

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

*Aplicação de Eletrodos Compósitos a Base de
Poliuretana-Grafite*

Priscila Cervini

Tese apresentada ao Instituto de Química
de São Carlos, da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de Doutor
em Ciências (Química Analítica)

Orientador: Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro

São Carlos

2006

Dedico este trabalho,

Ao meu marido Fabio, pelo amor, compreensão, companheirismo e paciência ao longo desses anos.

Aos meus pais e meu irmão, Jurandir, Lucia e Marcelo, pelo amor, carinho, incentivo, apoio nas horas mais difíceis e pela sólida estrutura familiar.

“Pensamentos tornam-se ações, ações tornam-se hábitos, hábitos tornam-se caráter, e nosso caráter torna-se nosso destino”

(James C. Hunter)

AGRADECIMENTOS

√ *A Deus por me dar forças, saúde, a família maravilhosa que tenho e estar sempre do meu lado.*

√ *Ao Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro, por ter me dado inicialmente um voto de confiança, pela orientação em todos esses anos e incentivo, contribuindo para meu aprendizado e crescimento profissional, pelo carinho e amizade, meu pai científico.....*

√ *Ao Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice pela amizade e por ter nos acolhido em seu laboratório.*

√ *Ao Dr. Salvador Claro Neto por toda ajuda, amizade e bom humor.*

√ *Aos amigos do laboratório, Toni, Puff, Luiz, Felipe, Royal, André, Paulo, Rafael, Guto, Bruno, Naíse, Gabi, Marcelo, Grazi, Lu, Bel, Júnia, Carol, Lucinéia, Barbie, Amanda, Milena, Rita, Ivana.*

√ *Principalmente a vocês meninas, Ivana, Mi e Ritinha, pela amizade sincera e verdadeira que construímos, pela cumplicidade e por todo apoio e carinho que vocês sempre me deram em todos os momentos. Espero conservar essa amizade pra sempre.....*

√ *Aos amigos que estavam aqui quando cheguei, mas não estão mais, Aline 1, Juliana, Ana Paula, Natilene, Fabiano, Mariano, Mouchrek, Estrela, Glimaldo, João, Márton, Rogério, Rosa, Mônica, Cláudia.*

√ *À minha segunda família, Zé Assumpção, Yara, Alfredo e Bete.*

√ *A todos meus amigos que não fazem parte do laboratório, mas estão sempre presentes em minha vida.*

√ *À CAPES, pela bolsa concedida.*

SUMÁRIO

<i>RESUMO</i>	XIII
<i>ABSTRACT</i>	XV
<i>LISTA DE FIGURAS</i>	XVII
<i>LISTA DE TABELAS</i>	XXV
<i>GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS</i>	XXVII
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	29
1.1 Apresentação.....	29
1.2 Classificação dos Eletrodos Compósitos.....	31
1.3 Métodos de Preparação de Compósitos.....	32
1.4 Resina Poliuretana.....	33
1.5 Revisão Bibliográfica sobre Eletrodos Compósitos.....	35
1.6 Técnicas Voltamétricas.....	40
1.6.1 Técnicas de Pulso.....	41
1.6.1.1 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	41
1.6.1.2 Voltametria de Onda Quadrada (SWV).....	43
1.7 Eletrodo de Disco Rotatório (RDE).....	45
1.8 Análise por Injeção em Fluxo (FIA).....	50
1.8.1 Constituição do Sistema FIA.....	51
1.8.2 Configurações do Sistema FIA.....	53
1.8.2.1 Sistema em Linha Única.....	53
1.8.2.2 Sistema em Confluência.....	53
1.8.2.3 Sistema com Zonas Coalescentes.....	54
1.8.2.4 Outros Sistemas.....	54
1.9 Objetivos.....	55

CAPÍTULO 2 - ESPÉCIES ESTUDADAS	56
2.1 Hidroquinona (HQ).....	56
2.2 Paracetamol (APAP).....	57
2.3 Atenolol (ATN).....	59
CAPÍTULO 3 – PARTE EXPERIMENTAL	61
3.1. Equipamentos.....	61
3.1.1. Medidas Voltamétricas.....	61
3.1.2. Eletrodos.....	61
3.1.2.1. Eletrodos de Referência.....	61
3.1.2.2. Eletrodo Auxiliar.....	61
3.1.2.3. Eletrodos de Trabalho.....	62
3.1.2.4. Eletrodos de Carbono Vítreo (GC).....	62
3.1.3. Célula Eletroquímica.....	62
3.1.4. Sistema de Análise por Injeção em Fluxo.....	62
3.1.4.1. Bomba Peristáltica.....	63
3.1.4.2. Injetor Comutador.....	63
3.1.4.3. Tubos e Conexões	64
3.1.4.4. Registrador.....	64
3.1.4.5. Célula Eletroquímica de Fluxo.....	64
3.2. Reagentes e Soluções.....	65
3.2.1. Soluções Tampão.....	66
3.2.2. Solução de Ferricianeto de Potássio.....	66
3.2.3. Solução de Hidroquinona	66
3.2.4. Solução de Paracetamol.....	67
3.2.5. Solução de Atenolol.....	67

3.2.6. Solução das Amostras.....	67
3.2.6.1. Amostra de Hidroquinona.....	67
3.2.6.2. Amostras de Paracetamol.....	67
3.2.6.3. Amostras de Atenolol.....	68
3.3. Procedimentos Experimentais.....	69
3.3.1 Confeção dos Eletrodos.....	69
3.3.2 Tratamento Mecânico.....	72
3.3.3 Estudo da Pressão Aplicada aos Eletrodos Compósitos 60% (grafite, <i>m/m</i>) durante a Cura da Resina PU.....	72
3.3.3.1 Resistência Ôhmica.....	72
3.3.3.2 Determinação da Área Ativa dos Eletrodos.....	73
3.3.3.3 Curvas Analíticas.....	73
3.3.4 Obtenção de Curvas Analíticas para o Ferricianeto de Potássio Utilizando Voltametria de Onda Quadrada (SWV).....	73
3.3.4.1. Voltametria Cíclica.....	74
3.3.4.2. Voltametria de Onda Quadrada (SWV).....	74
3.3.4.3 Curvas Analíticas.....	74
3.3.5 Obtenção de Curvas Analíticas para o Ferricianeto de Potássio Utilizando Eletrodo Rotatório.....	75
3.3.5.1 Voltametria de Varredura Linear.....	75
3.3.5.2 Curvas Analíticas.....	75
3.3.6 Determinação de Hidroquinona em Reveladores Fotográficos Utilizando Voltametria de Onda Quadrada (SWV).....	76
3.3.6.1. Voltametria Cíclica.....	76
3.3.6.2. Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais.....	76

3.3.6.3. Voltametria de Onda Quadrada	76
3.3.6.4 Curvas Analíticas.....	77
3.3.6.5 Estudo da Repetibilidade.....	77
3.3.6.6 Método de Adição de Padrão.....	77
3.3.6.7 Estudo de Interferentes.....	78
3.3.6.8 Método Comparativo.....	78
3.3.7 Determinação de Hidroquinona em Reveladores Fotográficos Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA).....	79
3.3.7.1 Efeito do Potencial de Detecção.....	79
3.3.7.2 Efeito da Vazão da Solução Carregadora.....	79
3.3.7.3 Efeito do Volume da Alça de Amostragem.....	80
3.3.7.4 Curvas Analíticas.....	80
3.3.7.5 Determinação de HQ no Revelador Fotográfico.....	81
3.3.7.6 Método Comparativo.....	81
3.3.7.7 Estudo da Repetibilidade.....	81
3.3.8 Determinação de Paracetamol em Formulações Farmacêuticas Utilizando Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	81
3.3.8.1 Voltametria Cíclica.....	82
3.3.8.2 Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais.....	82
3.3.8.3 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	82
3.3.8.4 Estudo da Repetibilidade.....	82
3.3.8.5 Curvas Analíticas.....	83
3.3.8.6 Método de Adição de Padrão.....	83
3.3.8.7 Estudo de Interferentes.....	83
3.3.8.8 Método Comparativo.....	84

3.3.9 Determinação de Paracetamol em Formulações Farmacêuticas Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA).....	85
3.3.9.1 Efeito do Potencial de Detecção.....	85
3.3.9.2 Efeito da Vazão da Solução Carregadora.....	85
3.3.9.3 Efeito do Volume da Alça de Amostragem.....	85
3.3.9.4 Curvas Analíticas.....	86
3.3.9.5 Determinação de APAP em Formulações Farmacêuticas Comerciais.....	86
3.3.9.6 Método Comparativo.....	86
3.3.9.7 Estudo da Repetibilidade.....	87
3.3.9.8 Estudo de Interferentes.....	87
3.3.10 Obtenção de Curvas Analíticas para o Paracetamol Utilizando Cronoamperometria.....	87
3.3.10.1 Curvas Analíticas.....	87
3.3.11 Obtenção de Curvas Analíticas para o Paracetamol Utilizando Eletrodo Rotatório.....	88
3.3.11.1 Voltametria de Varredura Linear.....	88
3.3.11.2 Curvas Analíticas.....	88
3.3.12 Determinação de Atenolol Utilizando Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	89
3.3.12.1 Voltametria Cíclica.....	89
3.3.12.2 Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais.....	89
3.3.12.3 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	90
3.3.12.4 Estudo da Repetibilidade.....	90
3.3.12.5 Curvas Analíticas.....	90
3.3.12.6 Método de Adição de Padrão.....	91
3.3.12.7 Estudo de Interferentes.....	91

3.3.12.8 Método Comparativo.....	91
3.3.13 Determinação de Atenolol em Formulações Farmacêuticas Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA).....	92
3.3.13.1 Efeito do Potencial de Detecção.....	92
3.3.13.2 Efeito da Vazão da Solução Carregadora.....	92
3.3.13.3 Efeito do Volume da Alça de Amostragem.....	93
3.3.13.4 Curvas Analíticas.....	93
3.3.13.5 Determinação de ATN em Formulações Farmacêuticas.....	93
3.3.13.6 Método Comparativo.....	94
3.3.13.7 Estudo da Repetibilidade.....	94
3.3.13.8 Estudo de Interferentes.....	94
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DUSCUSSÃO.....	95
4.1 Estudo da Pressão Aplicada aos Eletrodos Compósitos 60% (grafite, <i>m/m</i>) durante a Cura da Resina PU.....	95
4.1.1 Resistência Ôhmica	95
4.1.2 Determinação da Área Ativa dos Eletrodos por Cronocoulometria	96
4.1.3 Curvas Analíticas	96
4.2 Obtenção de Curvas Analíticas para o Ferricianeto de Potássio Utilizando Voltametria de Onda Quadrada (SWV).....	97
4.2.1 Voltametria Cíclica.....	98
4.2.2 Voltametria de Onda Quadrada.....	100
4.2.3 Curvas Analíticas.....	101
4.3 Obtenção de Curvas Analíticas para o Ferricianeto de Potássio Utilizando Eletrodo Rotatório.....	102
4.3.1 Voltametria de Varredura Linear.....	102

4.3.2	Curvas Analíticas.....	107
4.4	Determinação de Hidroquinona em Reveladores Fotográficos Utilizando Voltametria de Onda Quadrada (SWV).....	109
4.4.1	Voltametria Cíclica.....	109
4.4.2	Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais.....	110
4.4.3	Voltametria de Quadrada.....	112
4.4.4	Curvas Analíticas.....	114
4.4.5	Estudo da Repetibilidade.....	116
4.4.6	Método de Adição de Padrão.....	117
4.5	Determinação de Hidroquinona em Reveladores Fotográficos Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA).....	118
4.5.1	Efeito do Potencial	118
4.5.2	Efeito da Vazão da Solução Carregadora.....	119
4.5.3	Efeito do Volume da Alça de Amostragem.....	120
4.5.4	Curvas Analíticas	121
4.5.5	Determinação de HQ no Revelador Fotográfico.....	123
4.5.6	Estudo da Repetibilidade.....	125
4.6	Determinação de Paracetamol em Formulações Farmacêuticas Utilizando Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	126
4.6.1	Voltametria Cíclica.....	126
4.6.2	Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais.....	129
4.6.3	Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	131
4.6.4	Curvas Analíticas.....	132
4.6.5	Estudo da Repetibilidade.....	134
4.6.6	Método de Adição de Padrão.....	134

4.6.7 Estudo de Interferentes.....	136
4.7 Determinação de Paracetamol em Formulações Farmacêuticas Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA).....	136
4.7.1 Efeito do Potencial	136
4.7.2 Efeito da Vazão da Solução Carregadora.....	137
4.7.3 Efeito do Volume da Alça de Amostragem.....	138
4.7.4 Curvas Analíticas	139
4.7.5 Determinação de APAP em Formulações Farmacêuticas.....	142
4.7.6 Estudo da Repetibilidade.....	143
4.7.7 Estudo de Interferentes.....	144
4.8 Obtenção de Curvas Analíticas para o Paracetamol Utilizando Cronoamperometria	145
4.8.1 Curvas Analíticas.....	145
4.9 Obtenção de Curvas Analíticas para o Paracetamol Utilizando Eletrodo Rotatório.....	147
4.9.1 Voltametria de Varredura Linear.....	147
4.9.2 Curvas Analíticas.....	151
4.10 Determinação de Atenolol Utilizando Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	153
4.10.1 Voltametria Cíclica.....	153
4.10.2 Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais.....	154
4.10.3 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).....	157
4.10.4 Curvas Analíticas.....	160
4.10.5 Estudo da Repetibilidade.....	163
4.10.6 Curvas de Adição de Padrão.....	163
4.10.7 Estudo de Interferentes.....	164

4.11 Determinação de Atenolol em Formulações Farmacêuticas Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA).....	165
4.11.1 Efeito do Potencial	165
4.11.2 Efeito da Vazão da Solução Carregadora.....	166
4.11.3 Efeito do Volume da Alça de Amostragem.....	167
4.11.4 Curvas Analíticas	168
4.11.5 Determinação de ATN em Formulações Farmacêuticas.....	170
4.11.6 Estudo da Repetibilidade.....	172
4.11.7 Estudo de Interferentes.....	173
4.12 Resumo dos limites de detecção e quantificação obtidos com o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) e carbono vítreo utilizando as diferentes técnicas e analitos descritos neste trabalho.....	174
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES.....	175
CAPÍTULO 6 – TRABALHOS FUTUROS.....	176
CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	177

RESUMO

Eletrodos compósitos à base de grafite e resina poliuretana de origem vegetal foram preparados e avaliados quanto ao seu desempenho em relação à determinação voltamétrica e amperométrica de hidroquinona, paracetamol e atenolol.

Os eletrodos foram preparados sob pressões diferentes em prensa hidráulica, demonstrando que quanto maior a pressão, maior a corrente medida para uma mesma solução, até um valor limite.

O ferricianeto de potássio foi usado como sonda eletroquímica para testes de desempenho do eletrodo em voltametria de onda quadrada (SWV) e por análise em fluxo (FIA), com detecção amperométrica com o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) como eletrodo de trabalho.

A hidroquinona (HQ) foi determinada em SWV e FIA, com limites de detecção (LD) da ordem de 283 nmol L⁻¹ e 100 μmol L⁻¹, respectivamente. A determinação de HQ em reveladores fotográficos forneceu resultados que concordam com o método de comparação em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), com 95% de confiança.

Determinação de paracetamol (APAP) em voltametria de pulso diferencial (DPV), eletrodo de disco rotatório (RDE), FIA e cronoamperometria levaram a limites de detecção de 3,9; 2,6; 18,9 e 6,7 μmol L⁻¹, respectivamente, usando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*). O APAP foi determinado em formulações farmacêuticas comerciais, com o compósito, em DPV e FIA, com resultados concordantes com HPLC, com 95% de confiança.

Estudos também foram feitos na determinação de atenolol (ATN) em DPV e FIA, com limites de detecção de 3,2 e 18,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, usando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*). Em formulações farmacêuticas foi possível determinar o ATN em concordância com resultados de HPLC.

Houve interferência de ácido ascórbico no APAP e furosemida e propanolol no caso do ATN. Entretanto, os concomitantes presentes em formulações farmacêuticas não interferiram e procedimentos de adição de padrão permitiram obter resultados satisfatórios em DPV.

Apenas o ATN se adsorve na superfície do eletrodo, usando DPV, mas foi possível determiná-lo sem necessidade de renovação de superfície entre medidas sucessivas, inclusive em fluxo.

Em todos os casos o compósito foi mais sensível que o carbono vítreo, talvez pela presença de grupos funcionais no polímero e/ ou pela área ativa do compósito.

ABSTRACT

Composite electrodes from graphite and vegetal polyurethane resin were prepared and evaluated in relation to their performance in voltammetric and amperometric determination of hydroquinone (HQ), acetaminophen (APAP) and atenolol (ATN).

The electrodes were cured under different pressures in an hydraulic press showing that as higher the pressure, higher the current measured for a same solution, until a limiting value.

Potassium ferricyanide was used as an electrochemical probe to test the performance of the electrode in square wave voltammetry (SWV) and as a rotating disc electrode (RDE).

The HQ was determined using SWV and FIA, with amperometric detection at the composite electrode as a working electrode. Limits of detection (LD) of 283 nmol L⁻¹ and 100 μmol L⁻¹ were obtained in SWV and FIA, respectively. The determination of HQ in photographic developers showed results that agreed a comparison method based on of high performance liquid chromatography (HPLC) with 95% of confidence.

The APAP was determined in differential pulse voltammetry (DPV), RDE, FIA and chronoamperometry, with LD 3.9, 2.6, 18.9 and 6.7 μmol L⁻¹, respectively, using the graphite-PU 60 % (graphite, *w/w*) composite electrode. The procedure was applied in the determination of APAP in commercial pharmaceutical formulations, at the composite in DPV and FIA with results that agreed with HPLC at 95% confidence level.

The ATN was also determined using DPV and FIA, with LD of 3.2 and 18.1 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. In pharmaceutical formulations it was possible to determine the ATN in agreement with results of HPLC.

Interference of ascorbic acid in the APAP and furosemide and propranolol using ATN determinations were observed. However, the concomitants present in pharmaceutical formulation did not interfere and standard addition procedures permitted to obtain satisfactory results in DPV. In FIA, standard addition was not necessary, being the analytes determined on the bases of analytical curves.

Only ATN adsorbed in the surface of the electrode using DPV, but it was possible to determine it without necessity of surface renovation between successive measurements, including in FIA.

