

CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DE UM ELETRODO TUBULAR ÍON-SELETIVO A AMÔNIO COM IONÓFORO NONACTINA

Laércio Rover Júnior, Graciliano de Oliveira Neto*

Departamento de Química Analítica - Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas - CP 6154 - 13081-970 - Campinas - SP

José L. F. Costa Lima, Maria Conceição B. S. M. Montenegro

Departamento de Química-Física da Faculdade de Farmácia - Universidade do Porto - Porto - Portugal

Recebido em 18/10/95; aceito em 6/2/96

CONSTRUCTION AND EVALUATION OF AN AMMONIUM TUBULAR ION-SELECTIVE ELECTRODE WITH IONOPHORE NONACTIN. This paper describes the construction of an ammonium tubular potentiometric detector for flow injection analysis (FIA) in which the high molecular weight polyvinyl chloride (PVC) membrane is applied directly on a conducting support consisting of a mixture of an epoxy resin and graphite. The tubular ammonium ion-selective electrode, without internal reference solution, is based on nonactin as the ionophore and bis-(2-ethyl-hexyl)-adipate as plasticiser solvent, supported upon a PVC membrane. The electrode exhibited a response of 55.6 mV per concentration decade within the 5.0×10^{-5} to 1.0×10^{-1} mol/L NH_4^+ range in TRIS-HCl 0.2 mol/L (pH = 6.7) buffer. Potassium ions constituted the greatest analytical interference; the electrode response time was 10 seconds, at 25.0 °C.

Keywords: tubular electrode; ammonium determination; nonactin.

INTRODUÇÃO

De acordo com Simon¹, verifica-se que antibióticos macrotetrólitos como nonactina² apresentam grande seletividade frente ao íon de interesse, NH_4^+ , podendo ser usado em determinações potenciométricas.

O termo ionóforo é usado para descrever ligantes que seletivamente associam-se a íons. Tipicamente, são moléculas macrocíclicas com um íon ligado numa cavidade de dimensões bem definidas. A seletividade está baseada na relação entre as dimensões do íon com o sítio ligante. Éteres coroa³ constituem a classe mais conhecida de ionóforos, porém muitos outros tipos de moléculas, de ocorrência sintética ou natural, agem como ionóforos, tais como metil-monesin para íons sódio, bis-(benzil-15-éter coroa-5)-heptanodoato para íons potássio e a própria nonactina para íons amônio (Fig. 1)⁴.

Ionóforos têm tido grande impacto no desenvolvimento de eletrodos de membrana seletiva, baseados na diferença de potencial associada à interação entre o íon de interesse com o sítio ativo do ligante. Em adição à grande seletividade, ionóforos neutros usados em eletrodos íon-seletivos não estão sujeitos à protonação e, assim, têm constantes de equilíbrio para o íon ligante que não são afetadas pelo pH, como é o caso do composto utilizado neste trabalho. Desta forma, é possível determinar-se amônio numa faixa de valores de pH em que o ionóforo não perca suas características, sem um pré-tratamento da amostra contendo o analito, evitando possíveis interferências.

A construção de eletrodos íon-seletivos de membranas poliméricas, como alternativa ao uso de membranas constituídas por um sensor líquido suportado numa película inerte porosa, tem tido grande interesse nos últimos anos⁵, principalmente no desenvolvimento de microeletrodos^{6,7} e biossensores^{8,9} destinados a elevado número de determinações analíticas, tais como: taxa sanguínea de glicose, uréia, ácido úrico, colesterol, tirosina, oxalato, salicilato, entre os principais metabólitos, cuja concentração seja relevante ao diagnóstico clínico.

