UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

***Desenvolvimento e Aplicação de Eletrodos Compósitos à
Base de Grafite e Araldite[®]***

Carolina Maria Fioramonti Calixto

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos da Universidade
de São Paulo para a obtenção do Título
de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro

São Carlos

2008

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, sob exclusiva responsabilidade do autor.

São Carlos, 11/09/2008.

Carolina Maria Fioramonti Calixto
Carolina Maria Fioramonti Calixto

Dedico este trabalho,

*Aos meus pais, João e Rosana, pelo apoio
e confiança.*

Aos meus irmãos, Giovana e João Gabriel.

*Aos meus avós, Vilma e Israel, e à tia
Railda.*

Ao Fábio, pelo amor, paciência e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus.

Em especial, ao Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro pela oportunidade, apoio, confiança e orientação para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Gilberto Chierice pela disponibilidade do laboratório e pela receptividade.

À Dr^a. Priscila Cervini, pela amizade e pela ajuda indispensável em grande parte do trabalho.

A todos os amigos do LATEQS e GQATP: Sidney, Fernando, Lucinéia, Ivana, Rita, Milena, Isabel, Felipe, Royal, Toni, Luiz, Rafael, Andressa, Tácia, Glimaldo, Juliana, Amanda, Sandra, Graziela e Toninho.

Aos meus sogros, Luiza e Paulo.

À CAPES, pela bolsa concedida.

A todos que, de algum modo, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Resumo	VIII
Abstract	X
LISTA DE FIGURAS	XI
LISTA DE TABELAS	XIV
Glossário de Símbolos e Abreviaturas	XV
1. Introdução	2
1.1 Apresentação	2
1.2 Métodos de preparação de compósitos	4
1.3 Resinas tipo epóxico	5
1.4 Compostos estudados – analitos	8
1.4.1 Atenolol (ATN)	8
1.4.2 Dopamina (DA)	10
1.5 Extração em fase sólida (SPE)	14
1.6 Determinação de atenolol em amostras ambientais	16
2. Objetivos	21
3. Parte Experimental	23
3.1 Reagentes e Soluções	23
3.1.1 Soluções Tampão	23
3.1.2 Solução de Ferricianeto de Potássio	24
3.1.3 Solução de Ácido Sulfúrico	24
3.1.4 Solução de Hidróxido de Sódio	24
3.1.5 Solução de Atenolol	24
3.1.6 Solução de Dopamina	25

3.1.7 Determinação de Atenolol em Formulações Farmacêuticas	25
3.1.8 Determinação de Dopamina em Formulação Farmacêutica	25
3.2 Equipamentos	26
3.2.1 Medidas Voltamétricas	26
3.2.2 Eletrodos	26
3.2.3 Célula Voltamétrica.....	26
3.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	27
3.2.5 Análise Térmica	27
3.2.6 Cromatografia	27
3.3 Procedimentos Experimentais	28
3.3.1 Confeção dos Eletrodos.....	28
3.3.2 Tratamento Mecânico	29
3.3.3 Resistência Ôhmica.....	29
3.3.4 Determinação da Área Efetiva dos Eletrodos.....	30
3.3.5 Estudos Voltamétricos para Ferricianeto	30
3.3.6 Estudo da Velocidade de Varredura de Potencial.....	30
3.3.7 Curva Analítica para Ferricianeto.....	31
3.3.8 Estudo do Intervalo Útil de Potencial.....	31
3.3.9 Análise Térmica (TG)	31
3.3.10 Determinação de Dopamina em Formulações Farmacêuticas Utilizando Técnicas Voltamétricas.....	32
3.3.10.1 Voltametria Cíclica	32
3.3.10.2 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	32
3.3.10.3 Curvas Analíticas	33
3.3.10.4 Curvas de Adição de Padrão	33

3.3.10.5 Método Comparativo.....	33
3.3.11 Determinação de Atenolol Utilizando Técnicas Voltamétricas.....	34
3.3.11.1 Voltametria Cíclica	34
3.3.11.2 Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais..	34
3.3.11.3 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	35
3.3.11.4 Curvas Analíticas	35
3.3.11.5 Curvas de Adição de Padrão	35
3.3.11.6 Método Comparativo.....	36
3.3.12 Determinação de Atenolol em Águas Ambientais	36
4. Resultados e Discussão	39
4.1 Caracterização e Avaliação dos Compósitos como Material Eletrodico..	39
4.1.1 Efeito da Composição do Eletrodo no Comportamento Voltamétrico.	39
4.1.2 Caracterização Física dos Compósitos	41
4.1.3 Determinação da Área Efetiva dos Eletrodos Compósitos por Cronocoulometria.....	42
4.1.4 Análise Termogravimétrica.....	44
4.1.5 Micrografias Eletrônicas de Varredura	48
4.1.6 Efeito da Velocidade de Varredura.....	50
4.1.7 Curva Analítica para Ferricianeto.....	52
4.1.8 Intervalo Útil de Potenciais em Diferentes Meios Eletrolíticos.....	54
4.2 Avaliação das Potencialidades Analíticas do Compósito Grafite/Araldite®.	57
4.2.1 Determinação de Dopamina Utilizando Técnicas Voltamétricas.....	57
4.2.1.1 Voltametria Cíclica	57

4.2.1.2 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	61
4.2.1.3 Curvas Analíticas para Dopamina.....	63
4.2.1.4 Curvas de Adição de Padrão	65
4.2.2 Determinação de Atenolol Utilizando Técnicas Voltamétricas.....	67
4.2.2.1 Voltametria Cíclica	67
4.2.2.2 Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais....	70
4.2.2.3 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	71
4.2.2.4 Curvas Analíticas para Atenolol	72
4.2.2.5 Curvas de Adição de Padrão	74
4.2.3 Determinação de Atenolol em Águas Naturais	77
4.3 Resumo dos Resultados Obtidos com os Eletrodos Compósito Grafite/Araldite® 70% (grafite, m/m) e Carbono Vítreo Utilizando DPV.....	81
5. Conclusões	83
6. Referências Bibliográficas.....	85

Resumo

A confecção e avaliação do desempenho voltamétrico de eletrodos compósitos à base de resina epóxi comercial Araldite® utilizada como fase aglutinante e pó de grafite como fase condutora, na confecção dos eletrodos compósitos foi realizada. A resina foi preparada seguindo instruções do fabricante e adicionada a uma quantidade de pó de grafite para obter eletrodos contendo 50, 60 e 70% de grafite (*m/m*). Tais compósitos foram caracterizados fisicamente quanto à reprodutibilidade da resposta voltamétrica, resistência ôhmica e área efetiva em função da composição grafite/Araldite®, sendo 70% (grafite, *m/m*) a que ofereceu melhores resultados, em termos de repetibilidade de resposta e corrente de pico. O teor real de grafite foi determinado por termogravimetria.

Os intervalos úteis de potenciais para uso dos eletrodos compósitos também foram avaliados em diferentes eletrólitos. Finalmente, os eletrodos compósitos foram avaliados na determinação de atenolol, uma droga antihipertensiva, e dopamina, um neurotransmissor central do grupo das catecolaminas. Em todos os casos, o eletrodo compósito foi mais sensível na determinação dos dois analitos, quando comparado ao eletrodo de carbono vítreo.

A dopamina foi determinada por voltametria de pulso diferencial (DPV). O limite de detecção foi de $0,61 \mu\text{mol L}^{-1}$ e a resposta linear foi observada no intervalo de 4,0 a $95 \mu\text{mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos na determinação da dopamina em formulação farmacêutica concordaram com os resultados obtidos com o método comparativo cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), com 95% de confiança.

O atenolol também foi determinado por DPV, com limite de detecção da ordem de $2,23 \mu\text{mol L}^{-1}$, com resposta linear entre 4,45 e $84,7 \mu\text{mol L}^{-1}$. A determinação de atenolol, em formulações farmacêuticas, apresentou resultados que concordam com o método comparativo HPLC, com 95% de confiança. O atenolol também foi determinado em amostras de águas naturais, com recuperações entre 92 e 115%.

Abstract

The development and evaluation of the voltammetric behavior of composite electrodes prepared with graphite as a conducting phase and commercial epoxy resin Araldite® as an insulating phase was performed. The resin was prepared according to instructions of the manufacturer and mixed with a suitable amount of graphite in order to prepare composites with 50, 60 and 70% of graphite (w/w). The composites were characterized in relation to their reproducibility of the cyclic voltammetric response, ohmic resistance, and repeatability of the effective area as a function of the Araldite®/graphite ratio. The best repeatability of area as well as the higher peak currents was obtained with the 70% (graphite, w/w) composition using $K_3[Fe(CN)_6]$ in KCl medium.

The useful potential windows were also evaluated in different supporting electrolytes and pH ranges. Finally the composite electrodes were applied in the determination of the anti-hypertensive atenolol and the catecholamine neurotransmitter dopamine. The composite electrodes were more sensitive to both analytes when compared to the glassy carbon.

Dopamine was determined using differential pulse voltammetry (DPV) with linear dynamic range between 4.0 and 95 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and limit of detection 0.61 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The results agreed with those from high performance liquid chromatography (HPLC) within a 95% confidence interval.

Atenolol was also determined by DPV with a 4.45 – 84.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ linear range and 2.23 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The determination of atenolol in pharmaceutical formulations agreed with the HPLC method in a 95 % confidence interval. When applied to natural water samples spiked with the analyte, recoveries of 92 to 115% were found.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural plana do atenolol.....	8
Figura 2. Fórmula estrutural plana da dopamina.....	10
Figura 3. Principais etapas empregadas em SPE ⁴⁰	14
Figura 4. Representação do esquema de prensagem utilizado na confecção dos eletrodos compósitos grafite-Araldite [®] (grafite, <i>m/m</i>).	28
Figura 5. Esquema do eletrodo compósito grafite-Araldite [®]	29
Figura 6. Voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos compósitos 50-70% (grafite, <i>m/m</i>) e para o carbono vítreo em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 5,0 mmol L ⁻¹ em KCl 0,5 mol L ⁻¹ , $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$, pH = 3,0. .	39
Figura 7. Curvas termogravimétricas obtidas para os compósitos grafite/Araldite [®] , nas diferentes proporções de grafite, para a resina e para a grafite puras.	46
Figura 8. Micrografias das superfícies dos eletrodos compósitos antes da abrasão: (A) 50, (C) 60 e (E) 70% (grafite, <i>m/m</i>), e após abrasão com lixa 600 polimento com γ -alumina 1 μm e tratamento em ultra-som por 5 minutos em isopropanol e água: (B) 50, (D) 60 e (F) 70% (grafite, <i>m/m</i>). Magnificação 1000 X.	49
Figura 9. Voltamogramas cíclicos obtidos em velocidades de varredura entre 5 e 200 mV s^{-1} , utilizando eletrodo compósito 70% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de $K_3[Fe(CN)_6]$ em KCl 0,5 mol L ⁻¹ , pH = 3,0.	50
Figura 10. Dependência da velocidade de varredura do pico anódico (A) e catódico (B) com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potenciais para o eletrodo de 70% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ $K_3[Fe(CN)_6]$ em KCl 0,5 mol L ⁻¹ , pH = 3,0.....	52
Figura 11. Curvas analíticas obtidas para o eletrodo compósito 70% (grafite, <i>m/m</i>) em solução de KCl 0,5 mol L ⁻¹ a 25 mV s^{-1} , contendo diferentes concentrações de $K_3[Fe(CN)_6]$, em voltametria cíclica, pH = 3,0.	53

- Figura 12.** Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) (-) e carbono vítreo (---) em: (a) H_2SO_4 1,0 mol L^{-1} , (b) solução tampão acetato 0,1 mol L^{-1} a pH 4,5, (c) solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} a pH 7, (d) solução tampão amônio 0,1 mol L^{-1} a pH 11 e (e) solução básica de hidróxido de sódio 1,0 mol L^{-1} , com $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ 56
- Figura 13.** Voltamogramas cíclicos obtidos para o compósito 70% (grafite, *m/m*) na presença (-) e na ausência (---) de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de DA em tampão fosfato pH 6,0, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ 57
- Figura 14.** Voltamogramas cíclicos obtidos para o compósito 70% (grafite, *m/m*) em solução de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de DA em tampão fosfato, em diferentes valores de pH, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ 59
- Figura 15.** Relação entre potencial de pico em voltametria cíclica e pH, em solução tampão fosfato, em diferentes valores de pH, contendo $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de DA. 61
- Figura 16.** Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*), usando solução $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de DA em tampão fosfato pH 6,0. 62
- Figura 17.** Dependência dos voltamogramas DPV com a concentração de DA de 4,0 a $95 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 6,0, $a = 50\text{mV}$ e $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ utilizando o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*). $C_{\text{DA}} = 4,0, 6,0, 8,0, 10, 20, 40, 60, 80$ e $95 \mu\text{mol L}^{-1}$ 63
- Figura 18.** Curvas analíticas obtidas para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) e para o carbono vítreo, em solução tampão fosfato pH 6,0, contendo diferentes concentrações de DA. 65
- Figura 19.** Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) utilizando solução de ATN $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão fosfato, com diferentes valores de pH, com $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$... 69
- Figura 20.** Voltamogramas cíclicos em velocidades de varredura entre $2,5$ e 100 mV s^{-1} , utilizando o compósito 70% (grafite, *m/m*) em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de ATN em tampão fosfato pH 10. 70
- Figura 21** - Dependência da velocidade de varredura dos picos anódicos com a raiz quadrada da velocidade de varredura para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de ATN em tampão fosfato pH 10. 71

Figura 22. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*), usando solução de ATN $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 10. 72

Figura 23. Dependência dos voltamogramas DPV com a concentração de ATN de 1,9 a $84,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 10, $a = 50 \text{ mV}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ utilizando eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*). No detalhe a curva analítica descrita no texto. 73

Figura 24. Demonstração do uso do método gráfico na estimativa do valor da corrente de pico do voltamograma de pulso diferencial obtido para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) para a determinação de ATN, em formulações farmacêuticas: (a) branco, tampão fosfato pH 10, sem ATN, (b) curva estimada para a linha base na presença da formulação farmacêutica contendo ATN e (c) resposta voltamétrica na presença do ATN. 75