In all cases, the composite was more sensitive than glassy carbon (GC), probably due to the presence of functional groups in the polymer and/ or because of the active area of the composite.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Esquema da classificação para eletrodos compósitos empregados em eletroanalítica.....31
- Figura 2** - DPV. (a) Esquema de aplicação de potenciais (algumas vezes sobrepostos sobre uma rampa ao invés de uma escada); (b) Modelo esquemático do voltamograma resultante.....42
- Figura 3** - Representação esquemática da voltametria de onda quadrada, onde: (a) potencial na forma de onda; (b) escada de potencial; (c) forma de aplicação do potencial na SWV; (d) forma da onda da corrente e (e) corrente total.....44
- Figura 4** - Representação do modelo da camada de difusão de Nernst.....46
- Figura 5** - Movimento da solução causado pela rotação do RDE. (a) fluxo da solução do eletrólito; (b) eletrodo de carbono vítreo; (c) corpo RDE; (d) direção da rotação do eletrodo.....48
- Figura 6** - Diagrama esquemático do sistema de fluxo utilizado. **S**, solução contendo o analito; **Ca**, solução carregadora; **D**, descarte; **R**, **T**, **C**, eletrodos de referência (Ag/AgCl), trabalho (compósito 60%, grafite, *m/m*) e contra-eletrodo (disco de platina), respectivamente.....63
- Figura 7** - Esquema da célula eletroquímica usada nas medidas de FIA. (a) Eletrodo de trabalho (compósito 60%), (b) Eletrodo de referência (Ag/AgCl), (c) Contra-eletrodo (disco de platina), (d) Bloco de resina poliuretana, (e) Tubo de polietileno.....65
- Figura 8** - Representação esquemática da prensa manual utilizada na preparação dos compósitos grafite-PU (grafite, *m/m*).....69
- Figura 9** - Esquema do eletrodo compósito grafite-PU.....70
- Figura 10** - Esquema do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) utilizado em FIA.....71
- Figura 11** - Esquema do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) utilizado em RDE71

Figura 12 - 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 0,50 mol L ⁻¹ , $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	99
Figura 13 - Voltamogramas de onda quadrada para $K_3[Fe(CN)_6]$ 5,0 mmol L ⁻¹ em KCl 0,50 mol L ⁻¹ pH 3, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. (a) corrente resultante, (b) corrente direta, (c) corrente reversa.....	100
Figura 14 - Dependência da corrente de pico com a concentração para o $[Fe(CN)_6]^{3-}$ em KCl 0,50 mol L ⁻¹ , pH 3 utilizando o compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em SWV, com $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$	101
Figura 15 - Voltamogramas de varredura linear em velocidades entre 2 e 100 mV s^{-1} , utilizando o compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 1,0 mmol L ⁻¹ de $K_3[Fe(CN)_6]$ em 0,50 mol L ⁻¹ de KCl.....	103
Figura 16 - Voltamogramas de varredura linear em velocidades de varredura entre 2 e 100 mV s^{-1} , com rotação de 500 rpm, utilizando o compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 1,0 mmol L ⁻¹ de $K_3[Fe(CN)_6]$ em 0,50 mol L ⁻¹ de KCl.....	104
Figura 17 - Voltamogramas de varredura linear registrados em presença de 1,0 mmol L ⁻¹ de $K_3[Fe(CN)_6]$, utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em (--) condições estáticas a 100 mV s^{-1} e (-) condições dinâmicas a 500 rpm e 15 mV s^{-1}	105
Figura 18 - Voltamogramas de varredura linear registrados em solução 1,0 mmol L ⁻¹ de $K_3[Fe(CN)_6]$ em 0,50 mol L ⁻¹ de KCl, em diferentes valores de ω , $v = 15 \text{ mV s}^{-1}$, utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) (a), Gráfico de Levich obtido a partir da Figura 18.a (b).....	106
Figura 19 - Amperograma obtido para o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em concentrações (a) 19, (b) 38, (c) 56, (d) 74, (e) 91, (f) 107, (g) 123, (h) 138 e (i) 153 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de $K_3[Fe(CN)_6]$ em 0,50 mol L ⁻¹ de KCl, com $\omega = 2500 \text{ rpm}$, $E = 260 \text{ mV}$ (<i>vs.</i> Ag/AgCl). No detalhe, a curva analítica com a primeira (-) e a segunda (--) repostas lineares.....	108

Figura 20 - Voltamogramas cíclicos obtidos com o compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) e para o carbono vítreo em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L ⁻¹ pH 4,5, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	109
Figura 21 – Voltamogramas cíclicos em velocidades de varredura entre 5 e 100 mV s ⁻¹ , utilizando o compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 1,0 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L ⁻¹ pH 4,5.....	110
Figura 22 – Dependência da corrente dos picos anódico e catódico com a raiz quadrada da velocidade de varredura para o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 1,0 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L ⁻¹ , pH 4,5.....	111
Figura 23 – Dependência do logaritmo da intensidade da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura para a HQ no compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 1,0 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L ⁻¹ , pH 4,5.....	112
Figura 24 – Voltamogramas de onda quadrada da solução 5,0 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L ⁻¹ , pH 4,5, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$	113
Figura 25 – Curva analítica obtida para o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em tampão acetato 0,10 mol L ⁻¹ , pH 4,5, em diferentes concentrações de HQ. No detalhe está a curva para concentrações mais baixas.....	114
Figura 26 - Curva analítica obtida para o eletrodo de carbono vítreo em tampão acetato 0,10 mol L ⁻¹ , pH 4,5, em diferentes concentrações de HQ.....	116
Figura 27 – Efeito do potencial de detecção na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L ⁻¹ , pH 4,5 como solução carregadora, usando volume da alça de amostragem de 50 μL e vazão de 4,1 mL min ⁻¹	119
Figura 28 – Efeito da vazão da solução carregadora na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L ⁻¹ , pH 4,5 como solução carregadora, usando volume da alça de amostragem de 50 μL e potencial de detecção de 450 mV.....	120

Figura 29 – Efeito do volume da alça de amostragem na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L ⁻¹ , pH 4,5 como solução carregadora, usando vazão de 5,5 mL min ⁻¹ e potencial de detecção de 450 mV.....	121
Figura 30 – Sinais transientes obtidos para o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) usando (a) 1,0 10 ⁻⁴ , (b) 5,0 10 ⁻⁴ , (c) 1,0 10 ⁻³ , (d) 5,0 10 ⁻³ e (e) 1,0 10 ⁻² mol L ⁻¹ de HQ, tampão acetato 0,10 mol L ⁻¹ pH 4,5 como solução carregadora, vazão de 5,5 mL min ⁻¹ , potencial de detecção de 450 mV e volume da alça de amostragem de 126 µL. No detalhe está a curva analítica.....	122
Figura 31 - Sinais transientes para determinação de HQ no revelador fotográfico usando o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em tampão acetato 0,10 mol L ⁻¹ pH 4,5, como solução carregadora, vazão de 5,5 mL min ⁻¹ , potencial de detecção de 450 mV e volume da alça de amostragem de 126 µL, com (a) 1,0 10 ⁻⁴ , (b) 5,0 10 ⁻⁴ , (c) 1,0 10 ⁻³ , (d) 5,0 10 ⁻³ e (S) com 3,0 10 ⁻³ mol L ⁻¹ . No detalhe, a resposta linear da curva.....	124
Figura 32 – Diagrama para 10 injeções consecutivas de HQ, mostrando a repetibilidade do eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>).....	126
Figura 33 – Voltamograma cíclico obtido para o compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 1,0 mmol L ⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$	127
Figura 34 - Voltamogramas cíclicos em velocidades de varredura entre 5 e 200 mV s ⁻¹ , utilizando o compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 1,0 mmol L ⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8.....	129
Figura 35 – Dependência da corrente dos picos anódico e catódico com a raiz quadrada da velocidade de varredura no eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 1,0 mmol L ⁻¹ de APAP em tampão universal, pH 8.....	130
Figura 36 – Dependência do logaritmo da intensidade da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura para APAP, no eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 1,0 mmol L ⁻¹ de APAP em tampão universal, pH 8.....	131

Figura 37 – Voltamogramas de pulso diferencial usando APAP 1,0 mmol L ⁻¹ , em tampão universal pH 8, para compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>), com $a = 50$ mV, em diferentes velocidades de varredura.....	132
Figura 38 – Curva analítica para compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) utilizando solução de APAP entre 6,0 e 180 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão universal pH 8, em DPV, com $a = 50$ mV e $v = 25$ mV s ⁻¹	133
Figura 39 – Efeito do potencial de detecção na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8 como solução carregadora, usando volume da alça de amostragem de 50 μL e vazão de 3,9 mL min ⁻¹	137
Figura 40 – Efeito da vazão da solução carregadora na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8 como solução carregadora, usando volume da alça de amostragem de 50 μL e potencial de detecção de 500 mV.....	138
Figura 41 – Efeito do volume da alça de amostragem na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8 como solução carregadora, usando vazão de 6,5 mL min ⁻¹ e potencial de detecção de 500 mV.....	139
Figura 42 - Sinais transientes obtidos para o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) usando (a) 5,0 10 ⁻⁵ , (b) 1,0 10 ⁻⁴ , (c) 5,0 10 ⁻⁴ , (d) 1,0 10 ⁻³ e (e) 5,0 10 ⁻³ mol L ⁻¹ de APAP, tampão universal pH 8 como solução carregadora, vazão de 6,5 mL min ⁻¹ , potencial de detecção de 500 mV e volume da alça de amostragem de 100 μL . No detalhe está a curva analítica.....	140
Figura 43 - Sinais transientes obtidos para o eletrodo de carbono vítreo usando (a) 5,0 10 ⁻⁵ , (b) 1,0 10 ⁻⁴ , (c) 5,0 10 ⁻⁴ , (d) 1,0 10 ⁻³ e (e) 5,0 10 ⁻³ mol L ⁻¹ de APAP, tampão universal pH 8 como solução carregadora, vazão de 6,5 mL min ⁻¹ , potencial de detecção de 500 mV e volume da alça de amostragem de 100 μL . No detalhe está a curva analítica.....	141

Figura 44 – Sinais transientes para determinação de APAP em formulações farmacêuticas usando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em tampão universal L⁻¹ pH 8 como solução carregadora, vazão de 6,5 mL min⁻¹, potencial de detecção de 500 mV e volume da alça de amostragem de 100 µL, com (a) 5,0 10⁻⁵, (b) 1,0 10⁻⁴, (c) 5,0 10⁻⁴, (d) 1,0 10⁻³, (e) 3,0 10⁻³ mol L⁻¹, (S₁), (S₂), (S₃) e (S₄), referentes a Tylenol, Resfenol, Buscopan Plus e Trimedal 2,0 10⁻³ mol L⁻¹, respectivamente. No detalhe, a resposta linear da curva.....142

Figura 45 – Fiagrama para 10 injeções sucessivas de APAP, mostrando a repetibilidade do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*).....144

Figura 46 – Curva analítica obtida para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) usando (a) 25, (b) 49, (c) 71, (d) 93 e (e) 116 µmol L⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8, com agitação constante. No detalhe está o amperograma.....146

Figura 47 - Voltamogramas de varredura linear em velocidades entre 5 e 100 mV s⁻¹, utilizando o compósito 60% (grafite, *m/m*) em solução 1,0 10⁻⁴ mol L⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8.....147

Figura 48 – Voltamogramas de varredura linear em velocidades entre 5 e 100 mV s⁻¹, com rotação de 1000 rpm, utilizando o compósito 60% (grafite, *m/m*) em solução 1,0 10⁻⁴ mol L⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8.....148

Figura 49 – Voltamogramas de varredura linear registrados em presença de 1,0 10⁻⁴ mol L⁻¹ de APAP, utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em (--) condições estáticas a 100 mV s⁻¹ e (–) condições dinâmicas a 1000 rpm e 15 mV s⁻¹.....149

Figura 50 – Voltamogramas de varredura linear registrados em solução 1,0 10⁻⁴ mol L⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8, em diferentes valores de ω , $v = 15$ mV s⁻¹, utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) (a), Gráfico de Levich obtido a partir da Figura 50.a (b).....150

Figura 51 – Amperograma obtido para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em concentrações (a) 24, (b) 48, (c) 70, (d) 91, (e) 111, (f) 130, (g) 149, (h) 167, (i) 184 e (j) 200 µmol L⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8, com $\omega = 2500$ rpm, $E = 270$ mV (vs.

Ag/AgCl). No detalhe, a curva analítica com a primeira (–) e a segunda (–) respostas lineares.....	152
Figura 52 - Voltamogramas cíclicos obtidos para o compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) na presença (–) e na ausência (---) de 5,0 mmol L ⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10, $\nu = 25$ mV s ⁻¹	153
Figura 53 – Voltamogramas cíclicos em velocidades de varredura entre 5 e 100 mV s ⁻¹ , utilizando o compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10.....	155
Figura 54 – Dependência da corrente dos picos anódicos com a raiz quadrada da velocidade de varredura para o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10.....	156
Figura 55 – Dependência do logaritmo da intensidade da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura para o ATN, no compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10.....	157
Figura 56 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>), usando solução 1,0 mmol L ⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10.....	158
Figura 57 – Voltamogramas de pulso diferencial utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>), em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de ATN em tampão universal em diferentes valores de pH, $a = 50$ mV, $\nu = 50$ mV s ⁻¹	159
Figura 58 – Dependência dos voltamogramas DPV com a concentração de ATN de 4,0 a 2300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão universal pH 10, $a = 50$ mV, $\nu = 50$ mV s ⁻¹ utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>). No detalhe a curva analítica com as duas respostas lineares descritas no texto.....	160
Figura 59 Curva analítica para o eletrodo de carbono vítreo, utilizando solução de ATN entre 490 e 2300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão universal pH 10, em DPV, com $a = 50$ mV e $\nu = 50$ mV s ⁻¹	162

Figura 60 – Efeito do potencial de detecção na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ e ATN em tampão universal pH 10 como solução carregadora, usando volume da alça de amostragem de 50 µL e vazão de 3,9 mL min ⁻¹	166
Figura 61 – Efeito da vazão da solução carregadora na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10 como solução carregadora, usando volume da alça de amostragem de 50 µL e potencial de detecção de 1100 mV.....	167
Figura 62 – Efeito do volume da alça de amostragem na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10 como solução carregadora, usando vazão de 3,9 mL min ⁻¹ e potencial de detecção de 1100 mV.....	168
Figura 63 - Sinais transientes obtidos para o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) usando (a) 2,0 10 ⁻⁴ , (b) 3,0 10 ⁻⁴ , (c) 5,0 10 ⁻⁴ , (d) 1,0 10 ⁻³ e (e) 3,0 10 ⁻³ mol L ⁻¹ de ATN, tampão universal pH 10 como solução carregadora, vazão de 3,9 mL min ⁻¹ , potencial de detecção de 1100 mV e volume da alça de amostragem de 151 µL. No detalhe está a curva analítica.....	169
Figura 64 - Sinais transientes para determinação de ATN em formulações farmacêuticas usando o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em tampão universal L ⁻¹ pH 10 como solução carregadora, vazão de 3,9 mL min ⁻¹ , potencial de detecção de 1100 mV e volume da alça de amostragem de 151 µL, com (a) 3,0 10 ⁻⁴ , (b) 5,0 10 ⁻⁴ , (c) 1,0 10 ⁻³ , (d) 3,0 10 ⁻³ mol L ⁻¹ , (S ₁), (S ₂), (S ₃) e (S ₄), referentes a Atenolol G1, Atenol, Atenolol G2 e Angipress 2,0 10 ⁻³ mol L ⁻¹ , respectivamente. No detalhe, a região linear da curva.....	171
Figura 65 - Diagrama para 10 injeções sucessivas de ATN, mostrando a repetibilidade do eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>).....	173

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Trabalhos envolvendo eletrodos compósitos descritos na literatura, e alguns de seus resultados.....	39
Tabela 2 - Resistência ôhmica estimada para os eletrodos compósitos 60% (grafite, <i>m/m</i>)....	95
Tabela 3 - Valores das áreas ativas dos eletrodos compósitos determinadas por cronocoulometria.....	97
Tabela 4 - Curvas Analíticas para os eletrodos compósitos a diferentes pressões.....	98
Tabela 5 - Determinação de HQ no revelador fotográfico Kodak D-76.....	117
Tabela 6 - Determinação de HQ no revelador fotográfico D-76 usando o método de fluxo proposto e o cromatográfico HPLC.....	125
Tabela 7 - Resultados referentes às curvas analíticas obtidas para o compósito 60% (grafite <i>m/m</i>) utilizando solução de APAP entre $2,0 \cdot 10^{-4}$ e $10,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão universal, com diferentes valores de pH, em voltametria cíclica, com $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	128
Tabela 8 - Determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas usando o método proposto DPV e o método cromatográfico HPLC.....	135
Tabela 9 - Determinação de APAP em formulações farmacêuticas usando o método de fluxo proposto e o cromatográfico HPLC.....	143
Tabela 10 - Dados referentes aos voltamogramas cíclicos obtidos para o compósito 60% (grafite <i>m/m</i>) utilizando solução de ATN $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão universal, com diferentes valores de pH, com $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$	154
Tabela 11 - Determinação de ATN em formulações farmacêuticas usando o eletrodo compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) em DPV e o método cromatográfico HPLC.....	164
Tabela 12 - Determinação de ATN em formulações farmacêuticas usando o método de fluxo proposto e o cromatográfico HPLC.....	172

Tabela 13 – Resultados obtidos utilizando os eletrodos compósito 60% (grafite, <i>m/m</i>) e carbono vítreo descritos neste trabalho.....	174
---	-----

GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A - Amperometria
AA - Ácido Ascórbico
AdsV - Voltametria Adsorptiva
APAP - Paracetamol
ATN - Atenolol
 a – Amplitude
C – Concentração
CA – Coeficiente Angular
CV - Voltametria Cíclica
 D_i – Coeficiente de difusão
 $d.i$ – Diâmetro interno
DMG - Dimetilglioxima
DPASV - Voltametria de Redissolução Anódica de Pulso Diferencial
DPSad - Redissolução Adsorptiva de Pulso Diferencial
DPV - Voltametria de Pulso Diferencial
E - Potencial
ECS - Eletrodo de Calomelano Saturado
 ΔE_s – Incremento de potenciais
F – Constante de Faraday
FIA - Análise por Injeção em Fluxo
 f – Frequência
GC - Carbono Vítreo
HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HQ - Hidroquinona
 i_L – Corrente limite
LD – Limite de Detecção
LQ – Limite de Quantificação
MPS - 3-mercaptopropil trimetóxisilano
P - Potenciometria

PU - Poliuretana

PVC – Cloreto polivinil

q – Carga determinada

R - Coeficiente de correlação

RDE - Eletrodo de Disco Rotatório

SWCSV - Voltametria de Redissolução Catódica de Onda Quadrada

SWV - Voltametria de Onda Quadrada

V - Voltametria

v – Velocidade de varredura

ν - Viscosidade

ω - Velocidade de rotação do eletrodo

ϕ - Diâmetro

δ - Espessura

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação

Devido às suas características, principalmente a facilidade de renovação de superfície e reprodutibilidade da área, o eletrodo gotejante de mercúrio se tornou muito popular depois de proposto por Kucera¹ em 1903 e do surgimento da polarografia, desenvolvida por Heyrovsky² na década de 20.

Entretanto, devido às suas limitações na região anódica de potenciais, em que o metal é oxidado, o desenvolvimento de materiais eletródicos alternativos é um profícuo e importante campo de pesquisa em eletroquímica e eletroanalítica³. Em adição, a toxicidade e problemas ambientais causados pelo mercúrio estão aumentando a preocupação quanto ao seu uso.

Adams⁴ propôs o eletrodo de pasta de carbono (CPE) para ser utilizado como um material eletródico na região anódica de potenciais. Esse eletrodo também pode ser útil em estudos de substâncias orgânicas com interesse biológico. A aplicação dos eletrodos de carbono também oferece vantagens em relação aos eletrodos metálicos, nos quais, durante o uso, pode ocorrer formação de um filme de óxido na superfície, causando altas correntes residuais e gerando dificuldades na reprodução da área superficial⁵.

