina Bayer	85,3±0,8	84,8±0,6	84,0±1,0
Toldex Retard	93,1±2,0	92,4±2,0	93,7±2,0
Salicyna	83,6±1,0	91,8±1,0	91,2±2,0
Toldex	70,7±0,9	72,0±1,0	72,8±1,6

a)-Média e desvio padrão para três determinações com três amostras diferentes do mesmo produto farmacêutico; resultados expressos em percentagem de salicilato em massa.

8.4 - Conclusões.

Pelos resultados apresentados, referentes à construção e avaliação de um detector potenciométrico tubular de salicilato para FIA, poder-se-á concluir que é possível, com um processo de construção simples e a utilização de uma membrana sensora adequada, construir detectores tubulares sensíveis a espécies orgânicas e, neste caso específico, sensíveis a salicilato, de modo semelhante ao que, até ao momento, tinha sido efectuado para espécies inorgânicas.

A avaliação desses detectores, em sistemas FIA de baixa dispersão, revelaram não haver alteração nas suas características de funcionamento relativamente à dos eléctrodos convencionais correspondentes e ensaiados em condições estáticas.

A utilização de uma montagem FIA com um sistema de detecção constituído por um monobloco, que aloja simultâneamente o eléctrodo de referência e o eléctrodo tubular indicador, resultou num sistema de análise simples, rígido e livre de problemas mecânicos.

A técnica FIA, para o doseamento de salicilato em formulações, revelou-se uma metodologia simples, prática, rápida de executar e fornecedora de resultados que, comparativamente com os obtidos por potenciometria com o eléctrodos convencionais do mesmo tipo, ou pelo procedimento de referência, se poderão considerar semelhantes e, nalgumas situações, mais precisos.

A análise automática de salicilato com detecção potenciométrica considera-se um processo vantajoso, relativamente ao mesmo procedimento, mas onde é utilizado, um detector, um espectofotométrico [15], na medida em que é possível fazerem-se as determinações analíticas de salicilato, numa ampla zona de concentrações facto que é limitado em espectrofotometria.

8.5 - Referências Bibliográficas.

[1]- B. Rocks e C. Riley, *Clin. Chem.*, **28**, 409 (1982).

[2]- C. Riley, *Talanta*, **31**, 879 (1984).

[3]-A. Rios, M.D.L. Castro e M. Varcarcel, *J. Pharm. Biom. Anal*, **3** , 105 (1985).

[4]-J. Ruzicka e E.H. Hanssen, *Flow Injection Analysis*, John Willey and Sons, New York (1987).

[5]-J. Ruzicka, E.H. Hanssen e E.A. Zagatto, *Anal. Chim. Acta*, **88**, 1 (1977).

[6]-W. E. Van der Linden e R. Oostervink, *Anal. Chim. Acta*, **101**, 419 (1978).

[7]-J.l.F.C. Lima e L.S.M. Rocha, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **38**, 127 (1190).

[8]-S. Alegret, A. Florido, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Talanta*, **36**, 825 (1989).

[9]-J. Alonso, J. Bartroli, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Anal. Chim. Acta*, **179**, 503 (1986).

[10]-S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J.M. Paulis, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Anal. Chim. Acta*, **164**, 147 (1984).

[11]--S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J.L.F.C. Lima e A.A.S.C. Machado, *Proc. 2nd. Int. Meeting on Chemical Sensors*, Comunicação 8-11, Bordéus (1986).

[12]-A.J. Freud, G.J. Moody, J.D.R. Thomas e B. J. Birch, *Analyst*, **108**, 1357 (1983).

[13]-D.S. Papastathopoulos, E.P. Diamandis e T.P. Hadjiiannou, *Anal. Chem*, **52**, 2100 (1980).

[14]-Q. Chang e M.E. Meyerhoff, *Anal. Chim. Acta*, **186**, 81 (1986).

[15]-M.A. Koupparis e P.I. Anagnostopoulou, *J. Pharm. Biom. Anal*, **6**, 35 (1988).

[16]-J. Ruzicka e E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, John Willey and Sons, New York, (1987) pag.23.

[17]-P.W. Alexander e P. Seegopaul, *Anal. Chem*, **52**, 2403 (1980).

[18]-D.S. Papastathoupoulos e G. A. Rechnitz, *Anal. Chem*, **45**, 826 (1985).

[19]-J.A. Chamarro, *Tesi Doctoral,* (1987) pag. 130.

[20]-R. E. Reinsfelder e F. A. Schultz, *Anal. Chim. Acta*, **65**, 425 (1973).

[21]-*British Pharmacopoeia*, H. M. S. O., London (1980), pag. 733.

CAPÍTULO 9

DETECTORES POTENCIOMÉTRICOS TUBULARES SENSÍVEIS AOS CATIÕES TIAMINA E PIRIDOXINA

9 - DETECTORES POTENCIOMÉTRICOS TUBULARES SENSÍVEIS AOS CATIÕES TIAMINA E PIRIDOXINA.

9.1 - Introdução.

Tal como se destacou no capítulo anterior, até ao momento as determinações potenciométricas de espécies orgânicas aniónicas por FIA estavam limitadas ao tipo de detectores existentes e às suas características de funcionamento. O mesmo pode ser afirmado em relação aos compostos catiónicos, também estes com interesse em farmácia.

A construção de detectores potenciométricos sensíveis a anião salicilato [1] e o desenvolvimento de montagens FIA para a determinação automática daquele composto em formulações, esteve na origem do estabelecimento, com sucesso, de metodologias analíticas para a determinação, por análise de injecção por fluxo, de benzoato [2], 5,5-dietilbarbiturato [3] e 5-etil-5-fenilbarbiturato [4] em fórmulas farmacêuticas.

Entendeu-se por isso, que seria possível desenvolver sistemas de detecção semelhantes, para a análise automática por FIA sensíveis a espécies orgânicas catiónicas, nomeadamente tiamina e piridoxina. Aliás, o doseamento de tiamina com sistemas de fluxo contínuo não constituia novidade [5-8] destacando-se, contudo, que a utilização da potenciometria como processo de detecção foi apenas encarada num só trabalho publicado [8]. Para a piridoxina

não foram, no entanto, encontradas nenhumas referências ao doseamento deste composto por FIA.

O sistema FIA proposto [11], para a determinação de tiamina em formulações, oferecia vantagens significativas relativamente à potenciometria com eléctrodos convencionais e mesmo em relação aos métodos cromatográficos de alta pressão. Apesar do eléctrodo tubular que o integrava ter sido preparado com um sistema sensor que fornecia unidades de configuração convencional, com excelentes características de resposta, os autores não conseguiam reproduzi-las quando o eléctrodo era ensaiado em sistemas de fluxo contínuo. A utilização de um eléctrodo com solução de referência interna e de um sistema FIA com um desenho não apropriado às determinações efectuadas estavam, certamente, na origem dos deficientes resultados obtidos.

A experiência adquirida com a construção de detectores tubulares sensíveis a aniões [1-4] e os resultados fornecidos pelos eléctrodos de configuração convencional sensíveis a tiamina e piridoxina, referidos no Cap.7, permitiram a construção de eléctrodos tubulares sensíveis a estes catiões e o desenvolvimento de metodologias FIA para a análise automática de vitamina B_1 e B_6 em produtos farmacêuticos.

A qualidade dos resultados obtidos foi avaliada, no final, com os resultantes da aplicação dos procedimentos de referência [9,10] e das determinações potenciométricas com eléctrodos de configuração convencional ao doseamento daquelas duas vitaminas em fórmulas farmacêuticas habitualmente comercializadas.

9.2 - Parte Experimental.

9.2.1 - Aparelhagem e eléctrodos.

As montagens FIA utilizadas, quer para a avaliação dos detectores potenciométricos construídos quer para a determinação quantitativa das vitaminas em produtos farmacêuticos, foram estabelecidas, usando o equipamento modular referido no Cap. 2. Em todas as medidas de potencial efectuadas, foi usado um eléctrodo de referência, de cloreto de prata/prata, com dupla junção, sendo a solução externa constituída por cloreto de lítio 0,1 M. Embora não fosse necessária a utilização de um eléctrodo comercial, de dupla junção, optou-se, nestes casos, por um deste tipo porque a sua configuração facilitava a adaptação ao dispositivo que o fixava à montagem (Cap. 2).

Nos doseamentos de vitamina B_6, efectuados em montagens FIA de duplo canal, foi utilizada, uma válvula de injecção de oito entradas e seis vias, da marca Hamilton HVLX 8/7, em substituição da de seis portas e quatro vias (Reodyne 5020), utilizada nos sistemas FIA para determinação de salicilato (Cap.8) e de vitamina B_1. O uso da válvula de 8 entradas permitia efectuar uma calibração do sistema cada vez que se introduzia uma nova amostra.

A aparelhagem utilizada para a realização dos doseamentos de vitamina B_1 e B_6, pelos procedimentos de referência descritos na farmacopeia dos Estados Unidos da América [9,10], foi especificada na parte experimental do Cap. 7.

9.2.2 - Reagentes e soluções.