Figura 25. Voltamogramas em pulso diferencial obtidos para o eletrodo 70% (grafite, *m/m*) em tampão fosfato pH 10, $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, na determinação de ATN em água natural. No detalhe, a curva de adição de padrão. 78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. As propriedades físico-químicas da resina epóxi e do endurecedor ¹⁷	7
Tabela 2. Valores das correntes anódica e catódica e os respectivos desvios padrão obtidos para os compósitos grafite / Araldite® em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 5,0 mmol L ⁻¹ em KCl 0,5 mol L ⁻¹ , em voltametria cíclica, $v = 25$ mV s ⁻¹ , pH = 3,0	41
Tabela 3. Medidas da resistência ôhmica para os eletrodos compósitos nas diferentes composições.	41
Tabela 4. Valores da área efetiva e corrente de pico anódico dos eletrodos compósitos e do carbono vítreo, determinadas utilizando-se cronocoulometria	43
Tabela 5. Perdas de massa, intervalos de temperatura e teores de grafite determinados para os compósitos grafite/Araldite®, usando termogravimetria.....	47
Tabela 6. Resultados do estudo dos intervalos úteis de potenciais, em diferentes eletrólitos para o eletrodo 70% (grafite, m/m)	55
Tabela 7. Resultados para corrente e potencial de pico para o compósito 70% (grafite, m/m) utilizando solução de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ de DA em tampão fosfato, em diferentes valores de pH, $v = 25$ mV s ⁻¹ ...	60
Tabela 8. Determinação de DA no medicamento Inotropisa usando DPV e o método cromatográfico HPLC.....	66
Tabela 9. Determinação de ATN em formulações farmacêuticas usando o eletrodo compósito 70% (grafite, m/m) em DPV e o método cromatográfico HPLC	76
Tabela 10. Resultados da determinação de ATN em água natural usando o eletrodo compósito 70% (grafite, m/m), após SPE, considerando um valor original de 5,00 μ mol L ⁻¹ na amostra.....	78
Tabela 11. Resultados da determinação de ATN em água Milli-Q usando o eletrodo compósito 70% (grafite, m/m), após SPE, considerando um valor original de 5,00 μ mol L ⁻¹ na amostra	79
Tabela 12. Resultados obtidos utilizando diferentes eletrodos compósitos e carbono vítreo	81

Glossário de Símbolos e Abreviaturas

a – Amplitude

ATN – Atenolol

b – Coeficiente angular da reta

C – Concentração

DA – Dopamina

DPV – Voltametria de Pulso Diferencial

E – Potencial

E_{pa} – Potencial de Pico Anódico

E_{pc} – Potencial de Pico Catódico

ECS – Eletrodo de Calomelano Saturado

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

I – Corrente

I_{pa} – Corrente de Pico Anódico

I_{pc} – Corrente de Pico Catódico

LOD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

MEV – Micrografia Eletrônica de Varredura

R – Coeficiente de Correlação

SPE – Extração em Fase Sólida

S_d – Desvio do Branco

TG – Termogravimetria

ΔE_p – Diferença de Potencial de Pico

Φ – Diâmetro

v - Velocidade de Varredura

® - Marca Registrada

Introdução

1. Introdução

1.1 Apresentação

Eletrodos sólidos foram os primeiros a serem utilizados em eletroquímica^{1,2}. Com o advento da polarografia, proposta por Heyrovski na década de 20, popularizou-se o eletrodo gotejante de mercúrio, inicialmente proposto por Kucera em 1903, apresentando as vantagens de renovação constante da superfície com elevada repetibilidade de área³.

Entretanto, o mercúrio apresenta uma limitação severa para uso em regiões positivas de potencial, devido à sua oxidação (Equação 1), cujo potencial depende do meio.

Além disto, deve-se considerar a toxicidade do mercúrio, que torna seu uso limitado nos dias de hoje, devido à crescente preocupação com a contaminação ambiental.

Os eletrodos metálicos apresentam como principal desvantagem a formação de óxidos na sua superfície, além da dificuldade de reprodutibilidade de área superficial entre polimentos sucessivos, e também do alto custo de preparação quando se usam metais nobres como ouro e platina².

Desta forma, os eletrodos à base de carbono voltam a ser uma opção interessante, com relativo baixo custo e possibilidade de preparação usando as diversas formas em que este material se apresenta como carbono vítreo, grafite pirolítico, pó de grafite, fibras de carbono, etc^{2,4}.

Um das formas de preparação de eletrodos de grafite são os eletrodos compósitos que, segundo Tallman e Petersen, são constituídos de pelo menos uma fase condutora aglutinada por pelo menos uma fase isolante, resultando em um material com propriedades diferentes dos originais. A fase condutora é a grafite e a fase isolante pode ser constituída de óleos minerais, no caso da pasta de carbono ou ceras e polímeros, no caso de compósitos sólidos⁵.

Discussões amplas sobre a preparação, uso e propriedades deste tipo de eletrodo são disponíveis na literatura, com destaque para os trabalhos de Alegret e colaboradores⁶⁻⁹.

Há uma série de vantagens no uso deste tipo de material de eletrodo, tais como¹⁰:

- Melhoria da relação sinal/ruído, com conseqüente ganho nos limites de detecção,
- Facilidade de preparação e regeneração da superfície,
- Possibilidade de incorporação de modificadores no corpo do eletrodo e não apenas na superfície,
- Preparação de um eletrodo com relativa resistência mecânica e a solventes não aquosos,
- Relativo baixo custo de confecção,
- Durabilidade e longevidade.

1.2 Métodos de preparação de compósitos

Os principais métodos de preparação empregados na confecção de eletrodos compósitos são resumidos a seguir:

- ◆ Termomoldagem de uma mistura homogênea dos sólidos envolvidos. Mascini *et al*¹¹. prepararam um eletrodo de grafite e polímero termoplástico (polietileno), cujo comportamento foi analisado por voltametria.
- ◆ Compressão mecânica de uma mistura de pós, para obtenção de pastilhas. Klatt *et al*¹². desenvolveram um eletrodo de grafite-Teflon para caracterização voltamétrica. Os autores propuseram que com este procedimento, o eletrodo conservaria sua capacidade de moldagem e eliminaria problemas de dissolução podendo ser utilizado em solventes não aquosos.
- ◆ Polimerização “in situ” do monômero devidamente misturado com a grafite, usando um outro polímero orgânico como suporte. Swofford e Carman¹³ descreveram este procedimento utilizando um eletrodo de grafite-epóxi para aplicações voltamétricas.
- ◆ Liquefação da mistura, homogeneização dos componentes do sistema e resfriamento da mistura. Wang e Naser¹⁴ fabricaram um eletrodo compósito quimicamente modificado de grafite-parafina. Esse método resulta numa dispersão homogênea do modificador e numa superfície mecanicamente rígida. A compatibilidade de diferentes modificadores com o eletrodo foi acompanhada por voltametria cíclica (VC).

- ♦ Dissolução do polímero em um solvente orgânico volátil adequado, dispersando-se a grafite na solução e evaporando-se o solvente. Stulík *et al.*¹⁵ desenvolveram eletrodos de pasta de carbono por este método. Os eletrodos foram utilizados como detectores voltamétricos em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

1.3 Resinas tipo epóxido

As resinas tipo epóxido são polímeros constituídos por monômeros ou pré-polímeros que reagem com agentes de cura produzindo plásticos termoresistentes e de alta eficiência. Os epóxidos tiveram uma grande aceitação nas aplicações elétricas, estruturais e, também, no uso como camadas de proteção, devido à combinação de suas propriedades, tais como dureza, adesão, resistência química e propriedades elétricas superiores.

Essas resinas são caracterizadas pela presença de um éter cíclico de três membros chamado de grupo epóxido, ou oxirano. As resinas epóxido comerciais mais comuns são os éteres derivados do bisfenol A e da epiclórídina. A reação representada na Equação 2 é um exemplo da preparação dessas resinas¹⁶:

A performance das resinas quanto à dureza, rigidez e eficiência em elevadas temperaturas é representada pela presença do bisfenol A. Os entrecruzamentos dos éteres conferem resistência química, e os grupos epóxido e hidroxila são responsáveis pelas propriedades adesivas ou pela reatividade com a grande variedade de agentes químicos de cura.

Em relação ao bisfenol, outros polióis, tais como glicóis alifáticos, são também usados na produção de resinas especiais.

Convencionalmente, durante a cura, as resinas epóxido transformam-se de líquidos de baixa viscosidade em resinas sólidas. Sendo que os agentes de cura mais utilizados, para converter epóxidos em termoplásticos, são os anidridos, as aminas, as poliaminas, os ácidos de Lewis, entre outros.

A resina utilizada na preparação do compósito neste trabalho foi a Araldite Professional[®] (Brascola LTDA.), um adesivo comercial do tipo epóxido, usada como fase aglutinante na confecção dos eletrodos compósitos.

A Araldite[®] é composta pela resina epóxi formulada, que apresenta um aspecto líquido transparente-acinzentado e pelo endurecedor com um aspecto líquido esverdeado. A mistura desses dois componentes é feita pela relação 1:1, sendo possível manuseá-la durante aproximadamente 90 minutos e o tempo de cura total da mistura é de 24 horas. Isento de solventes, cura a temperatura ambiente ou a quente. Após curado, este adesivo resiste a uma temperatura de 80 °C.

Este adesivo bicomponente é utilizado em grandes colagens e reparos, e também é indicado para colar pequenas superfícies de materiais lisos, porosos ou irregulares como azulejos, madeira, vidro, concreto, borracha vulcanizada, fibras naturais, pedras, a maioria dos plásticos rígidos, metais e outros materiais.

As propriedades físico-químicas da resina e do endurecedor são apresentadas na Tabela 1¹⁷.

Tabela 1. As propriedades físico-químicas da resina epóxi e do endurecedor¹⁷

Propriedades físico-químicas	Resina	Endurecedor
Estado Físico	<i>Líquido</i>	<i>Líquido</i>
Forma	<i>Fluido</i>	<i>Fluido</i>
Cor	<i>Transparente Esbranquiçado</i>	<i>Castanho Esverdeado</i>
Odor	<i>Leve</i>	<i>Característico</i>
pH (Mistura 1:1 H₂O)	<i>6</i>	<i>12</i>
Ponto de Ebulição	<i>Maior que 200 °C</i>	<i>Maior que 110 °C</i>
Ponto de Fulgor	<i>Maior que 200 °C</i>	<i>110 °C</i>
Densidade a 25°C	<i>1,15-1,25 g cm⁻³</i>	<i>0,94-0,98 g cm⁻³</i>
Solubilidade	<i>Solúvel em Tolueno</i>	<i>Solúvel em Tolueno</i>
Viscosidade	<i>25000-45000 mPa</i>	<i>-</i>

Na literatura existem muitos trabalhos relacionados com eletrodos compósitos a base de grafite e resina epóxi. Conforme foi citado acima, destacam-se os artigos de revisão de Alegret e colaboradores⁶⁻⁹.

1.4 Compostos estudados – analitos

1.4.1 Atenolol (ATN)

O atenolol [4-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-fenilacetamida] é um agente receptor bloqueador β_1 hidrofílico, cuja estrutura está representada na Figura 1¹⁸.

Figura 1. Fórmula estrutural plana do atenolol.

Esta droga bloqueadora β -adrenoceptora apresenta ação terapêutica no tratamento de várias doenças cardiovasculares, tais como *angina pectoris*, arritmia cardíaca e hipertensão. A utilização dessa droga reduz a mortalidade por hipertensão e prolonga a sobrevivência de pacientes com doença coronária¹⁹.

Efeitos comuns associados com a hiperdosagem de atenolol são letargia, alterações no sistema respiratório, chiado na cavidade, rouquidão, bradicardia, falha congestiva do coração, hipotensão, bronco-espasmos e hipoglicemia, razão pela qual, a análise do atenolol é de grande significado nas pesquisas farmacêuticas^{20,21}.

Na literatura, poucos métodos eletroanalíticos têm sido relatados para a determinação de ATN. A maioria deles está baseada no uso de técnicas

cromatográficas, como cromatografia a gás com espectrometria de massa ou detector de captura de elétrons²² e HPLC^{23,24}. Mas os métodos eletroquímicos têm provado alta sensibilidade para a análise de moléculas orgânicas incluindo drogas em formulações farmacêuticas e em fluidos do corpo humano, devido à simplicidade, baixo custo e relativamente aos baixos tempos de análises, quando comparado a outras rotinas de técnicas analíticas. A seguir estão relacionados alguns trabalhos de determinação do atenolol utilizando métodos eletroanalíticos.

Goyal *et al.*¹⁸ utilizaram um eletrodo de nanopartículas de ouro modificado com óxido de estanho e índio para a determinação de atenolol em formulações farmacêuticas e na urina por voltametria de pulso diferencial. Foi obtida uma curva analítica linear no intervalo de $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2) com coeficiente de correlação de 0,9965. O limite de detecção do atenolol na solução padrão (pH 7,2) foi estimada como $0,13 \mu\text{mol L}^{-1}$. O percentual de recuperação variou de 95,7% a 105,2%.

Goyal e Singh²⁵ utilizaram o eletrodo de carbono vítreo C₆₀-modificado para a determinação voltamétrica do atenolol. O pico de oxidação do atenolol foi observado em aproximadamente 1040 mV. A curva de calibração apresentou uma boa colinearidade com coeficiente de correlação de 0,997 que foi obtido em um intervalo de $0,25$ a $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$, com sensibilidade de $8,58 \mu\text{A (mmol L}^{-1})^{-1}$ e o limite de detecção de $0,16 \text{ mmol L}^{-1}$. O método desenvolvido é aplicável para a determinação do atenolol em formulações farmacêuticas e amostras de urina.

Cervini *et al.*²⁶ utilizaram o eletrodo compósito a base de grafite/poliuretana na determinação do atenolol em formulações farmacêuticas por voltametria de pulso diferencial. Foi obtida uma curva analítica no intervalo de 4 a $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de $3,16 \mu\text{mol L}^{-1}$, sem necessidade de renovações sucessivas da

superfície, com recuperações entre 95,5 a 107%. Os resultados obtidos pelo eletrodo compósito estão de acordo com aqueles obtidos por HPLC dentro de um nível de confiança de 95 %.

1.4.2 Dopamina (DA)

A dopamina (DA) (1,2-dihidroxibenzeno-5-etanoamina) é um neurotransmissor, pertencente à classe das catecolaminas, que exerce um importante papel no sistema nervoso central dos mamíferos. A fórmula estrutural da dopamina está representada na Figura 2.

Figura 2. Fórmula estrutural plana da dopamina.

As catecolaminas são amplamente utilizadas no tratamento de asma bronquial, hipertensão, doença de Parkinson, uso excessivo de drogas, esquizofrenia e infarto do miocárdio²⁷.

As catecolaminas estão presentes em grandes quantidades em fármacos e vários procedimentos analíticos têm sido desenvolvidos para a determinação de dopamina de forma rápida, simples e precisa.

Muitos métodos têm sido descritos na literatura para a determinação de dopamina em amostras biológicas e em formulações farmacêuticas como espectrometria²⁸, HPLC²⁹ e potenciometria²⁷, citados apenas como exemplos.