Eletrodos de membrana de vidro seletivos a amônio tem sido usados para a determinação deste íon. Dentro desses sensores existe uma solução interna de cloreto de amônio com

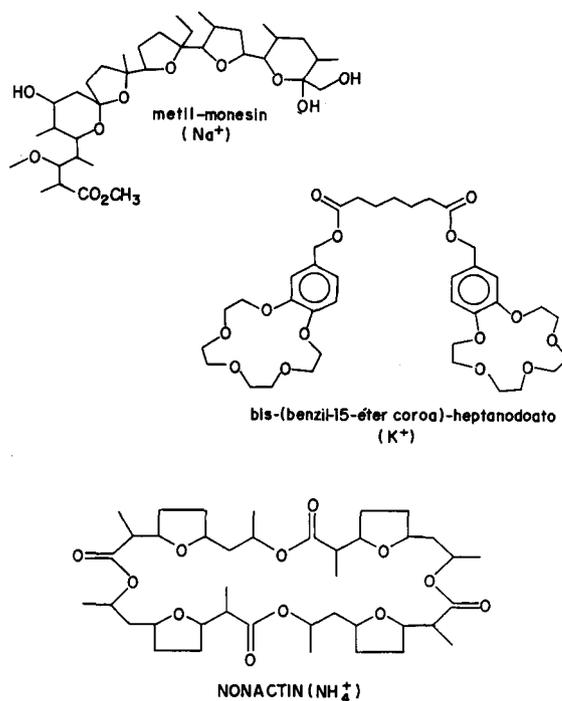


Figura 1. Estruturas de alguns ionóforos usados para fabricação de membranas líquidas de eletrodos íon-seletivos. Estes compostos macrocíclicos exibem complexação seletiva para íons particulares na presença de outros íons de mesma carga (geralmente cátions) como ilustrado acima, onde estão representados ionóforos seletivos com os respectivos íons⁴.

atividade fixa em contato com um eletrodo de referência apropriado; a diferença de potencial através da membrana se dá pelas variações da atividade iônica na solução externa. As diferentes composições da membrana de vidro (mistura de óxidos de silício, alumínio e metais alcalinos) refletem a

seletividade do sensor para diferentes íons, principalmente H^+ , Na^+ , Li^+ , K^+ ou NH_4^+ . A resposta do sensor a diferentes íons e a elevada resistência elétrica das membranas de vidro, embora muito delgadas (30 - 100 μm), são os principais fatores limitantes na determinação de amônio. Eletrodos sensores a amônia, devido à presença de uma membrana de permeação gasosa, apresentam alta seletividade às espécies iônicas presentes em solução, respondendo a variações na pressão parcial de amônia, porém o tempo de resposta é relativamente longo, sobretudo para soluções muito diluídas⁴.

Desta forma, desenvolveu-se um eletrodo tubular íon-seletivo a amônio sem solução de preenchimento, apresentando como vantagens, a facilidade de construção e manipulação, maior robustez, difusão mais regular dos íons amônio, maior velocidade de resposta e reprodutibilidade.

Além disso, o uso de sistema de análises por injeção em fluxo (FIA) com detecção potenciométrica, permite que se façam medidas em um tempo constante com condicionamento contínuo e limpeza (lavagem) do detector e rápida recalibração do sistema.

O eletrodo tubular foi construído segundo o processo descrito por Alonso-Chamarro e colaboradores¹⁰, aplicando-se a mistura sensora sobre um suporte cilíndrico tornado condutor com pó de grafite. Efetuaram-se ensaios de avaliação das características gerais de funcionamento do eletrodo em fluxo, tais como a influência do pH no potencial do eletrodo, a extensão da interferência analítica para alguns cátions mais comuns, o tempo de amostragem e de vida útil do eletrodo bem como um estudo do volume de injeção de amostra.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais Utilizados

Preparou-se uma solução do ionóforo nonactina (Fluka), seletivo a íons NH_4^+ , com o solvente plastificante bis-2-(etil-hexil)-adipato (Fluka) a 3,0% (p/v). Esta solução foi adicionada a uma solução de cloreto de polivinila (PVC), de massa molecular elevada (Fluka), em tetrahidrofurano (THF) a 5,0% (p/v), numa proporção de 30,0% da mistura sensora para 70,0% da solução contendo PVC.