A literatura apresenta diversas estratégias para a preparação de eletrodos à base de carbono⁶, sendo exemplos clássicos os eletrodos de grafite pirolítico, carbono vítreo, fibras de carbono, além das pastas de carbono utilizando diversos compostos orgânicos como aglutinantes. Todos apresentam vantagens e desvantagens, as quais também são descritas na literatura⁷.

Dentre estas alternativas pode-se destacar os eletrodos compósitos sólidos em que os aglutinantes líquidos são substituídos, geralmente, por polímeros. A principal vantagem desta substituição reside na estabilidade, principalmente em solventes não aquosos e aplicações em fluxo, além da resistência mecânica de tais arranjos, melhoria da relação sinal/ruído, com ganho nos limites de detecção, relativa simplicidade na preparação e renovação da superfície, possibilidade de incorporação de modificadores, baixo custo na preparação e relativa facilidade de repetibilidade de área ativa⁸. As pastas de carbono apresentam, em adição, problemas de reprodutibilidade de sinal.

Tallman e Petersen⁹ definiram um eletrodo compósito como

“um material consistindo de pelo menos uma fase condutora misturada a pelo menos uma fase isolante”,

como as pastas de carbono e os compósitos sólidos.

1.2 Classificação dos Eletrodos Compósitos

Tallman e Petersen⁹ classificaram os eletrodos compósitos de acordo com a distribuição do condutor e isolante no material eletródico, como apresentado na Figura 1.

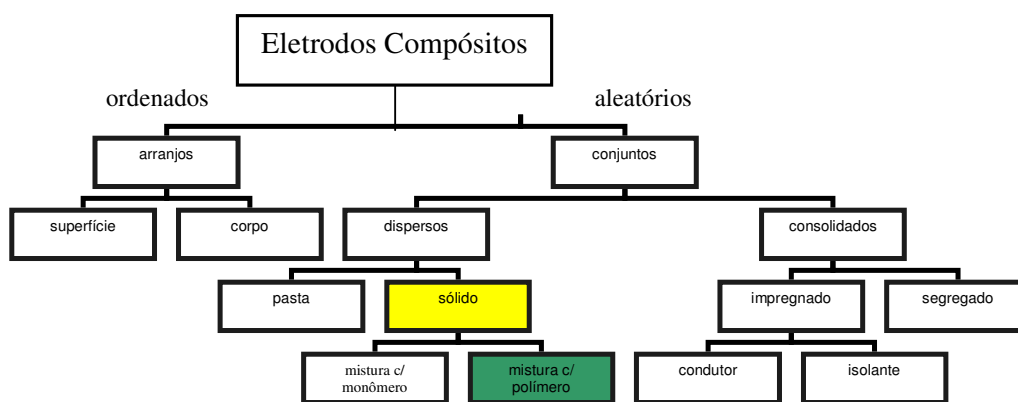


Figura 1 - Esquema da classificação para eletrodos compósitos empregados em eletroanalítica⁹.

De acordo com essa classificação, o arranjo do condutor e isolante no material eletródico é *ordenado* ou *aleatório*. Segundo os autores, se *ordenado*, o condutor está confinado à superfície de um isolante (ou o contrário), ou o condutor ordenado atravessa o interior do material, que é mais raro. Os materiais compósitos classificados como *aleatórios* são mais numerosos, pois são mais facilmente preparados. Os compósitos aleatórios podem ser classificados como *dispersos* ou *consolidados*, de acordo com a distribuição do condutor sobre a matriz do compósito. Compósitos *dispersos* são materiais em que as partículas estão aleatoriamente distribuídas pelo material, como em pastas de carbono e eletrodos sólidos. Compósitos *consolidados* são aqueles em que as partículas condutoras ocupam áreas específicas do material.

Esses compósitos são chamados de *impregnados* quando são fabricados pela aglomeração de um condutor poroso com um isolante. Também podem ser feitos pela mistura de um condutor em pó com um polímero em pó, seguido de compressão para moldar a mistura, são então chamados de compósitos *segregados*, como grafite-polietileno, grafite-Teflon, grafite-PU.

1.3 Métodos de Preparação de Compósitos

A facilidade de preparação desses materiais eletródicos permite preparar sensores de tamanhos e formas diferentes, e a incorporação de uma variedade de modificadores, os quais podem aumentar a seletividade e sensibilidade dos eletrodos.

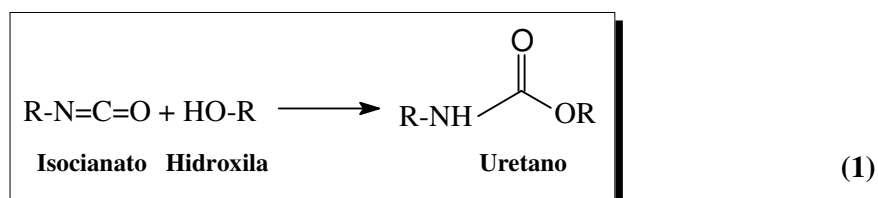
Usualmente os eletrodos compósitos são preparados por vários procedimentos, como descrito a seguir:

- (a) Termomoldagem da mistura homogeneizada dos pós sólidos em um molde, como o eletrodo de grafite e um polímero termoplástico produzido por Mascini *et al.*¹⁰
- (b) Compressão da mistura homogeneizada dos pós dos sólidos em um molde, como o eletrodo de grafite-Teflon feito por Klatt *et al.*¹¹
- (c) Polimerização *in situ* do monômero previamente misturado com grafite, usando um outro polímero orgânico suporte, como o eletrodo de grafite-epóxi descrito por Swofford e Carman.¹²

- (d) Liquefação da mistura, homogeneização dos componentes do sistema e resfriamento da mistura, como em eletrodos compósitos modificados de grafite-parafina, preparados por Wang e Naser.¹³
- (e) Dissolução do polímero em um solvente orgânico volátil, dispersando-se grafite na solução e evaporando-se o solvente, como os eletrodos de pasta de carbono desenvolvidos por Stulík *et al.*¹⁴

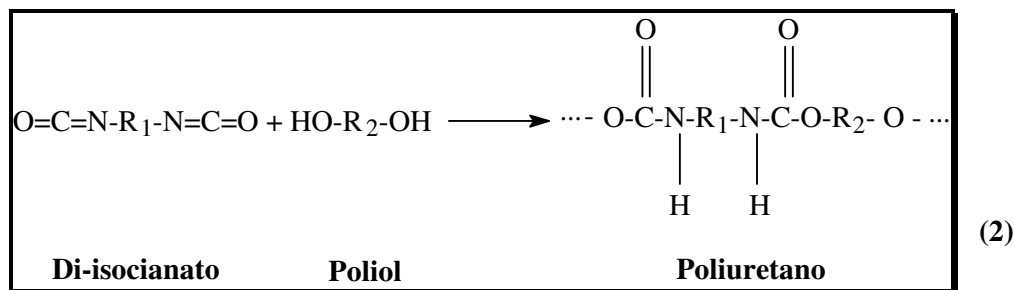
1.4 Resina Poliuretana

Em 1848, Wurtz *et al.*¹⁵ descobriram o uretano (ou uretana), produto da reação química entre um grupo isocianato e um grupo hidroxila, conforme Equação 1.



No entanto, esta descoberta somente teve aplicação comercial nos anos 40, quando Otto Bayer¹⁶ desenvolveu na Alemanha os primeiros polímeros de poliuretano¹⁷.

A polimerização dos uretanos ocorre quando se reage um composto com dois ou mais isocianatos com um poliol, ou seja, um álcool polifuncional, conforme Equação 2.



Na fabricação dos poliuretanos utiliza-se principalmente di ou poli-isocianatos e os compostos de poliol. Além dessas matérias-primas são normalmente usados os agentes de cura, extensores de cadeia, agentes de expansão, catalisadores, agentes tensoativos, aditivos, cargas, entre outros¹⁸.

Os isocianatos podem ser aromáticos, alifáticos, ciclo-alifáticos ou policíclicos. No mercado são encontrados diversos tipos de isocianatos alifáticos e aromáticos.

Na fabricação de poliuretanos utiliza-se uma grande variedade de polióis, como os polióis poliéteres, polióis poliésteres, óleo de mamona, polibutadieno líquido com terminação hidroxílica, entre outros. Cerca de 90% dos polióis utilizados na indústria de poliuretanos são poliéteres hidroxilados¹⁹.

A resina poliuretana utilizada neste trabalho foi desenvolvida pelo Grupo de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros (GQATP) – USP – São Carlos. Essa resina é derivada do óleo de mamona, conhecido também como óleo de rícino, ou, em inglês, “castor oil”, que é uma matéria prima renovável e de origem natural^{17,18}, contendo cerca de 95% (*m/m*) de ácido ricinoleico.

As principais vantagens do uso da resina poliuretana de origem vegetal são:

- (a) Redução de riscos ao meio ambiente;
- (b) Processo de cura a temperaturà ambiente;

- (c) Alta hidrofobicidade;
- (d) Bicomponente, o que confere facilidade na preparação;
- (e) Facilidade de renovação da superfície (polimento c/ lixa),
- (f) Possibilidade de incorporação de modificadores, por simples homogeneização;
- (g) Resistência a solventes orgânicos, possibilitando o uso em solventes não aquosos;
- (h) Extensa usinabilidade, pois apresenta fácil manuseio, podendo ser preparada em diferentes geometrias e diferentes composições;
- (i) Redução de custo e dependência tecnológica, por ser produzida no Brasil.

1.5 Revisão Bibliográfica sobre Eletrodos Compósitos

Além da incorporação de grafite ao polímero, podem-se preparar eletrodos modificados por diversas substâncias, com diferentes propriedades e aplicações.

Durante a última década, o desenvolvimento de eletrodos compósitos utilizando polímeros como aglutinantes mostrou um crescente interesse em eletroanalítica. Muitos exemplos desses eletrodos podem ser encontrados na literatura, como compósitos de grafite com epóxi^{20,21}, poliéster^{22,23}, PVC²⁴, polipirrol^{25,26}, polietileno²⁷ e matrizes sol-gel^{28,29}, que têm sido propostos para determinações voltamétricas e amperométricas na quantificação de diferentes analitos.

Utilizando o eletrodo compósito grafite-epóxi, Alvarez-Romero, *et al.*³⁰ estudaram o processo de formação eletroquímica de polipirrol sobre esse compósito, na presença de diferentes ânions, como Cl⁻ e NO₃⁻. Mostrou-se por microscopia de

força atômica (AFM) que as características morfológicas e a formação cinética do polipirrol depositado, pela análise experimental de transientes de densidade de corrente, são fortemente dependentes da natureza do ânion presente.

Oliveira³¹ descreveu a preparação de eletrodos compósitos a base de grafite-borracha de silicone, os quais foram investigados quanto à sua melhor composição, reprodutibilidade de superfície e intervalo útil de potenciais. Para a avaliação da potencialidade analítica dos eletrodos obtidos, foram realizados estudos de quantificação de hidroquinona (HQ) e dopamina. Quanto à HQ, foi obtida uma curva analítica em voltametria de pulso diferencial (DPV), com limite de detecção de $5,08 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. A HQ foi determinada em reveladores fotográficos usando o eletrodo compósito grafite-borracha de silicone 70 % (grafite, *m/m*) em DPV. Os erros relativos obtidos em comparação ao valor rotulado foram inferiores a 1 %. Avaliando-se o desempenho dos eletrodos quanto à quantificação de dopamina em DPV, foi obtida uma curva analítica com limite de detecção de $1,10 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Foi possível a sua determinação em formulações farmacêuticas, com erros relativos inferiores a 5 %.

Mendes *et al.*³², avaliaram a resposta voltamétrica do eletrodo compósito grafite-poliuretana em DPV na determinação de HQ em reveladores fotográficos. O limite de detecção de 934 nmol L^{-1} foi observado para HQ dentro de uma faixa linear de 1 a 100 nmol L^{-1} . A determinação da HQ em amostras de reveladores fotográficos mostrou uma concordância com os valores rotulados, dentro do nível de confiança de 95%, com um máximo de 2 % de erro relativo, sendo que o coeficiente de recuperação variou entre 100,1 e 100,4 %.

Calixto³³ descreveu a preparação de eletrodos compósitos a base de grafite-Araldite[®], os quais foram investigados quanto à sua melhor composição, reprodutibilidade de superfície e intervalo útil de potenciais. O eletrodo de 70% (grafite, *m/m*) apresentou melhor resposta voltamétrica.

Carralero *et al.*³⁴ desenvolveram um novo biossensor baseado na construção de um eletrodo compósito grafite-Teflon, utilizado como matriz, em que a enzima e as nanopartículas de ouro coloidal são incorporadas por simples inclusão física. Parâmetros como potencial aplicado ao bioeletrodo e teor de ouro coloidal na matriz do compósito foram otimizados. Esse biossensor apresentou resposta amperométrica satisfatória a -100 mV para diferentes compostos fenólicos. Limites de detecção da ordem de nmol L⁻¹ foram observados. O biossensor apresentou renovação da superfície por polimento, com tempo de vida de pelo menos 39 dias, sem perda aparente da atividade da enzima imobilizada.

Beaunier *et al.*³⁵ propuseram um método experimental para preparação de amostra de eletrodos compósitos grafite-polietileno baseado em ataque de plasma. Microscopia eletrônica de varredura, combinada com equações de impedância de microeletrodos independentes, foi usada para avaliar o comportamento eletroquímico dos eletrodos compósitos.

Aguilar *et al.*³⁶ utilizaram um eletrodo compósito grafite-PVC para determinar dopamina, ácido ascórbico, ácido úrico e suas misturas por DPV. Os resultados mostraram que o compósito foi seletivo e estável para oxidação de dopamina em uma mistura contendo excesso de ácido ascórbico em meio ácido. Esse compósito foi útil

na determinação de ácido úrico em urina humana e amostras de soro sem nenhum pré-tratamento.

A Tabela 1 ³⁷⁻⁶⁰ mostra algumas aplicações analíticas dos eletrodos compósitos. Alguns dos parâmetros estudados são descritos, como o limite de detecção, região linear, o analito que está sendo investigado e a técnica empregada. Em alguns dos exemplos apresentados, há modificação do eletrodo.

Observa-se nesses exemplos, a versatilidade e utilidade dos eletrodos compósitos na determinação de substâncias inorgânicas e orgânicas, inclusive na região anódica, na qual o mercúrio apresenta algumas limitações.

Tabela 1 - Trabalhos envolvendo eletrodos compósitos descritos na literatura, e alguns de seus resultados

Compósito	Modificador	Analito	Técnica	Resposta Linear / mol L ⁻¹	Limite de Detecção /mol L ⁻¹	ref
Grafite-politetrafluoretileno	---	Tiram	AdsV	2,0 10 ⁻⁷ – 1,0 10 ⁻⁵	1,8 10 ⁻⁷	37
Grafite-estireno-acrilonitrila	---	Disulfiram	SWCSV	2,0 10 ⁻⁷ – 8,0 10 ⁻⁶	6,5 10 ⁻⁸	38
		Manganês		0,5 – 20 µL ⁻¹	3,6 10 ⁻⁹	
Grafite-polietileno	Cu ₂ O	D-manitol	A	1,0 10 ⁻⁵ – 5,0 10 ⁻³ ¹	5,0 10 ⁻⁶	39
Grafite-polietileno	---	Hidroquinona (HQ)	DPV	7,5 10 ⁻⁶ – 7,5 10 ⁻⁵	-	40
Grafite-PVC	---	Catecol	A	1,0 10 ⁻⁴ – 1,0 10 ⁻³	4,5 10 ⁻⁸	41
Grafite-epóxi	Dióxido de rutênio	Streptomina	A	1,5 10 ⁻⁶ – 2,5 10 ⁻⁴	1,5 10 ⁻⁶	42
		Novobiocina	A	6,0 10 ⁻⁶ – 4,0 10 ⁻⁴	6,0 10 ⁻⁶	
Grafite-epóxi	Ftalocianina de cobalto	Cobre	DPASV	5,0 10 ⁻⁵ – 3,0 10 ⁻⁴	2,0 10 ⁻⁶	43
Grafite-epóxi	Acetilcolinesterase	Acetilcolina	V	5,0 10 ⁻⁶ – 1,2 10 ⁻⁴ ¹	---	44
Grafite-epóxi	Au/Pt/glucose oxidase	Glucose	V	1,0 10 ⁻⁵ – 2,0 10 ⁻³	---	45
Grafite-epóxi	---	Ácido ascórbico (AA)	DPV	5,0 10 ⁻⁴ – 2,0 10 ⁻³	---	46
		Dopamina	DPV	5,0 10 ⁻⁴ – 2,0 10 ⁻³	---	
Grafite	---	Ascorbato	P	5,0 10 ⁻⁴ – 5,0 10 ⁻²	5,0 10 ⁻⁶	47
Pasta de carbono	Abobrinha	Hidroquinona (HQ)	CV	6,2 10 ⁻⁵ – 8,9 10 ⁻³ ¹	8,3 10 ⁻⁶	48
Pasta de carbono	Tirosinase	Catecol	A	1,0 10 ⁻⁵ – 1,0 10 ⁻⁴ ¹	1,0 10 ⁻⁶	49
Grafite hidrofóbico-cerâmica	ácido clorogênico	Hidrazina	A	0,1 µM – 1,0 10 ⁻³ ⁻¹	20,0 10 ⁻⁹	50
Pasta de carbono	Co (II) –4-metilsalofen (CoMSal)	Cisteína	CV	1,0 10 ⁻⁴ – 5,0 10 ⁻⁷	>10 ⁻⁶	51
		Ácido ascórbico (AA)	DPV	10,0 10 ⁻⁴ – 1,0 10 ⁻⁶	---	
Grafite-epóxi	---	Chumbo, Cádmio, Cobre	DPASV	---	10 pb, 100 ppb, 50 ppb	52
Grafite-PVC	Cu ₂ O	Glucose	A	---	1,1 10 ⁻³	53
Grafite-sol-gel	-	Adenina	DPSad	2,0 10 ⁻⁷ – 1,0 10 ⁻⁶	---	54
		Ácido ascórbico (AA)	---	1,6 10 ⁻⁵ – 5,0 10 ⁻³	---	
Grafite-sol -gel	MPS e nitrato de cobre	Dopamina	---	7,3 10 ⁻⁶ – 2,2 10 ⁻³	---	55
Grafite-cerâmica	MPS	Dopamina	A	6,6 10 ⁻⁶ – 1,2 10 ⁻³	---	56
Grafite-PVC	---	Epicatequina	A	2,9 – 29 µg mL ⁻¹	3,57 µg mL ⁻¹	57
Grafite-poliuretana	---	HQ, Catecol, Cádmio	CV, DPV	---	---	58
Grafite-epóxi	CoPc	Ácido ascórbico (AA)	A	0,025 – 1,0 10 ⁻³	0,013 10 ⁻³	59
Grafite-epóxi	---	Benzofenona	CV	---	---	60

1.6 Técnicas Voltamétricas

O conjunto de técnicas voltamétricas, conhecido como técnicas eletroanalíticas, está sendo cada vez mais utilizado nas mais diversas áreas do conhecimento, com o objetivo de se obter informações fundamentais sobre propriedades intrínsecas das substâncias. Estudos de processos de oxidação e redução em vários meios, de adsorção em superfícies e de mecanismo de transferência de elétrons, exemplificam algumas das aplicações das técnicas eletroanalíticas.⁶¹

Uma grande vantagem destas técnicas consiste na possibilidade da medida ser realizada diretamente na amostra, sem necessidade de etapas de pré-purificações ou de separações prévias⁶². Estas vantagens, aliadas ao curto tempo na realização das análises, ao baixo custo da instrumentação e dos materiais utilizados, se comparados às técnicas cromatográficas e espectroscópicas, e à baixa sensibilidade que as técnicas eletroanalíticas apresentam em relação à presença de interferentes, fizeram com que elas fossem cada vez mais intensamente utilizadas⁶³.