Uma vez que a dopamina é um importante neurotransmissor, com comportamento voltamétrico conhecido, as técnicas eletroanalíticas vêm sendo amplamente utilizadas na sua determinação.

Uma revisão bibliográfica completa sobre o assunto seria muito extensa e fugiria dos objetivos deste trabalho. Entretanto, vários artigos de revisão podem ser encontrados na literatura, como o de Salamone³⁰, com mais de 150 referências sobre o assunto.

Algumas referências são apresentadas a seguir, apenas para ilustrar o uso de eletrodos de carbono nestas determinações.

Zhao *et al.*³¹ estudaram o comportamento eletroquímico da DA utilizando eletrodo de carbono vítreo revestido com poli(ácido sulfosalicílico). Foi obtida uma curva analítica com duas regiões lineares de concentração, uma correspondente a maior sensibilidade, cujo intervalo linear foi de $5,5 \times 10^{-7}$ a $2,2 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, e outra correspondente a menor sensibilidade, associadas à saturação da superfície do eletrodo, cujo intervalo linear foi de $2,2 \times 10^{-5}$ a $1,1 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. O limite de detecção obtido por voltametria de pulso diferencial foi de $5,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. A interferência do ácido ascórbico (AA) na determinação de DA foi eficientemente eliminada. Para a determinação de DA na injeção, a concentração adicionada da mesma foi de $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ com recuperações entre 97 e 108%.

Oliveira³² avaliou o desempenho dos eletrodos compósitos a base de grafite-borracha de silicone na quantificação de dopamina em voltametria de pulso diferencial. Obteve-se uma curva analítica com limite de detecção de $1,1 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, resultado satisfatório considerando que o analito se adsorve na superfície do eletrodo, sendo necessária renovação da superfície. Ainda com relação

à dopamina, foi possível a sua determinação em formulações farmacêuticas, com erros relativos inferiores a 5%.

Toledo *et al.*³³ investigaram o comportamento eletroanalítico da dopamina por voltametria cíclica, usando o eletrodo compósito grafite-poliuretana. Os autores desenvolveram um método para determinação de dopamina usando voltametria de onda quadrada em solução de tampão Britton-Robinson pH 7,4. Uma curva analítica foi obtida no intervalo de 5,2 a 50,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção e de quantificação de $6,4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. A dopamina também foi determinada no fluido cérebro-espinhal sintético, sem interferência do ácido ascórbico e outros constituintes presentes no fluido real.

Song *et al.*³⁴ estudaram o comportamento eletroquímico da dopamina por voltametria cíclica (CV) utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion e nanotubos de carbono de paredes múltiplas, em tampão fosfato pH 5,4, mostrando que o potencial do eletrodo padrão da semi-reação $\text{DA}_{(\text{O})}, \text{H}^+ / \text{DA}_{(\text{R})}$ é 0,74 V. Este valor experimental obtido de potencial do eletrodo padrão concorda como valor calculado. Os autores também discutem o efeito do oxigênio na $\text{DA}_{(\text{R})}$ presente no sangue e em drogas, de acordo com a teoria do equilíbrio. O eletrodo modificado obteve resultados satisfatórios na determinação de dopamina em formulação farmacêutica.

Ly³⁵ realizou uma simples preparação de DNA imobilizado em um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono para o monitoramento da concentração de íons de dopamina utilizando os métodos de voltametria cíclica (CV) e voltametria de redissolução de onda quadrada (SW). Os parâmetros analíticos ótimos são pH 3,5, amplitude da SW 0,48 V, frequência 71 Hz, tempo de acumulação 5 s, potencial de incremento 0,01 V e potenciais de acumulação -1,3 V (anódico) e 1,2 V (catódico).

Dadas essas condições, a variação linear de trabalho foi observada entre 0,01 e 0,11 $\mu\text{g L}^{-1}$. O limite de detecção analítico foi de 4,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de dopamina e o desvio padrão relativo na concentração de dopamina 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$ foi 0,02% (n=15) nas condições otimizadas.

Kachoosangi e Compton³⁶ descrevem um procedimento para a determinação simultânea de dopamina (DA), serotonina (ST) e ácido ascórbico (AA) usando um eletrodo de grafite pirolítico não modificado (EPPGE). De acordo com os autores, o desempenho deste eletrodo é superior em relação a outros eletrodos a base de carbono não modificados e também a vários eletrodos modificados em termos de limite de detecção, sensibilidade e separação de pico para a determinação de DA, ST e AA. Usando este método, os autores determinaram DA, ST e AA na presença um do outro, com limites de detecção de 90 nM, 60 nM e 200 nM para DA, ST e AA respectivamente. O eletrodo foi utilizado na determinação destas substâncias em amostras padrão e reais. Recuperações de 95,5% e 101% foram obtidas para a DA e ST, respectivamente, na amostra real.

1.5 Extração em fase sólida (SPE)³⁷

A extração em fase sólida (SPE) é uma técnica de separação sólido-líquido baseada em mecanismos de separação da cromatografia líquida de baixa pressão, empregando-se uma pequena coluna aberta, usualmente denominada “cartucho de extração”, a qual contém a fase sólida (denominada fase estacionária em cromatografia).

A solução contendo o analito de interesse é colocada no topo do cartucho e aspirada sob vácuo, de forma a penetrar no cartucho. Depois de drenada toda a fase líquida, o analito retido no cartucho é eluído com um pequeno volume de solvente, de forma a coletar o analito em concentração já apropriada para análise. A Figura 3 representa as principais etapas envolvidas na SPE quando o objetivo é isolar um composto presente em uma amostra complexa.

Figura 3. Principais etapas empregadas em SPE³⁸.

O condicionamento do cartucho destina-se a ativar o material existente dentro do cartucho. O solvente a ser empregado dependerá principalmente do material a ser ativado. Um dos fatores mais importantes é não deixar que o material contido no cartucho seque, ou seja, não deixar que todo o solvente seja eliminado, pois a secagem do cartucho pode comprometer a separação, evitando que o coeficiente de partição entre as fases líquida e sólida se estabeleça.

A adição da amostra deve ser feita de modo quantitativo, a fim de se permitir resultados reprodutíveis. Idealmente, esta etapa deve ser lenta, com fluxo inferior a 2,0 mL por minuto. Isso pode ser obtido controlando-se o vácuo ou a pressão aplicada durante a etapa de adição da amostra.

A etapa de remoção dos interferentes, também conhecida como lavagem de solventes (*solvent wash*), visa eliminar os interferentes com um solvente que não apresente interações com o analito, que sejam suficientes para removê-lo do material de empacotamento. O solvente ideal é o próprio solvente da amostra, caso ele não remova também o analito de interesse.

A última etapa é a eluição do analito. O ideal é que seja usado um pequeno volume de eluente, de forma que a solução coletada já se encontre em concentração apropriada para a análise. Em geral o solvente de eluição deverá ter maior força de eluição que o solvente usado na etapa anterior, o que é obtido aumentando-se a quantidade do solvente orgânico na concentração salina ou mudando-se o pH da solução de eluição. Na prática, observa-se que o uso de duas alíquotas do eluente em vez de uma única em volume maior aumenta a eficiência da extração.

Os principais modos de operação em SPE são:

- Concentração do analito;
- Isolamento do Analito, também chamado de “*clean-up*”;
- Isolamento da matriz;
- Estocagem da amostra.

Os mecanismos de separação em SPE são os mesmo da cromatografia líquida; como consequência, as fases sólidas empregadas em SPE são as mesmas empregadas em cromatografia líquida de baixa pressão. A escolha da fase sólida apropriada depende da natureza do analito de interesse e da matriz na qual ele se encontra. Os principais mecanismos atualmente em uso em SPE são: adsorção; partição (fase normal e fase reversa); troca iônica e exclusão por tamanho.

1.6 Determinação de atenolol em amostras ambientais

A determinação de substâncias com atividade biológica e/ou farmacêutica no meio natural vem chamando a atenção dos analistas e ambientalistas. Tais substâncias podem provocar diversos efeitos em plantas e animais, sendo necessário seu controle.

As fontes de contaminação podem ser os esgotos urbanos e/ou águas residuais de indústrias farmacêuticas.

A *ecotoxicologia* se preocupa com este tipo de contaminação. Um dos mais conhecidos exemplos deste problema é a mudança no sexo de peixes, que provoca desequilíbrio entre a quantidade de machos e fêmeas no ambiente, em caso de contaminação por hormônios sexuais.

A importância da determinação de fármacos na natureza é motivo de preocupação desde há algum tempo. Díaz-Cruz e Barceló apresentaram um artigo de revisão sobre o assunto já em 2004³⁹. Entretanto, devido à intensidade do problema, ele já vem sendo abordado pela grande imprensa em veículos de comunicação em massa, como recentemente apresentado no Jornal Nacional, da Rede Globo de Televisão⁴⁰.

A contaminação das águas pode ocorrer por diferentes fontes como a excreção humana e de animais, no caso de drogas de uso veterinário em criatórios de grande escala, ou despejos industriais. O controle das águas de rejeito das indústrias farmacêuticas pode ser de utilidade, neste caso, sendo esperadas concentrações maiores que aquelas encontradas nas águas de rios ou lagos.

Neste trabalho foram desenvolvidos procedimentos de pré-concentração e extração do atenolol usando tecnologia de extração em fase sólida seguida da determinação voltamétrica dos mesmos usando os eletrodos compósitos à base de grafite-resina epóxi, ao invés dos procedimentos cromatográficos, normalmente usados.

Uma quantidade substancial de β -bloqueadores e seus metabólitos são lançados no esgoto após a excreção e posteriormente nas águas superficiais. Estudos de ecotoxicologia mostram que organismos aquáticos são sensíveis aos β -bloqueadores, como por exemplo, a alga verde *Desmodesmus subspicatus*⁴¹.

A literatura é vasta ao descrever métodos voltamétricos e cromatográficos para a determinação de fármacos em fluidos biológicos e amostras ambientais. A principal vantagem das técnicas eletroanalíticas residiria no custo das análises e na simplicidade de procedimentos, aliada aos baixos limites de detecção, uma vez otimizados os parâmetros de análise e na geração de volumes menores de resíduos.

A seguir estão relacionados alguns trabalhos sobre a determinação de atenolol em amostras ambientais.

Petrovic *et al.*⁴² apresentaram uma revisão de métodos publicados baseados em cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS) para a determinação de fármacos no meio ambiente. Os fármacos incluídos foram antibióticos, antiinflamatórios não-esteroidal, β -bloqueadores, agentes reguladores de lipídios e drogas psiquiátricas. Os autores também discutiram aspectos avançados da metodologia LC-MS/MS, incluindo preparação da amostra e efeitos da matriz.

Hernando *et al.*⁴³ apresentaram um método multi-residual para a extração e determinação de dois grupos de drogas terapêuticas (agentes reguladores de lipídios e β -bloqueadores), em águas, por extração em fase sólida (SPE) seguida de cromatografia líquida-ionização eletrospray acoplada a espectrômetro de massa (LC-ESI-MS-MS). Foram obtidas recuperações de 60% para a água purificada em grau HPLC. O método LC-MS-MS forneceu limites de detecção da ordem de 0,017 a 1,25 $\mu\text{g L}^{-1}$. Efeitos individuais e combinados dos fármacos para a *Daphnia magna* foram avaliados para ambos os grupos terapêuticos. Efeitos individuais no meio de cultura mostraram que estes compostos não são nocivos e nem tóxicos. Os efeitos combinados nas águas residuais mostraram efeitos tóxicos sinérgicos em níveis baixos de concentração (2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Gros *et al.*⁴⁴ descreveram o desenvolvimento, otimização e validação de um método para determinação simultânea de 29 fármacos de classes múltiplas usando extração de fase sólida (SPE) seguida por cromatografia líquida acoplada a um espectrômetro de massa triplo quadrupolo (LC-MS-MS). Os compostos analisados foram analgésicos, antiinflamatórios não-esteroidal, reguladores de lipídios, drogas psiquiátricas, anti-histamínicos, agentes anti-úlceras, antibióticos e β -bloqueadores.

Recuperações obtidas pra todos os compostos, usando cartucho Oasis HLB foram maior que 60%, exceto para ranitidina, solatol, famotidina (50%) e mevastatim (34%). O método revelou limites de detecção na faixa abaixo de ng L^{-1} tanto para a água do rio quanto para a água residual, fornecendo assim uma ferramenta confiável e robusta que pode ser usada pra análises de rotina de fármacos de classes múltiplas em amostras aquosas.

Maurer *et al.*⁴¹ investigaram o coeficiente de sorção (K_D) e a taxa de degradação para quatro β -bloqueadores solatol, atenol, metoprolol e propranolol no esgoto e da água residual do tratamento de esgoto de uma indústria. Os coeficientes de sorção foram determinados como $0,04 \pm 0,035$, $0,04 \pm 0,033$, $0,00 \pm 0,023$ e $0,32 \pm 0,058 \text{ L g}^{-1}$, e a constantes da taxa de degradação de pseudo-primeira ordem foram estimadas como sendo $0,69 \pm 0,05$, $0,58 \pm 0,05$ e $0,39 \pm 0,07 \text{ L dia}^{-1} \text{ g}^{-1}$ para o solatol, atenolol, metoprolol e propranolol. Estes valores traduzem uma eliminação típica no tratamento residual das indústrias de 25%, 37%, 44% e 50% para o solatol, propranolol, metoprolol e atenolol, respectivamente.

Objetivos

2. Objetivos

Este trabalho teve por objetivo a preparação de eletrodos compósitos à base de grafite/Araldite[®], uma resina epóxi comercial de baixo custo, e avaliação da sua potencialidade como material de eletrodo, em técnicas voltamétricas.

Para tanto foi necessário:

- a) Preparar compósitos a base de grafite e resina epóxi Araldite[®], em diferentes composições;
- b) Avaliar estes eletrodos quanto às suas características físicas e ao desempenho de sua resposta em diferentes técnicas voltamétricas;
- c) Avaliar o desempenho dos eletrodos compósitos em voltametria de pulso diferencial para a determinação de analitos de interesse farmacológico, como atenolol e dopamina;
- d) Desenvolver um método utilizando os eletrodos compósitos na determinação de atenolol, em águas ambientais, após extração em fase sólida (SPE).

Parte Experimental

3. Parte Experimental

3.1 Reagentes e Soluções

Os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico (P.A.) e usados sem purificação prévia. Todas as soluções foram preparadas em água purificada em sistema Milli-Q (Millipore).

3.1.1 Soluções Tampão

A solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 foi preparada dissolvendo-se 0,82 g de acetato de sódio (Merck) e 0,6 mL de ácido acético (Mallinckrodt) em água, completando-se o volume em balão volumétrico de 100 mL.