A solução resultante foi gotejada diretamente dentro do suporte condutor do eletrodo tubular, constituído de uma mistura de Araldite® (resina epoxi) tornada condutora com pó de grafite (2,0 μm - Fluka), sem obstruí-lo. O eletrodo possui

6 mm de comprimento, 10 mm de diâmetro externo e 1,5 mm de diâmetro interno. Após a secagem do solvente, a membrana polimérica contendo o ionóforo fica aderida às paredes do eletrodo e o orifício do mesmo passa a ter um diâmetro interno menor, 0,8 - 1,0 mm (Fig. 2).

As medidas de diferença de potencial foram obtidas com um pH/Analisador de íons OP-271 ($\pm 0,1$ mV); como referência, usou-se um eletrodo de $Ag / AgCl // KCl$ 4 mol/L, sat. com $AgCl // Ca(NO_3)_2$ 1 mol/L de dupla junção OP-0820P, além de um sensor de temperatura OP-0003P e um eletrodo de vidro para medidas de pH, OP-0808P, todos da marca Radelkis. As soluções foram mantidas a 25,0 °C num banho de termostatização Colora tipo KT 10K ($\pm 0,1$ °C).

Todas as soluções foram preparadas com água destilada. As soluções de cloreto de amônio foram feitas em tampão TRIS-HCl 0,2 mol/L (pH = 6,7). As curvas de calibração foram obtidas para soluções variando de 10^{-5} a 10^{-1} mol/L; nos ensaios de interferência, usaram-se cloretos de alguns metais alcalinos e alcalino-terrosos em concentração fixa de 10^{-3} mol/L, juntamente com o íon primário.

O sistema FIA, empregado na avaliação do eletrodo, utiliza uma solução carregadora de amostra (tampão TRIS-HCL 0,2 mol/L - pH=6,7) que é aspirada por uma bomba peristáltica Ismatec modelo mp13GJ-14 até o eletrodo tubular; um injetor manual é usado para inserir as soluções de amônio no sistema, através da solução carregadora. Empregou-se também um registrador XY - ECB modelo RB-101.

Utilizando soluções de amônio a 10^{-2} e 10^{-4} mol/L, aqui sem o uso do tampão, variou-se o valor de pH de cada uma de 2,0 a 10,0 unidades, com o auxílio de soluções de HCl concentrado e NaOH 2,0 mol/L, verificando estes valores com o eletrodo de vidro. Para cada solução obtiveram-se os valores de potencial do eletrodo tubular, injetando-se as mesmas no sistema FIA (Fig. 3). As condições ajustadas do sistema foram: velocidade do papel no registrador = 10 cm/h, sensibilidade do registrador = 500 mV (10^{-1} mol/L) e 200 mV para as demais soluções, vazão = 0,9 mL/min (start speed = 4), tubos Tygon® e tubos de polietileno para demais conexões com 0,80 mm de diâmetro interno e volume de amostragem = 50 μL ($T = 25,0$ °C).

O eletrodo de referência foi colocado 10,0 cm após o eletrodo indicador de maneira a haver um contato elétrico pela solução contendo o analito. Para minimizar ruídos no sistema, empregou-se um sistema de aterragem, utilizando um tubo de aço inoxidável de 0,5 mm de diâmetro interno e 20 mm de comprimento, colocado antes do eletrodo indicador.