As soluções mais concentradas de vitamina B_1 e B_6 foram preparadas, por pesagem rigorosa de, respectivamente, cloreto de tiamina e cloreto de piridoxina. As mais diluídas foram obtidas a partir destas por diluição também rigorosa. Dada a facilidade com que se alteravam as soluções, por acção da luz, a sua preparação foi efectuada diariamente.

Nos ensaios de avaliação das características de funcionamento dos detectores potenciométricos tubulares, utilizou-se, como ajustador de força iónica, uma solução de cloreto de lítio 0,1M, justificando-se o seu uso pela baixa interferência do catião lítio.

Nos doseamentos de tiamina e piridoxina, em formulações farmacêuticas, realizados na montagem FIA de duplo canal, usou-se, como ajustador de força iónica e simultâneamente de pH, uma solução de ácido fórmico 0,2 M que foi previamente ajustada, com hidróxido de lítio, até um valor de pH igual a 4 unidades.

9.2.3 - Preparação dos sistemas sensores e membranas dos eléctrodos tubulares.

Os sistemas sensores, usados na preparação das membranas dos eléctrodos tubulares para vitamina B_1 e B_6, foram obtidos, seguindo a metodologia descrita anteriormente (Cap.7), aquando da construção dos correspondentes eléctrodos de configuração convencional.

As membranas para os eléctrodos sensíveis a vitamina B_1 e B_6 (Cap.7) eram constituidas respectivamente por 1,7% de tetra-p-clorofenilborato de tiamina, 67,1% de ortonitrofeniloctiléter e 31,2% de PVC, (expressos em

percentagens em massa) ou, 2,6% de tetra-p-clorofenilborato de piridoxina, 66,4% de ortonitrofeniloctiléter e 31,0% de PVC (também expressos em percentagens em massa).

9.2.4 - Construção dos detectores potenciométricos tubulares.

Com as membranas cuja composição se indicou em 9.2.3, construiram-se eléctrodos tubulares, sensíveis a tiamina e piridoxina, segundo o procedimento anteriormente referido no Cap. 2.

Os eléctrodos tubulares eram, após a construção, mantidos ao ar para garantir uma secagem completa da membrana. Após secagem, procedia-se ao seu condicionamento mantendo a membrana sensora em contacto com uma solução de cloreto de tiamina ou piridoxina, com concentração igual a 10^{-2} M, para provocar a sua hidratação. Após esta operação os eléctrodos estavam aptos a serem utilizados a qualquer instante. Quando se encontravam fora de uso, os eléctrodos tubulares eram guardados ao ar, sem precauções especiais, e sem manter qualquer solução em contacto com a membrana.

9.2.5 - Montagens FIA utilizadas.

Para avaliar as características de funcionamento dos eléctrodos tubulares sensíveis a tiamina e piridoxina, e pelas razões referidas no capítulo anterior, estabeleceram-se montagens FIA que reproduzissem, o mais possível as condições experimentais utilizadas na avaliação de eléctrodos de configuração convencional (Fig. 9.2.5.1).

Procurou-se estabelecer uma montagem o mais acessível possível, de modo a evitar o recurso a equipamento sofisticado e dificilmente obtenível. Assim, em substituição do amortecedor de pulsos, usado nas montagens FIA destinadas à determinação de salicilato, utilizou-se, com a mesma finalidade, um fio enrolado com 0,8 mm de diâmetro interno e 2 m de comprimento.

Por não se encontrar disponível, no momento da realização do trabalho experimental, o sistema modular que alojava conjuntamente o eléctrodo de referência e o eléctrodo tubular indicador, sistema monobloco que provasse dar bons resultados quando da determinação de salicilato por FIA (Cap.8), utilizaram-se, em sua substituição, dispositivos, construídos em perspex (Cap. 2) que serviam de suporte ao elemento sensor, na montagem FIA. O eléctrodo de referência foi colocado no canal principal [11], também num suporte especialmente desenhado para o efeito (Cap.2), imediatamente a seguir ao eléctrodo tubular indicador. Esta montagem é em tudo equivalente à utilizada com os detectores tubulares sensíveis a salicilato. Também aqui, a fixação do eléctrodo de referência depois do detector tubular, evitava distorções hidrodinâmicas do troço de amostra que atinge o detector.

Como ficou indicado anteriormente (Cap. 8), os sinais analíticos obtidos com os detectores tubulares, quando inseridos em sistemas FIA, eram, fundamentalmente, uma consequência do valor de dispersão que sofria a amostra no interior da montagem.

Também aqui, porque se pretendiam reproduzir condições que se assemelhassem, o mais possível, às que foram utilizadas na avaliação de forma discreta dos eléctrodos de configuração convencional, estudaram-se, para o sistema FIA utilizado (Fig. 9.2.5.1), a influência de algumas variáveis, no valor de dispersão do sistema, nomeadamente a velocidade de fluxo, volume de injecção e comprimento do tubo de reacção. Após o estudo efectuado, verificou-se que um volume de injecção correspondente a 200 μL, transportado com uma velocidade de fluxo de 6,3 mL/min. através de um tubo de reacção, com cerca de 25 cm de comprimento, sofria uma dispersão

próxima de 1, quando, para o seu cálculo, se procedia de acordo com o proposto por Ruzicka [12].

A montagem FIA estabelecida utilizava, como transportador da amostra uma solução de cloreto de lítio 0,1 M, contendo ião principal (cloreto de tiamina ou piridoxina) em concentração igual a $5x10^{-5}$ M de modo a permitir uma mais fácil estabilização da linha de base.

Visando o doseamento automático de vitamina B_1 e B_6 em formulações, estabeleceu-se um sistema FIA de duplo canal, em que, sem alterar significativamente o desenho da montagem de canal único (Fig.9.2.5.1) fosse possível, sem qualquer preparação prévia das amostras, que o ajuste da força iónica e de pH se efectuasse no interior da montagem (Fig. 9.2.5.2). As condições experimentais escolhidas eram as que correspondiam a um volume de injecção igual a 200 μL e a uma velocidade de fluxo de 6,3 mL/min., à entrada do detector, em que os dois canais contribuiam igualmente para o fluxo total. Nestas condições, o valor de dispersão calculado para a montagem FIA era igual a 2,1.

Na montagem de canal duplo indicada, era introduzida pelo canal principal, uma solução de cloreto de tiamina ou de piridoxina com concentração igual a 10^{-4} M, enquanto que, pelo canal auxiliar, fluía uma outra solução, simultaneamente ajustadora de pH e força iónica com a composição e concentração indicada em 9.2.2. Após mistura, no tubo de reacção (50 cm), as soluções referidas ficavam com concentração aproximadamente a metade em cada um dos seus constituintes.

Aqui, e especialmente porque a concentração de vitamina B_1 e B_6 nas amostras a dosear, era relativamente baixa, por estas espécies existirem em pequena quantidade relativamente aos outros constituintes das formulações polivitamínicas, tornava-se recomendável o uso de uma solução de ião principal, no transportador, com concentração baixa.

Se, por um lado, para os detectores potenciométricos tubulares de vitamina B_1, o uso de uma concentração baixa de tiamina no transportador

não traduzia deslizamentos significativos de potencial na linha de base, o mesmo não se observava com o detector para vitamina B_6. O facto de o sensor usado na sua preparação ser mais solúvel que o de tetra-p-clorofenilborato de tiamina, quando os eléctrodos são colocados em contacto continuamente com uma solução que flui, a sua solublização torna-se mais extensa, resultando por isso um aumento, no sentido crescente, dos potenciais relativos à linha de base, durante as calibrações realizadas. Para tentar ultrapassar esta dificuldade, optou por um outro tipo de válvula de injecção que permitisse, em cada introdução da amostra, uma calibração do sistema, melhorando assim a qualidade dos resultados.

A válvula utilizada, com seis vias e oito entradas (Fig.9.2.5.3) e conforme foi evidenciado, por outros autores, em trabalho anterior efectuado com um detector espectrofotométrico [13], permitia intercalar a amostra entre duas soluções de composição diferente (Fig. 9.2.5.3D), em que uma delas constituiria a linha de base (10^{-3} M). Na posição de enchimento da válvula (Fig. 9.2.5.3 A), o fluído, com composição fixa de vitamina B_6 (10^{-3} M, padrão), originava um sinal analítico que constituía a linha de base (Fig. 9.2.5.3.B). A amostra (1000 μL) era introduzida no sistema conjuntamente com outro padrão (10^{-2} M). Desta forma, a amostra atingia o detector, intercalada entre os dois padrões (Fig. 9.2.5.3.C), originando um registo com três patamares (Fig. 9.2.5.3.D) a partir do qual era possível obter os valores de potencial, correspondentes às porções de solução que entram sucessivamente em contacto com o detector. Os padrões de concentração 10^{-2} e 10^{-3} M foram seleccionados para que os patamares que lhe correspondem, fossem, respectivamente, superiores e inferiores ao valor esperado para a concentração de vitamina B_6 nas amostras a dosear e que se previa ser aproximadamente igual a $5x10^{-3}$ M.