1.6.1 Técnicas de Pulso

As técnicas de pulso são baseadas na cronoamperometria, ou seja, na medida da corrente elétrica em função do tempo de aplicação de um determinado pulso de potencial. As características da corrente medida estão relacionadas tanto com a largura do pulso quanto com o degrau de potencial que é aplicado no eletrodo para promover o processo faradaico⁶⁴.

Nas técnicas de pulso, a perturbação do potencial do eletrodo não é uma função linear do tempo do experimento, sendo que a sistemática para a variação do potencial

segue uma seqüência de pulso de potenciais, cujas respostas de corrente obtidas dependem de como estes pulsos são aplicados. Exatamente essa diferença na maneira de aplicar os pulsos de potencial é que define as características básicas de cada uma dessas técnicas⁶⁵.

1.6.1.1 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

Na voltametria de pulso diferencial, a instrumentação foi desenvolvida de tal modo que as medidas de corrente e aplicações de potencial e pulsos de potencial fossem realizados em intervalos de tempo muito pequenos⁶⁶. Pulsos de igual amplitude são aplicados sobre uma rampa linear de potencial, a corrente é medida imediatamente antes do pulso ser aplicado e no final do pulso. Essas correntes são subtraídas, já que a primeira é a contribuição da corrente capacitiva e a segunda é a contribuição da corrente faradaica e, então, graficadas contra o potencial da rampa linear, gerando um voltamograma de pulso diferencial, com a forma de uma curva gaussiana (Figura 2). Essa técnica é mais sensível, pois possibilita a minimização da contribuição da corrente capacitiva no sinal obtido.⁶³

Antes de se realizar uma análise, a escolha dos parâmetros deve ser feita. Um deles, na DPV, é o valor da amplitude do pulso a ser usado. Geralmente são escolhidos valores entre 10 e 100 mV. Valores típicos são 25 mV para sistemas com um elétron e 50 mV para sistemas com dois elétrons⁶⁶. A escolha da amplitude deve ter uma relação entre o aumento da sensibilidade e a perda da resolução.

Outro parâmetro importante a ser escolhido é a velocidade de varredura. Velocidades de varreduras muito maiores que 10 mV s^{-1} podem levar a má definição

do pico. Nesse caso, haveria perda de resolução, pois não haveria registros de corrente em pontos importantes dos picos voltamétricos ou, até mesmo, esse picos poderiam não ser registrados⁶⁶.

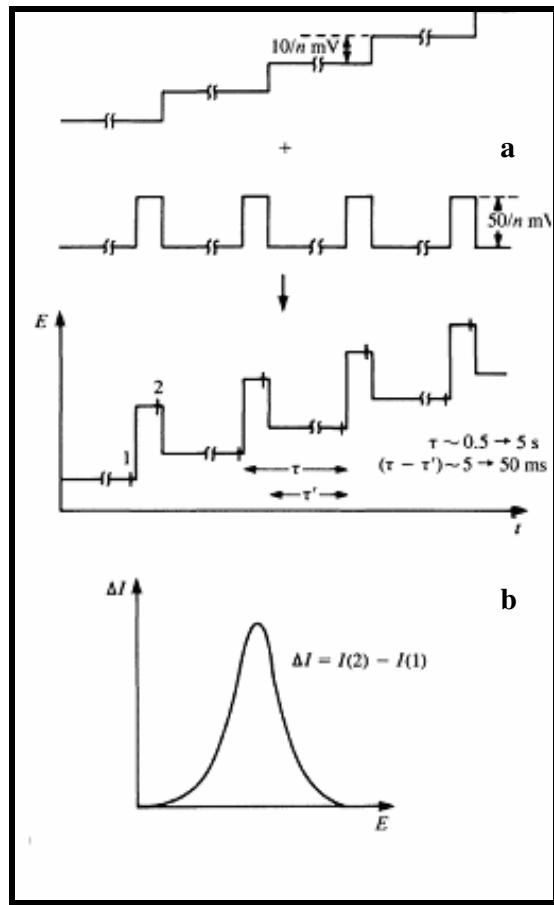


Figura 2 - DPV. (a) Esquema de aplicação de potenciais (algumas vezes sobrepostos sobre uma rampa ao invés de uma escada); (b) Modelo esquemático do voltamograma resultante⁶⁵.

1.6.1.2 Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

O início do desenvolvimento da SWV ocorreu em 1953 quando Baker, segundo Aleixo⁶⁷, aplicou pulsos de potencial em um eletrodo gotejante de mercúrio, e chegou à polarografia de onda quadrada. Ramaley e Krause^{68,69} desenvolveram a teoria para a voltametria de onda quadrada, com base nos trabalhos de Baker. No entanto, utilizaram eletrodos estacionários, eliminando os ruídos provenientes do capilar de mercúrio. Porém, a discussão ficou limitada a saltos de pequena amplitude e conseqüentemente à baixas velocidades de varredura. Em 1977 Christie, Turner e Osteryoung^{70,71} analisaram estas limitações e chegaram a um modelo mais atual de SWV, em que as varreduras de corrente em função dos pulsos de potenciais aplicados são feitas a velocidades maiores. Atualmente, a SWV é a combinação de uma modulação de onda quadrada de grande amplitude com uma rampa de potenciais em forma de “escada”.

Esta técnica pode ser usada para se realizar experimentos bem mais rápidos que em DPV, com sensibilidades semelhante ou um pouco melhor, pois neste caso também há compensação da corrente capacitiva⁷².

As formas de onda para esta técnica (Figura 3), consistem de uma onda quadrada simétrica (amplitude, a) sobreposta a uma “escada de potenciais” (incremento, ΔE_s), sendo que um período completo de onda quadrada ocorre a cada período (τ) da “escada de potenciais”. A largura do pulso, ou $\tau/2$ é denominada t e a frequência, $1/\tau$, é designada por f ^{68,69}.

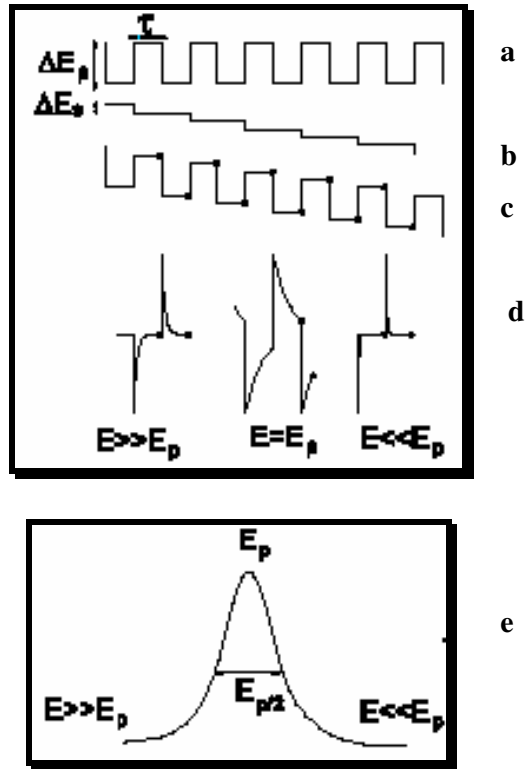


Figura 3 - Representação esquemática da voltametria de onda quadrada, onde: (a) potencial na forma de onda; (b) escada de potencial; (c) forma de aplicação do potencial na SWV; (d) forma da onda da corrente e (e) corrente total ⁶⁵.

O experimento de SWV é, portanto, uma série de pulsos de potencial, diretos (no sentido da varredura) e reversos (no sentido oposto ao da varredura). As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos diretos e reversos e o sinal é obtido como uma intensidade da corrente resultante ($\Delta I = I_d - I_r$) de forma diferencial, apresentando alta discriminação da corrente capacitiva e alta sensibilidade.

1.7 Eletrodo de Disco Rotatório (RDE)

A resposta voltamétrica se baseia na medida da corrente em função de um intervalo de potencial aplicado. A magnitude desta corrente pode ser afetada pela velocidade da transferência de carga entre o eletrodo de trabalho e a interface da solução, e pela velocidade do transporte de massa do seio da solução à superfície do eletrodo. A primeira destas variáveis é controlada pelo potencial aplicado, mas a natureza do transporte de massa depende do experimento.

Há três tipos de transporte de massa:

- (a) *Difusão*: definido como o movimento das espécies devido ao gradiente de concentração;
- (b) *Convecção*: onde o movimento das espécies é devido às influências mecânicas externas (vibração ou agitação) ou térmicas;
- (c) *Migração*: devido ao gradiente de potencial, isto é, somente as espécies carregadas são afetadas.^{73,74}

Para se obter dados quantitativos de experimentos eletroquímicos, o meio de transporte de massa deve ser experimentalmente controlado, e deve ser estável durante o experimento.

Há um grupo de experimentos eletroquímicos, chamado de técnicas hidrodinâmicas, em que a convecção forçada é usada^{7,75}. O transporte de massa nestes experimentos é a combinação da convecção e difusão. De acordo com o modelo da camada de difusão de Nernst, o eletrólito pode ser dividido em duas áreas, como apresentado na Figura 4.

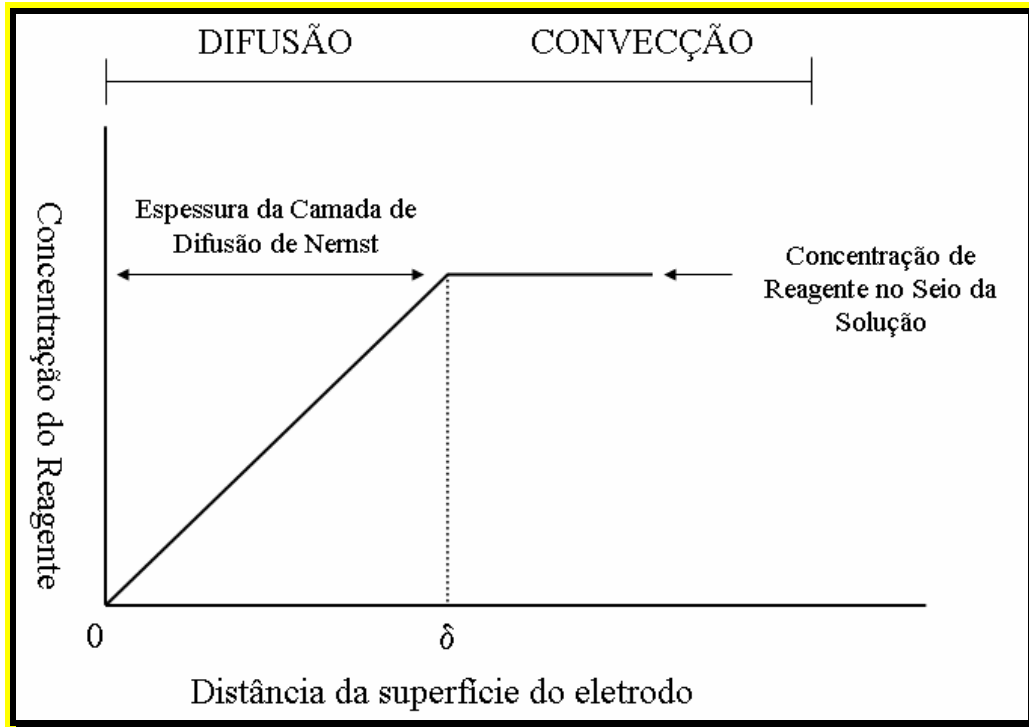


Figura 4 - Representação do modelo da camada de difusão de Nernst.

Na primeira região, que é próxima à superfície do eletrodo com espessura δ , se assume que há uma camada totalmente estagnada e, portanto, a difusão é o único meio de transporte. À grandes distâncias do eletrodo de trabalho, o fluxo da solução é turbulento. Entretanto, essa turbulência diminui próximo ao eletrodo e há uma transição para um fluxo laminar, em que as camadas da solução deslizam entre si, paralelas ao eletrodo. A velocidade desse fluxo diminui próximo ao eletrodo devido às forças de fricção, e a camada imediatamente adjacente à superfície do eletrodo é estacionária. Essa camada é chamada de camada de difusão.

A segunda área ocorre fora da primeira região, no seio da solução, onde uma forte convecção ocorre, e todas as concentrações das espécies são constantes.

Então, as moléculas eletroativas são movidas do seio da solução para a margem da camada de difusão por convecção, e o movimento através desta camada ocorre pela difusão produzida por um gradiente de concentração. A velocidade deste meio de transporte de massa é mais rápida do que pode ser realizada apenas pela difusão, e, diferente da difusão, ela é independente do tempo. Outras vantagens de convecção-difusão se relacionam com o fato de que o transporte de massa é estável e muitas vezes, matematicamente bem definido, e pode ser controlado pela variação da velocidade de agitação. Por exemplo, aumentando a velocidade de agitação, aumenta a velocidade de convecção da margem da camada de difusão, e a espessura desta camada é diminuída. Então, há um maior grau de controle dos parâmetros experimentais do que há em voltametria cíclica e outros experimentos não-hidrodinâmicos.

Embora a convecção forçada possa ser realizada usando um eletrodo estacionário em uma solução sob agitação, é mais comum usar um eletrodo rotatório. O eletrodo pode ser um disco, um anel ou uma combinação dos dois.

Um eletrodo de disco rotatório (RDE) é um artifício que cria um fluxo padrão na solução em que o transporte de massa das espécies é quase completamente devido à convecção^{3,76}. Esta propriedade permite que o RDE seja usado para calcular parâmetros relativos ao transporte de massa, como o coeficiente de difusão de várias espécies eletroativas (D_i). A convecção forçada causa uma diminuição importante na camada de difusão de Nernst, que aumenta significativamente a densidade de corrente limite.

Um RDE é um disco polido envolto por um suporte isolante de diâmetro substancialmente grande. A estrutura é girada, presa a um eixo perpendicular à superfície do eletrodo de disco. Este movimento de rotação leva a um fluxo convectivo de padrão muito bem definido, com visto na Figura 5.

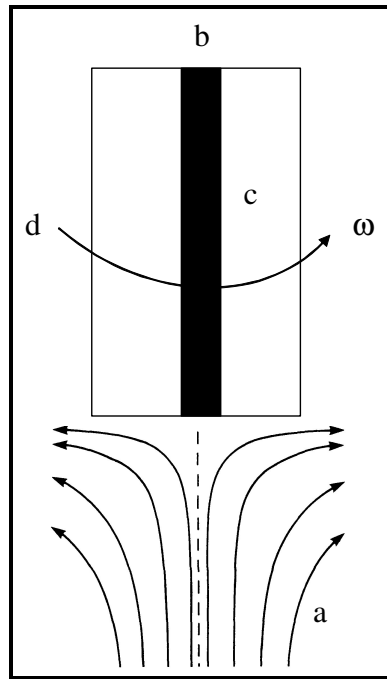


Figura 5 - Movimento da solução causado pela rotação do RDE. (a) fluxo da solução do eletrólito; (b) eletrodo de carbono vítreo; (c) corpo RDE; (d) direção da rotação do eletrodo.

A extensão das velocidades de rotação (velocidades angulares) é geralmente entre 100 e 10000 rpm. Levich⁷³ deduziu uma expressão relacionada à espessura (δ) da primeira região (difusão) com variáveis experimentais como coeficiente de difusão (D), velocidade de rotação do eletrodo (ω) e viscosidade da solução (ν). Para um RDE, δ é dado pela equação:

$$\delta = 1,61 D^{1/3} \nu^{1/6} \omega^{-1/2} \quad (3)$$

na qual, D (cm^2s^{-1}); ν (cm^2s^{-1}); ω (rpm ou rad s^{-1}).

O conceito da camada de difusão de Nernst permite uma derivação trivial da densidade de corrente em um RDE, quando a reação no eletrodo é controlada pelo transporte de massa. Desde que a concentração na superfície das espécies eletroativas seja zero, a densidade da corrente limite é dada por:

$$i_L = nFDC/\delta \quad (4)$$

na qual, n = número de elétrons envolvidos na reação; $F = 96500 \text{ C mol}^{-1}$; $C = \text{mol cm}^{-3}$.

Rearranjando as Equações 3 e 4, obtém-se a equação de Levich, em que a corrente limite (i_L) para um RDE é:

$$i_L = 0,62 nFACD^{2/3} \nu^{-1/6} \omega^{1/2} \quad (5)$$

O controle preciso da agitação, que é possível com o RDE, faz este eletrodo ideal para estudos de análise quantitativa baseados em procedimentos de pré-concentração. Técnicas hidrodinâmicas exibem freqüentemente limites de detecção de duas a três vezes mais baixos que as técnicas eletroquímicas baseadas em eletrodos estacionários.

1.8 Análise por Injeção em Fluxo (FIA)

Esse processo foi proposto em 1975 por Ruzicka e Hansen⁷⁷ e introduzido no Brasil em 1976 por pesquisadores do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP)^{78,79,80}. A partir de 1977 ocorreu um desenvolvimento muito rápido de FIA em muitos países, com conseqüente expansão dos conceitos envolvidos, o que culminou com o aparecimento dos primeiros analisadores FIA comercialmente disponíveis, na Suécia e Estados Unidos⁸¹.

A análise química por injeção em fluxo contínuo, pode ser definida como um processo de automatização de procedimentos analíticos, no qual a amostra em solução aquosa é introduzida em uma solução carregadora que a transporta em direção ao detector⁸¹. Durante o transporte, a amostra pode receber reagentes, sofrer reações químicas e passar por etapas de separação, concentração, etc.

Essa automatização visando a determinação quantitativa de espécies químicas tem sido proposta como alternativa aos procedimentos convencionais, quando se pretende:

- (a) analisar um grande número de amostras por unidade de tempo (aumentar a frequência analítica);
- (b) minimizar o consumo de amostras e reagentes;
- (c) eliminar algumas possibilidades de contaminação;
- (d) melhorar a precisão dos resultados analíticos;
- (e) diminuir o custo operacional;
- (f) fornecer resultados analíticos após intervalo de tempo curto.

Os sistemas empregando FIA suprem esses requisitos e também são caracterizados por sua simplicidade e versatilidade, aliadas a uma facilidade de implantação em qualquer laboratório⁸¹.

1.8.1 Constituição do Sistema FIA

Em geral, os sistemas FIA podem ser divididos em quatro partes: propulsão dos fluidos, injeção da amostra, reação e detecção⁸².