A solução tampão amônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 11 foi preparada dissolvendo-se 0,4 mL de hidróxido de amônio (Merck) e 0,7 mL de ácido clorídrico (J.T. Baker), ajustando-se o volume em um balão volumétrico de 100 mL.

A solução tampão fosfato foi preparada segundo procedimento descrito por Christian e Purdy⁴⁵, dissolvendo-se quantidades adequadas de fosfato dihidrogenado de potássio (J. T. Baker), fosfato hidrogenado de sódio (J. T. Baker) e fosfato tribásico em água, ajustando o volume em balão volumétrico de 200 mL. Foram preparadas soluções tampão no intervalo de pH entre 4-12.

3.1.2 Solução de Ferricianeto de Potássio

Pesou-se 0,0825 g de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (Merck) e 1,864 g de KCl (Mallinckrodt) que foram dissolvidas em 50 mL de água para preparar uma solução de 5 mmol L^{-1} e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. O pH foi ajustado para um valor próximo de 3,0.

3.1.3 Solução de Ácido Sulfúrico

A solução de ácido sulfúrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada diluindo-se 5,55 mL de ácido sulfúrico 96% (Mallinckrodt) em água, completando-se o volume do balão volumétrico de 100,0 mL.

3.1.4 Solução de Hidróxido de Sódio

A solução de hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 4,0 g de hidróxido de sódio (Merck) em água, ajustando-se o volume do balão volumétrico de 100,0 mL.

3.1.5 Solução de Atenolol

A solução de atenolol foi preparada diariamente pela dissolução de 0,0133 g desse composto (Natural Pharma) em meio de tampão fosfato pH 10, completando-se o volume para 100,0 mL. Uma solução padrão de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foi obtida.

3.1.6 Solução de Dopamina

A solução de dopamina foi preparada diariamente pela dissolução de 0,0237 g desse composto (Sigma-Aldrich) em meio tampão fosfato pH 6,0, completando-se o volume para 25,0 mL, resultando numa solução padrão de 5,00 mmol L⁻¹.

3.1.7 Determinação de Atenolol em Formulações Farmacêuticas

Determinou-se atenolol nas seguintes formulações farmacêuticas: Atenolol genérico (G1) (Medley), Atenol (Astra Zeneca) e Atenolol genérico (G2) (EMS).

De acordo com a Farmacopéia Brasileira⁴⁶, foram triturados vinte comprimidos em um almofariz de vidro com pistilo.

Porções dos pós, equivalentes a 100, 100 e 50 mg de Atenolol G1, Atenolol G2 e Atenol, respectivamente, foram dissolvidos em 50,0 mL de solução tampão fosfato pH 10 para obter solução estoque de concentração final igual a 2,0 mmol L⁻¹ de ATN. As soluções foram submetidas ao ultra-som por 10 minutos para completar a dissolução do analito.

3.1.8 Determinação de Dopamina em Formulação Farmacêutica

Determinou-se dopamina na formulação farmacêutica Inotropisa (Hypofarma) de 5,0 mg mL⁻¹.

Pipetou-se 3,8 mL de dopamina injeção e diluiu-se em 50,0 mL de tampão fosfato pH 6,0 para obter uma solução estoque de concentração final de 2,0 mmol L⁻¹ de dopamina.

3.2 Equipamentos

3.2.1 Medidas Voltamétricas

As medidas voltamétricas foram realizadas utilizando-se um Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT 30 (Ecochemie), acoplado a um microcomputador e controlado pelo software GPES 4.9 (Ecochemie).

3.2.2 Eletrodos

Como eletrodos de trabalho, foram utilizados os eletrodos compósitos a base de grafite e resina epóxi Araldite[®] em diferentes composições ($\Phi = 3,0$ mm), e para estudos de comparação, um eletrodo de carbono vítreo ($\Phi = 3,0$ mm).

Como eletrodo auxiliar foi utilizado um fio de platina de 1,0 cm de comprimento.

Foram utilizados eletrodos de Hg/Hg₂Cl₂ (ECS) ou Ag/AgCl como eletrodos de referência, conforme descrito em cada caso.

3.2.3 Célula Voltamétrica

Todas as medidas voltamétricas foram feitas em uma célula de vidro com capacidade total de 25,0 mL, contendo os eletrodos: compósito (trabalho), o eletrodo de platina (contra-eletrodo) e o eletrodo de referência (ECS) ou Ag/AgCl (referência), ligados ao potenciostato.

3.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

As medidas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas em um equipamento Zeiss DSM 940-A, operado a 5kV em diferentes magnificações.

3.2.5 Análise Térmica

As análises termogravimétricas (TG) dos compósitos foram realizadas em um módulo simultâneo SDT Q600 acoplado a um termoanalisador controlado por um software Thermal Advantage (V. 4.2.1) e os dados tratados utilizando software Universal Analysis 2000 (V. 4.1.D), todos da TA-Instruments.

3.2.6 Cromatografia

Para os métodos comparativos foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu LC-10AD UP, equipado com uma coluna SUPELCOSIL LC-18 (150 x 4,6 mm, 5 µm), usando um detector UV-Vis SPD 10A VP (Shimadzu), acoplado em um microcomputador e controlado pelo software CLASS – VP 6.1 (Shimadzu).

3.3 Procedimentos Experimentais

3.3.1 Confeção dos Eletrodos

A resina epóxi Araldite® (Brascola) foi preparada misturando-se uma parte de resina e uma parte do endurecedor, de acordo com as instruções do fabricante. A seguir, uma quantidade de pó de grafite (Aldrich; diâmetro da partícula 1-2 micron) foi adicionada à resina para obter compósitos contendo 50, 60 e 70% (grafite, *m/m*). Essa mistura foi homogeneizada durante 15 minutos em um almofariz de vidro e prensada numa prensa manual (Figura 4) com extrusor de 3 mm de diâmetro.

Figura 4. Representação do esquema de prensagem utilizado na confecção dos eletrodos compósitos grafite-Araldite® (grafite, *m/m*).

Após a cura total da resina, que ocorre em temperatura ambiente, em 24 horas, de acordo com o fabricante, os tarugos foram cortados em peças com 1 cm de comprimento. A seguir, estes foram conectados a um fio de cobre com auxílio de um adesivo epóxi a base de prata (EPO-TEK 410E, Epoxy Technology), para contato elétrico.

Após 48 horas, o conjunto compósito/fio de cobre foi inserido em um tubo de vidro de 6 mm de diâmetro e 9 cm de comprimento. Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, preencheu-se parte do tubo (até cobrir o eletrodo) com resina epóxi (SILAEX, SQ 2004). O processo de cura durou 24 horas.

Figura 5. Esquema do eletrodo compósito grafite-Araldite®.

3.3.2 Tratamento Mecânico

O tratamento mecânico consistiu de abrasão em lixa d'água 600 SiC, para eliminar o excesso de resina epóxi na superfície e expor o compósito. Em seguida, foi feito um polimento com suspensão de alumina 1 μm (Arotec), que foi efetuado em uma lixadeira politriz motorizada modelo APL-02 (Arotec). Então, o eletrodo foi imerso em isopropanol e submetido ao ultra-som por 5 minutos, antes de cada medida. O mesmo procedimento foi feito em água, para a retirada de possíveis partículas de sílica da superfície do eletrodo.

3.3.3 Resistência Ôhmica

As resistências ôhmicas dos eletrodos compósitos 50-70% (grafite, m/m) e do carbono vítreo foram medidas no multímetro MDM-8054 (Minipa). As medidas foram feitas em uma poça de mercúrio, com um eletrodo de platina, como contra-eletrodo.

3.3.4 Determinação da Área Efetiva dos Eletrodos

As áreas efetivas dos eletrodos foram estimadas pela Equação de Cottrell⁴⁷. Medidas cronocoulométricas foram realizadas utilizando solução 5,0 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆] em KCl 0,5 mol L⁻¹ ($D_0 = 7,7 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$), com variação de potencial de 400 a 0 mV durante 1 segundo. As densidades de corrente foram determinadas em voltametria cíclica, com a mesma solução de K₃[Fe(CN)₆].

3.3.5 Estudos Voltamétricos para Ferricianeto

Voltamogramas cíclicos foram obtidos entre -250 e 750 mV para 5,0 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆] em KCl 0,5 mol L⁻¹ pH 3, com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹, para os eletrodos compósitos 50-70% (grafite, m/m) e carbono vítreo para comparação.

3.3.6 Estudo da Velocidade de Varredura de Potencial

Neste estudo, foram realizadas medidas voltamétricas em solução de 5,0 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆] em KCl 0,5 mol L⁻¹ pH 3, em diferentes velocidades de varredura de potenciais: 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 e 200 mV s⁻¹. Para essas medidas, utilizou-se o eletrodo que apresentou melhor resposta voltamétrica no estudo da composição.

3.3.7 Curva Analítica para Ferricianeto

Uma curva analítica foi obtida para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*), em voltametria cíclica, com velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} , entre -250 a 600 mV. Inicialmente, 20 mL da solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionados à célula eletroquímica e adições sucessivas da solução de ferricianeto de potássio $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foram feitas com o auxílio de uma micropipeta Eppendorff de volume regulável entre 1 e 1000 μL . Usando as correntes de pico dos voltamogramas cíclicos, obtidos em cada adição, curvas analíticas foram construídas, medindo-se as correntes de pico anódica e catódica em cada concentração.

3.3.8 Estudo do Intervalo Útil de Potencial

O estudo do intervalo útil de potencial foi feito em diferentes valores de pH nos seguintes eletrólitos: solução de H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7, solução tampão amônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 11 e solução básica de hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Neste estudo foram utilizados o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) e o eletrodo de carbono vítreo.

3.3.9 Análise Térmica (TG)

Foram obtidas curvas termogravimétricas dos compósitos contendo 50, 60 e 70% (grafite, *m/m*). Em todas as curvas, utilizou-se uma razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, no intervalo entre temperatura ambiente até 700°C , sob atmosfera

dinâmica de nitrogênio (vazão de 90 mL min⁻¹). Quando a temperatura final foi atingida, manteve-se a isoterma por 5 minutos. Durante esta isoterma o gás de arraste foi substituído, introduzindo-se uma atmosfera dinâmica de ar (vazão de 90 mL min⁻¹). Após a isoterma, foi estabelecida uma nova rampa, com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ até 900 °C. Em todas as medidas, utilizou-se uma massa da amostra de aproximadamente 7,0 mg (raspas de tarugo) e suporte de amostra de alumina.

3.3.10 Determinação de Dopamina em Formulações Farmacêuticas Utilizando Técnicas Voltamétricas

3.3.10.1 Voltametria Cíclica

Foram realizados experimentos em voltametria cíclica, para determinar o potencial de oxidação da DA e o melhor valor de pH. As curvas foram feitas em $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de DA em tampão fosfato, com valores de pH entre 3,0 e 8,0 com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹.

3.3.10.2 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

Para a otimização dos parâmetros em DPV, voltamogramas de pulso diferencial para DA $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato pH 6,0 foram obtidos entre 150 e 500 mV. Foram totalizados quatro experimentos, a partir de uma calibração multivariada, usando um planejamento fatorial de 2ⁿ, n = número de variáveis ($a = 10$ e 50 mV e $v = 10$ e 50 mV s⁻¹).

3.3.10.3 Curvas Analíticas

Curvas analíticas foram obtidas para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*), em DPV, com $a = 10 \text{ mV}$ e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ e para o carbono vítreo, para comparação. Inicialmente, 20,0 mL da solução de tampão fosfato pH 6,0 foram adicionados na célula eletroquímica e adições sucessivas da solução estoque de DA $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foram feitas com o auxílio de uma micropipeta Eppendorff, de volume regulável entre 1,0 e 1000 μL . Por meio dos voltamogramas de pulso diferencial obtidos em cada adição, uma curva analítica foi construída, medindo-se as correntes de pico em função da concentração.

3.3.10.4 Curvas de Adição de Padrão

As curvas de adição de padrão foram realizadas, em triplicata, utilizando as condições descritas anteriormente (3.3.10.3). A concentração inicial de dopamina foi ajustada para $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ a partir de informações do rótulo. Foram feitas adições sucessivas de uma solução estoque padrão de DA $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

3.3.10.5 Método Comparativo

O método comparativo foi realizado de acordo com as recomendações da Farmacopéia Americana⁴⁸, utilizando HPLC.

A fase móvel foi composta por uma mistura filtrada e desgaseificada de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de 1-octanossulfonato de sódio em 1% de ácido acético e acetonitrila. A proporção foi 87/13 da mistura e acetonitrila, respectivamente. A vazão utilizada foi

0,5 mL min⁻¹. O volume de injeção foi de 20,0 µL. A detecção por UV foi acompanhada a 280 nm.

A solução de trabalho foi obtida pela diluição de solução padrão estoque de DA (1,6 mg mL⁻¹), obtendo-se 0,16 mg mL⁻¹ de DA em fase móvel. A solução da formulação farmacêutica foi preparada com concentração de 16 mg mL⁻¹ de DA.

3.3.11 Determinação de Atenolol Utilizando Técnicas Voltamétricas

As medidas voltamétricas para determinação de ATN foram realizadas sem desaeração, e sem a necessidade de renovação da superfície do compósito. Foi utilizado o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) e o carbono vítreo para a comparação.

3.3.11.1 Voltametria Cíclica

Foram realizados experimentos em voltametria cíclica, para determinar o potencial de oxidação de ATN e o melhor valor de pH. As curvas foram feitas em 5,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ de ATN em tampão fosfato, com valores de pH entre 2 e 12, com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹.

3.3.11.2 Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais

Foi realizado um estudo do efeito da velocidade de varredura de potenciais em voltametria cíclica, com velocidades entre 5 e 100 mV s⁻¹, para 5,0 10⁻⁴ mol L⁻¹ de ATN em tampão fosfato pH 10.

3.3.11.3 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

Para a otimização dos parâmetros em DPV, voltamogramas de pulso diferencial para ATN $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 10 foram obtidos entre 0 e 1050 mV. Foram totalizados quatro experimentos, a partir de uma calibração multivariada, usando um planejamento fatorial de 2^n , n = número de variáveis ($a = 10$ e 50 mV e $v = 10$ e 50 mVs^{-1}).

3.3.11.4 Curvas Analíticas

Curvas analíticas foram obtidas para o eletrodo compósito 70% (grafite, m/m), em DPV, com $a = 10 \text{ mV}$ e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ e para o carbono vítreo, para comparação. Inicialmente, 20,0 mL da solução de tampão fosfato pH 10 foram adicionados na célula eletroquímica e adições sucessivas da solução estoque de ATN $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foram feitas com o auxílio de uma micropipeta Eppendorff, de volume regulável entre 1,0 e 1000 μL . Usando os voltamogramas de pulso diferencial obtidos em cada adição, uma curva analítica foi construída, medindo-se as correntes de pico em função da concentração.