O volume de injecção escolhido (1000 μL) decorreu, de um estudo prévio, em que se registou o sinal analítico obtido quando eram injectados volumes iguais a 200, 500 e 1000 μL, de amostras com concentração igual a

$5x10^{-3}$ M (Fig. 9.2.5.4.). Verificou-se que 1000 μL era o volume mínimo que permitia, inequivocamente, obter o valor de potencial correspondente à amostra a dosear.

Este procedimento originava inevitavelmente um decréscimo de ritmo de análise relativamente ao que se obtinha nos doseamentos de vitamina B_1, em que se usava, para introdução da amostra no sistema, uma válvula tradicional de seis portas. Esta diminuição era consequência do elevado volume de amostra que era necessário injectar, resultando que, a cada medida, correspondia a passagem pelo detector da amostra intercalada entre as soluções padrão referidas.

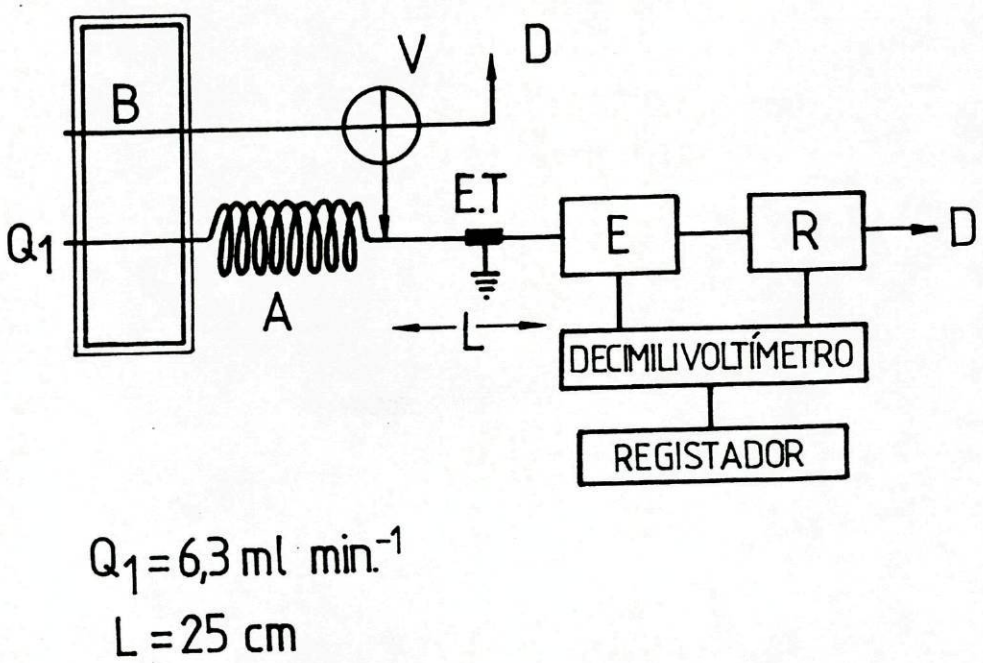
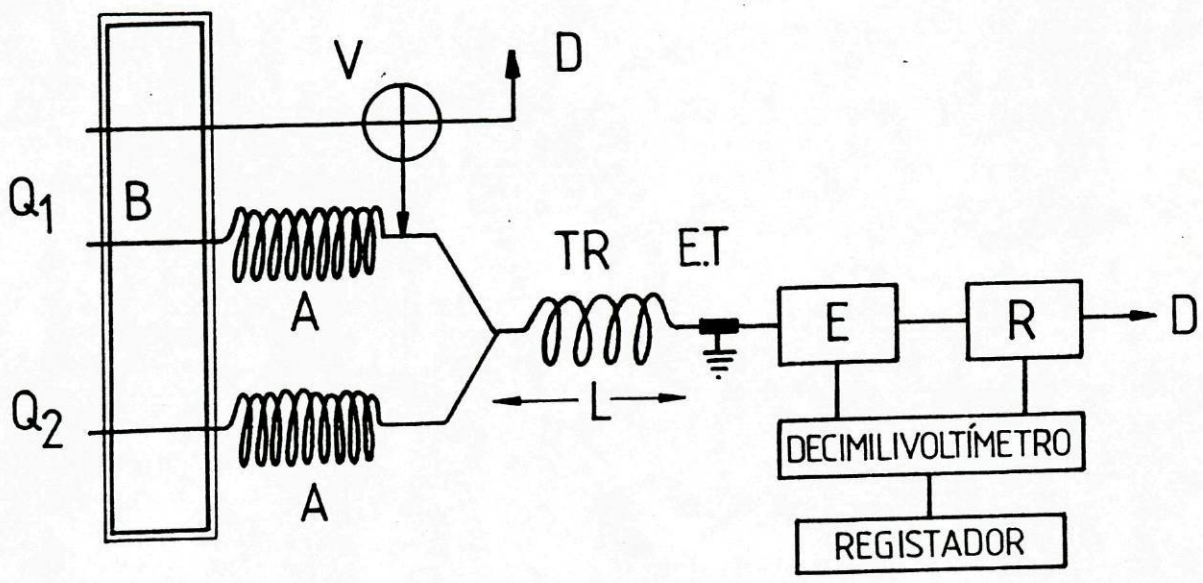


Figura 9.2.5.1 - Montagem FIA com um único canal, utilizada para a avaliação das características de resposta dos detectores potenciométricos sensíveis a tiamina e piridoxina: (B)- bomba peristáltica; (VI)- válvula de injecção; (A)- tubo enrolado com cerca de 2 m de comprimento; (E.T)- ligação à terra; (E)-eléctrodo tubular; (R)-eléctrodo de referência; D-descarga.



$Q_1 = Q_2 = 6{,}3$ ml min^{-1}

L = 50 cm

Figura 9.2.5.2 - Montagem FIA com duplo canal, utilizada para os doseamentos de vitamina B_1 e B_6 com os detectores potenciométricos sensíveis a tiamina e piridoxina: (B)-bomba peristáltica; (VI)-válvula de injecção; (A)-amortecedor de pulsos; (T:R)-tubo de reacção; (E.T)-ligação à terra; (E)-eléctrodo tubular; (R)-eléctrodo de referência; (D)-descarga.

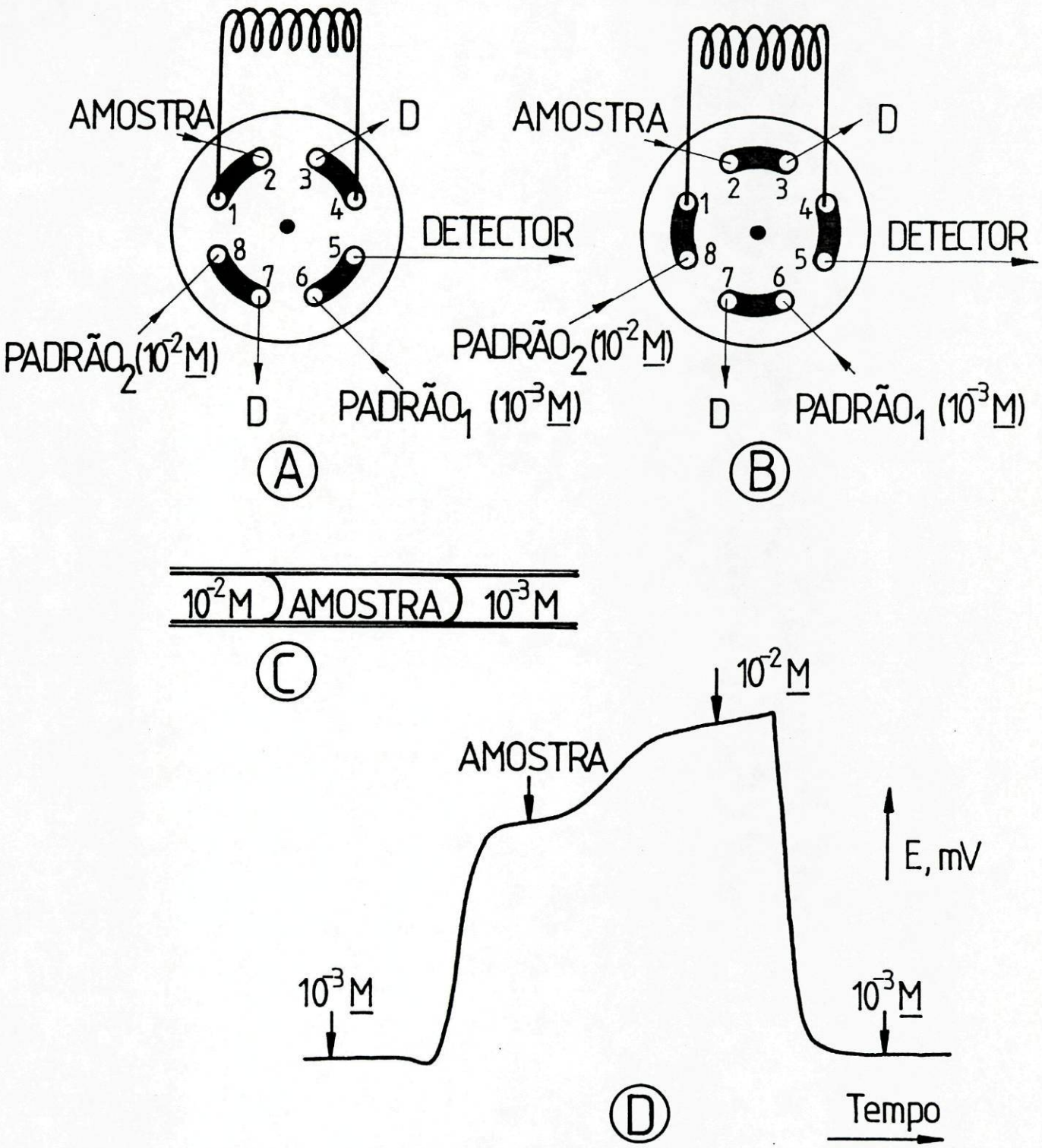


Figura 9.2.5.3 - Funcionamento da válvula de injecção de seis vias e oito entradas, utilizada nos doseamentos de vitamina B_6 em produtos farmacêuticos.