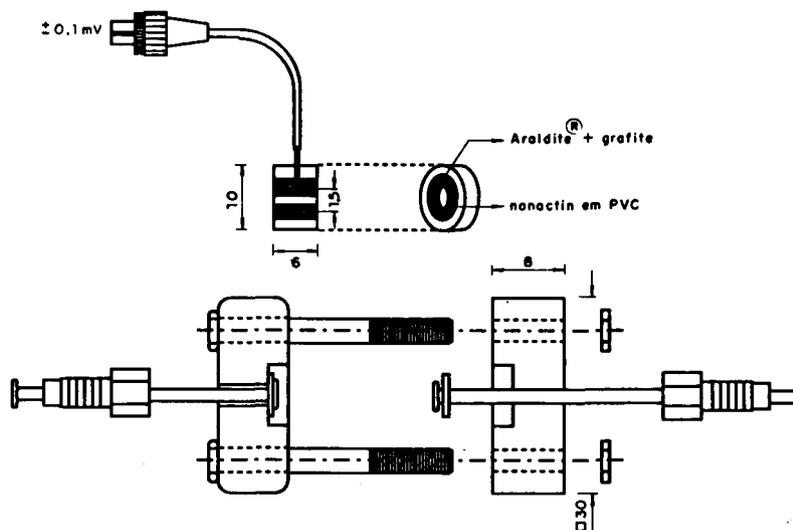


Figura 2. Esquema do eletrodo. O eletrodo é colocado entre dois blocos quadrados de acrílico de 30 mm de largura, com orifício central de 10 mm de diâmetro para o encaixe do mesmo. O conjunto é fixado com parafusos nas extremidades do bloco.

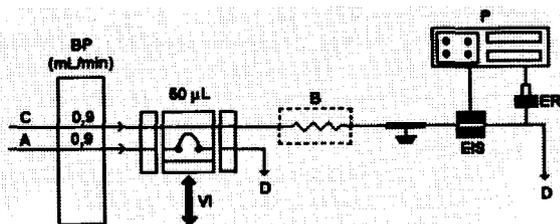


Figura 3. Esquema do sistema FIA montado para avaliação do eletrodo: C = solução carregadora - TRIS-HCl 0,2 mol/L (pH = 6,7); A = soluções de NH_4Cl ; BP = bomba peristáltica; VI = válvula de injeção manual (volume de amostra - 50 μL); B = bobina de termostatização (500 mm); EIS = eletrodo tubular íon-seletivo a NH_4^+ (nonactina); ER = eletrodo de referência - Ag/AgCl/KCl 4,0 mol/L sat. AgCl/Cu(NO_3)₂ 1,0 mol/L; P = potenciômetro ($\pm 0,1$ mV); D = descarte.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Parâmetros de calibração

Construiu-se uma curva típica de calibração para o eletrodo preparado, fazendo-se 7 injeções sucessivas para cada solução de NH_4^+ , verificando-se a repetibilidade dos valores de potencial registrados. O gráfico obtido apresentou boa correlação ($r = 0,9996$) com coeficiente angular de Nernst de 55,6 mV e limite nernstiano de $5,0 \times 10^{-5}$ mol/L (Fig. 4). A escolha do sistema tampão TRIS-HCl (tris-hidroximetil amino metano) para o ajuste de força iônica das soluções, foi feita levando-se em conta a interferência analítica observada para o eletrodo íon-seletivo; assim, evitou-se o uso de sistemas tampão envolvendo íons como por exemplo, tampão fosfato (KH_2PO_4 / NaOH), devido à interferência constatada pelos coeficientes de seletividade potenciométricos.

Influência do pH

Estudou-se a influência do pH nos valores de potencial do eletrodo, quando este era colocado em contato com soluções

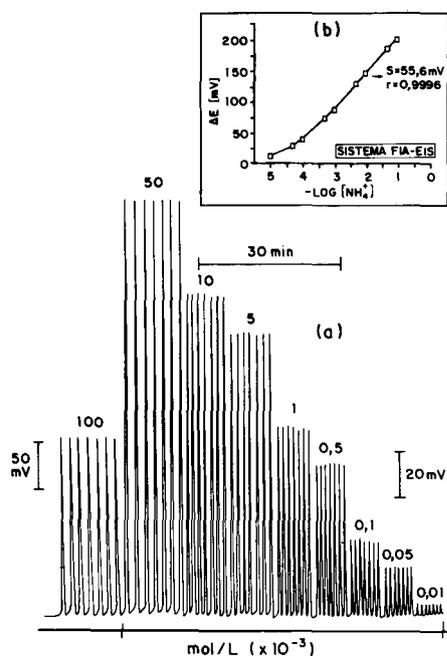


Figura 4. (a) Injeções obtidas com soluções de NH_4^+ em TRIS-HCl 0,2 mol/L (pH = 6,7); sensibilidade do registrador: 500 mV (10^1 mol/L) e 200 mV (demais soluções); velocidade do papel: 10 cm/h; volume de amostra: 50 μL ; T = 25,0 °C; vazão: 0,9 mL/min; 7 injeções manuais. (b) Curva de calibração para soluções de NH_4^+ , referente ao sistema por injeção em fluxo (FIA) / eletrodo tubular íon-seletivo (EIS).