A propulsão dos fluidos pode ser à vazão ou pressão constantes. Quando o sistema de análise trabalha à vazão constante, o meio mais empregado para movimentar a solução carregadora e as soluções dos reagentes, é a bomba peristáltica.

Em sistemas à pressão constante, têm sido empregados dispositivos de ação gravitacional como propulsores de fluidos.

O injetor é o dispositivo do sistema FIA que introduz a amostra no percurso analítico (espaço por onde a solução carregadora transporta a amostra para o detector)^{83,84,85}. Os injetores mais comuns são o de válvula rotatória, que foi desenvolvido por Ruzicka e Hansen⁸⁶ e o injetor proporcional, desenvolvidos pelos pesquisadores do CENA-USP. Esse injetor é muito versátil e de fácil construção, constituído de três peças de acrílico, sendo duas fixas e uma móvel. A peça central pode ser deslocada em relação às laterais, um passo pra frente ou para trás. Por meio desse movimento o injetor coleta a amostra e a insere no percurso analítico.

Ao longo do percurso analítico ocorrem as reações químicas necessárias à detecção da espécie de interesse. Assim, seu dimensionamento deve ser considerado, o tempo de permanência da amostra, e, portanto, as vazões do carregador e dos

reagentes. O tempo de permanência médio no percurso analítico é o intervalo de tempo transcorrido entre a injeção da amostra e o instante de obtenção do sinal máximo. O aumento desse percurso implica diminuição do sinal, o que ocorre devido ao processo de dispersão⁸⁶. O efeito da dispersão sobre a magnitude do sinal analítico pode ser dividido em dois grupos. O primeiro está relacionado aos parâmetros intrínsecos do módulo de análise, como viscosidade dos fluidos, rugosidade das paredes internas da tubulação, coeficientes de difusão das espécies envolvidas, entre outros. O segundo grupo está relacionado ao dimensionamento do sistema, que podem ser livremente modificados, como volume da amostra injetado, dimensões do percurso analítico, vazão do carregador, entre outros⁸⁷. A dispersão é influenciada também por outros fatores, que são secundários, tais como volumes mortos no percurso analítico (presença de câmeras de separação, por exemplo), dimensões do detector, etc⁸⁸.

O tempo de permanência da amostra aumenta com o percurso analítico, o que resulta em diminuição na frequência analítica (número de determinações por hora). O tempo de permanência da amostra pode ser aumentado, diminuindo-se a vazão do carregador, quando for necessário tempo mais longo para o desenvolvimento da reação.

Quanto aos detectores, têm sido empregados praticamente, todos aqueles usuais em química analítica⁸², com destaque para espectrofotômetros no UV-visível, absorção e emissão atômica e amperometria.

1.8.2 Configurações do Sistema FIA⁸¹

1.8.2.1 Sistema em Linha Única

É o sistema mais simples, o qual não apresenta pontos de confluência no percurso analítico, conforme a proposta original de 1975⁸⁶. A solução carregadora é, em geral, uma solução quimicamente inerte, cuja função principal é transportar a amostra injetada até o detector, promovendo dispersão controlada da amostra e posteriormente lavando o percurso analítico. Eventualmente, a solução carregadora pode ser uma solução reagente, a qual reage com a amostra devido ao fenômeno de dispersão. Entretanto, nesta situação o reagente não é idealmente utilizado. Tal sistema é freqüentemente utilizado em métodos que não requerem adição de reagente ou em métodos envolvendo alta diluição da amostra.

1.8.2.2 Sistema em Confluência

A amostra é injetada em uma solução carregadora quimicamente inerte, à qual apresenta características matriciais (composição, acidez, viscosidade, coloração, etc.) semelhantes à amostra. A adição de reagente ocorre via pontos de confluência. Nesses sistemas, em geral utilizados em métodos colorimétricos que requerem alta sensibilidade, gradientes de concentração indesejáveis que poderiam prejudicar o desenvolvimento das reações envolvidas e a detecção, são minimizados.

1.8.2.3 Sistema com Zonas Coalescentes

Neste caso, tanto a amostra quanto o reagente são introduzidos simultaneamente, sua interação ocorre por dispersão das espécies injetadas ou por confluência das respectivas soluções carregadoras. O emprego de zonas coalescentes leva a uma economia significativa de reagentes, pois o reagente somente é consumido na presença da amostra, sendo recuperado durante a lavagem do percurso analítico pela solução carregadora. Zonas coalescentes também são utilizadas visando maior estabilidade da linha de base, com conseqüente melhoria da precisão da medida, em determinações simultâneas utilizando um único módulo de análise, entre outros.

1.8.2.4 Outros Sistemas

Os sistemas FIA também podem ser projetados com fluxos alternativos, fluxos intermitentes, aprisionamento de zonas de amostra, amostragem de zona dispersa, etc⁷⁷. Karlberg e Pacey⁸⁹ descreveram as configurações destes diversos sistemas.

1.9 Objetivos

Este trabalho teve por objetivo principal a continuidade do desenvolvimento de eletrodos compósitos à base de grafite aglutinado por uma resina poliuretana (PU) de origem vegetal. Esta resina, por ser à base de óleo vegetal, deve apresentar um acentuado caráter hidrofóbico, melhorando suas características em relação à percolação observada em outros materiais poliméricos.

Outros objetivos deste trabalho foram:

- a) Avaliar o desempenho dos compósitos em voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada, para determinação de analitos de interesse farmacológico, como paracetamol e atenolol;
- b) Avaliar a resposta voltamétrica destes eletrodos utilizando eletrodo rotatório, sob condições hidrodinâmicas;
- c) Desenvolver métodos em fluxo para determinação destes analitos usando o compósito como detector amperométrico, uma vez que o mesmo já apresentou potencialidades neste sentido;
- d) Verificar a interferência da pressão aplicada ao compósito durante o processo de cura da resina.

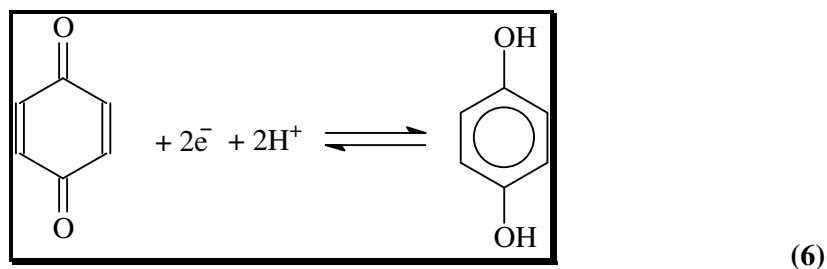
CAPÍTULO 2 - ESPÉCIES ESTUDADAS

2.1 Hidroquinona (HQ)

A hidroquinona (HQ) foi obtida inicialmente em 1820 por Pelletier e Caventou. É um composto fenólico que se apresenta na forma de um sólido cristalino branco, inodoro e solúvel em água, etanol, éter, entre outros. Ocorre naturalmente em produtos de grãos, café e chá, frutas, vários vegetais, vinho branco e algumas cervejas^{90,91}.

A HQ se tornou um dos mais utilizados agentes redutores orgânicos, importante em um grande número de processos biológicos e industriais, como na produção de carvão e fabricação de papel. HQ é especialmente utilizada na produção de inibidores de polimerização, em reveladores fotográficos⁴⁸, além de aplicação em cosméticos⁹², como clareadora da pele⁹³, pois inibe a ação da enzima tirosinase, que converte tirosina em melanina; facilita a remoção de radicais livres e fortalece o sistema imunológico. HQ com ação clareadora da pele pode causar coceira, dermatites e mudança da coloração da pele, se utilizada em tratamento prolongado em altas doses⁹³. Por todas essas razões, a União Européia emitiu a diretiva 84/415 para restringir a quantidade máxima permitida de HQ em cosméticos.

A HQ foi escolhida como sonda, pois é um composto que apresenta um comportamento voltamétrico bem conhecido e é comumente usado em eletroquímica como um analito teste para validação de novos métodos eletroanalíticos⁹⁴. O equilíbrio de oxidação - redução da HQ está representado a seguir:



A determinação e quantificação de HQ podem ser realizadas usando diferentes procedimentos, como por exemplo FIA⁹⁵, cinética por espectrofotometria⁹⁶, DPV³², reação química de oscilação baseado em Belousov-Zhabotinski⁹⁷, biossensores⁹⁴ e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)^{98,99} com diferentes detectores, entretanto, nesse último caso, há geração de considerável quantidade de resíduos. Entretanto, poucos estudos envolvendo determinações de HQ em reveladores fotográficos têm sido desenvolvidos^{49,100,101}.

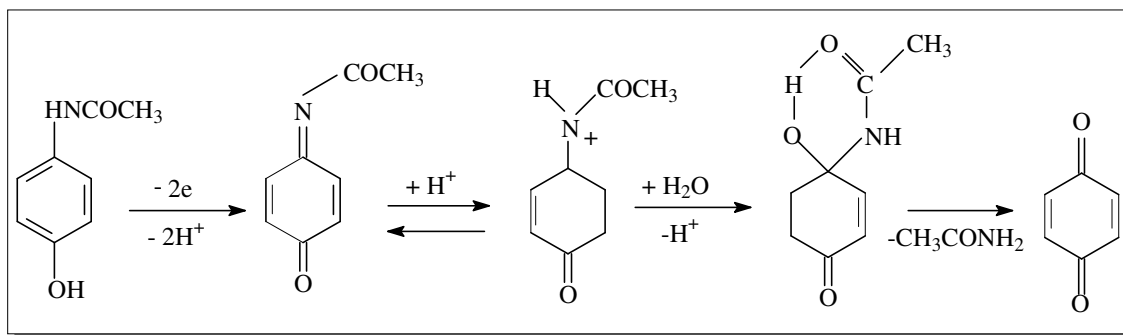
Os limites de detecção encontrados para HQ na literatura variam em uma ampla região de concentrações, dependendo da técnica utilizada, embora limites mais baixos são obtidos com sistemas de detecção eletroquímicos.

2.2 Paracetamol (APAP)

Paracetamol (N-acetil-*p*-aminofenol, acetaminofen, APAP) há muito estabelecido, é uma das drogas mais extensamente empregadas no mundo. APAP foi usado inicialmente em medicina por Von Mering em 1893. Entretanto, foi primeiramente descoberto no final do século 19, por suas propriedades analgésica e antipirética. APAP é o princípio ativo de muitos produtos farmacêuticos, em diferentes doses e formas de dosagem, sozinho ou em associação. É uma boa alternativa para pacientes que são sensíveis à aspirina (ácido acetil salicílico) e seguro em doses terapêuticas¹⁰². APAP é frequentemente usado em terapia, em que é prontamente

metabolizado, possuindo baixa toxicidade quando usado nas doses recomendadas¹⁰³. Contudo, a facilidade com que as pessoas em geral podem ter acesso à essa droga, faz com que o APAP esteja freqüentemente associado à doses acima do recomendado (“overdoses”), nesta situação, causando sérios danos hepáticos¹⁰⁴. O tratamento de uma suposta “overdose” de APAP exige uma rápida e confiável determinação de sua concentração em soro sanguíneo. Portanto, APAP e seus metabólitos têm sido extensamente investigados¹⁰⁵.

Muitas técnicas analíticas como titulação¹⁰⁶, espectrofotometria^{107,108}, espectrofluorimetria¹⁰⁹, colorimetria¹¹⁰, HPLC^{111,112}, e muitos outros métodos são propostos para determinação de APAP. Métodos electroquímicos, especialmente os voltamétricos e amperométricos oferecem a oportunidade para estudar os mecanismos de oxidação do paracetamol. O estudo da oxidação eletroquímica do APAP em voltametria cíclica foi descrito nos trabalho de Kissinger *et al.*^{113,114}:

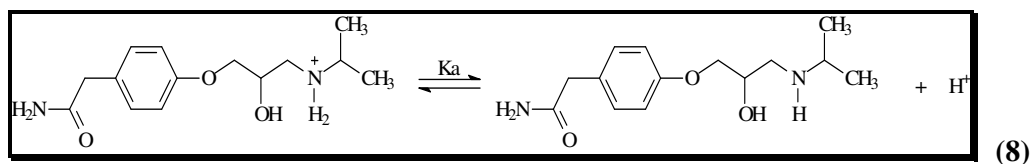


(7)

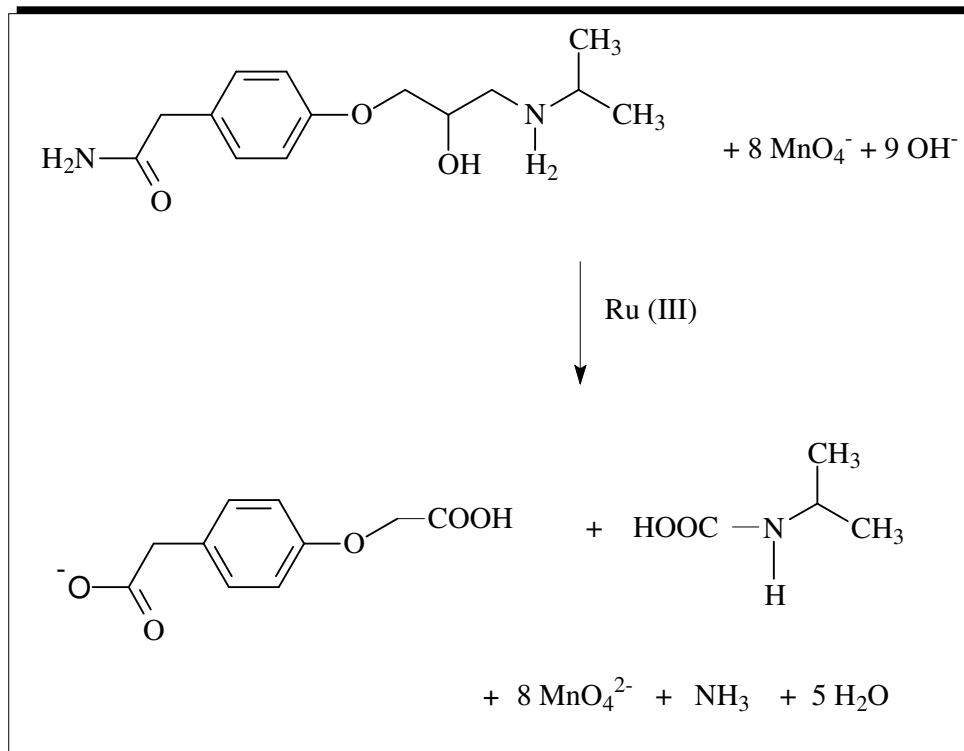
2.3 Atenolol (ATN)

O atenolol [4-(2-hidróxi-3-isopropilaminopropóxi)-fenilacetamida] é um agente receptor bloqueador β_1 hidrofílico. Esta droga bloqueadora β -adrenoceptora tem valor terapêutico no tratamento de várias desordens cardiovasculares, como angina, arritmia cardíaca e hipertensão¹¹⁵. Com tratamento crônico, o atenolol (ATN) reduz a mortalidade por hipertensão e prolonga a sobrevivência em pacientes com doença na coronária¹¹⁶. β -bloqueadores são muito tóxicos e a maioria deles atua em uma estreita extensão terapêutica, as diferenças entre as mais baixas e mais altas doses terapêuticas toleráveis são pequenas¹¹⁷. Efeitos comuns associados à “overdose” de atenolol são letargia, desordem no trato respiratório, chiado na cavidade, rouquidão, bradicardia, falha congestiva do coração, hipotensão, broncopasmo e hipoglicemia^{118,119}. Na literatura, poucos métodos têm sido relatados para determinação de ATN em formulações farmacêuticas. A maioria deles está baseada no uso de técnicas cromatográficas, como cromatografia a gás com espectrometria de massa ou detector de captura de elétrons¹²⁰ e HPLC^{121,122}. Determinação eletroquímica de ATN foi descrita na literatura¹²³ usando um eletrodo de carbono vítreo modificado com C-₆₀ e um eletrodo de óxido de estanho e índio modificado com ouro em escala nanométrica¹²⁴. Devido à importância do ATN, é interessante desenvolver um método rápido para sua determinação em formulações farmacêuticas.

O ATN se ioniza de acordo com o equilíbrio abaixo, sendo seu pKa = 9,4¹²⁵:



Mulla *et al.*¹²⁶ descreveram a oxidação do atenolol com permanganato de potássio, segundo a reação abaixo:



CAPÍTULO 3 – PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Equipamentos

3.1.1. Medidas Voltamétricas

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

As medidas realizadas com eletrodo rotatório foram feitas utilizando um eletrodo rotatório RDE-2 BAS Rotating Disk Electrode, (Bioanalytical Systems - BAS) controlado por um potenciostato CV-50W (BAS), acoplado a um microcomputador e controlado com o programa BAS 2.3 (BAS).

3.1.2. Eletrodos

3.1.2.1. Eletrodos de Referência

As medidas voltamétricas foram feitas utilizando um eletrodo de referência de Hg/Hg₂Cl₂ (ECS) ou Ag/AgCl, conforme descrito em cada caso.

3.1.2.2. Eletrodo Auxiliar

O eletrodo auxiliar empregado nas medidas voltamétricas foi um fio de platina de 1 cm de comprimento, soldado a um fio de cobre para contato elétrico. O conjunto foi fixado em um tubo de vidro ($\phi = 6$ mm) preenchido com resina epóxi SILAEX.

3.1.2.3. Eletrodos de Trabalho

Foram preparados eletrodos compósitos 60% de grafite-poliuretana (grafite, *m/m*) e utilizados em todas as medidas. Os compósitos foram preparados e usados na construção dos eletrodos, como descrito mais adiante.

3.1.2.4. Eletrodos de Carbono Vítreo (GC)

Nas medidas voltamétricas, um eletrodo de carbono vítreo (GC), com $\phi = 3$ mm foi utilizado nas comparações.

3.1.3. Célula Eletroquímica

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

3.1.4. Sistema de Análise por Injeção em Fluxo

O eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi utilizado em um sistema de análise por injeção em fluxo, como mostrado na Figura 6. A construção do eletrodo é descrita mais adiante.