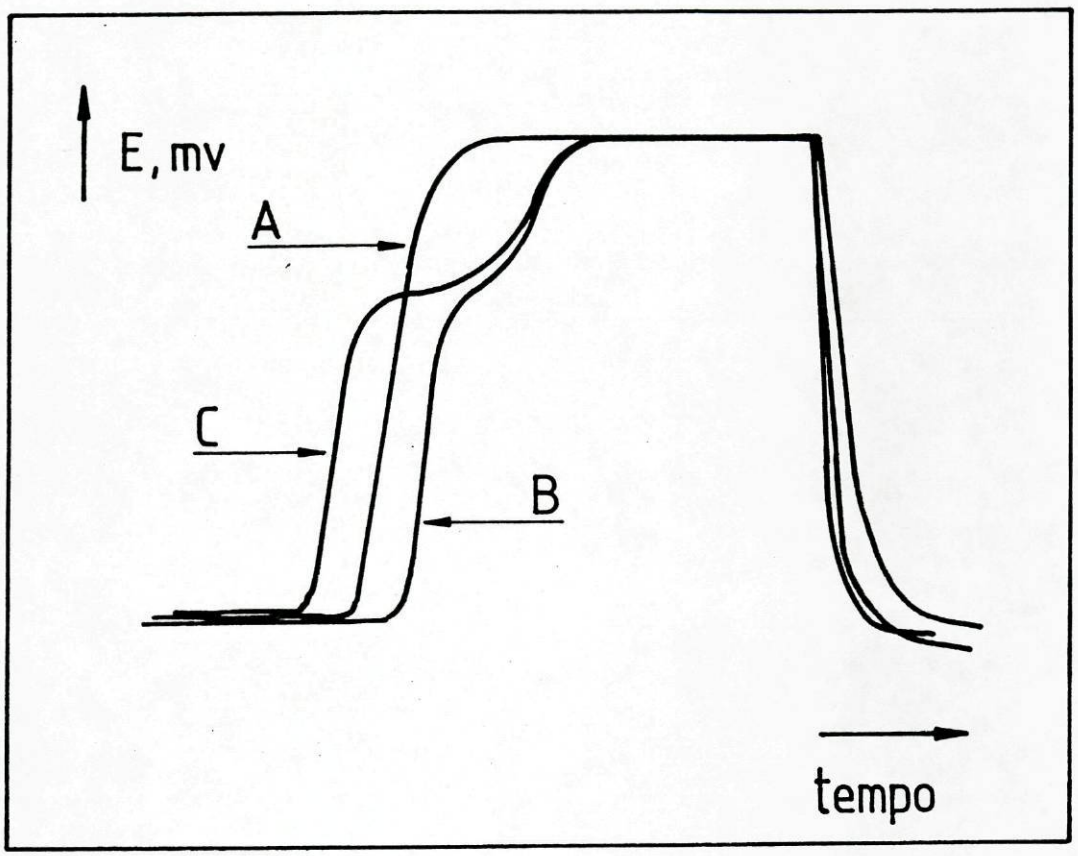


Figura 9.2.5.4 - Registos das variações do sinal analítico, obtido com o detector tubular de piridoxina quando eram introduzidos no sistema FIA, representado na Fig. 9.2.5.2, com uma válvula de injecção de oito entradas incorporada. Volumes injectados: (A)-200μL; (B)-500μL e (C)-1000μL.

9.2.6 - Preparação das amostras das formulações para o doseamento automático por FIA.

As formulações farmacêuticas, cujo conteúdo em vitamina B_1 e B_6 se pretendia determinar, foram preparadas de modo semelhante ao anteriormente descrito (Cap.7) quando se efectuava o seu doseamento por potenciometria directa com eléctrodos de construção convencional.

Nas formulações sólidas de polivitamínicos, onde a vitamina B_1 se encontrava presente, numa concentração relativamente mais baixa do que a de outros compostos, em associação, para preparar uma amostra, com concentração aproximadamente de $5x10^{-3}$ M em tiamina, era necessário proceder à pesagem de uma quantidade elevada de produto. Porque muitos dos compostos presentes nas fórmulas doseadas, eram pouco solúveis, as amostras preparadas apresentavam partículas sólidas em suspensão que provocavam obstrução da válvula de injecção e de toda a montagem FIA. Nestes casos, havia necessidade de proceder a uma filtração das tomas antes da injecção, efectuada à entrada da válvula de injecção.

Nas restantes, cuja constituição englobava apenas vitamina B_1 ou B_6 e os respectivos excipientes das fórmulas, não havia necessidade de se efectuar a filtragem da amostra, visto serem menos numerosas as partículas sólidas em suspensão nas soluções a injectar.

9.3 - Resultados e sua Discussão.

9.3.1 - Características de resposta dos detectores potenciométricos tubulares.

As características de resposta dos detectores potenciométricos tubulares, sensíveis a tiamina e piridoxina, foram avaliadas, utilizando a montagem FIA de canal único (Fig. 9.2.5.1) nas condições referidas em 9.2.5, injectando, sucessivamente, soluções com concentrações variáveis entre 10^{-5} a 10^{-1} M de cloreto de tiamina (Fig. 9.3.1.1) e cloreto de piridoxina (Fig. 9.3.1.2).

Os resultados obtidos para os diferentes parâmetros de calibração dos detectores tubulares de tiamina e piridoxina, retirados das respectivas curvas de calibração, são representados na Tabela 9.3.1.1.

Para efeitos de comparação, encontram-se representados nas Tabelas 9.3.1.2 e 9.3.1.3, respectivamente para vitamina B_1 e B_6, alguns dos parâmetros de calibração, obtidos com eléctrodos convencionais. No sistema FIA de baixa dispersão, verificou-se que, para os dois tipos de construção apresentados (convencional e tubular), as características de resposta das unidades eram bastante semelhantes. A resposta do eléctrodo não era alterada quando avaliado em condições estáticas ou de fluxo dinâmico.

Os valores mais elevados, obtidos para o limite inferior de resposta linear dos detectores tubulares, relativamente ao dos correspondentes eléctrodos convencionais, são uma consequência do valor de concentração de ião principal no transportador, uma vez que os sinais analíticos são medidos a partir da linha de base cujo potencial é imposto pela concentração do ião principal no transportador.

Ao comparar os resultados, obtidos neste trabalho para as

características de resposta dos detectores, com os apresentados por Zhang e colaboradores [8] para um eléctrodo tubular de vitamina B_1, verifica-se não haver diferenças significativas no limite inferior de resposta linear, limite prático de detecção e declive das rectas de calibração.

Uma vez que, para o doseamento das formulações, era recomendável o uso de um sistema FIA, de duplo canal, onde o valor de dispersão era igual a 2,1, valor que fornece uma indicação da diluição sofrida pela amostra, avaliaram-se igualmente as características de resposta dos detectores construídos, utilizando a montagem FIA, representada na Fig. 9.2.5.2. O objectivo desta avaliação era o de verificar as alterações da resposta do detector pelo aumento do grau de dispersão do sistema de modo a poderem ser ajustadas as condições de ensaio a efectuar com as amostras.

Quando se utilizou a montagem FIA, de duplo canal, para avaliar as características de resposta dos detectores, circulava pelo canal principal a solução de ião primário (tiamina ou piridoxina) com concentração igual a 10^{-4} M e, pelo canal auxiliar, o ajustador de força iónica e de pH com composição indicada em 9.2.2.

Os resultados relativos às características de resposta dos detectores de tiamina e piridoxina, ensaiados nestas condições e obtidos a partir das respectivas curvas de calibração, encontram-se indicados na Tabela 9.3.1.4, apresentando-se, em tudo, bastante semelhantes aos obtidos com os mesmos detectores, nas avaliações efectuadas num sistema FIA de canal único.