de amônio, com concentrações de 10^{-2} e 10^{-4} mol/L. Utilizando-se respectivamente, soluções de HCl e NaOH, convenientemente preparadas para provocar alterações de pH, obtiveram-se os correspondentes diagramas de Reilley ($\Delta E \times \text{pH}$) para o eletrodo construído (Fig. 5).

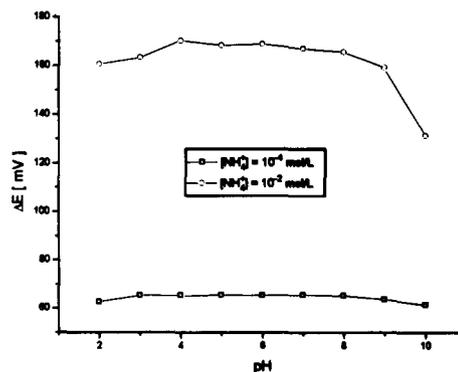
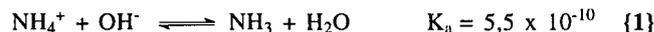


Figura 5. Diagramas de Reilley para o eletrodo tubular íon-seletivo a NH_4^+ .

Obteve-se uma faixa de valores de pH na qual o eletrodo não registrou variações significativas de potencial em função do pH (patamar operacional). O eletrodo mostrou resposta estável na faixa de pH entre: 3,0-8,0 ($[\text{NH}_4^+] = 10^{-4}$ mol/L) e 4,0-7,0 ($[\text{NH}_4^+] = 10^{-2}$ mol/L).

Esta faixa de trabalho em que o eletrodo pode atuar sem perder suas características, deve-se principalmente ao fato de se usar um trocador neutro como ionóforo, não tendo a constante de equilíbrio, entre o trocador e o íon de interesse, afetada pelo ambiente químico em que se encontra. Assim, o eletrodo resiste quimicamente ao meio, o que pode ser útil em alguns casos onde a amostra necessite sofrer um pré-tratamento antes de ser analisada.

Considerando-se a relação entre íons amônio e amônia em função do pH, nota-se que o sensor construído não se mostra estável em soluções mais alcalinas, devido à crescente conversão de amônio a amônia com o aumento do valor de pH, segundo o equilíbrio:



Pelos diagramas de Reilley obtidos, observa-se uma queda no potencial devido ao aumento do valor de pH, sobretudo para soluções mais concentradas de amônio, onde a variação no potencial do eletrodo é mais acentuada entre pH = 8,0 - 10,0.

Interferência Analítica - Seletividade Potenciométrica

Uma extensão da equação de Nernst é utilizada para definir o grau de seletividade de um eletrodo íon-seletivo para um íon primário, A, em relação a um interferente, B. O potencial da célula medido, em mV, é dado por:

$$E = E^* \pm \frac{RT}{Z_A F} \ln \left(\alpha_A + \sum_B K_{A,B}^{POT} \alpha_B^{Z_A/Z_B} \right), \text{ onde:} \quad \{2\}$$

Z_A e Z_B são as cargas dos íons A e B e a constante E^* , inclui o potencial padrão do eletrodo indicador, E^0 , o potencial do eletrodo de referência e o potencial de junção líquida, E_j . O termo $K_{A,B}^{POT}$ é chamado de coeficiente de seletividade potenciométrico. É uma medida da contribuição do íon interferente ao potencial medido, e quanto menor seu valor, mais seletivo será o eletrodo para o íon primário.

O valor do coeficiente de seletividade não é constante para todas as atividades de A e de B, dependendo, portanto, do método usado para sua determinação.