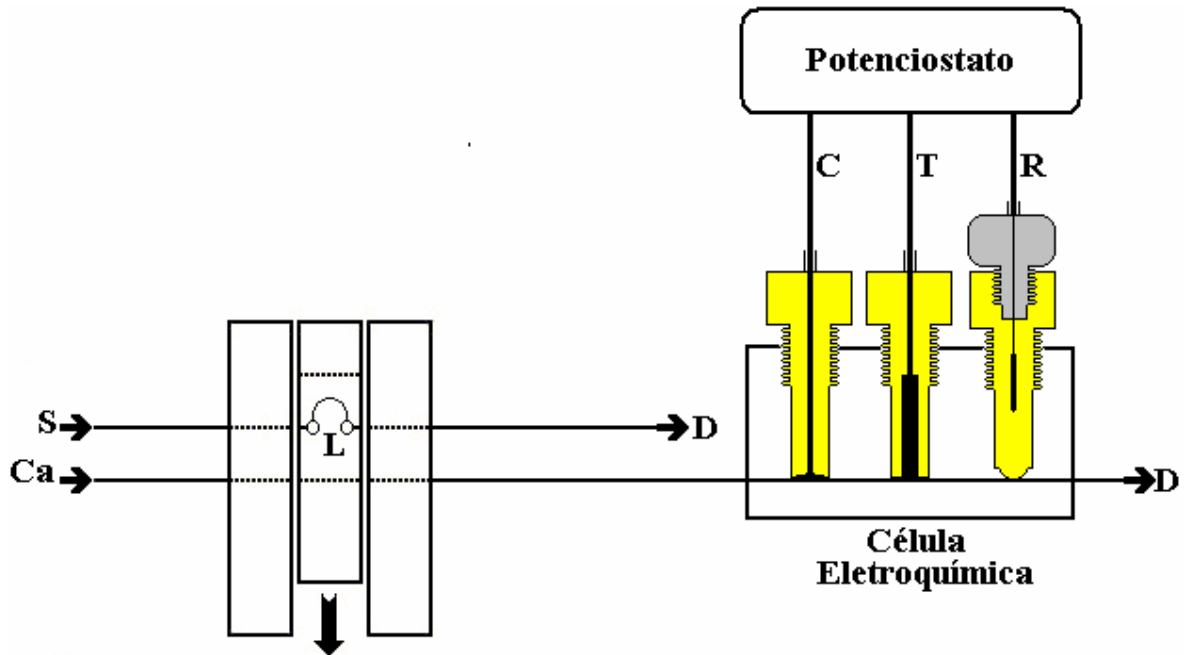


Figura 6 - Diagrama esquemático do sistema de fluxo utilizado. S, solução contendo o analito; Ca, solução carregadora; D, descarte; R, T, C, eletrodos de referência (Ag/AgCl), trabalho (compósito 60%, grafite, *m/m*) e contra-eletrólito (disco de platina), respectivamente.

3.1.4.1. Bomba Peristáltica

Para a propulsão das soluções, utilizou-se uma bomba peristáltica IPC de 8 canais, da Ismatec.

3.1.4.2. Injetor Comutador

Para a injeção das soluções no sistema, utilizou-se um injetor comutador manual feito de polimetilmetacrilato (PMMA)¹²⁷.

3.1.4.3. Tubos e Conexões

Para a confecção das alças de amostragem e condução das soluções pelo sistema, foram empregados tubos e conexões de polietileno, com diâmetro interno de 0,8 mm (Fiotubos).

3.1.4.4. Registrador

Para registros dos dados obtidos, utilizou-se um Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT 30, acoplado a um microcomputador e controlado com um programa GPES 4.9.

3.1.4.5. Célula Eletroquímica de Fluxo

As medidas amperométricas foram realizadas em uma célula eletroquímica de fluxo (Figura 7). O corpo da célula foi fabricado com resina poliuretana (Poliquil, Brasil).

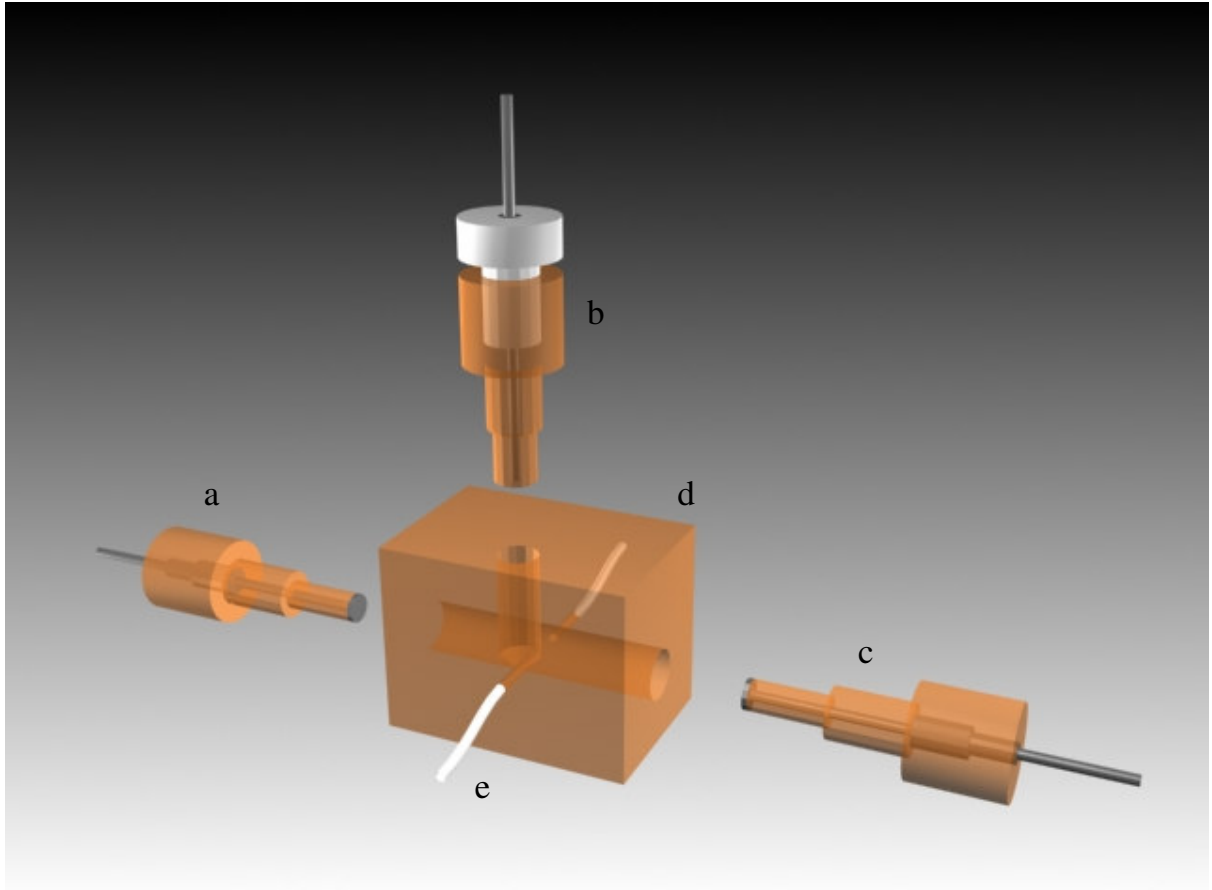


Figura 7 - Esquema da célula eletroquímica usada nas medidas de FIA. (a) Eletrodo de trabalho (compósito 60%), (b) Eletrodo de referência (Ag/AgCl), (c) Contra-eletrodo (disco de platina), (d) Bloco de resina poliuretana, (e) Tubo de polietileno.

3.2. Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico (P.A.) e usados sem purificação prévia. A água usada na preparação das soluções foi destilada em destilador convencional e submetida a uma segunda destilação em destilador de quartzo.

3.2.1. Soluções Tampão

A solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 foi preparada pela dissolução de 4,0 g de hidróxido de sódio (Merck) e 11 mL de ácido acético (Mallinckrodt) em água, completando-se o volume para 1000 mL.

A solução tampão universal foi preparada segundo procedimento descrito por Perrin e Dempsey¹²⁸. Foram dissolvidos 10,87 g de tetraborato de sódio (Synth) $2,85 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$; 13,40 g de hidrogenofosfato dissódico heptahidratado (Baker) $10,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e 8,65 g de citrato de sódio (Synth) $6,70 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em água, completando-se o volume para 1000 mL. Foram preparadas soluções tampão no intervalo de pH entre 2 - 12 com adição de ácido clorídrico (Quimis) e/ou hidróxido de sódio (Merck).

3.2.2. Solução de Ferricianeto de Potássio

A solução de ferricianeto de potássio foi preparada pela dissolução de 0,165 g de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (Merck) e 3,728 g de KCl (Mallinckrodt) em 100 mL de água, para preparar uma solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e $0,50 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

3.2.3. Solução de Hidroquinona

A solução de hidroquinona foi preparada diariamente pela dissolução de 0,220 g desse composto (Vetec) em meio de tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5. O volume foi completado para 100 mL, e uma solução de HQ padrão de $2,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foi obtida.

3.2.4. Solução de Paracetamol

A solução de paracetamol foi preparada diariamente pela dissolução de 0,076 g desse composto (Natural Pharma) em meio de tampão universal pH 8, completando-se o volume para 100 mL. Uma solução de APAP padrão de 5,0 mmol L⁻¹ foi obtida.

3.2.5. Solução de Atenolol

A solução de atenolol foi preparada diariamente pela dissolução de 0,133 g desse composto (Natural Pharma) em meio de tampão universal pH 10, completando-se o volume para 100 mL. Uma solução de ATN padrão de 5,0 mmol L⁻¹ foi obtida.

3.2.6. Solução das Amostras

3.2.6.1. Amostra de Hidroquinona

Para a determinação de hidroquinona na amostra de revelador fotográfico D-76 (Kodak), dissolveu-se 0,022 g do revelador em 100 mL de uma solução tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ pH 4,5, para a preparação de uma solução contendo 1,0 10⁻⁴ mol L⁻¹ de HQ. Além de HQ, o revelador era constituído de metol, sulfito de sódio e carbonato de sódio.

3.2.6.2. Amostras de Paracetamol

Determinou-se paracetamol nas seguintes formulações farmacêuticas: Tylenol (Janssen-Cilag Farmacêutica LTDA), Resfenol em solução (Kley Hertz S.A.), Buscopan Plus (Boehringer Ingelheim) e Trimedal (Novartis Biociências S.A.).

O Tylenol era constituído de APAP e excipientes, o Resfenol, além de APAP, era composto de maleato de clorfenamina, cloridrato de fenilefrina e excipientes, o Buscopan Plus continha APAP, butilbrometo de escopolamina e excipientes, e o Trimedal, além de APAP e excipientes, era composto de maleato de dimetindeno, hidroxietil-rutosídeos, ácido ascórbico e cloridrato de fenilefrina.

De acordo com a farmacopéia brasileira¹²⁹, vinte comprimidos foram triturados em um almofariz de vidro com pistilo. Porções dos pós equivalentes a 750, 500 e 500 mg de Tylenol, Buscopan Plus e Trimedal, respectivamente, e 40 mg da solução de Resfenol foram dissolvidos em 25,0 mL de solução tampão universal pH 8 para obter soluções correspondentes a 2,0 mmol L⁻¹ de APAP. As soluções foram submetidas ao ultra-som por 10 minutos para completar a dissolução do analito.

3.2.6.3. Amostras de Atenolol

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

Todas as amostras eram constituídas de ATN e excipientes, como carbonato de magnésio, lauril sulfato de sódio, amido de milho, estereato de magnésio e gelatina.

Porções dos pós, equivalentes a 100, 50, 50 e 25 mg de Atenolol G1, Atenol, Atenolol G2 e Angipress, respectivamente, foram dissolvidos em 25,0 mL de solução tampão universal pH 10 para obter soluções correspondentes a 15,0; 7,50; 7,50 e 3,75 mmol L⁻¹ de ATN, respectivamente. As soluções foram submetidas ao ultra-som por 10 minutos para completar a dissolução do analito.

3.3. Procedimentos Experimentais

3.3.1 Confeção dos Eletrodos

A resina poliuretana (Poliquil) foi preparada misturando-se 0,8 partes do poliol (B-471) e 1,0 parte do pré-polímero (A-249). A seguir, uma quantidade de pó de grafite (Aldrich; diâmetro da partícula 1-2 micron) foi adicionada para obter 50, 60 e 70% (grafite, *m/m*). Essa mistura foi homogeneizada por 5 minutos em um almofariz de vidro e prensada numa prensa manual (Figura 8) com extrusor de 3 mm de diâmetro. Todo esse processo foi realizado em um tempo total de 10 minutos, pois acima deste tempo a resina começa a curar, dificultando o trabalho.

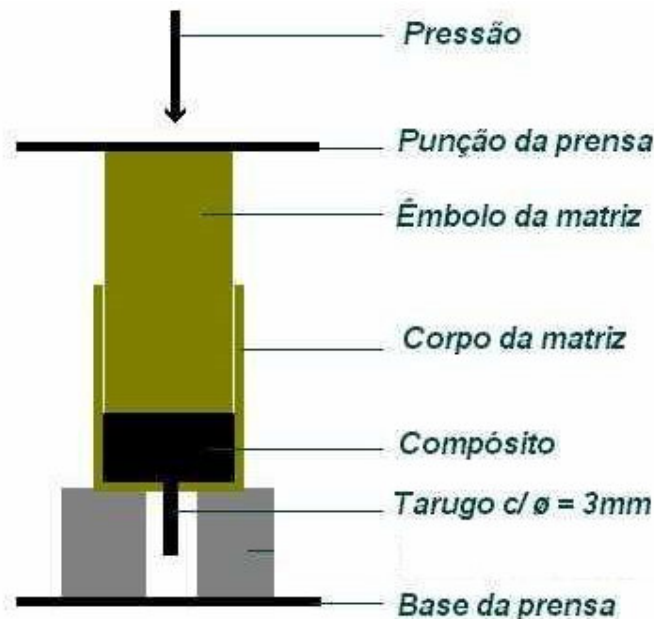


Figura 8 – Representação esquemática da prensa manual utilizada na preparação dos compósitos grafite-PU (grafite, *m/m*).

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, foram conectados a um fio de cobre com auxílio de epóxido de prata (EPO-TEK 410E, Epoxy Technology).

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. A resina PU pura foi adicionada ao tubo de vidro com o auxílio de uma pipeta de Pasteur para preenchimento (Figura 9). O processo de cura durou 24 horas.

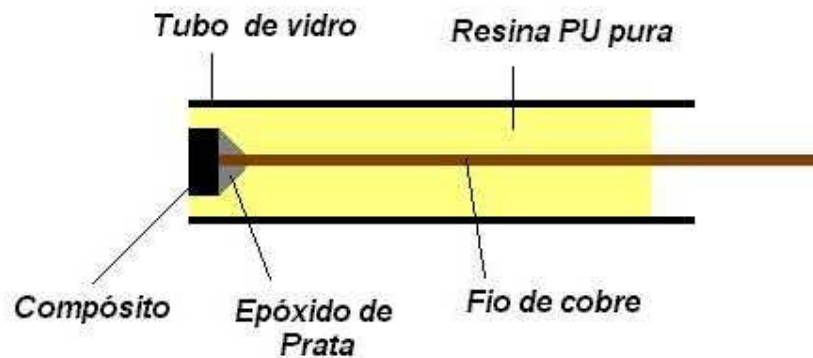


Figura 9 - Esquema do eletrodo compósito grafite-PU.

O eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) utilizado em FIA foi preparado como descrito anteriormente. Entretanto, o tarugo foi inserido em um suporte com d.i. de 5 mm, construído em resina PU pura, e então, selado com resina PU. O resultado é uma espécie de “parafuso” de resina, contendo o compósito conectado a um fio de cobre para contato elétrico (Figura 10).

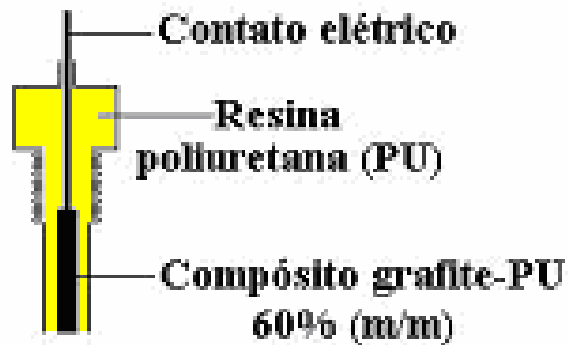


Figura 10 - Esquema do eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) utilizado em FIA.

O eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) utilizado em RDE foi preparado como descrito anteriormente. Entretanto, o tarugo foi inserido em um cilindro com d.i. de 6 mm, e comprimento de 4 cm, construído em resina PU pura, e então selado com resina PU. No corpo do cilindro, em sua parte interna foi feita uma rosca para fixação no eixo do motor do controlador de rotação. O resultado é um cilindro de resina contendo o composto (Figura 11), encaixado no eixo rotatório de aço inox do equipamento para contato elétrico.

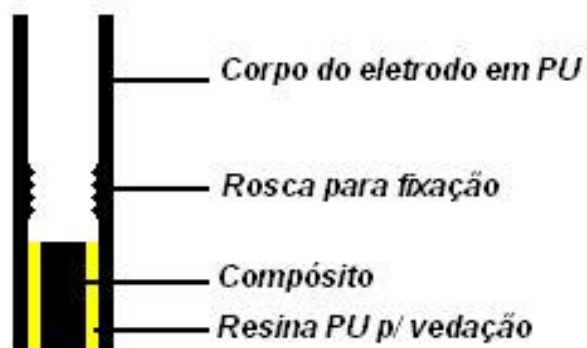


Figura 11 - Esquema do eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) utilizado em RDE.

3.3.2 Tratamento Mecânico

O tratamento mecânico consistiu de abrasão em lixa d'água 600 SiC, para eliminar o excesso de resina PU na superfície e expor o compósito. Em seguida, o compósito foi polido 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 em um banho USC 1400 (Unique), por 5 minutos, antes de cada medida. O mesmo procedimento foi feito em água, para a retirada de possíveis partículas da superfície do eletrodo.

3.3.3 Estudo da Pressão Aplicada aos Eletrodos Compósitos 60% (grafite, *m/m*) durante a Cura da Resina PU

Os eletrodos compósitos 60% (grafite, *m/m*) foram preparados como descrito anteriormente (item 3.3.1). Entretanto, para este estudo, foi utilizada uma prensa hidráulica, e os compósitos foram curados sob diferentes pressões, de $3,5 \cdot 10^3$ a $14,0 \cdot 10^3 \text{ kg cm}^{-2}$, para avaliar o efeito da pressão sobre a resposta voltamétrica do eletrodo.

3.3.3.1 Resistência Ôhmica

A resistência ôhmica dos eletrodos compósitos 60% (grafite, *m/m*), preparados a diferentes pressões, e do carbono vítreo foi medida no multímetro HP-3466 A (Minipa). As medidas foram feitas em uma poça de mercúrio, com um eletrodo de platina.

3.3.3.2 Determinação da Área Ativa dos Eletrodos

As áreas ativas dos eletrodos preparados sob diferentes pressões foram estimadas pela Equação de Cottrell⁷. Determinações cronocoulométricas¹³⁰ foram realizadas utilizando solução 5,0 mmol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆] em 0,50 mol L⁻¹ KCl ($D_0 = 7,7 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)¹³¹, com variação de potencial de 400 a 0 mV (vs. ECS) durante 1 segundo. As correntes foram determinadas em voltametria cíclica, com a mesma solução de K₃[Fe(CN)₆].

3.3.3.3 Curvas Analíticas

Curvas analíticas foram obtidas para os eletrodos compósitos 60% (grafite, *m/m*), preparados sob diferentes pressões, em voltametria cíclica, com velocidade de 25 mV s⁻¹, utilizando K₃[Fe(CN)₆]. Inicialmente, 20,0 mL da solução de KCl 0,50 mol L⁻¹ (pH ajustado para 3) foram adicionados na célula eletroquímica e adições sucessivas da solução de K₃[Fe(CN)₆] 5,0 mmol L⁻¹ foram feitas com o auxílio de uma micropipeta (Eppendorff) de volume regulável (1 a 1000 µL). Usando as correntes de pico dos voltamogramas cíclicos obtidos em cada adição, uma curva analítica foi construída, com corrente de pico anódico em função da concentração do K₃[Fe(CN)₆].