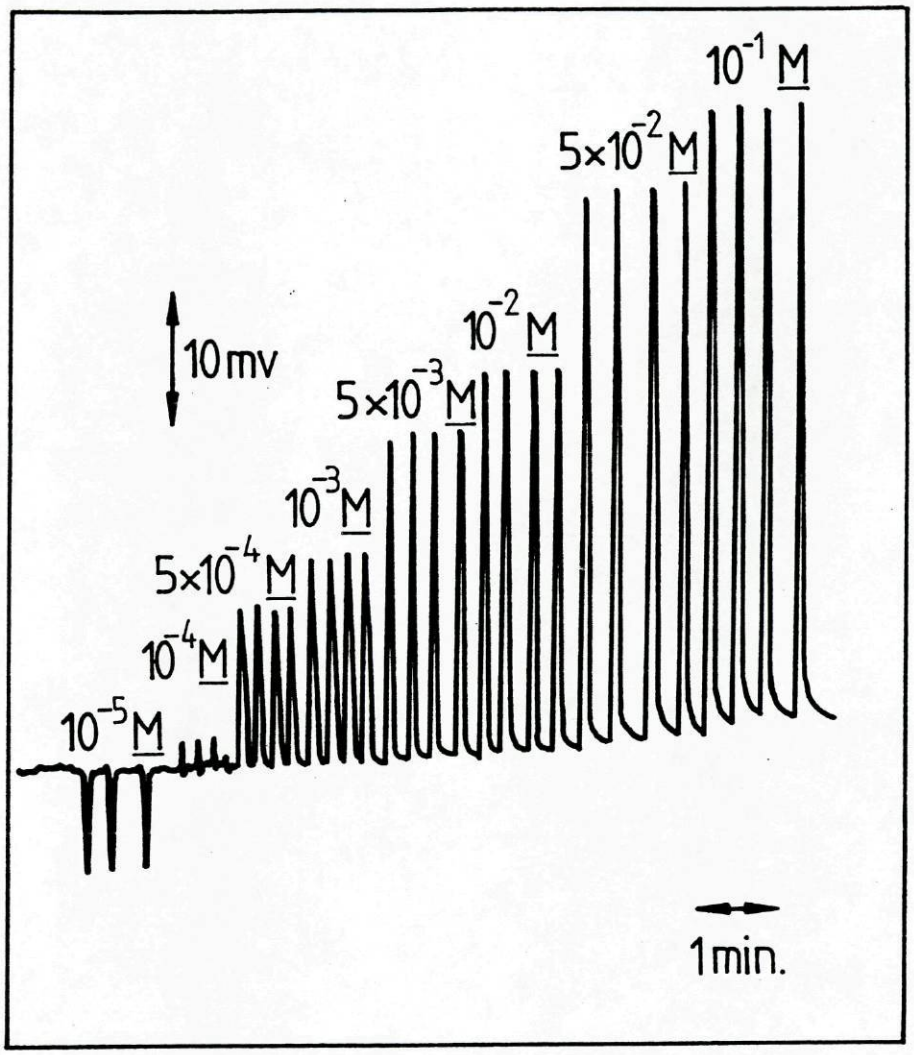


Figura 9.3.1.1 - Registos dos sinais fornecidos por um detector tubular sensível a tiamina para diferentes concentrações deste catião, quando os ensaios decorriam em sistema FIA de canal único.

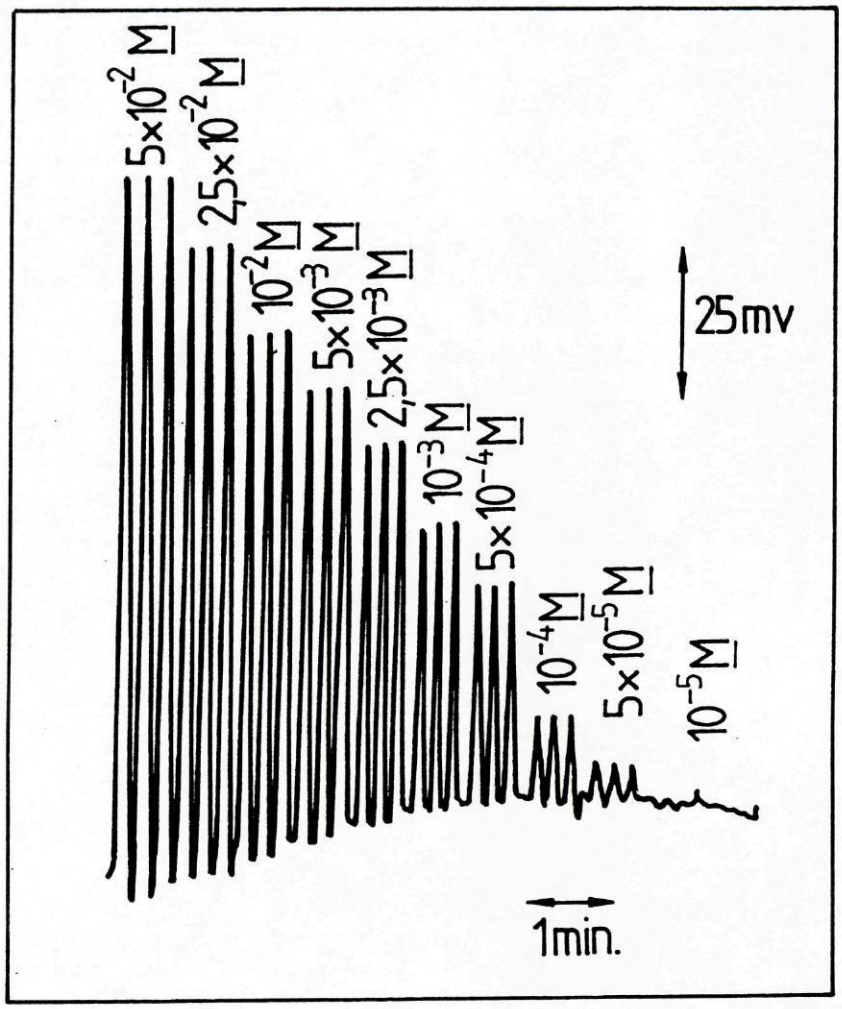


Figura 9.3.1.2 - Registos dos sinais fornecidos por um detector tubular sensível a piridoxina para diferentes concentrações deste catião, quando os ensaios decorriam em sistema FIA de canal único.

Tabela 9.3.1.1 - Características de resposta dos detectores potenciométricos tubulares sensíveis a tiamina e piridoxina, obtidas num sistema FIA monocanal a).

Características	**Detector tubular de tiamina**	**Detector tubular de piridoxina**
L.I.R.L.(M)	$1x10^{-4}$	$1x10^{-4}$
Declive (mV/década)	27,5±0,4	59,9±0,7
Reprodutibilidade (mV/dia)	±0,6	±0,9
Patamar depH operacional b)	3-5	3-4
Ritmo de amostragem (amostras/hora)	120	120

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três detectores potenciométricos tubulares; b)-Ensaios efectuados em soluções de cloreto de tiamina ou cloreto de piridoxina, com concentração igual a 10^{-2}M.

Tabela 9.3.1.2 - Características de resposta dos detectores potenciométricos tubulares sensíveis a tiamina e dos correspondentes eléctrodos de configuração convencional a).

Características	**Eléctrodo convencional**	**Detector tubular**
L.I.R.L. (M)	$8x10^{-6}$	$1x10^{-4}$
Declive (mV/década)	32,6±0,9	27,5±0,4
Reprodutibilidade (mV/dia)	±0,7	±0,6
Patamar de pH operacional b)	2-4	3-5

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três detectores potenciométricos tubulares e seis determinações com três eléctrodos convencionais, em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M com cloreto de lítio; b)-Ensaios efectuados em soluções de cloreto de tiamina com concentração igual a 10^{-2}M.

Tabela 9.3.1.3 - Características de resposta dos detectores potenciométricos tubulares sensíveis à piridoxina e dos correspondentes eléctrodos de configuração convencional [a].

Características	**Eléctrodo convencional**	**Detector tubular**
L.I.R.L. (M)	$2x10^{-5}$	$1x10^{-4}$M
Declive (mV/década)	62,6±0,3	59,9±0,7
Reprodutibilidade (mV/dia)	±1,2	±0,9
Patamar de pH operacional [b]	2-4	3-4

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três detectores potenciométricos tubulares e seis determinações com três eléctrodos convencionais, em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M com cloreto de lítio; b)-Ensaios efectuados em soluções de cloreto de piridoxina com concentração igual a 10^{-2} M.

Tabela 9.3.1.4 - Características de resposta para detectores potenciométricos tubulares sensíveis à tiamina e piridoxina quando avaliados em sistema FIA de canal duplo [a)].

Características	**Detector tubular de tiamina**	**Detector tubular de piridoxina**
L.I.R.L. (M)	$2x10^{-4}$	$1x10^{-4}$
Declive (mV/década)	31,2±0,1	60,9±0,4
Reprodutibilidade (mV/dia)	±0,5	±0,7
Ritmo de amostragem (amostras/h)	180	180

a)-Valores correspondentes à média de duas determinações com três detectores potenciométricos construídos.

9.3.2 - Velocidade de resposta do sistema FIA.

Usando o sistema FIA de baixa dispersão, determinou-se o tempo que, após uma injecção, o sinal analítico obtido demoraria a atingir um potencial estável correspondente à linha de base (Cap.2).