No método das soluções misturadas¹¹, usado neste trabalho, pode-se manter a atividade do interferente fixa, usualmente 10^{-2} ou 10^{-3} mol/L, e variar a atividade do íon primário, ou manter a atividade deste fixa e variar a atividade do interferente, por exemplo, quando o interferente é o íon H^+ ; neste caso, obtêm-se curvas para exibir a faixa de trabalho do eletrodo em amostras de diferentes pH's (Diagramas de Reilley).

Foram determinados os coeficientes de seletividade potenciométricos, $K_{NH_4^+, M^{Z+}}^{POT}$, para alguns cátions interferentes mais comuns pelo método das soluções misturadas.

Neste método, mantém-se a concentração do íon interferente fixa em 10^{-3} mol/L, variando-se a concentração do íon principal, amônio, obtendo-se devidamente as diferenças de potencial relacionadas. Os valores de coeficientes de seletividade foram obtidos por extrapolação das curvas de calibração típicas para cada interferente (Fig. 6).

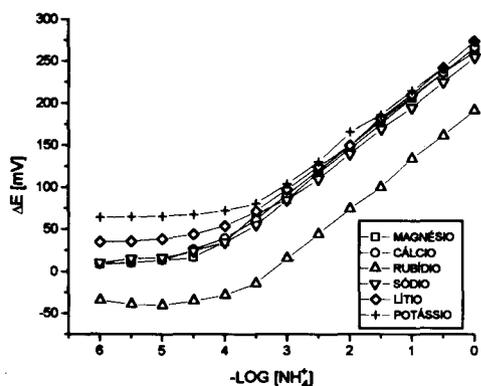


Figura 6. Curvas típicas obtidas para o cálculo do coeficiente de seletividade potenciométrico. Tampão TRIS-HCl 0,2 mol/L (pH = 6,7). Concentração dos íons interferentes = 10^{-3} mol/L.

Os dados mostram uma grande interferência de íons K^+ sobre o eletrodo preparado (Tab. 1). Isto é explicado pelo fato de tanto K^+ como NH_4^+ possuírem raios iônicos semelhantes, permitindo que sejam complexados pelo ionóforo competitivamente.

Os raios iônicos do NH_4^+ e do K^+ são respectivamente, 1,43 Å e 1,33 Å. Desta forma, o eletrodo acaba respondendo tanto para o íon primário quanto para a espécie interferente; à medida em que se aumenta a atividade de NH_4^+ comparativamente à concentração fixa de K^+ , o eletrodo mostra-se mais seletivo ao íon de interesse.

Os demais íons já apresentaram menor nível de interferência comparados com K^+ .

Pela tabela 1, observa-se que realmente íons potássio são a principal interferência nas referências citadas, embora o uso de diferentes métodos para avaliação dos coeficientes de seletividade, deva ser analisado com particular atenção. Os valores

forneem apenas uma idéia do grau de seletividade frente a interferentes, para cada tipo de eletrodo e metodologia usados. Os dados mostram seletividades melhores para o método das soluções separadas por não considerar as interações que ocorrem quando íons interferentes estão na mesma solução contendo o analito.

O coeficiente de seletividade não é uma constante física, mas um valor que se altera de acordo com as condições experimentais empregadas. As diferentes composições de membranas poliméricas usadas em eletrodos íon-seletivos, as variações de grupos funcionais de solventes plastificantes e constantes dielétricas, bem como diferenças nas atividades do analito e interferentes, influenciam em muito no valor do coeficiente de seletividade. Assim, em alguns casos, as seletividades calculadas neste trabalho foram mais acentuadas principalmente para os íons cálcio e magnésio, o que não inviabiliza a determinação de amônio. Leva-se em conta ainda que a concentração dos interferentes usados foi relativamente alta (10^{-3} mol/L), em relação à faixa de concentração para amônio na qual o eletrodo exibiu resposta nernstiana.

As interferências para o sensor construído devido a outras aminas (glicina, metil-amina, dietil-amina e outras) apresentam pouca ou nenhuma resposta ao eletrodo, em comparação com o íon amônio, já que o ionóforo utilizado tem interações baseadas no tamanho e carga do analito de interesse.