3.3.4 Curvas Analíticas para Ferricianeto de Potássio Utilizando Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

As medidas voltamétricas para a obtenção de curvas analíticas para o ferricianeto de potássio foram realizadas utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*).

3.3.4.1. Voltametria Cíclica

Voltamogramas cíclicos foram obtidos entre -250 e 750 mV para $5,0$ mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆] em KCl $0,50$ mol L⁻¹ pH 3, com velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹, para os compósitos 50, 60 e 70% (grafite, *m/m*).

3.3.4.2. Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

Voltamogramas de onda quadrada para $5,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆] em $0,50$ mol L⁻¹ KCl foram obtidos entre -250 e 500 mV, para a otimização dos parâmetros. A amplitude (*a*) foi fixada em 50 mV, com frequências (*f*) de 25 e 200 s⁻¹ e incrementos de potenciais (ΔE_s) de 10 e 50 mV, de acordo com uma calibração multivariada, usando um planejamento fatorial de 2^n , onde *n* = número de variáveis (frequência e incremento de potencial), totalizando quatro experimentos.

3.3.4.3 Curvas Analíticas

Curvas analíticas foram obtidas para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*), em SWV, com $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 10$ mV e $f = 25$ s⁻¹. Inicialmente, $20,0$ mL da solução de KCl $0,50$ mol L⁻¹ pH 3 foram adicionados na célula eletroquímica e adições sucessivas da solução K₃[Fe(CN)₆] $5,0$ 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 de onda quadrada obtidos em cada adição, uma curva analítica foi construída, medindo-se a corrente de pico em cada concentração.

3.3.5 Curvas Analíticas para Ferricianeto de Potássio Utilizando Eletrodo Rotatório

3.3.5.1 Voltametria de Varredura Linear

As medidas para a obtenção de curvas analíticas para o $K_3[Fe(CN)_6]$ foram realizadas com o eletrodo compósito de disco 60% (grafite, *m/m*).

Inicialmente, foram registrados voltamogramas de varredura linear sobre condições estáticas, entre -450 e 700 mV. Foram adicionados à célula eletroquímica, 20,0 mL de solução 1,0 mmol L⁻¹ de $K_3[Fe(CN)_6]$ em solução de KCl. Então, foi feito um estudo da velocidade, variando-se de 2 a 100 mV s⁻¹.

O mesmo procedimento foi feito em condições dinâmicas. A rotação foi mantida em 500 rpm e a velocidade variada entre 2 e 25 mV s⁻¹. Fixada a melhor velocidade, foi feito um estudo da rotação, entre 500 e 2500 rpm.

3.3.5.2 Curvas Analíticas

Curvas analíticas em condições hidrodinâmicas foram obtidas com o eletrodo compósito de disco 60% (grafite, *m/m*). O potencial foi fixado em 260 mV para o compósito, e a rotação em 2500 rpm. Inicialmente, 20,0 mL da solução de KCl foram adicionados na célula eletroquímica. Então, depois de estabilizada a linha de base, a cada 40 segundos, adições sucessivas de 400 µL da solução $K_3[Fe(CN)_6]$ 1,0 mmol L⁻¹ foram feitas com o auxílio de uma micropipeta Eppendorff de volume regulável entre 1 e 1000 µL.

3.3.6 Determinação de Hidroquinona em Reveladores Fotográficos Utilizando Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

As medidas voltamétricas para determinação de HQ foram realizadas sem desaeração, e sem necessidade de renovação da superfície do compósito. Foi utilizado o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) e o carbono vítreo para comparação.

3.3.6.1. Voltametria Cíclica

Voltamogramas cíclicos realizados para confirmar o potencial de oxidação de HQ foram obtidos entre -600 e 1000 mV para 5,0 mmol L⁻¹ de HQ, em tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ pH 4,5, com velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. O tampão e pH utilizados haviam sido otimizados em estudos anteriores¹³².

3.3.6.2. 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 de 5 a 100 mV s⁻¹, para 1,0 10⁻⁴ mol L⁻¹ de HQ, em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH 4,5.

3.3.6.3. Voltametria de Onda Quadrada

Voltamogramas de onda quadrada para HQ 5,0 10⁻⁵ mol L⁻¹ em tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ pH 4,5 foram obtidos entre 0 e 1000 mV, para a otimização dos parâmetros. A amplitude (*a*) foi fixada em 50 mV, com frequências (*f*) de 50 e 200 s⁻¹ e incrementos de potenciais (ΔE_s) de 10 e 50 mV, de acordo com uma calibração

multivariada, usando um planejamento fatorial de 2^n , onde n = número de variáveis (frequência e incremento de potencial), totalizando quatro experimentos.

3.3.6.4 Curvas Analíticas

Curvas analíticas foram obtidas para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*), em SWV, com $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 10$ mV e $f = 50$ s⁻¹ e para o carbono vítreo, para comparação. Inicialmente, 20,0 mL da solução de tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ pH 4,5 foram adicionados na célula eletroquímica e adições sucessivas da solução HQ 5,0 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 de onda quadrada obtidos em cada adição, uma curva analítica foi construída.

3.3.6.5 Estudo da Repetibilidade

O estudo da repetibilidade da resposta do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi realizado em tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ pH 4,5 contendo 5,0 10⁻⁵ mol L⁻¹ de HQ. Foram realizadas dez medidas voltamétricas em SWV, e entre cada uma a superfície do eletrodo foi renovada.

3.3.6.6 Método de Adição de Padrão

As curvas de adição de padrão foram realizadas utilizando as condições descritas anteriormente (3.3.6.4). Na célula eletroquímica, foram adicionados 20,0 mL da solução da amostra do revelador fotográfico D-76 contendo 1,0 10⁻⁴ mol L⁻¹ de HQ

em tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5. Em seguida, foram realizadas três adições de $100 \mu\text{L}$ de solução padrão de HQ $2,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$

3.3.6.7 Estudo de Interferentes

Um estudo de interferentes foi realizado por Mendes¹³². De acordo com esse estudo, não foi observada a interferência do metol na resposta voltamétrica para HQ, utilizando o eletrodo compósito (grafite, *m/m*). Portanto, para as medidas em SWV não foi feito um estudo de interferentes.

3.3.6.8 Método Comparativo³²

A hidroquinona contida na amostra comercial do revelador fotográfico também foi determinada por HPLC. Entretanto, nesse procedimento, houve necessidade da remoção de sulfito e carbonato presentes na amostra, pois interferem na análise. A remoção foi feita pela adição de cloreto de bário nas soluções da amostra.

As amostras foram preparadas por alíquotas de $0,030 \text{ g} (\pm 0,1 \text{ mg})$ do revelador fotográfico, que foram colocadas em balões volumétricos de $50,0 \text{ mL}$.

Ao mesmo balão, foram adicionados 70 mg de cloreto de bário e o volume foi completado com tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5.

Então, a solução resultante correspondendo a $2,72 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (30 ppm) de HQ, foi submetida ao ultra-som durante 10 minutos e filtrada em um funil de placa sinterizada. Finalmente, alíquotas de $300 \mu\text{L}$ da solução filtrada foram transferidas a quatro diferentes balões volumétricos de $10,0 \text{ mL}$. Adições de 0, 300, 600 e $900 \mu\text{L}$ de HQ padrão $9,08 \text{ mmol L}^{-1}$ (1000 ppm) foram feitas a cada balão e o volume

completado com tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5. Esse procedimento foi repetido por três vezes.

Os cromatogramas de HPLC foram realizados em um cromatógrafo Shimadzu LC-10AD UP, equipado com uma coluna Aldrich RP-18 (150 x 4,6 mm, $5\mu\text{m}$), usando metanol:água (60:40 v/v) como fase móvel, com vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. A detecção foi feita a 288 nm, usando um detector foto - diodo SPD-M 10A UP (HP). O tempo de retenção foi de 2 minutos, utilizando o método de adição de padrão.

3.3.7 Determinação de Hidroquinona em Reveladores Fotográficos Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA)

3.3.7.1 Efeito do Potencial de Detecção

O efeito do potencial sobre a resposta do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi avaliado pelos sinais obtidos por cinco injeções sucessivas de solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de HQ em tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 no sistema. Os potenciais de detecção foram fixados em 200, 300, 400, 450, 500 e 600 mV.

3.3.7.2 Efeito da Vazão da Solução Carregadora

Um estudo do efeito da vazão da solução carregadora sobre a resposta voltamétrica do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi realizado pelo acompanhamento dos sinais obtidos das cinco injeções sucessivas de solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de HQ em tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 no sistema. A variação na

vazão foi obtida mudando a velocidade da bomba peristáltica entre 10 e 50 rpm, correspondente a valores entre 1,4 e 6,8 mL min⁻¹ na tubulação empregada.

3.3.7.3 Efeito do Volume da Alça de Amostragem

Um estudo do efeito do volume da alça de amostragem sobre a resposta voltamétrica do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi realizado pelos sinais obtidos por cinco injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ pH 4,5 no sistema. Os volumes das alças foram variados de 25 a 151 µL, correspondentes a alças de 5 a 30 cm de comprimento.

3.3.7.4 Curvas Analíticas

As curvas analíticas foram obtidas para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) e para o carbono vítreo, para comparação, em potencial de 450 mV, vazão de 5,5 mL min⁻¹ e alça de amostragem de 25 cm. Foram feitas injeções sucessivas de soluções de HQ em diferentes concentrações (1,0 10⁻⁴ a 1,0 10⁻² mol L⁻¹) em tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ pH 4,5. As injeções foram realizadas em ordem crescente, seguida de repetição em ordem decrescente de concentração para avaliar possível efeito de memória. Usando as correntes dos máximos dos sinais transientes foi construída uma curva de corrente de pico *versus* a concentração de HQ.

3.3.7.5 Determinação de HQ no Revelador Fotográfico

Para a determinação de HQ no revelador fotográfico, foi feito inicialmente o mesmo tratamento descrito anteriormente (3.3.6.8) para eliminação de sulfito e carbonato da amostra. Então, foram feitas injeções sucessivas de HQ padrão em diferentes concentrações ($1,0 \cdot 10^{-4}$ a $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$) em tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5. Em seguida, foram feitas injeções sucessivas de uma solução $3,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de HQ contida no revelador fotográfico. Então, o mesmo procedimento foi repetido, mas em ordem decrescente de concentração.

3.3.7.6 Método Comparativo

O método comparativo utilizado, baseado em medidas de HPLC, foi o mesmo descrito em 3.3.6.8.

3.3.7.7 Estudo da Repetibilidade

O estudo da repetibilidade da resposta do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em FIA foi realizado através de dez injeções sucessivas de HQ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5.

3.3.8 Determinação de Paracetamol em Formulações Farmacêuticas Utilizando Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

As medidas voltamétricas para determinação de APAP foram realizadas com desaeração, sem necessidade de renovação da superfície do compósito. Foi utilizado o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) e o carbono vítreo para comparação.

3.3.8.1 Voltametria Cíclica

Foram obtidas curvas analíticas em voltametria cíclica, para determinar o potencial de oxidação de APAP e o melhor valor de pH. As curvas foram obtidas entre 2 e 10 10^{-4} mol L⁻¹ de APAP, em tampão universal, com valores de pH entre 2 e 10, com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹.

3.3.8.2 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 de 5 a 200 mV s⁻¹, para 1,0 mmol L⁻¹ de APAP, em tampão universal pH 8.

3.3.8.3 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

Para a otimização dos parâmetros em DPV, voltamogramas de pulso diferencial para APAP 1,0 mmol L⁻¹ em tampão universal pH 8 foram obtidos entre -250 e 750 mV. A amplitude (*a*) foi fixada em 50 mV, com velocidades de varredura (*v*) iguais a 5, 10, 25 e 50 mV s⁻¹.

3.3.8.4 Estudo da Repetibilidade

O estudo da repetibilidade da resposta do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi realizado em tampão universal pH 8 contendo 1,0 mmol L⁻¹ de APAP. Foram realizadas dez medidas voltamétricas em DPV, e entre cada uma a superfície do eletrodo foi renovada.

3.3.8.5 Curvas Analíticas

Curvas analíticas foram obtidas para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*), em DPV, com $a = 50$ mV e $v = 25$ mV s⁻¹ e para o carbono vítreo, para comparação. Inicialmente, 20,0 mL da solução de tampão universal pH 8 foram adicionados na célula eletroquímica e adições sucessivas da solução APAP 1,0 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 de pulso diferencial obtidos em cada adição, uma curva analítica foi construída, medindo-se a corrente de pico para cada concentração.

3.3.8.6 Método de Adição de Padrão

As curvas de adição de padrão foram obtidas utilizando as condições descritas anteriormente (3.3.8.5). Separadamente, as soluções das formulações farmacêuticas Tylenol, Resfenol, Buscopan Plus e Trimedol foram transferidas para a célula contendo 20,0 mL de tampão universal pH 8, para obter concentrações de $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹ de APAP. Em seguida, foram realizadas três adições de 50, 15 e 15 µL, respectivamente, de solução padrão de APAP 25,0 mmol L⁻¹.

3.3.8.7 Estudo de Interferentes

Experimentos em DPV foram realizados com o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*). Inicialmente, 20,0 mL da solução de tampão universal pH 8 foram adicionados na célula eletroquímica. Em seguida, uma adição da solução APAP 5,0 mmol L⁻¹ foi feita com o auxílio de uma micropipeta Eppendorff de volume regulável

entre 1 e 1000 μL , para obter concentração de 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de APAP. A seguir, foram feitas adições de solução de ácido ascórbico 5,0 mmol L^{-1} , para obter concentrações de 250, 500 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Para cada concentração, foram obtidos três voltamogramas de pulso diferencial.

3.3.8.8 Método Comparativo

O método comparativo foi realizado de acordo com as recomendações da Farmacopéia Americana¹³³, utilizando HPLC.

A fase móvel foi preparada pela mistura de água e metanol (3:1). Foram pesados 25,0 mg de APAP padrão e dissolvidos na fase móvel, obtendo-se uma concentração final de 0,01 mg mL^{-1} . Porções dos pós das amostras foram pesados, com quantidades equivalentes a 25,0 mg de APAP e transferidos para um balão volumétrico de 50,0 mL. Foram adicionados cerca de 25,0 mL da fase móvel e agitados por 10 minutos. Em seguida, o volume foi completado com a fase móvel e a solução foi homogeneizada. Foram transferidos 2,0 mL desta solução para um balão volumétrico de 100,0 mL, e o volume foi completado com a fase móvel. Após homogeneização, a solução foi filtrada em um funil de placa sinterizada, descartando os primeiros 10,0 mL do filtrado. Em seguida, foram feitas as análises.

O comprimento de onda selecionado foi de 243 nm, com vazão de 1,5 mL por minuto.

3.3.9 Determinação de Paracetamol em Formulações Farmacêuticas Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA)

3.3.9.1 Efeito do Potencial de Detecção

O efeito do potencial sobre a resposta do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi avaliado pelos sinais obtidos por cinco injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8 no sistema. Os potenciais de detecção foram fixados em 400, 450, 500, 550 e 600 mV.

3.3.9.2 Efeito da Vazão da Solução Carregadora

Um estudo do efeito da vazão da solução carregadora sobre a resposta voltamétrica do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi realizado pelo acompanhamento dos sinais obtidos das cinco injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8 no sistema. A variação na vazão foi obtida mudando a velocidade da bomba peristáltica, entre 10 e 60 rpm, correspondente a valores entre 1,4 e 7,7 mL min⁻¹, na tubulação empregada.

3.3.9.3 Efeito do Volume da Alça de Amostragem

Um estudo do efeito do volume da alça de amostragem sobre a resposta voltamétrica do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi realizado pelos sinais obtidos por cinco injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8 no sistema. Os volumes das alças foram variados de 25 a 151 µL, correspondentes a alças de 5 a 30 cm de comprimento.

3.3.9.4 Curvas Analíticas

As curvas analíticas foram obtidas para o eletrodo compósito 60% (grafite, m/m) e para o carbono vítreo, para comparação, em potencial de 500 mV, vazão de 6,5 mL min^{-1} e alça de amostragem de 20 cm. Foram feitas injeções sucessivas de soluções de APAP em diferentes concentrações ($5,0 \cdot 10^{-5}$ a $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$) em tampão universal pH 8. As injeções foram realizadas em ordem crescente, seguida de repetição em ordem decrescente de concentração para avaliar possível efeito de memória. Usando as correntes dos máximos dos sinais transientes foi construída uma curva de corrente de pico *versus* a concentração de APAP.

3.3.9.5 Determinação de APAP em Formulações Farmacêuticas Comerciais

Foram feitas injeções sucessivas de APAP padrão em diferentes concentrações ($5,0 \cdot 10^{-5}$ a $3,0 \text{ mmol L}^{-1}$) em tampão universal pH 8. Em seguida, foram feitas injeções sucessivas de soluções $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ das formulações farmacêuticas Tylenol, Resfenol, Buscopan Plus e Trimedal, respectivamente. Então, o mesmo procedimento foi repetido com APAP padrão, mas em ordem decrescente concentração.

3.3.9.6 Método Comparativo

O método comparativo utilizado foi o mesmo citado em 3.3.8.8.

3.3.9.7 Estudo da Repetibilidade

O estudo da repetibilidade da resposta do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em FIA foi realizado através de dez injeções sucessivas de APAP $5,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹ em tampão universal pH 8.

3.3.9.8 Estudo de Interferentes

Para o estudo de interferentes, foram preparadas soluções contendo $5,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ de APAP, na presença de 0; 2,5; 5,0 e $10 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ de ácido ascórbico. Para cada concentração, foram feitas três injeções. O ácido ascórbico foi usado por ser comum em medicamentos para gripe, assim como o APAP, e costuma estar presente em fluidos biológicos.

3.3.10 Curvas Analíticas para o Paracetamol Utilizando Cronoamperometria

As medidas cronoamperométricas para a obtenção de curvas analíticas para o APAP foram realizadas com agitação constante e temperatura controlada. Foi utilizado o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) e o carbono vítreo para comparação.

3.3.10.1 Curvas Analíticas

Curvas analíticas foram obtidas para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) e para o carbono vítreo, em cronoamperometria, com potencial fixo em 600 mV, otimizado previamente em voltametria cíclica. Inicialmente, 20,0 mL da solução de tampão universal pH 8 foram adicionados na célula eletroquímica. Então, depois de

estabilizada a linha de base, a cada 1 minuto, adições sucessivas de 500 μL da solução APAP $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foram feitas com o auxílio de uma micropipeta Eppendorff de volume regulável entre 1 e 1000 μL , medindo-se a corrente obtida em cada patamar em função da concentração.

3.3.11 Curvas Analíticas para o Paracetamol Utilizando Eletrodo Rotatório

3.3.11.1 Voltametria de Varredura Linear

As medidas para a obtenção de curvas analíticas para o APAP foram realizadas com o eletrodo compósito de disco 60% (grafite, *m/m*) e o eletrodo de disco de carbono vítreo para comparação, sem desaeração e sem necessidade de renovação da superfície do compósito.