3.3.11.5 Curvas de Adição de Padrão

As curvas de adição de padrão foram realizadas, em triplicata, utilizando as condições descritas anteriormente (3.3.11.4). Separadamente, as soluções das formulações farmacêuticas Atenolol G1, Atenol e Atenolol G2 foram transferidas para a célula contendo 20,0 mL de tampão fosfato pH 10, para obter concentrações de

30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ATN. Em seguida, foram realizadas adições sucessivas de solução estoque padrão de 2,0 mmol L^{-1} de ATN.

3.3.11.6 Método Comparativo⁴⁹

Foi utilizada HPLC como método comparativo. A fase móvel foi composta por acetonitrila (solvente A) e tampão fosfato (solvente B), com 0,2% (w/v) de trietilamina, ajustando o pH para 3,0, com ácido ortofosfórico 85% (0,067 mol L^{-1}). A proporção foi 10/70 de solventes A e B, respectivamente. A vazão utilizada foi 0,8 mL min^{-1} . O volume de injeção foi 20,0 μL . A detecção por UV foi acompanhada a 225 nm.

Soluções de trabalho foram obtidas pela diluição de soluções padrão estoque de ATN, obtendo-se 0,25 mg mL^{-1} de ATN em tampão fosfato 0,067 mol L^{-1} , pH 7,4. A curva analítica foi feita entre 25 e 1,56 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Soluções das formulações farmacêuticas foram preparadas com concentração de 12,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em ATN.

3.3.12 Determinação de Atenolol em Águas Ambientais⁴³

Neste experimento utilizou-se o eletrodo composto 70% (grafite, m/m) e a concentração de atenolol foi determinada pelo método da adição de padrão, usando voltametria de pulso diferencial, $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, entre 0 e 850 mV.

Uma amostra de água do lago da Universidade Federal de São Carlos, localizada na cidade de São Carlos-SP (21°59'08-S e 47°52'58-O)⁵⁰ foi coletada em

um galão de 5,0 L, o qual foi pré-lavado com metanol grau HPLC e água Milli-Q, e seco antes da coleta.

Toda a água foi filtrada, primeiramente, em papel de filtro qualitativo, depois em um funil de placa sinterizada (malha = 4). E em seguida, passou-se a água novamente, por um filtro de membrana ($\Phi = 0,45 \mu\text{m}$, Sartorius) para a remoção das partículas sólidas.

A 500 mL dessa amostra foram adicionados 250 μL de uma solução estoque $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de ATN, resultando em uma concentração de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ATN (equivalente a 2,5 μmol de ATN ou a $6,659 \times 10^{-4} \text{ g}$ de ATN), na água natural. Esta passou a ser considerada a “água contaminada”.

Esta amostra foi submetida à extração em fase sólida (SPE) em um cartucho SPE ODS- C_{18} (Agilent, 500 mg, 6,0 mL), sem ajuste de pH.

Os cartuchos foram pré-condicionados usando 5,0 mL de metanol, seguido de 5,0 mL de água Milli-Q, a uma vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$.

Em seguida, a amostra de água contendo atenolol foi percolada pelo cartucho a uma vazão de $5,0 \text{ mL min}^{-1}$. Após a extração, o cartucho foi percolado com duas porções de 5,0 mL de metanol, a $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ para a eluição do analito.

Após a eluição, o metanol foi evaporado com fluxo de nitrogênio, e o analito diluído em 50 mL de tampão fosfato pH 10. Esta solução foi adicionada à célula eletroquímica, para a determinação de ATN, pelo método da adição de padrão.

Este procedimento foi realizado também com 500 mL de água Milli-Q contendo $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e repetido quatro vezes para avaliar o coeficiente de recuperação do procedimento.

Resultados e Discussão

4. Resultados e Discussão

4.1 Caracterização e Avaliação dos Compósitos como Material Eletródico

4.1.1 Efeito da Composição do Eletrodo no Comportamento Voltamétrico

A composição do material eletródico é um parâmetro crítico na obtenção e qualidade da resposta voltamétrica. Portanto, inicialmente, foi realizado um estudo para avaliar o efeito da composição na resposta voltamétrica dos eletrodos preparados com os compósitos à base de grafite-Araldite®.

Os eletrodos compósitos foram preparados em diferentes composições, contendo 50-70% (grafite, *m/m*) e foram avaliados em voltametria cíclica, utilizando-se solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,5 mol L⁻¹, pH 3,0. A resposta voltamétrica dos compósitos foi comparada ao carbono vítreo. Os resultados estão apresentados na Figura 6.

Figura 6. Voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos compósitos 50-70% (grafite, *m/m*) e para o carbono vítreo em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,5 mol L⁻¹, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$, pH = 3,0.

Analisando-se a intensidade da corrente de pico e da simetria do voltamograma, observa-se que os eletrodos contendo 60 e 70% (grafite, *m/m*), apresentaram melhores resultados, pois todos apresentam a mesma área geométrica.

Pode-se observar que as correntes de pico para o eletrodo compósito de 70% (grafite, *m/m*) são maiores que as encontradas para as composições com 50 e 60% (grafite, *m/m*) e para o carbono vítreo.

Obtiveram-se voltamogramas sucessivos, após polimento da superfície para avaliar a repetibilidade de resposta. Notou-se que o compósito 70% (grafite, *m/m*), apresenta uma maior repetibilidade (menor desvio padrão) da corrente, após renovações sucessivas da superfície, como é apresentado na Tabela 2, que traz resultados de corrente e potencial de pico para 5 determinações consecutivas, após polimento do eletrodo.

Na Tabela 2, também se observa que o compósito 50% (grafite, *m/m*) e o carbono vítreo apresentaram valores de ΔE_p mais elevados, o que sugere maior dificuldade de transferência de carga, e uma superfície relativamente menos ativa.

Considerando-se a reversibilidade da resposta do par Fe(II)/Fe(III) no ferricianeto de potássio, espera-se que o eletrodo apresente um valor de ΔE_p aproximadamente igual a 59 mV, sob condições ideais de transferência de carga.

Tendo em conta os resultados obtidos, a composição de 70% (grafite, *m/m*) foi escolhida como composição que ofereceu maior sensibilidade, representada pelas maiores intensidades de corrente, maior repetibilidade de área superficial e maior facilidade de transferência de carga.

Tabela 2. Valores das correntes anódica e catódica e os respectivos desvios padrão obtidos para os compósitos grafite / Araldite® em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,5 mol L⁻¹, em voltametria cíclica, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$, pH = 3,0

Composição / %	Correntes / μA		Potenciais / mV		ΔE_p / mV
	I_{pa}	I_{pc}	E_{pa}	E_{pc}	
50	$22,0 \pm 0,6$	$-22,6 \pm 0,3$	$384,0 \pm 0,0$	$29,7 \pm 4,6$	354,3
60	$31,5 \pm 0,4$	$-31,1 \pm 1,07$	$265,0 \pm 0,0$	$180,7 \pm 4,6$	85,0
70	$35,8 \pm 0,4$	$-35,3 \pm 0,5$	$263,7 \pm 2,3$	$183,3 \pm 2,3$	80,4
Carbono vítreo	$26,8 \pm 1,5$	$-22,2 \pm 1,7$	$273,7 \pm 0,6$	$179,3 \pm 2,3$	94,4

4.1.2 Caracterização Física dos Compósitos

As resistências ôhmicas dos eletrodos compósitos preparados sob diferentes composições de grafite estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Medidas da resistência ôhmica para os eletrodos compósitos nas diferentes composições

Compósito (grafite, m/m) / %	Resistência / k Ω
50	3,55
60	0,086
70	0,061
Carbono vítreo	0,003

Observa-se que as resistências ôhmicas, para os compósitos 60 e 70% (grafite, m/m), apresentam a mesma magnitude, enquanto o compósito 50% (grafite, m/m) apresentou uma resistência mais elevada.

As diferenças nas medidas das resistências ôhmicas podem ser interpretadas como o resultado da presença crescente de grafite (condutor) incorporado à resina epóxi Araldite® (isolante), pois quanto maior a quantidade de grafite, menor o valor da resistência ôhmica.

Segundo Trijueque *et al.*⁵¹, com base na teoria da percolação, os melhores resultados de condutividade em compósitos de grafite são obtidos com 62% do condutor. Ainda segundo aqueles autores, as partículas de grafite atuariam como um arranjo de microeletrodos, cada uma delas contribuindo para a condução da corrente.

4.1.3 Determinação da Área Efetiva dos Eletrodos Compósitos por Cronocoulometria

As áreas efetivas dos eletrodos compósitos 50-70% (grafite, *m/m*) foram determinadas utilizando-se cronocoulometria. Utilizou-se a forma integrada da Equação de Cottrell⁴⁷:

$$q = \frac{2nFAD^{1/2}C_o}{\pi^{1/2}} \frac{1}{t^{1/2}} \quad (3)$$

Gráficos de q em função de $1/t^{1/2}$ são retas com coeficiente angular (CA), que se relaciona com a área do eletrodo pela Equação 4, segundo a qual a área do eletrodo é diretamente proporcional ao coeficiente angular da reta.

$$A = \frac{(CA)\pi^{1/2}}{2nFD_o^{1/2}C_o} \quad (4)$$

sendo:

q - carga determinada (C)

A - área (cm²)

F - constante de Faraday (96487 C mol⁻¹)

C - concentração do reagente na solução (mmol L⁻¹)

D - coeficiente de difusão (7,6 x 10⁻⁶ cm² s⁻¹)

n - número de elétrons

CA - coeficiente angular

t - tempo

Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Valores da área efetiva e corrente de pico anódico dos eletrodos compósitos e do carbono vítreo, determinadas utilizando-se cronocoulometria

Eletrodo	<i>I</i>_{pa} / μA	Área efetiva/ cm²
Carbono Vítreo	44,6 ± 0,5	0,140
50%	23,7 ± 0,5	0,208
60%	27,5 ± 0,1	0,195
70%	29,3 ± 0,1	0,227

Pelos resultados obtidos, pode-se verificar que os eletrodos compósitos 50 - 70% (grafite, *m/m*) apresentaram uma maior área efetiva que o carbono vítreo, o que pode justificar as maiores correntes quando estas são comparadas.

Todos os compósitos apresentaram área efetiva superior à área geométrica de $7,07 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$, esperada para um diâmetro de 0,3 cm. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4, isto foi atribuído à rugosidade da superfície dos compósitos.

4.1.4 Análise Termogravimétrica

O uso de artifícios da mudança de atmosfera de forno em experimentos termogravimétricos para diversas finalidades é clássico na literatura. Alguns exemplos estão descritos por Wendlandt em seu livro sobre análise térmica⁵².

Neste trabalho, a determinação dos teores de grafite nos compósitos foi feita por termogravimetria (TG) usando a troca de atmosfera. Com o objetivo de confirmar os resultados para o teor de grafite, a queima dos compósitos foi realizada sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (vazão 90 mL min^{-1}) até 700°C , para eliminar a matriz polimérica restando, nesta temperatura, apenas o carbono residual. Uma maior vazão de N_2 previne contaminação por O_2 atmosférico.

Após esse aquecimento inicial, o sistema foi mantido em isoterma por 5 min. Neste tempo foi introduzida uma atmosfera dinâmica de ar sintético (vazão 90 mL min^{-1}). Em seguida, foi retomado o aquecimento até 900°C . Nesta etapa, a grafite queima deixando vazio o suporte de amostra. Em ambos os casos, as amostras foram aquecidas a $10^\circ\text{C min}^{-1}$ em suporte de amostra de alumina.

A resina pura também foi submetida à análise termogravimétrica apresentando resíduo de 1,0 % a 900°C .

A Figura 7 apresenta as curvas TG obtidas para os compósitos e a Araldite®. Desta figura conclui-se que a resina epóxi pura queima entre 50 e 500°C em uma

única etapa com presença de 1,0 % de resíduo no suporte de amostra. Tal comportamento se repete nos compósitos, com exceção do compósito de 50% (grafite, m/m) o qual não apresenta resíduo.

Após a troca de gás no forno, observa-se a queima da grafite que se completa em torno de 900 °C.

Figura 7. Curvas termogravimétricas obtidas para os compósitos grafite/Araldite[®], nas diferentes proporções de grafite, para a resina e para a grafite puras.

A Tabela 5 apresenta as perdas de massa, os intervalos de temperatura e os teores de grafite determinados por TG para cada amostra. Estes resultados mostram que os teores de grafite estão muito próximos do esperado, sugerindo uma homogeneização adequada dos compósitos.

Tabela 5. Perdas de massa, intervalos de temperatura e teores de grafite determinados para os compósitos grafite/Araldite[®], usando termogravimetria

Amostra	Δ Temperatura / °C	Perda de massa ou resíduo /	Teor de
		%	grafite / %
Araldite [®] Pura	Dec. Resina - 50-500	96	-
	Queima material - 500-770	3,0	
	Resíduo – 900	1,0	
Grafite pura	Queima grafite - 700-870	99	-
	Resíduo – 900	1,0	
Compósito 50%	Dec. Resina - 50-500	50	50
	Queima grafite - 700-870	50	
	Resíduo – 900	0	
Compósito 60%	Dec. Resina - 50-500	37	
	Queima grafite - 700-870	62	62
	Resíduo – 900	1,0	
Compósito 70%	Dec. Resina - 50-500	30	
	Queima grafite - 700-870	69	69
	Resíduo – 900	1,0	

4.1.5 Micrografias Eletrônicas de Varredura

As micrografias das superfícies dos compósitos contendo 50-70% (grafite, *m/m*), antes e após abrasão com lixa d'água 600, seguido de polimento com suspensão de γ -alumina 1,0 μm são apresentadas na Figura 8.

De acordo com esta Figura, a composição 50% (grafite, *m/m*) (Fig. 8A) apresenta-se rugosa, observando a presença de cavidades em sua superfície. Tais cavidades persistem mesmo após polimento (Fig. 8B). Já a superfície do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) fraturada (Fig. 8C) apresenta semelhança em relação à rugosidade da superfície anterior, com estruturas alongadas. A micrografia da superfície polida da composição 60% (grafite, *m/m*) (Fig. 8D) também apresenta cavidades, porém em menor quantidade que a anterior.

A composição 70% (Fig. 8E), antes do tratamento, apresenta uma superfície bastante rugosa, irregular, com estruturas alongadas e não granulares. Após polimento, obteve-se um material uniforme, que apresentou baixa rugosidade, e ausência de cavidades, sugerindo maior organização das partículas.

Figura 8. Micrografias das superfícies dos eletrodos compostos antes da abrasão: (A) 50, (C) 60 e (E) 70% (grafite, *m/m*), e após abrasão com lixa 600 polimento com γ -alumina 1 μm e tratamento em ultrassom por 5 minutos em isopropanol e água: (B) 50, (D) 60 e (F) 70% (grafite, *m/m*). Magnificação 1000 x.