Este tempo, dependente da velocidade de fluxo do sistema, do volume de injecção e também do volume morto, criado pela adaptação do eléctrodo tubular à montagem FIA estabelecida, era suficientemente rápido para permitir realizar cerca de 120 determinações em, pelo menos, uma hora, quer com o detector de tiamina quer com o de piridoxina. O valor aqui apresentado é excepcionalmente melhor que o indicado por outros autores para unidades tubulares, sensíveis a tiamina (12 amostras/hora) [8]. As possíveis causas para o baixo ritmo de amostragem obtida para aqueles detectores [8] poderá estar relacionado com a baixa velocidade de fluxo que é utilizada (1mL/min.) e a baixa concentração de cloreto de tiamina no transportador ($2x10^{-7}$ M).

Não se estabelecerão comparações entre a velocidade de resposta dos detectores e a dos correspondentes eléctrodos convencionais, pela impossibilidade de igualar os métodos de determinação utilizados.

9.3.3 - Reprodutibilidade de resposta.

Foram avaliados, para os dois tipos de detectores tubulares construídos, os desvios padrão para o sinal analítico, efectuando dez injecções consecutivas, de uma solução com concentração conhecida em cloreto de tiamina ou piridoxina. Foi também determinada, para ambos os detectores, a reprodutibilidade dos potenciais referentes a duas calibrações simultâneas executadas no mesmo dia.

Em relação ao primeiro tipo de reprodutibilidade, e injectando uma

solução com concentração de, por exemplo, 10^{-2} M em cloreto de tiamina ou de piridoxina, registaram-se, respectivamente para os detectores sensíveis a vitamina B_1 e B_6, desvios padrão do sinal analítico de ±0,2 mV e ±0,7 mV. Para valores de concentração inferiores a 10^{-2} M no respectivo ião principal, obtiveram-se, para os dois tipos de detectores preparados, desvios inferiores a ±0,5 mV enquanto que para uma concentração de 10^{-1} M o valor do desvio registado era correspondente a cerca de ±1 mV.

Os ensaios de calibração diários revelaram que o detector potenciométrico tubular, sensível a tiamina, apresentava uma reprodutibilidade diária de cerca de ±0,5 mV não se verificando grandes alterações deste valor durante, pelo menos, os três meses em que decorreram as experiências.

O detector de piridoxina apresentava uma reprodutibilidade de potenciais igual a cerca de ± 1 mV quando se efectuavam duas calibrações no mesmo dia, valores considerados razoáveis. No entanto, ao longo de uma calibração, registavam-se deslizamentos significativos da linha de base,o que justificou o uso da válvula de oito portas para a introdução das amostras no sistema.

9.3.4 - Efeito do pH nos valores de potencial dos detectores.

A avaliação da variação do potencial dos detectores tubulares com o pH das soluções foi efectuada injectando sucessivamente uma solução de cloreto de tiamina ou piridoxina com concentração fixada a 10^{-2} M e variando os seus valores de pH (Cap.2).

Este estudo foi realizado numa montagem de canal único, semelhante à representada anteriormente (Cap. 2), sendo a amostra transportada por uma solução de cloreto de lítio 0,1M e utilizando-se, para alcalinizar as soluções de ião primário, uma solução concentrada de amoníaco.

Os resultados obtidos indicaram-nos não haver variação significativa dos potenciais, para os detectores tubulares de tiamina, quando o pH variava entre 3-5 unidades (Fig. 9.3.4.1), e para os de piridoxina entre 3-4 unidades de pH (Fig. 9.3.4.2). Os valores encontrados são semelhantes aos obtidos com os eléctrodos de configuração convencional quando sujeitos ao mesmo tipo de avaliação, em soluções com a mesma concentração (Tabelas 9.3.1.2 e 9.3.1.3).

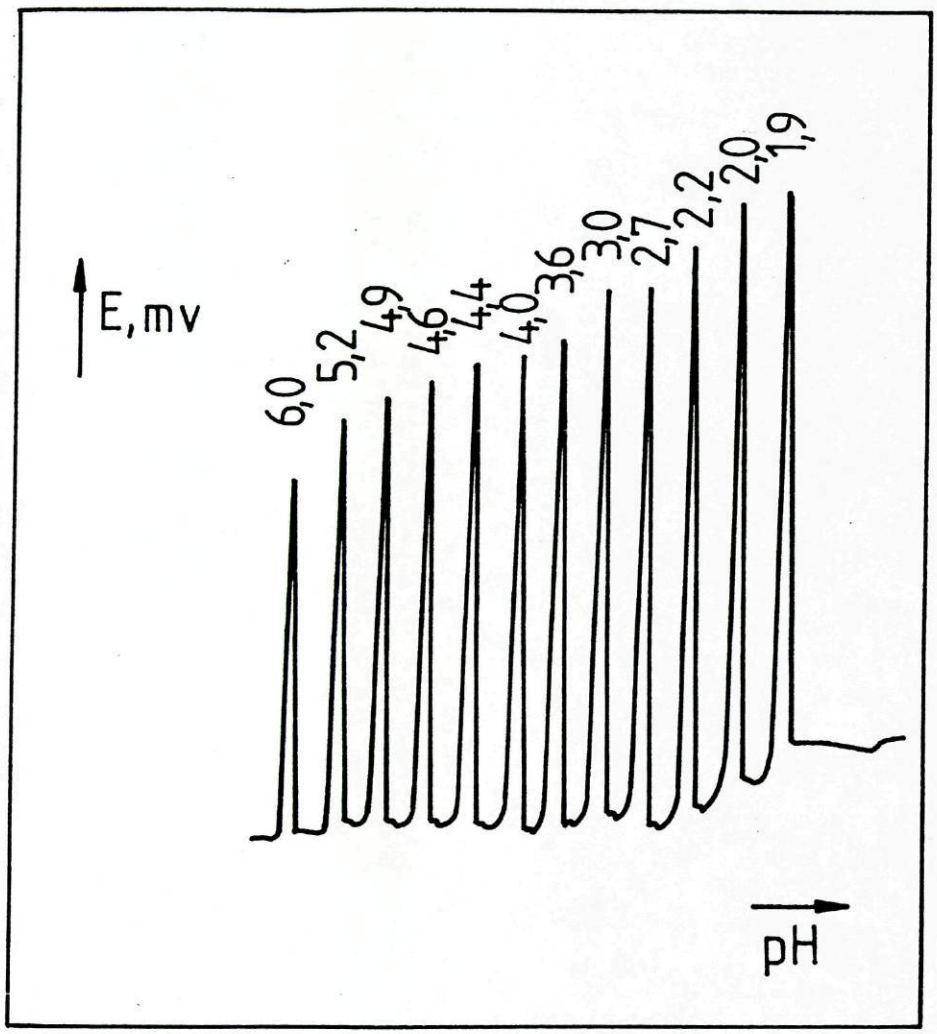


Figura 9.3.4.1 - Variação do potencial dos detectores tubulares sensíveis a vitamina B_1, com o pH (valores indicados na Fig.) de uma solução de cloreto de tiamina com concentração igual a 10^{-2} M.