O sistema potenciométrico desenvolvido em fluxo, poderia permitir a eliminação de interferências através do uso de uma cela de permeação a amônia; assim, íons amônio seriam monitorados sem a presença de outras espécies na solução. Além disto, o eletrodo tubular mostrou-se compacto, com elevada sensibilidade ao analito.

Tempo de amostragem e vida útil do eletrodo tubular

Através dos resultados obtidos, observa-se que o eletrodo tubular apresenta um tempo de amostragem, entre uma injeção e outra de solução do analito, sempre inferior a 10 segundos nas condições experimentais estabelecidas. A linha base do sistema retorna à origem com repetibilidade dos potenciais gerados por nova adição de solução de amônio, indicando a grande estabilidade do sensor potenciométrico desenvolvido. O sistema tampão usado permite um controle da força iônica da solução (0,2 mol/L) sem a presença de cátions interferentes estabilizando o sistema potenciométrico.

O tempo de vida útil do eletrodo íon-seletivo apresenta atividade mesmo após 6 meses de sua construção, com a obtenção de curvas de calibração mensais (Tab. 2). Neste período não registraram-se diferenças significativas em seu desempenho analítico. Nota-se que o eletrodo é bastante estável química (sensor) e mecanicamente (corpo do eletrodo), devido em parte à simplicidade do mesmo, que não requer solução de preenchimento sendo robusto e de fácil manipulação.

Tabela 1. Coeficientes de seletividade potenciométricos para eletrodos baseados em macrotetrólito nonactin, utilizando o Método das Soluções Misturadas* e o Método das Soluções Separadas**.

REFERÊNCIA	$K_{NH_4^+, M^{Z+}}^{POT}$ (M^{Z+} = INTERFERENTE)					
	K^+	Rb^+	Li^+	Na^+	Mg^{++}	Ca^{++}
ESTE TRABALHO*	$1,3 \times 10^{-1}$	$7,9 \times 10^{-2}$	$7,4 \times 10^{-2}$	$3,7 \times 10^{-2}$	$3,4 \times 10^{-2}$	$2,7 \times 10^{-2}$
GHAURI * ⁵	$1,2 \times 10^{-1}$	-	$8,4 \times 10^{-3}$	$7,8 \times 10^{-3}$	$6,0 \times 10^{-4}$	$4,8 \times 10^{-4}$
SIMON * ⁶	$2,5 \times 10^{-1}$	$1,3 \times 10^{-1}$	$2,5 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-2}$	$4,0 \times 10^{-5}$	$6,3 \times 10^{-5}$
De BEER ** ⁷	$1,2 \times 10^{-1}$	-	-	$2,0 \times 10^{-3}$	-	$1,7 \times 10^{-4}$
MORF ** ¹²	$1,3 \times 10^{-1}$	$4,3 \times 10^{-2}$	$4,4 \times 10^{-5}$	$1,2 \times 10^{-3}$	$7,9 \times 10^{-6}$	$7,5 \times 10^{-6}$

Tabela 2. Avaliação do tempo de vida do sensor potenciométrico.

TEMPO (DIAS)	COEFICIENTE ANGULAR DE NERNST, [mV]	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO, <i>r</i>	DESVIO PADRÃO DA RETA, <i>SD</i>
0	55,5	0,9996	0,0831
30	55,8	0,9998	0,0797
60	55,8	0,9992	0,0759
90	56,2	0,9997	0,0852
120	55,1	0,9992	0,0805
150	55,2	0,9995	0,0934

média (\pm d.p.r.) = (55,6 \pm 0,4) mV

d.p.r. - estimativa do desvio padrão da média baseada em 6 medidas.

A membrana sensora é mantida acondicionada em solução de NH_4Cl 0,1 mol/L quando fora de uso, para evitar perda de atividade devido ao ressecamento da mesma.