4.1.6 Efeito da Velocidade de Varredura

Pelos resultados dos experimentos anteriores, conclui-se que o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) apresenta melhor resposta voltamétrica. Portanto ele foi usado para avaliar o efeito da velocidade de varredura na resposta do eletrodo, usando solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

A velocidade de varredura foi variada de $5 \text{ a } 200 \text{ mV s}^{-1}$ e os voltamogramas cíclicos obtidos estão apresentados na Figura 9.

Figura 9. Voltamogramas cíclicos obtidos em velocidades de varredura entre $5 \text{ e } 200 \text{ mV s}^{-1}$, utilizando eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,0$.

Os voltamogramas cíclicos obtidos mostram um aumento na intensidade de corrente e um deslocamento dos picos anódico e catódico com o aumento da velocidade de varredura.

O deslocamento no potencial de pico, com o aumento na velocidade de varredura, sugere que a fase isolante pode causar limitação na velocidade de transferência de carga, na superfície eletródica.

A análise da dependência das correntes de pico anódica (A) e catódica (B), obtidas a partir dos voltamogramas da Figura 9, em função da raiz quadrada da velocidade de varredura indicam uma transferência de massa controlada por difusão (Figura 9), segundo a Equação de Randles-Sevcik⁵³ (Equação 5):

$$I_p = \pm 2,69 \times 10^{-5} n^{3/2} ACD^{1/2} \nu^{1/2} \quad (5)$$

sendo,

I_p - corrente de pico

n - número de elétrons envolvidos na reação redox

A - área do eletrodo (cm^2)

D - coeficiente difusional ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)

C - concentração das espécies reduzidas ou oxidadas (mol cm^{-3})

ν - velocidade de varredura (V s^{-1})

Nesta equação o sinal positivo (+) ou negativo (-) é usado para representar processos de oxidação e redução, respectivamente.

De acordo com a Equação 5, se todas as outras condições forem mantidas constantes, a corrente de pico deverá ser proporcional à raiz quadrada da velocidade de varredura para sistemas reversíveis com controle difusional. No presente caso, obteve-se retas tanto no pico anódico ($n = 6$, $R = 0,997$) como no pico catódico ($n = 6$; $R = 0,977$).

Figura 10. Dependência da velocidade de varredura do pico anódico (A) e catódico (B) com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potenciais para o eletrodo de 70% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆] em KCl 0,5 mol L⁻¹, pH = 3,0.

4.1.7 Curva Analítica para Ferricianeto

A fim de observar a dependência da corrente de pico com a concentração da espécie eletroativa [Fe(CN)₆]³⁻, voltamogramas cíclicos foram obtidos no intervalo potenciais entre 350 a 600 mV em solução de KCl 0,5 mol L⁻¹ contendo diferentes concentrações de ferricianeto e velocidade de 25 mV s⁻¹. Antes de cada medida foi feita uma adição de volume adequado de solução estoque do analito e agitação do sistema para a homogeneização do meio. Para tais medidas, utilizou-se o compósito 70% (grafite, *m/m*).

Figura 11. Curvas analíticas obtidas para o eletrodo composto 70% (grafite, *m/m*) em solução de KCl 0,5 mol L⁻¹ a 25 mV s⁻¹, contendo diferentes concentrações de K₃[Fe(CN)₆], em voltametria cíclica, pH = 3,0.

A Figura 11 apresenta a variação das correntes anódica e catódica observadas para as diferentes concentrações de [Fe(CN)₆]³⁻, na qual pode-se observar uma região linear entre 9,90 e 90,9 μmol L⁻¹, que consiste em toda a faixa estudada. A curva resultante para a corrente catódica, obedece à Equação 6,

$$I_{pc} = -2,38 \times 10^{-2} \mu A - 1,55 \times 10^{-2} \mu A \mu mol^{-1} L C_{[Fe(CN)_6]^{3-}} \quad (6)$$

com R = 0,999 (n = 6), e a curva resultante para a corrente anódica é representada pela Equação 7,

$$I_{pa} = 1,30 \times 10^{-2} \mu A + 1,69 \times 10^{-2} \mu A \mu mol^{-1} L C_{[Fe(CN)_6]^{3-}} \quad (7)$$

com R = 0,999 (n = 6).

Os limites de detecção (LD) obtidos no intervalo entre 9,90 e 90,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram 1,58 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 2,61 $\mu\text{mol L}^{-1}$, para a corrente de pico anódica e catódica, respectivamente.

Segundo Long e Winefordner⁵⁴, o limite de detecção é determinado como três vezes o desvio do branco (S_d) dividido pelo coeficiente angular da reta (b), conforme Equação 8.

$$LD = 3S_d/b \quad (8)$$

Este estudo sugere que o eletrodo se presta à determinações quantitativas de outros analitos.

4.1.8 Intervalo Útil de Potenciais em Diferentes Meios Eletrolíticos

O desempenho do eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) foi avaliado em diferentes meios eletrolíticos para verificar o intervalo útil de potenciais sob diferentes condições. Os resultados foram comparados com o eletrodo de carbono vítreo, nas mesmas condições e estão apresentados na Figura 12.

Os diferentes meios eletrolíticos foram solução de H_2SO_4 1,0 mol L^{-1} , solução tampão acetato 0,1 mol L^{-1} a pH 4,5, solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} a pH 7, solução tampão amônio 0,1 mol L^{-1} a pH 11 e solução básica de hidróxido de sódio 1,0 mol L^{-1} . Os resultados estão apresentados na Tabela 6, quando a corrente atinge valores menores que 10 μA , nos extremos de potencial.

Tabela 6. Resultados do estudo dos intervalos úteis de potenciais, em diferentes eletrólitos para o eletrodo 70% (grafite, m/m)

Eletrólito suporte	Intervalo de potenciais / mV *
H ₂ SO ₄ 1,0 mol L ⁻¹	-900 a +1000
Tampão acetato pH 4,5	-1000 a +900
Tampão fosfato pH 7	-1000 a +900
Tampão amônio pH 11	-1000 a +900
NaOH 1,0 mol L ⁻¹	-1000 a +500

* vs. Ag/AgCl

A maior limitação foi observada em potenciais anódicos devido, provavelmente, à presença de grupos funcionais na resina que são ativados em meio básico. Neste caso, o intervalo útil é limitado entre -1000 e +500 mV (vs. Ag/AgCl).

Nos outros casos, a resposta é semelhante e o eletrodo pode ser usado em amplos intervalos de potencial.

Figura 12. Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo compósito 70% (grafite, m/m) (-) e carbono vítreo (---) em: (a) H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, (b) solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 4,5, (c) solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 7, (d) solução tampão amônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 11 e (e) solução básica de hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, com $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$.

4.2 Avaliação das Potencialidades Analíticas do Compósito Grafite/Araldite®

4.2.1 Determinação de Dopamina Utilizando Técnicas Voltamétricas

4.2.1.1 Voltametria Cíclica

O eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) foi utilizado para investigar o comportamento eletroquímico da dopamina, por voltametria cíclica, como mostrado na Figura 13. De acordo com os voltamogramas da DA em tampão fosfato pH 6,0, observa-se somente um par de picos de oxidação-redução reversível, quando o intervalo de potenciais é variado entre -150 e 500 mV.

Figura 13. Voltamogramas cíclicos obtidos para o compósito 70% (grafite, *m/m*) na presença (-) e na ausência (---) de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de DA em tampão fosfato pH 6,0, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$.

Os potenciais de pico de oxidação e redução ocorrem, respectivamente, em 160 e 74 mV (vs. ECS). Segundo Afkhami *et al.*⁵⁵, estes potenciais correspondem à oxidação do derivado da *o*-benzoquinona (dopaminaquinona), e à redução do produto *o*-dopaminaquinona, como representado na Equação 9.

Antes de iniciar os estudos utilizando a dopamina, foram realizadas medidas em voltametria cíclica, variando-se o pH do eletrólito suporte entre 3,0 a 8,0 para selecionar qual o pH que permitisse obter melhor resposta. Os voltamogramas cíclicos obtidos estão apresentados na Figura 14.

Verifica-se um aumento da corrente de pico e um deslocamento dos picos para potenciais negativos até o pH 6,0. Acima deste valor, observa-se uma redução da corrente de pico catódica e deslocamento do pico catódico para potenciais mais negativos.

Figura 14. Voltamogramas cíclicos obtidos para o compósito 70% (grafite, *m/m*) em solução de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de DA em tampão fosfato, em diferentes valores de pH, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$.

Na Tabela 7 estão apresentados os valores obtidos para os diferentes valores de pH, utilizando DA em voltametria cíclica.

Tabela 7. Resultados para corrente e potencial de pico para o compósito 70% (grafite, *m/m*) utilizando solução de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de DA em tampão fosfato, em diferentes valores de pH, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$

pH	$I_{pa} / \mu A$	$I_{pc} / \mu A$	E_{pa} / mV	E_{pc} / mV
3,0	0,25	-0,49	396	171
4,2	0,85	-0,96	287	162
5,0	0,84	-0,84	228	86
6,0	1,05	-0,97	159	75
8,0	0,79	-0,08	61	-14

De acordo com os resultados da Tabela 7, pode ser observado que em pH 6,0 há maior intensidade de corrente, portanto foi o pH escolhido para os estudos seguintes. Essa escolha também pode ser atribuída ao fato deste pH encontrar-se próximo ao pH fisiológico (pH 7,4).

A forma distorcida do pico e as baixas correntes observadas em meio mais ácido, pH = 3,0, podem estar relacionadas com o mecanismo de oxidação e redução da dopamina (Eq. 9). O processo redox parece ser desfavorecido nestas condições.

Uma relação linear entre o potencial de pico (E_p) e os valores de pH pode ser observada nos voltamogramas cíclicos em ambos os potenciais anódico e catódico (E_{pa} , E_{pc}). Os resultados estão mostrados na Figura 15. Esta relação linear pode ser representada pela Equação 10 a seguir:

$$E_{pa} = 525 \text{ mV} - 58,9 \text{ pH} \quad (R = 0,995 \text{ e } n = 4) \quad (10)$$

Figura 15. Relação entre potencial de pico em voltametria cíclica e pH, em solução tampão fosfato, em diferentes valores de pH, contendo $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de DA.

O deslocamento de potenciais de pico anódico de aproximadamente 60 mV por unidade de pH sugere um mecanismo envolvendo o mesmo número de prótons e elétrons no processo redox, o que concorda com a reação química representada pela Equação 9.

4.2.1.2 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

O eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) também foi utilizado em voltametria de pulso diferencial para estudar o comportamento eletroquímico da dopamina.

Para a otimização dos parâmetros em DPV, foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial para DA $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato pH 6,0, utilizando o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*). A partir de uma calibração multivariada, visando otimizar a amplitude (*a*) e velocidade de varredura (*v*), usando um

planejamento fatorial de 2^n , onde n = número de variáveis ($a = 10$ e 50 mV e $v = 10$ e 50 mV s⁻¹), totalizando quatro experimentos.

Na Figura 16 estão apresentados os voltamogramas obtidos, na qual é possível observar o pico de oxidação da dopamina próximo de 120 mV (vs. ECS), com melhor definição de pico com $a = 50$ mV e maiores sensibilidades com $v = 10$ mV s⁻¹, portanto estes parâmetros foram usados para os estudos seguintes.

Figura 16. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*), usando solução $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de DA em tampão fosfato pH 6,0.

Nos voltamogramas de pulso diferencial é possível observar um pico de oxidação em aproximadamente -50 mV, este pico é referente ao comportamento do tampão fosfato (ver curva do branco na Figura 17).

4.2.1.3 Curvas Analíticas para Dopamina

Após a otimização dos parâmetros experimentais para a utilização do eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) em DPV, $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, iniciou-se as medidas quantitativas. Foram obtidas curvas analíticas para o eletrodo 70% (grafite, *m/m*) e para o eletrodo de carbono vítreo para comparação.

As medidas voltamétricas foram realizadas sem a necessidade de renovação da superfície do eletrodo compósito entre as determinações sucessivas, em um intervalo de concentração de DA entre $4,0$ e $95 \mu\text{mol L}^{-1}$, como mostrado na Figura 17.

Figura 17. Dependência dos voltamogramas DPV com a concentração de DA de $4,0$ a $95 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH $6,0$, $a = 50\text{mV}$ e $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ utilizando o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*). $C_{\text{DA}} = 4,0, 6,0, 8,0, 10, 20, 40, 60, 80$ e $95 \mu\text{mol L}^{-1}$.

A curva analítica foi obtida medindo-se a corrente de pico obtidas nos voltamogramas para as diferentes concentrações, em triplicata. Uma curva linear foi obtida no intervalo entre $4,0$ e $95 \mu\text{mol L}^{-1}$, obedecendo a Equação 11:

$$I = 1,57 \times 10^{-2} \mu A + 3,54 \times 10^{-2} \mu A \mu mol^{-1} L C_{[DA]} \quad (n = 9, R = 0,998) \quad (11)$$

O limite de detecção encontrado no intervalo de 4,0 a 95 $\mu mol L^{-1}$ foi de 0,61 $\mu mol L^{-1}$, determinado como descrito na Equação 8.

O limite de quantificação (LQ)⁵⁴ encontrado foi de 2,03 $\mu mol L^{-1}$, determinado como dez vezes o desvio do branco (S_d) dividido pelo coeficiente angular da reta (b), conforme Equação 12.

$$LQ = 10S_d/b \quad (12)$$

Uma curva analítica também foi obtida para o eletrodo de carbono vítreo, usando as mesmas condições empregadas para o compósito. Uma resposta linear foi observada entre 2,0 e 9,95 $\mu mol L^{-1}$, obedecendo a Equação 13:

$$I = - 5,72 \times 10^{-2} \mu A + 6,89 \times 10^{-2} \mu A \mu mol^{-1} L C_{[DA]} \quad (n = 5, R = 0,998) \quad (13)$$

O LD obtido para o intervalo linear de 2,0 a 9,95 $\mu mol L^{-1}$ foi de 0,46 $\mu mol L^{-1}$, conforme descrito na Equação 8. O LQ obtido nesse intervalo foi de 1,53 $\mu mol L^{-1}$, determinado como descrito na Equação 12.

Estes resultados mostram que o eletrodo de carbono vítreo é mais sensível que o compósito, apresentando um LD menor que aquele obtido para o eletrodo compósito 70% (grafite, m/m). Entretanto, o eletrodo compósito tem a vantagem de apresentar uma região linear de resposta mais ampla que o carbono vítreo, como mostrado na Figura 18.