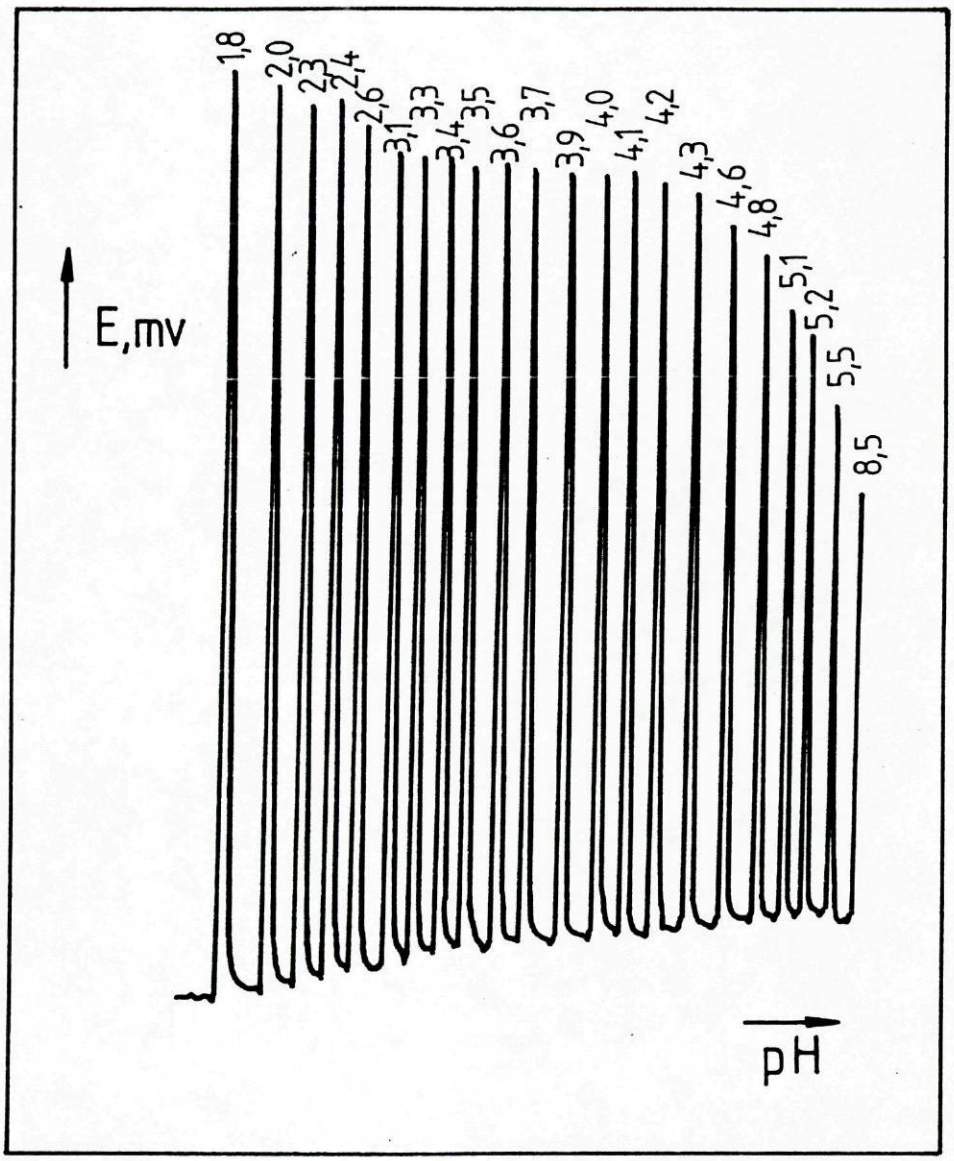


Figura 9.3.4.2 - Variação do potencial dos detectores tubulares sensíveis a vitamina B_6, com o pH (valores indicados na Fig.) de uma solução de cloreto de piridoxina com concentração igual a 10^{-2} M.

9.3.5 - Coeficientes de selectividade potenciométricos

A avaliação deste parâmetro, para os detectores potenciométricos sensíveis a tiamina e piridoxina, foi efectuada injectando sucessivamente soluções contendo o ião interferente e o ião principal, em concentrações iguais a 10^{-3}, $5x10^{-3}$ e 10^{-2} M (Cap.2), apresentando-se, nas Tabelas 9.3.5.1 e 9.3.5.2 respectivamente para cada uma das unidades construidas, os correspondentes valores dos logaritmos dos coeficientes de selectividade potenciométricos.

As determinações foram efectuadas em sistemas de fluxo de baixa dispersão (canal único) e em relação a alguns catiões inorgânicos e vitaminas usualmente presentes em formulações polivitamínicas.

Embora no sistema FIA usado, houvesse a preocupação de reproduzir as mesmas condições experimentais utilizadas, para a avaliação deste parâmetro, com os eléctrodos de construção convencional, e considerando que, em FIA, os ensaios decorreram sobre amostras com a força iónica ajustada, contrariamente ao que era efectuado com eléctrodos de construção convencional, e atendendo a que os valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos dependem das condições experimentais usadas na sua determinação, poder-se-á afirmar que existe uma boa concordância entre os valores calculados (Tabelas 7.3.5.4 e 7.3.5.6).

Tabela 9.3.5.1 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para detectores tubulares sensíveis a tiamina, obtidos em sistema FIA monocanal [a)]..

Interferente	Concentração (M)		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Sódio	-2,16±0,05	-2,91±0,09	-3,22±0,09
Potássio	-2,03±0,03	-2,64±0,06	-2,84±0,03
Amónio	-2,14±0,06	-2,78±0,05	-3,07±0,01
Protão	-0,25±0,07	-0,58±0,03	-0,84±0,08
Magnésio	-1,85±0,07	-2,57±0,07	-2,85±0,09
Cálcio	-1,77±0,05	-2,39±0,05	-2,70±0,03
Piridoxina	-1,16±0,02	-1,02±0,08	-0,85±0,08
Nicotinamida	-2,37±0,02	-3,74±0,04	-3,89±0,07
Cianocobalamina	-2,53±0,06	-2,89±0,07	-3,01±0,04

a)-Média de duas determinações com três detectores potenciométricos tubulares.

Tabela 9.3.5.2 - Coeficientes de selectividade potenciométricos (log K^{POT}) para detectores tubulares sensíveis à piridoxina, obtidos em sistema FIA monocanal [a].

Interferente	Concentração (M)		
	10^{-3}	$5x10^{-3}$	10^{-2}
Sódio	-1,59±0,08	-2,13±0,06	-2,36±0,04
Potássio	-0,85±0,02	-1,04±0,04	-1,07±0,02
Amónio	-1,05±0,04	-1,17±0,02	1,36±0,07
Protão	-0,93±0,01	-1,07±0,07	-1,71±0,04
Magnésio	-3,21±0,06	-3,19±0,05	-3,76±0,09
Cálcio	-2,71±0,09	2,81±0,07	-3,39±0,02
Tiamina	-0,79±0,05	-0,93±0,08	-0,92±0,07
Nicotinamida	-1,24±0,08	-1,83±0,08	-2,15±0,03
Cianocobalamina	-2,01±0,02	-2,18±0,03	-2,34±0,04

a)-Média de duas determinações com três detectores potenciométricos tubulares.

9.3.6 - Doseamento por FIA, de vitamina B_1 e B_6 em formulações farmacêuticas.

Entre as várias formulações, contendo vitamina B_1 e utilizadas para o doseamento desta espécie com eléctrodos de configuração convencional, foram seleccionadas algumas delas para testar a utilidade analítica do sistema FIA implementado.

Foram efectuadas, de modo análogo, determinações por FIA, para a preparação farmacêutica contendo vitamina B_6 (Bénedon), sobre os quais recaíram igualmente os ensaios por potenciometria directa.

Em ambos os casos, foi usado o sistema de fluxo de canal duplo (Fig. 9.2.5.2) com as condições experimentais descritas em 9.2.5.

Porque com os detectores potenciométricos sensíveis a vitamina B_6 se observavam deslisamentos significativos dos valores de potencial da linha de base, durante as calibrações, houve necessidade de lançar mão, para proceder à introdução das amostras de uma válvula de injecção com oito portas (cujos detalhes de funcionamento foram anteriormente apresentados em 9.2.5).

A qualidade dos resultados obtidos, por FIA foi avaliada por comparação com as metodologias de referência, sugeridas pela farmacopeia dos Estados Unidos, respectivamente em relação à vitamina B_6 [9] e vitamina B_1 [10]. Paralelamente às determinações por FIA, foram também executados ensaios de doseamento, usando eléctrodos de configuração convencional sensíveis àquelas espécies catiónicas.

Constituem a Tabela 9.3.6.1 os resultados obtidos pelos três processos de doseamento referidos, para fórmulas farmacêuticas de diferente composição, usualmente comercializadas em Portugal.

Para vitamina B_6, os resultados obtidos em comprimidos (Bénedon), quando analisados por FIA, potenciometria com eléctrodos convencionais e método de referência, foram iguais a 39,1±0,2, 39,1±0,9 e 38,8±0,6 (mg de

piridoxina/comprimido).

Ao utilizar-se a válvula de injecção de oito entradas, para as determinações de vitamina B_6 em formulações, e porque o volume de injecção necessário à obtenção de sinais analíticos bem definidos, era elevado (1000 μL), o ritmo de amostragem é de cerca de 20 amostras/hora. Contudo, poderemos concluir que os resultados obtidos pelos três métodos de análise apresentavam boa concordância, sendo de assinalar a grande precisão dos valores resultantes das determinações por FIA e potenciometria directa com eléctrodos convencionais, relativamente aos métodos de referência. Isto justifica-se pelo facto de serem necessárias várias manipulações prévias das amostras de vitamina B_1 e B_6, contribuindo, por isso, para a dispersão dos resultados registados.

Também é de assinalar o curto espaço de tempo em que é possível efectuar um número elevado de doseamentos por FIA, contrariamente ao que sucede com o método de referência, mesmo no casos em que seja necessário recorrer a um volume de injecção elevado, decorrente da utilização de uma válvula de injecção com oito portas.

Os resultados obtidos contribuem, uma vez mais, para reconhecer a utilidade dos sistemas FIA com detecção potenciométrica, relativamente aos procedimentos de referência para os quais era impossível ultrapassar três doseamentos no mesmo espaço de tempo.

Tabela 9.3.6.1 - Determinação de vitamina B_1 em preparações farmacêuticas, por injecção em fluxo, com detectores tubulares (FIA), potenciometria directa (POT) e método de referência (M.R.) a).

Designação comercial	**Metodologias**		
	FIA b)	**POT** b)	**MR** c)
Totaforte (2,6%)	2,5±0,1	2,6±0,2	2,5±0,2
Dragavit B_1 Retard (53,9%)	93,1±2,0	92,4±2,0	93,7±2,0
Vitamina B_1 fortíssima (5,1%)	83,6±1,0	91,8±1,0	91,2±2,0

a)-Conteúdo em vitamina B_1 (percentagens em massa) presente nas formulações expresso entre parêntesis; b)-Média de seis determinações efectuadas com três detectores ou com três eléctrodos de configuração convencional; c)-Média de quatro determinações efectuadas sobre a mesma amostra do produto comercial.