Estudo do volume de injeção do analito

Injetando-se manualmente volumes de 10, 25, 50, 100 e 200 μL de soluções 10^{-3} mol/L de cloreto de amônio, observa-se um aumento no sinal potenciométrico. Entretanto, volumes pequenos podem causar erros na medida, principalmente para concentrações mais baixas de analito. Elevadas concentrações aumentam o tempo de amostragem do sistema, provavelmente por uma saturação do eletrodo tubular. Desta forma escolheu-se utilizar um volume de 50 μL para a avaliação do sensor potenciométrico desenvolvido (Fig. 7).

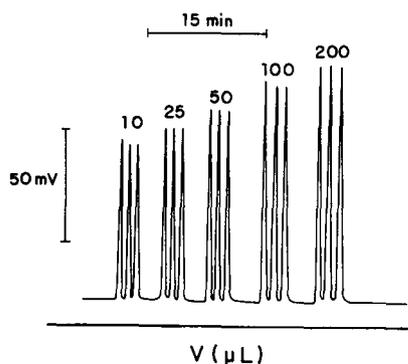


Figura 7. Estudo do volume de injeção do analito; soluções de NH_4^+ 10^{-3} mol/L em TRIS-HCl 0,2 mol/L ($\text{pH} = 6,7$); sensibilidade do registrador: 200 mV; velocidade do papel: 10 cm/h; $T = 25,0^\circ\text{C}$; vazão: 0,9 mL/min; 3 injeções manuais.

CONCLUSÕES

O trabalho realizado permite concluir que é possível utilizar-se o eletrodo tubular em sistemas FIA com elevada repetibilidade. As vantagens do sistema em fluxo aliadas à detecção potenciométrica, permitem a análise de amostras coloridas ou

turvas, sem um tratamento prévio da mesma, o que poderia causar contaminação inviabilizando a análise, além do volume reduzido de injeção de amostra, comum de métodos em fluxo.

Desde que acondicionado corretamente, o eletrodo tubular pode ter uma vida útil longa sem a degradação física ou química da membrana sensora, o que é muito interessante em análises laboratoriais em larga escala.

AGRADECIMENTOS

A parte portuguesa agradece à JNICT o suporte financeiro concedido através do projeto PEAM/CTAI/268-93 e os autores brasileiros agradecem à CAPES.

REFERÊNCIAS

- Simon, W.; *Sci. Ind.* **1976**, *8*, 1.
- Morf, W. E.; *Studies in Analytical Chemistry - 2*, Elsevier Pub. Co.: N. York, 1981; cap. XII.
- Allinger, N. L.; Cava, M. P.; De Jongh, D. C.; Johnson, C. R.; Lebel, N.; Steven, C. L.; *Química Orgânica*; Ed. Guanabara Dois S. A., R. Janeiro, 1978; 2ª Ed., p 411.
- Pranitis, D. M.; Diaz, M. T.; Meyerhoff, M. E.; *Crit. Rev. Anal. Chem.* **1992**, *23*, 163.
- Ghuri, M. S.; Thomas, J. D. R.; *Analyst* **1994**, *119*, 2323.
- Simon, W.; Bühner, T.; Peter, H.; *Europ. J. Physiol.* **1988**, *412*, 359.
- De Beer, D.; Van den Heuvel, J. C.; *Talanta* **1988**, *35*, 728.
- Fabregas, E. M.; Alegret, S.; *J. Chem. Educ.* **1994**, *71*, A67.
- Neto, G. O.; Godinho, O. E. S.; Aleixo, L. M.; Silva, V. L.; *Electroanalysis* **1994**, *6*, 593.
- Alonso-Chamarro, J. A.; Bartroli, J.; Jun, S.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *Analyst* **1993**, *118*, 1527.
- Umezawa, Y.; Umezawa, K.; Sato, H.; *Pure Appl. Chem.* **1995**, *67*, 507.
- Morf, W. E.; Thanei, W. U.; Lienemann, P.; Stefanac, Z.; Mostert, J.; Dörig, R.; Dohner, R. E.; Simon, W.; *Mikrochim. Acta* **1983**, *III*, 135.