Figura 18. Curvas analíticas obtidas para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) e para o carbono vítreo, em solução tampão fosfato pH 6,0, contendo diferentes concentrações de DA.

4.2.1.4 Curvas de Adição de Padrão

O método de adição de padrão foi utilizado na determinação voltamétrica da quantidade de dopamina presente na formulação farmacêutica Inotropisa. Foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*), em triplicata, utilizando as condições experimentais otimizadas anteriormente.

Os resultados obtidos na determinação de DA, em injeção, por DPV foram comparados ao método cromatográfico HPLC, que é o método padrão descrito na Farmacopéia Americana (USP)⁵¹. Os resultados estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 8. Determinação de DA no medicamento Inotropisa usando DPV e o método cromatográfico HPLC

Amostra	Dopamina (mg mL ⁻¹)			E1 %	E2%
	Rotulado	DPV ^a	HPLC ^b		
Inotropisa	5,00	5,16 ± 0,08	5,32 ± 0,05	-3,01	3,20

^a = resultado ± desvio padrão (n = 3)^b = resultado ± desvio padrão (n = 2)

E1: DPV vs. HPLC [(DPV-HPLC)/HPLC]

E2: DPV vs. Rotulado [(DPV-rotulado)/rotulado]

Os resultados obtidos pelo método proposto DPV concordam com os do método comparativo HPLC em 95% de confiança, segundo o teste *t*-Student, quando se consideram os desvios padrão pareados.

As adições de dopamina padrão à solução da formulação farmacêutica Inotropisa mostraram recuperação entre 92,2 e 115,5%.

4.2.2 Determinação de Atenolol Utilizando Técnicas Voltamétricas

O eletrodo compósito grafite/Araldite[®] foi testado quanto à sua potencialidade na determinação de atenolol. O atenolol foi escolhido devido ao seu papel importante na indústria farmacêutica, no tratamento da hipertensão e outras doenças cardiovasculares.

4.2.2.1 Voltametria Cíclica

Ao iniciar os estudos utilizando o atenolol, foram realizadas medidas em voltametria cíclica, para a determinação do pH com resposta voltamétrica melhor definida. Para isso, foram obtidos voltamogramas cíclicos utilizando o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*) em valores de pH entre 2 e 12. Mas, apenas a partir de pH 10, pode ser observado o pico de oxidação do ATN como mostrado na Figura 19.

O pico de oxidação do ATN utilizando o compósito 70% (grafite, *m/m*) ocorre em aproximadamente 720 mV, representando um sistema irreversível, em meio básico.

Pelos voltamogramas da Figura 19, pode ser observado que em pH 10 o pico de oxidação do ATN apresenta maior intensidade de corrente, portanto foi o pH escolhido para os estudos seguintes. Nos demais pH investigados não foi possível observar resposta voltamétrica que pudesse ser utilizada na determinação quantitativa do analito.

O mecanismo de eletro-oxidação do atenolol não é exatamente conhecido, na literatura.

Mulla *et al.*⁵⁶ descrevem uma oxidação do atenolol com KMnO_4 e sugerem que ocorra clivagem na ligação da amina, segundo a Equação 14.

Isto concorda com o que é observado nos estudos voltamétricos, pois a oxidação dos grupos amino ocorre, normalmente, em meio básico e o pK_a do atenolol é de 9,4. Segundo Martinez *et al.*⁵⁷ o equilíbrio ácido-base do ATN pode ser representado pela Equação 15.

Goyal e Singh²⁵ sugerem que a oxidação do ATN ocorre por um pico de oxidação em 1040 mV (vs. Ag/AgCl), o qual seria atribuído à oxidação do grupo hidroxila secundário. Entretanto, os autores usaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com C_{60} , que difere do sistema aqui proposto e os resultados não são compatíveis com o que foi observado no presente trabalho.

Figura 19. Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo composto 70% (grafite, *m/m*) utilizando solução de ATN 5,0 mmol L⁻¹ em tampão fosfato, com diferentes valores de pH, com $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$.

4.2.2.2 Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais

O estudo do efeito da velocidade de varredura de potenciais na resposta voltamétrica do atenolol, foi realizado utilizando o eletrodo composto 70% (grafite, m/m), em voltametria cíclica, com velocidades de varredura entre 2,5 e 100 $mV s^{-1}$, como apresentado na Figura 20.

Figura 20. Voltamogramas cíclicos em velocidades de varredura entre 2,5 e 100 $mV s^{-1}$, utilizando o composto 70% (grafite, m/m) em solução 5,0 $mmol L^{-1}$ de ATN em tampão fosfato pH 10.

Os voltamogramas cíclicos mostram uma perda de definição do pico de corrente, deslocamento do pico anódico para potenciais mais positivos e aumento significativo da corrente residual em velocidades acima de 25 $mV s^{-1}$.

A análise da dependência das correntes de pico anódico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura (Figura 21) mostrou linearidade, indicando que a transferência de carga é controlada por difusão.

Apesar do aumento da corrente de pico, o aumento da corrente residual, torna difícil a medida precisa da corrente em velocidades maiores.

Devido a esta dificuldade, torna-se também difícil obter um gráfico de I_p vs. $v^{1/2}$ e decidir sobre a linearidade da reta obtida. Uma análise dos pontos do gráfico da Figura 21 sugere:

para $n = 6$, $R = 0,997$

para $n = 5$, $R = 0,998$

seguramente a linearidade é obtida para $n = 5$, sugerindo que a transferência de carga é controlada por difusão para velocidade de varredura entre 2,5 e 50 mV s^{-1} .

Figura 21 - Dependência da velocidade de varredura dos picos anódicos com a raiz quadrada da velocidade de varredura para o eletrodo compósito 70% (grafite, m/m) em solução 5,0 mmol L^{-1} de ATN em tampão fosfato pH 10.

4.2.2.3 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

Para a otimização dos parâmetros em DPV, foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial para ATN $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 10, utilizando o eletrodo compósito 70% (grafite, m/m). Foram totalizados quatro experimentos, a partir de uma calibração multivariada, visando otimizar a amplitude (a) e a velocidade

de varredura (v), usando um planejamento fatorial de 2^n , onde n = número de variáveis ($a = 10$ e 50 mV e $v = 10$ e 50 mV s⁻¹).

Os voltamogramas resultantes estão apresentados na Figura 22, na qual é possível observar o pico de oxidação do ATN próximo de 800 mV, com melhor definição de pico com $a = 50$ mV e maiores sensibilidades com $v = 10$ mV s⁻¹, aliado a uma menor corrente residual após o pico, devido à sua antecipação em relação à descarga do eletrólito. Utilizando $a = 10$ mV, uma sensibilidade muito baixa foi encontrada. Então, 50 mV e 10 mV s⁻¹ foram usadas como amplitude de pulso e velocidade de varredura, respectivamente, nos estudos seguintes.

Figura 22. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o eletrodo composto 70% (grafite, m/m), usando solução de ATN $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato pH 10.

4.2.2.4 Curvas Analíticas para Atenolol

Após a otimização dos parâmetros, como $a = 50$ mV e $v = 10$ mV s⁻¹ e pH 10, curvas analíticas foram obtidas para o ATN utilizando o eletrodo composto 70% (grafite, m/m) e o carbono vítreo para comparação.

Os voltamogramas foram obtidos sem necessidade de renovação da superfície do eletrodo entre as medidas voltamétricas sucessivas, em um intervalo de concentração de ATN entre 1,99 e 84,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Figura 23. Dependência dos voltamogramas DPV com a concentração de ATN de 4,45 a 84,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 10, $\alpha = 50 \text{ mV}$, $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$ utilizando eletrodo composto 70% (grafite, m/m). No detalhe a curva analítica descrita no texto.

Na Figura 23, os voltamogramas de pulso diferencial mostram um aumento da corrente de pico com o aumento da concentração de ATN. No intervalo estudado, foi determinada uma região linear no intervalo entre 4,45 e 84,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obedecendo a Equação 16:

$$I_p = 1,40 \times 10^{-2} \mu\text{A} + 1,30 \times 10^{-2} \mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{ L } C_{[\text{ATN}]} \quad (n = 9, R = 0,999) \quad (16)$$

O limite de detecção encontrado considerando a região linear de 4,45 a 84,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi de 2,23 $\mu\text{mol L}^{-1}$, determinado como descrito na Equação 8. O limite de quantificação (LQ) encontrado foi de 7,45 $\mu\text{mol L}^{-1}$, conforme descrito na equação 12.

Uma curva analítica também foi obtida para o eletrodo de carbono vítreo, usando as mesmas condições empregadas para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*).

Uma resposta linear foi observada entre 21,1 a 111 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obedecendo a Equação 17:

$$I_p = 5,70 \times 10^{-2} (\mu\text{A}) + 7,00 \times 10^{-3} \mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{ L } C_{[\text{ATN}]} \quad (n = 9, R = 0,999) \quad (17)$$

O limite de detecção obtido para o intervalo linear de 21,1 a 111 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi de 2,98 $\mu\text{mol L}^{-1}$, determinado como descrito na Equação 8.

O LQ encontrado foi de 9,56 $\mu\text{mol L}^{-1}$, conforme Equação 12.

Comparando o eletrodo compósito grafite-Araldite[®] 70 % (grafite, *m/m*) com o eletrodo de carbono vítreo pode-se concluir que o compósito apresenta maior sensibilidade e menor LD.

4.2.2.5 Curvas de Adição de Padrão

O método de adição de padrão foi utilizado para a determinação voltamétrica da quantidade de ATN presente nas formulações farmacêuticas.

Os voltamogramas de pulso diferencial foram obtidos para o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*), em triplicata, utilizando as condições descritas anteriormente (4.2.2.4). Neste caso, as medidas de corrente não puderam ser efetuadas de forma direta, como na curva analítica da Figura 23, provavelmente devido à presença dos concomitantes da formulação farmacêutica. Foi necessário estimar o branco usando gráficos e, então, medir as correntes nos potenciais de pico. Um exemplo do procedimento adotado é mostrado na Figura 24, na qual a curva em

vermelho representa o branco estimado e a reta em azul o potencial fixado para a medida do valor da corrente de pico.

Figura 24. Demonstração do uso do método gráfico na estimativa do valor da corrente de pico do voltamograma de pulso diferencial obtido para o eletrodo composto 70% (grafite, *m/m*) para a determinação de ATN, em formulações farmacêuticas: (a) branco, tampão fosfato pH 10, sem ATN, (b) curva estimada para a linha base na presença da formulação farmacêutica contendo ATN e (c) resposta voltamétrica na presença do ATN.

Os resultados obtidos na determinação de ATN por DPV foram comparados ao método HPLC e os resultados estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Determinação de ATN em formulações farmacêuticas usando o eletrodo composto 70% (grafite, *m/m*) em DPV e o método cromatográfico HPLC

Amostra	Atenolol (mg g ⁻¹)			E1 (%)	E2 (%)
	Rotulado	DPV ^b	HPLC ^b		
Atenolol (G1)^a	100	104 ± 0,9	106 ± 6	-2,1	3,6
Atenolol (G2)^a	100	104 ± 2	112 ± 4	-6,4	1,7
Atenol	50	53 ± 2	51 ± 1	3,7	6,6

E1: [(DPV-HPLC)/HPLC] x 100%

E2: [(DPV-rotulado)/rotulado] x 100%

^a G, genérico.

^b Resultado ± desvio padrão (n = 3).

Os resultados obtidos pelo método proposto DPV concordam com o método comparativo HPLC em 95% de confiança, segundo o teste *t*-Student, quando se consideram os desvios padrão pareados.

As adições de atenolol padrão às soluções das formulações farmacêuticas mostraram recuperação entre 92,5 e 107,5%, para adições de 38,8, 48,1 e 57,4 µmol L⁻¹ de solução padrão de ATN.

4.2.3 Determinação de Atenolol em Águas Naturais

Uma vez definidas as condições para determinação de ATN, usando o eletrodo compósito, decidiu-se desenvolver uma aplicação deste procedimento a uma amostra mais complexa que as formulações farmacêuticas.

Devido à nossa dificuldade em obter amostras de origem biológica, com o certificado de segurança apropriado, e dificuldades de tratar e descartar adequadamente, tais amostras realizou-se a determinação de ATN em amostras de águas naturais.

A importância da determinação de fármacos neste tipo de matriz ambiental já foi apresentada e discutida na Introdução deste trabalho.

Devido à facilidade de coleta e por se tratar de amostras sem complicação de poluição ambiental ou biológica, optou-se em utilizar a água do lago da UFSCar, que foi intencionalmente “contaminada” com ATN, conforme descrito na Parte Experimental (3.3.12).

Inicialmente, a amostra de água contendo ATN foi submetida à extração, usando cartucho para SPE. Após a eluição e retomada do analito retido no cartucho, a quantidade de atenolol presente na amostra foi determinada pelo método da adição de padrão, usando voltametria de pulso diferencial, com o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*). Os voltamogramas foram obtidos em triplicata, e um resultado típico é apresentado na Figura 25.

Figura 25. Voltamogramas em pulso diferencial obtidos para o eletrodo 70% (grafite, *m/m*) em tampão fosfato pH 10, $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, na determinação de ATN em água natural. No detalhe, a curva de adição de padrão.

Os picos em torno de 300 e 500 mV (vs. ECS) foram atribuídos a substâncias presentes na água do lago e co-eluídos no processo de extração.

A Tabela 10 reúne os resultados das três determinações e compara os resultados obtidos com a quantidade de ATN inicialmente presente na água natural.

Tabela 10. Resultados da determinação de ATN em água natural usando o eletrodo composto 70% (grafite, *m/m*), após SPE, considerando um valor original de $5,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ na amostra

Determinação	Obtido por DPV / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperação / %
1	4,86	97,2
2	4,88	97,6
3	5,06	101,2
Média $\pm$ SD	$4,93 \pm 0,11$	$98,7 \pm 2,2$

Durante as adições de padrão foram observadas recuperações entre 92,5 e 109%, que concordam com o que foi obtido nas formulações farmacêuticas e mostram robustez do procedimento.

Finalmente, foi feito um teste usando solução de ATN em água tratada em sistema Milli-Q, ao invés de água natural, para avaliar o coeficiente de recuperação do procedimento de extração. Este teste foi realizado, pois houve uma tendência de obter valores de ATN menores que os esperados, na água natural.

Neste caso, quatro soluções de ATN foram submetidas à extração com SPE, seguida da determinação voltamétrica. Os resultados obtidos são aqueles apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Resultados da determinação de ATN em água Milli-Q usando o eletrodo compósito 70% (grafite, *m/m*), após SPE, considerando um valor original de $5,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ na amostra

Determinação	Obtido por DPV / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperação / %
1	4,85	97,0
2	5,13	102,6
3	4,80	96,1
4	4,94	98,8
Média $\pm$ SD	$4,93 \pm 0,15$	$98,6 \pm 2,8$

Foi obtido um valor de recuperação próximo do valor esperado, mostrando que o procedimento é viável e aparentemente não está sujeito a interferentes, pois valores semelhantes foram obtidos na água natural e nas soluções padrão.