9.4 - Conclusões.

O trabalho realizado permitiu concluir que, com um processo de construção semelhante ao usado na preparação de detectores potenciométricos tubulares para espécies orgânicas aniónicas, nomeadamente salicilato, é possível, desenvolver sistemas FIA, com detecção potenciométrica, para compostos orgânicos, catiónicos.

A metodologia desenvolvida para o doseamento de vitamina B_1 e B_6 em formulações farmacêuticas, algumas delas de composição complexa, é simples, evita tratamentos prévios às amostras e permite, recorrendo a aparelhagem pouco sofisticada, uma automatização dos processos de análise encurtando o seu tempo de duração. A última razão constitui a grande vantagem deste tipo de metodologia, relativamente às de referência propostas para estes compostos, já que, fornecendo resultados mais precisos, se torna menos fastidiosa e demorada.

Os resultados obtidos permitiram igualmente concluir que, nos casos em que, por razões inerentes às características das membranas, os detectores potenciométricos em FIA apresentavam deficientes reprodutibilidades, (nomeadamente os que eram sensíveis a vitamina B_6), a técnica FIA não lhe é interdita. Este problema é fácilmente superado por substituição apenas da válvula de injecção tradicional, no sistema FIA desenvolvido, obtendo-se igualmente resultados com qualidade comparável quer aos fornecidos pelo método de referência quer aos de potenciometria directa com eléctrodos de configuração convencional.

9.5 - Referências Bibliográficas.

[1]-J. L. F. C. Lima, M. C. B. S. M. Montenegro e A. M. R. Silva, *J. Flow Injection Anal.*, **7**, 119 (1990).

[2]-J. L .F. C. Lima, M. C. B. S. M. Montenegro, J. Alonso, J. Bartroli e J. G. Raurich, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **7** 1499 (1989).

[3]-J. L .F. C. Lima, M. C. B. S. M. Montenegro, J. Alonso, J. Bartroli e J. G. Raurich, *Anal. Chim. Acta*, **234**, 221 (1990).

[4]-J. L .F. C. Lima, M. C. B. S. M. Montenegro, J. Alonso, J. Bartroli e J. G. Raurich, *Anal. Sci.* em impressão (1990).

[5]-B. Karlberg e S. Thelander, *Anal. Chim. Acta.*, **114**, 129 (1980).

[6]-K. Kusube, K. Abe, O. Hirosima e Y. Ishiguro, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 3589 (1983).

[7]-J. M. Calatayud, C. G. Benedito e D. G. Martinez, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **8**, 667 (1190).

[8]-G. H. Zhang, T. Imato, Y. Asano, T. Sonoda, H. Kobayashi e N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, **62**, 1644 (1990).

[9]-*USP Pharmacopeia*,U. S. Pharmacopoeial Convention Inc., Rockville M.D., pag. 276 (1985).

[10]-*USP Pharmacopeia*,U. S. Pharmacopoeial Convention Inc., Rockville M.D.,pag. 1047 (1985).

[11]-E. Pungor, Z. Fehr, G. Nagy, K. Toth, G. Horvay e M. Gratzl, *Anal. Chim. Acta*, **109**, 1 (1979).

[12]-J. Ruzicka e E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, John Willey and Sons, New York, (1987) pag. 23.

[13]-J. Alonso, J. Bartroli, M. del Valle, M. Escalada e R. Barber, *Anal. Chim. Acta*, **199**, 191 (1987).

CAPÍTULO 10

CONCLUSÕES GLOBAIS

10 - CONCLUSÕES GLOBAIS.

Na elaboração desta dissertação optou-se por, nos diversos capítulos, apresentar a discussão dos resultados e retirar as respectivas conclusões à medida que iam sendo progressivamente descritos. Procurou-se deste modo vincar as conclusões específicas de cada caso considerado, justificando-se que neste capítulo somente se evidenciem muito brevemente as conclusões de índole geral do trabalho desenvolvido.

A construção de eléctrodos sem solução de referência interna, permitiu que fossem desenvolvidas unidades sensíveis a diferentes espécies orgânicas aniónicas (carboxilatos alifáticos, benzoato, salicilato, 5,5-dietilbarbiturato e 5-etil-5-fenilbarbiturato) e catiónicas (tiamina e piridoxina) com boas características de funcionamento.

O processo de construção utilizado na preparação dos eléctrodos era simples, económico, fácil de implementar e versátil porque permitia a adapatação dos eléctrodos a novas configurações e evidenciou ser vantajoso na obtenção de unidades com tempos de vida longos. Adicionalmente, é de referir que para além das vantagens apresentadas, o processo de construção desenvolvido permitia que, utilizando o mesmo corpo do eléctrodo, se construissem outras unidades sensíveis à mesma espécie iónica para a qual tinha sido anteriormente preparado ou ainda, sensibilizando-o para outro ião. Esta vantagem só é comparável com o processo de preparação dos eléctrodos de estado sólido comercializados, designados "Selectrodes" de Ruzicka.

Na preparação dos sistemas sensores para os eléctrodos construídos, a

utilização de permutadores orgânicos de elevado peso molecular e relativamente pouco solúveis, originou eléctrodos de condutor móvel e sensor imobilizado em PVC, com melhores limites de resposta linear e de detecção, maior sensibilidade e selectividade do que unidades anteriormente descritas na literatura basedas em permutadores iónicos do mesmo tipo.

Também o uso de solventes mediadores de elevada viscosidade e boas características plastificantes, favoreceu a obtenção de eléctrodos que em relação a outros descritos na literatura para as mesmas espécies iónicas, se registavam melhorias significativas nos parâmetros correspondentes à zona de resposta linear, sensibilidade, durabilidade, estabilidade e reprodutibilidade dos valores de potencial e selectividade.

Tornou-se evidente, com o trabalho efectuado, haver uma forte influência nas características de selectividade dos eléctrodos quando preparados com solventes mediadores de características físicas diferentes. No entanto, embora fossem registados alterações na extensão das interferências , estas não correspondiam a uma inversão da ordem de selectividade. Este facto, que é vantajoso na medida em que permite escolher o eléctrodo mais adequado para o tipo de análise em vista, facilita uma previsão na preparação de novos sistemas sensores para eléctrodos sensíveis a outras espécies iónicas para além das que foram contempladas neste trabalho.

A melhoria global do funcionamento dos eléctrodos tornou possível a sua aplicação prática, concretamente ao doseamento de fórmulas farmacêuticas por potenciometria, obtendo-se desta, resultados mais exactos e precisos do que os decorrentes da metodologias de referência aplicadas. O doseamento potenciométrico tornou-se vantajoso relativamente aos procedimentos de referência uma vez que exigindo instrumentação não sofisticada e económica, não necessitando de submeter as amostras a dosear a tratamentos complexos, era possível em tempos relativamente mais curtos executar um número elevado de determinações com qualidade comparável à dos métodos de referência.

Destaca-se também, com o trabalho realizado, a possibilidade que o modelo proposto para a construção dos eléctrodos fornecesse, na preparação de unidades de configuração tubular utilizadas em montagens automáticas baseadas na análise por injecção em fluxo. As montagens desenvolvidas eram mecânicamente estáveis, fáceis de implementar, utilizavam material e instrumentação analítica pouco complexa e tinham ainda como vantagem permitirem realizar, a um ritmo elevado, um grande número de determinações, com resultados comparáveis em exactidão e precisão aos obtidos por potenciometria com eléctrodos convencionais e pelos processos de referência descritos. O tipo de montagens estabelecidas, eram acessíveis a qualquer laboratório de controlo, mesmo os de baixo recursos económicos e poderiam ser utilizadas por pessoal não especializado, evitando submeter as amostras a dosear a preparações fastidiosas e monótonas o que contribuia para a rentabilização dos doseamentos, diminuindo os custos de funcionamento das áreas de controlo.

A facilidade de substituição dos detectores potenciométricos tubulares por unidades sensíveis a outra espécies iónicas, nas montagens FIA desenvolvidas, permitia a determinação analítica de diferentes espécies orgânicas sem haver necessidade de recorrer a uma gama variada de instrumentação analítica.

Os resultados obtidos da avaliação dos eléctrodos de configuração convencional, permitiram concluir, que é possível, depois da escolha conveniente do sistema sensor e processo de construção, generalizar a preparação de eléctrodos a muitas outras espécies iónicas com características de funcionamento suficientemente boas de modo a facilitar a determinação de espécies orgânicas por potenciometria tornando-a num processo tão vulgarizado como até ao momento o é a determinação de espécies inorgânicas.

Finalmente, com os resultados obtidos quer da avaliação de eléctrodos de configuração convencional, quer dos de configuração tubular, concluiu-se

ser a potenciometria directa e as análises por injecção em fluxo, técnicas analíticas vantajosas de modo a poderem vir a ser consideradas no futuro, como mais um processo alternativo de doseamento de produtos com interesse em farmácia.