Pelos resultados obtidos, conclui-se que o eletrodo compósito a base de grafite e Araldite[®] 70% (grafite, *m/m*) pode representar uma alternativa para a análise de fármacos no meio ambiente, após a sua extração em fase sólida.

4.3 Resumo dos Resultados Obtidos com os Eletrodos Compósito Grafite/Araldite® 70% (grafite, *m/m*) e Carbono Vítreo Utilizando DPV

A Tabela 12 apresenta um resumo das figuras de mérito, intervalo de resposta linear, limites de detecção e sensibilidade obtidos com o eletrodo compósito grafite-Araldite® 70% (grafite, *m/m*), comparando-os com aqueles obtidos com o eletrodo de carbono vítreo, e também com os eletrodos compósitos grafite-resina poliuretana²⁶ (GPU) e grafite-borracha de silicone³² (GBS), na determinação voltamétrica de atenolol e dopamina, respectivamente.

Tabela 12. Resultados obtidos utilizando diferentes eletrodos compósitos e carbono vítreo

Analitos	Eletrodos	Região linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Sensibilidade / $\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{ L}$
Atenolol	Compósito grafite-Araldite® 70%	4,45 - 84,7	2,23	0,0130
	Carbono vítreo	21,1 - 111	2,98	0,0070
	GPU 60%	4,0 - 100	3,20	0,1500
	Compósito grafite-Araldite® 70%	4,0 - 95	0,61	0,0354
Dopamina	Carbono vítreo	2,0 - 9,95	0,46	0,0689
	GBS 70%	1,0 - 100	1,10	0,0416

Dos resultados apresentados pode-se observar que o compósito grafite-Araldite® 70% (grafite, *m/m*) apresentou melhor desempenho que o eletrodo de carbono vítreo.

Os eletrodos compósitos grafite-PU e grafite-BS apresentam resultados semelhantes ao eletrodo compósito grafite-Araldite®.

Conclusões

5. Conclusões

Após realizar este trabalho, conclui-se que:

- É possível obter eletrodos compósitos a partir de grafite e Araldite®. Os eletrodos compósitos contendo 70% de grafite (*m/m*) foram os que apresentaram resultados voltamétricos com maior corrente de pico e repetibilidade de resposta, usando solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ como sonda.
- Os eletrodos apresentaram possibilidade de uso em amplas regiões de potencial, em meio aquoso, sem necessidade de desaeração das soluções.
- A homogeneidade do compósito foi constatada pelos resultados de TG, sendo os teores de grafite medidos, próximos dos valores esperados.
- A dopamina pode ser determinada em formulações farmacêuticas, em região linear de resposta mais ampla que aquela medida com o eletrodo de carbono vítreo, apesar do maior limite de detecção observado com o compósito. Não houve evidências de adsorção, pois não foi necessário renovar a superfície do eletrodo compósito entre as medidas.
- O atenolol também pode ser determinado tanto em água natural como em formulações farmacêuticas, usando o eletrodo compósito grafite-Araldite® 70% (grafite, *m/m*). Neste caso, também não houve evidência de adsorção e o eletrodo foi mais sensível que o carbono vítreo.

Referências Bibliográficas

6. Referências Bibliográficas

1. DELAHAY, P. **New Instrumental Methods in Electrochemistry Interscience**. New York: Interscience Publishers, 1954. 437 p.
2. ADAMS, R. N. **Electrochemistry at Solid Electrodes**. New York: Marcel Dekker, 1969. 402 p.
3. GALUS, Z. Mercury Electrodes. In: KISSINGER, P. T.; HEINEMAN, W. R. (Eds.). **Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 443-446.
4. KINOSHITA, K. **Carbon: Electrochemical and Physicochemical Properties**. New York: John Wiley, 1988. 533 p.
5. TALLMAN, D. E.; PETERSEN, S. L. Composite electrodes for electroanalysis: principles and applications. **Electroanalysis**, v. 2, p. 499-510, 1990.
6. RAMIREZ-GARCIA, S.; ALEGRET, S.; CESPEDES, F.; FOSTER, R. J. Carbon composite electrodes: surface and electrochemical properties. **The Analyst**, v. 127, n. 11, p. 1512-1519, 2002.
7. ALEGRET, S.; ALONSO, J.; BARTROLI, J.; MARTINEZ-FABREGAS, E.; VALDES-PEREZGASGA, F. Applications of graphite-epoxy composites in the construction of electrochemical sensors and biosensors. **NATO ASI series, Series E: Applied Sciences**, v. 252, p. 67-79, 1993.
8. ALEGRET, S. Rigid carbon-polymer biocomposites for electrochemical sensing. **Analyst**, v. 121, n. 12, p. 1751-1758, 1996.
9. GOMEZ, M.; MARGARITA, R.; ALEGRET, S. Chemical sensors: a contribution to analytical instrumentation. **Educacion Quimica**, v. 8, n. 4, p. 191-196, 1997.
10. KALCHER, K.; KAUFFMAN, J. M.; WANG, J.; SVANCARA, I.; VYTRAS, K.; NEUHOLD, C.; YANG, Z. Sensors based on carbon paste in electroanalytical analysis: a review with particular emphasis on the period 1990-1993. **Electroanalysis**, v. 7, n. 1, p. 5-22, 1995.

11. MASCINI, M.; PALLOZZI, F.; LIBERTI, A. A polythene graphite electrode for voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 43, p.126-131, 1973.
12. KLATT, L. N.; CONNELL, D. R.; ADAMS, R. E. Voltammetric characterization of a graphite-teflon electrode. **Analytical Chemistry**, v. 47, p. 2470-2472, 1975.
13. SWOFFORD, H. S.; CARMAN, R. L. Voltammetric applications of rotating and stationary carbon-epoxy electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 38, p. 966-969, 1966.
14. WANG, J.; NASER, N. Modified carbon-wax composite electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 316, p. 253-259, 1995.
15. STULÍK, K.; PACÁKOVÁ, V.; STÁRKOVÁ, B. Carbon paste for voltammetric detectors in high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 213, p. 41-46, 1981.
16. MANO, E. B. **Introdução a Polímeros**. São Paulo: Edgard Blücher, 1985. 111 p.
17. BRASCOLA. **Ficha de Informações de segurança de produto químico**, 2001, p. 1-9.
18. GOYAL, R. N.; GUPTA, V. K.; OYAMA, M.; BACHHETI, N. Differential pulse voltammetric determination of atenolol in pharmaceutical formulations and urine using nanogold modified indium tin oxide electrode. **Electrochemistry Communications**, v. 8, p. 65-70, 2006.
19. WINKLER, H.; RIED, W.; LEMMER, B. High-performance liquid chromatographic method for quantitative analysis of the aryloxypropanolamines propanolol, metoprolol and atenolol in plasma and tissue. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 228, p. 223-234, 1982.
20. SNOOK, C. P.; SIGVALDASON, K.; KRISTINSSON, J. Severe atenolol and diltiazem overdose. **Journal of Toxicology and Clinical Toxicology**, v. 387, p. 661, 2000.
21. ABBASI, I. A.; SORSBY, S. Prolonged toxicity from atenolol overdose in an adolescent. **Clinical Pharmacy**, v. 5, p. 836, 1986.

22. ERVIK, M.; KYLBERG-HANSEN, K.; LAGERSTROM, P. Electron-capture-gas chromatographic determination of atenolol in plasma and urine, using a simplified procedure with improved selectivity. **Journal Chromatography and Biomedical Application**, v. 182, p. 341-347, 1980.
23. LELOUX, M. S.; DOST, F. Determination of captopril using HPLC. **Chromatographia**, v. 32, p. 429, 1991.
24. ROSSEEL, M. T.; VERMEULEN, A. N.; BELPAIRE, F. M. reversed-phase high-performance liquid chromatography analysis of atenolol enantiomers in plasma after chiral derivatization with (+)-1-(9-fluorenyl)ethyl chloroformate. **Journal Chromatography and Biomedical Application**, v. 568, p. 239-245, 1991.
25. GOYAL, R. N.; SINGH, S. P. Voltammetric determination of atenolol at C₆₀-modified glassy carbon electrodes. **Talanta**, v. 69, p. 932-937, 2006.
26. CERVINI, P.; RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determination of atenolol at a graphite-polyurethane composite electrode. **Talanta**, v. 72, p. 206-209, 2007.
27. JUNIOR, R. L.; FERNANDES, J. C. B.; OLIVEIRA NETO, O. G.; KUBOTA, L. T. Development of a new FIA-potentiometric sensor for dopamine base don EVA-copper (II) ions. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 461, p. 34, 2000.
28. NAGARAJA, P.; VASANTHA, R. A.; SUNITHA, K. R. A new sensitive and selective spectrophotometric method for the determination of catechol derivatives and its pharmaceutical preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 25, p. 417, 2001.
29. CHEN, J.; SHI, Y.; LIU, J. Determination of noradrenaline and dopamine in Chinese herbal extracts from portulaca oleracea L. by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1003, p.127, 2003.
30. SALAMONE, J. D. The behavioral neurochemistry of motivation: methodological and conceptual issues in studies of the dynamic activity of nucleus accumbens dopamine. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 64, n. 2, p. 137-149, 1996.
31. ZHAO, H.; ZHANG, Y.; YUAN, Z. Study on the electrochemical behavior of dopamine with poly(sulfosalicylic acid) modified glassy carbon electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 441, p. 117, 2001.

32. OLIVEIRA, A. C. **Desenvolvimento e aplicação de eletrodos compósitos a base de borracha de silicone e grafite**. 2004. 89f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.
33. TOLEDO, R. A.; SANTOS, M. C.; CAVALHEIRO, E. T. G.; MAZO, L. H. Determination of dopamine in synthetic cerebrospinal fluid by SWV with graphite-polyurethane composite electrode. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 381, p.1161-1166, 2005.
34. SONG, Y.; SONG, Y.; XIE, W.; SHI, D. The electrochemical behavior of dopamine at glassy carbon electrode modified by Nafion multiwalled carbon nanotubes. **Russian Journal of Physical Chemistry**, v. 80, n. 9, p. 1467- 1474, 2006.
35. LY, S. Y. Detection of dopamine in the pharmacy with a carbon nanotube paste electrode using voltammetry. **Bioelectrochemistry**, v. 68, p. 227-231, 2006.
36. KACHOOSANGI, R. T.; COMPTON, R. G. A simple electroanalytical methodology for the simultaneous determination of dopamine, serotonin and ascorbic acid using a unmodified edge plane pyrolytic graphite electrode. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, p. 2793-2800, 2007.
37. LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida (SPE)**. São Carlos: Rima Editora, 2004. 96p.
38. WATERS. Chromatography columns, SPE, Supplies and Waters Quality Parts[®] catalog. Waters Corporation, 2007, 367 p.
39. DÍAZ-CRUZ, S.; BARCELÓ, D. Occurrence and analysis of selected pharmaceuticals and metabolites as contaminants present in waste waters, sludge and sediments. **The Handbook of Environmental Chemistry**, v. 5, Part J, p. 227-260, 2004.
40. ÁGUA dos EUA está contaminada com resíduos químicos. Disponível em <http://jornalnacional.globo.com/jornalismo/JN/0,,AA1675212-3586,00.html> acessado em 10/03/2008.
41. MAURER, M.; ESCHER, B. I.; RICHLE, P.; SCHAFFNER, C.; ALDER, A. C. Elimination of β -blockers in sewage treatment plants. **Water Research**, v. 41, p. 1614-1622, 2007.

42. PETROVIC, M.; HERNANDO, M. D.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. Liquid chromatography tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. **Journal of Chromatography A**, v. 1067, p. 1-14, 2005.
43. HERNANDO, M. D.; PETROVIC, M.; FERNÁNDEZ-ALBA, BARCELÓ, D. Analysis by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry and acute toxicity evaluation for β -blockers and lipid-regulating agents in wastewater samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1046, p. 133-140, 2004.
44. GROS, M.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. **Talanta**, v.70, p. 678-690, 2006.
45. CHRISTIAN, G. D.; PURDY, W. C. Residual current in orthophosphate medium. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 3, p. 363-367, 1962.
46. **FARMACOPÉIA BRASILEIRA**. 4^a ed. São Paulo: Atheneu, 1988, p. 98.
47. KISSINGER, P.T.; HEINEMAN, W.R. **Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996. 986 p.
48. **THE UNITED STATES PHARMACOPEIA**. 16^a ed. Rockville: United States Pharmacopeia Convention, 1984, p.1989.
49. MODAMIO, P.; LASTRA, C. F.; MARINO, E. L. Error structure for the HPLC analysis for atenolol, metoprolol and propranolol: a useful weighting method in parameter estimation. **Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 17, p. 507-513, 1998.
50. GOOGLE earth, Version 4.3, 2008. Disponível gratuitamente em: <http://earth.google.com/intl/pt/download-earth.html>, acessado em 26/04/2007.
51. TRIJUEQUE, J.; GARCÍA-GALEÑO, J. J.; NAVARRO-LABOULAIS, J.; SANMANTÍAS, A.; VICENTE, F. Ohmic drop of Prussian-blue/graphite+epoxy electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 45, p. 789, 1999.
52. WENDLANDT, W. W. **Thermal Analysis**. New York: John Wiley, 1986. 814 p.

53. ADAMS, R. N. Electrochemistry at solid electrodes. In: Bard, A. J. (Ed.). **Monographs in electroanalytical chemistry and electrochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1969. 402 p.
54. LONG, G. L.; WINEFORDNER, J. D. Limit of detection. **Analytical Chemistry**, v. 55, p. 712A-724A, 1983.
55. AFKHAMI, A.; NEMATOLLAHI, D.; KHALAFI, L.; RAFIEE, M. Kinetic study of the oxidation of some catecholamines by digital simulation of cyclic voltammograms. **Wiley InterScience**, v. 37, p. 17-24, 2005.
56. MULLA, R. M.; HIREMATH, G. C. NANDIBEWOR, S. T. Kinetic, mechanistic and spectral investigation of ruthenium (III) – catalysed oxidation of atenolol by alkaline permanganate (stopped-flow technique). **Journal of Chemical Science**, v. 117, p. 33-42, 2005.
57. MARTÍNEZ, R. M.; MAGUREGUI, M.I.; JIMÉNEZ, R. M.; ALONSO, R. M. Determination of the pK_a values of β -blockers by automated potentiometric titrations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 23, p. 459-468, 2000.