Inicialmente, foram registrados voltamogramas de varredura linear sobre condições estáticas, entre -450 e 1000 mV. Foi adicionada à célula eletroquímica, 20,0 mL de solução $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de APAP em de tampão universal pH 8. Então, foi feito um estudo da velocidade de varredura, variando-se de 5 a 100 mV s^{-1} .

O mesmo procedimento foi feito em condições dinâmicas. A rotação foi mantida em 1000 rpm e a velocidade variada entre 2 e 25 mV s^{-1} . Fixada a melhor velocidade, foi feito um estudo da rotação, entre 500 e 3500 rpm.

3.3.11.2 Curvas Analíticas

Curvas analíticas em condições hidrodinâmicas foram obtidas com o eletrodo compósito de disco 60% (grafite, *m/m*) e o eletrodo de disco de carbono vítreo para

comparação. O potencial foi fixado em 270 mV para o compósito, 410 mV para o GC e a rotação em 2500 rpm. Inicialmente, 20,0 mL da solução de tampão universal pH 8 foram adicionados na célula eletroquímica. Então, depois de estabilizada a linha de base, a cada 40 segundos, adições sucessivas de 500 μL da solução APAP 1,0 mmol L^{-1} foram feitas com o auxílio de uma micropipeta Eppendorff de volume regulável entre 1 e 1000 μL .

3.3.12 Determinação de Atenolol Utilizando Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

As medidas voltamétricas para determinação de ATN foram realizadas com desaeração, sem necessidade de renovação da superfície do compósito. Foi utilizado o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) e o carbono vítreo para comparação.

3.3.12.1 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 mmol L^{-1} de ATN em tampão universal, com valores de pH entre 2 e 12, com velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} .

3.3.12.2 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 mmol L^{-1} de ATN, em tampão universal pH 10.

3.3.12.3 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

Para a otimização dos parâmetros em DPV, voltamogramas de pulso diferencial para ATN $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão universal pH 10 foram obtidos entre -200 e 1100 mV. Foram totalizados quatro experimentos, a partir de uma calibração multivariada, usando um planejamento fatorial de 2^n , onde n = número de variáveis ($a = 10$ e 50 mV e $v = 5$ e 50 mV s^{-1}).

3.3.12.4 Estudo da Repetibilidade

O estudo da repetibilidade da resposta do eletrodo compósito 60% (grafite, m/m) foi realizado em tampão universal pH 10 contendo $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de ATN. Foram realizadas dez medidas voltamétricas em DPV, e entre cada uma a superfície do eletrodo foi renovada.

3.3.12.5 Curvas Analíticas

Curvas analíticas foram obtidas para o eletrodo compósito 60% (grafite, m/m), em DPV, com $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$ e para o carbono vítreo, para comparação. Inicialmente, 20,0 mL da solução de tampão universal pH 10 foram adicionados na célula eletroquímica e adições sucessivas da solução ATN $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foram feitas com o auxílio de uma micropipeta Eppendorff de volume regulável entre 1 e 1000 μL . Através dos voltamogramas de pulso diferencial obtidos em cada adição, uma curva analítica foi construída, medindo-se as correntes de pico em função da concentração.

3.3.12.6 Método de Adição de Padrão

As curvas de adição de padrão foram realizadas utilizando as condições descritas anteriormente (3.3.12.5). Separadamente, as soluções das formulações farmacêuticas Atenolol G1, Atenol, Atenolol G2 e Angipress foram transferidas para a célula contendo 20,0 mL de tampão universal pH 10, para obter concentrações de $1,10 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ATN. Em seguida, foi realizada adição única de 400 μL de solução padrão de ATN $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

3.3.12.7 Estudo de Interferentes

Experimentos em DPV foram realizados com o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*). Inicialmente, 20,0 mL da solução de tampão universal pH 10 foram adicionados à célula eletroquímica. Em seguida, uma adição da solução ATN $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foi feita com o auxílio de uma micropipeta Eppendorff de volume regulável entre 1 e 1000 μL , para obter concentração de $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$ de ATN. A seguir, foram feitas adições de solução de propanolol $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, para obter concentrações de 0,12; 0,25 e 0,50 mmol L^{-1} . Para cada concentração, foram realizados três voltamogramas de pulso diferencial. O mesmo procedimento foi feito para furosemida.

3.3.12.8 Método Comparativo¹³⁴

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, com ácido ortofosfórico 85% ($0,067 \text{ mol L}^{-1}$). 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 6,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em ATN.

3.3.13 Determinação de Atenolol em Formulações Farmacêuticas Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA)

3.3.13.1 Efeito do Potencial de Detecção

O efeito do potencial de detecção sobre a resposta do eletrodo compósito 60% (grafite, m/m) foi avaliado pelos sinais obtidos por cinco injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L^{-1} de ATN em tampão universal pH 10 no sistema. Os potenciais foram fixados em 700, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100, 1150 e 1200 mV (*vs.* ECS).

3.3.13.2 Efeito da Vazão da Solução Carregadora

Um estudo do efeito da vazão da solução carregadora sobre a resposta voltamétrica do eletrodo compósito 60% (grafite, m/m) foi realizado pelo acompanhamento dos sinais obtidos das cinco injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L^{-1} de ATN em tampão universal pH 10 no sistema. A variação da vazão foi

obtida mudando a velocidade da bomba peristáltica, entre 10 e 60 rpm, correspondente a valores entre 1,4 e 7,7 mL min⁻¹, na tubulação utilizada.

3.3.13.3 Efeito do Volume da Alça de Amostragem

Um estudo do efeito do volume da alça de amostragem sobre a resposta voltamétrica do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi realizado pelos sinais obtidos por cinco injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10 no sistema. Os volumes das alças foram variados de 25 a 151 µL, correspondentes a alças de 5 a 30 cm de comprimento.

3.3.13.4 Curvas Analíticas

As curvas analíticas foram obtidas para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) e para o carbono vítreo, para comparação, em potencial de 1100 mV, vazão de 3,9 mL min⁻¹ e alça de amostragem de 30 cm. Foram feitas injeções sucessivas de soluções de ATN em diferentes concentrações (2,0 10⁻⁴ a 3,0 mmol L⁻¹) em tampão universal pH 10. As injeções foram realizadas em ordem crescente, seguida de repetição em ordem decrescente de concentração para avaliar possível efeito de memória. Usando as correntes dos máximos dos sinais transientes, foi construída uma curva de corrente de pico *versus* a concentração de ATN.

3.3.13.5 Determinação de ATN em Formulações Farmacêuticas

Foram feitas injeções sucessivas de ATN padrão em diferentes concentrações (3,0 10⁻⁴ a 3,0 mmol L⁻¹) em tampão universal pH 10. Em seguida, foram feitas

injeções sucessivas de soluções $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ das formulações farmacêuticas Atenolol G1, Atenol, Atenolol G2 e Angipress, respectivamente. Então, o mesmo procedimento foi repetido com ATN padrão, mas em ordem decrescente concentração.

3.3.13.6 Método Comparativo

O método comparativo utilizado foi o mesmo citado em 3.3.12.8.

3.3.13.7 Estudo da Repetibilidade

O estudo da repetibilidade da resposta do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em FIA foi realizado através de dez injeções sucessivas de ATN $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão universal pH 10.

3.3.13.8 Estudo de Interferentes

Para o estudo de interferentes, foram preparadas soluções contendo $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$ de ATN, na presença de 0; 0,12; 0,25 e $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ de propanolol. Para cada concentração, foram feitas três injeções. O mesmo procedimento foi realizado para a furosemida.

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DUSCUSSÃO

4.1 Estudo da Pressão Aplicada aos Eletrodos Compósitos 60% (grafite, *m/m*) durante a Cura da Resina PU

Em trabalhos anteriores^{58,132}, nenhum estudo foi feito sobre o efeito da pressão aplicada ao compósito durante a cura da resina poliuretana. Portanto, foram preparados quatro eletrodos compósitos de grafite-PU 60% (grafite, *m/m*) sob pressões de 3,5; 7,0; 10,5 e 14,0 10^3 kg m^{-2} , para comparação.

4.1.1 Resistência Ôhmica

As resistências ôhmicas dos eletrodos compósitos preparados sob diferentes pressões estão apresentadas na Tabela 2

Tabela 2 - Resistência ôhmica estimada para os eletrodos compósitos 60% (grafite, *m/m*)

Pressão / 10^3 kg cm^{-2}	Resistência / Ω
3,5	88,45
7,0	66,11
10,5	64,34
14,0	61,02
GC	4

Como esperado, quanto maior a pressão aplicada durante a cura da resina, menor o valor da resistência ôhmica, provavelmente devido ao contato mais eficiente entre as partículas condutoras presentes nos compósitos. Segundo Navarro-Laboulais

*et al.*¹³⁵, as partículas de grafite se comportariam como um multimicroeletrodo ao estabelecer contato físico.

Entretanto, a resistência tende a um valor constante com o aumento da pressão, como pode ser observado na Tabela 2.

4.1.2 Determinação da Área Ativa dos Eletrodos por Cronocoulometria

As áreas ativas dos eletrodos compósitos preparados sob diferentes pressões foram determinadas utilizando-se cronocoulometria. Foi utilizada a forma integrada da Equação de Cottrell⁷ :

$$q = \frac{2nFAD_0^{1/2}C_0}{\pi^{1/2}} \frac{1}{t^{1/2}} \quad (9)$$

Gráficos de q em função de $1/t^{1/2}$ são retas com coeficiente angular (CA), que se relacionam com a área do eletrodo pela Equação 10, segundo a qual a área do eletrodo é diretamente proporcional ao coeficiente angular da reta.

$$A = \frac{(CA)\pi^{1/2}}{2nFD_0^{1/2}C_0} \quad (10)$$

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 10⁻⁶ cm²s⁻¹)

n – número de elétrons

CA – coeficiente angular

t - tempo

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores das áreas ativas dos eletrodos compósitos determinadas por cronocoulometria

Pressão / 10^3 kg cm^{-2}	Área* / cm^2
3,5	0,132
7,0	0,140
10,5	0,143
14,0	0,149

*área geométrica = $0,07 \text{ cm}^2$ para $r = 1,5 \text{ mm}$

Pelos resultados obtidos, pode-se observar que as áreas foram bem maiores que as estimadas para um raio de 1,5 mm, devido à rugosidade da superfície.

Pode-se observar que quanto maior a pressão aplicada, maior a área ativa, que poderia ser relacionada com a menor resistência observada para esses compósitos.

4.1.3 Curvas Analíticas

A Tabela 4 apresenta os resultados das curvas analíticas obtidas utilizando os valores de correntes de pico anódicas em voltametria cíclica, com ferricianeto de potássio, de 10 a $600 \mu\text{mol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,50 \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 4 - Curvas Analíticas para os eletrodos compósitos a diferentes pressões

Pressão / 10^3 kg cm^{-2}	Intercepto / μA	Sensibilidade/ $\mu\text{A mol}^{-1} \text{ L}$	R*	ΔE_p / mV
3,5	$1,91 \cdot 10^{-9}$	$1,91 \cdot 10^{-3}$	0,999 ₇	72
7,0	$2,49 \cdot 10^{-8}$	$2,19 \cdot 10^{-3}$	0,999 ₁	72
10,5	$-5,03 \cdot 10^{-8}$	$2,30 \cdot 10^{-3}$	0,999 ₅	63
14,0	$-9,89 \cdot 10^{-9}$	$2,47 \cdot 10^{-3}$	0,999 ₃	72

* n = 6

Como observado na Tabela 4, o intercepto não é fortemente afetado pela pressão aplicada durante o processo de cura. Entretanto, a sensibilidade aumenta com o aumento da pressão.

Portanto, a prensa manual continuou sendo utilizada para a preparação dos compósitos, como feito anteriormente. Esta prensa não permite medir com exatidão a pressão aplicada aos compósitos durante a cura da resina, porém foi estimada em $17,0 \cdot 10^3 \text{ kg cm}^{-2}$.

4.2 Determinação de Ferricianeto de Potássio Utilizando Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

4.2.1 Voltametria Cíclica

Em estudos anteriores^{58,132}, foi avaliado o efeito da composição do material eletrodico quanto à sua resposta voltamétrica. Nesse trabalho, os estudos foram repetidos, confirmando os resultados obtidos anteriormente. Os eletrodos compósitos contendo 50-70% (grafite, *m/m*) foram avaliados em relação às curvas voltamétricas e

comparados com a resposta do eletrodo de carbono vítreo. Os resultados estão apresentados na Figura 12.

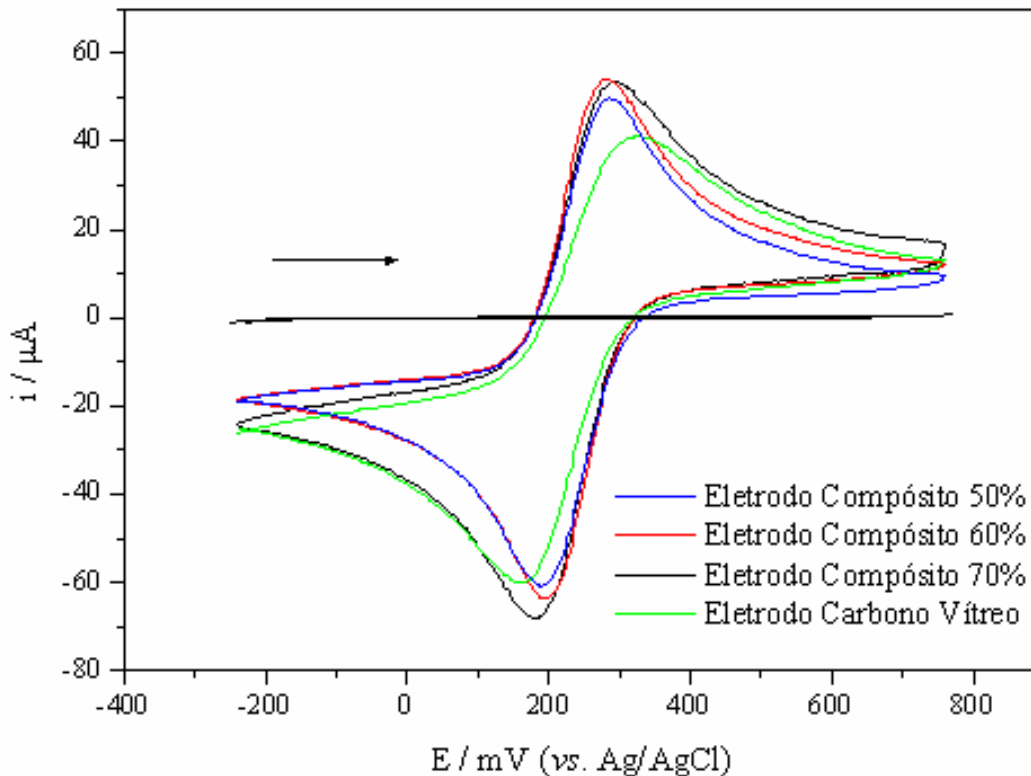


Figura 12 - Voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos compósitos 50-70% (grafite, m/m) e para o carbono vítreo em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Pela Figura 12, pode-se observar que a corrente de pico para o compósito 60% (grafite, m/m) é ligeiramente maior que para o compósito 70% (grafite, m/m), o ΔE é menor e o voltamograma é mais estreito que o compósito 70% (grafite, m/m), comprovando que o compósito de 60% (grafite, m/m) é a melhor composição. De acordo com Trijueque *et al.*^{135,136}, a composição de 62% seria a ideal em termos de propriedades eletroanalíticas para o grafite-epóxi, utilizando a teoria da percolação.

4.2.2 Voltametria de Onda Quadrada

Considerando-se a voltametria cíclica uma técnica com potencialidades para investigação de mecanismos, porém, com limitada sensibilidade em determinações quantitativas, decidiu-se investigar o comportamento do eletrodo composto 60% grafite-PU em voltametria de onda quadrada.

Os voltamogramas de onda quadrada obtidos para o ferricianeto de potássio apresentaram um comportamento semelhante àqueles obtidos por voltametria cíclica, com um pico de redução em torno de 180 mV.

Na Figura 13 está apresentado um voltamograma de onda quadrada com as diferentes correntes medidas.

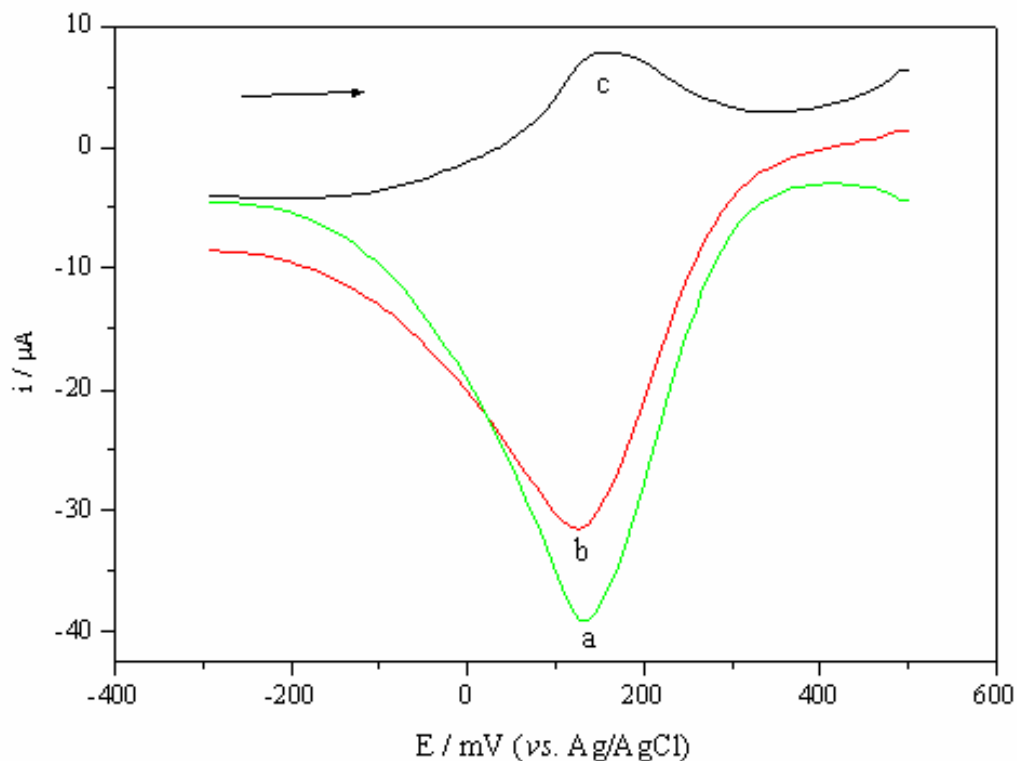


Figura 13 - Voltamogramas de onda quadrada para $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ pH 3, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. (a) corrente resultante, (b) corrente direta, (c) corrente reversa.

4.2.3 Curvas Analíticas

Estabelecidas as melhores condições para a determinação do pico de redução do ferricianeto de potássio, como frequência da onda quadrada (25 s^{-1}), amplitude de pulso (50 mV) e incremento de varredura (10 mV), foi obtida uma curva analítica usando voltametria de onda quadrada. A curva está apresentada na Figura 14.

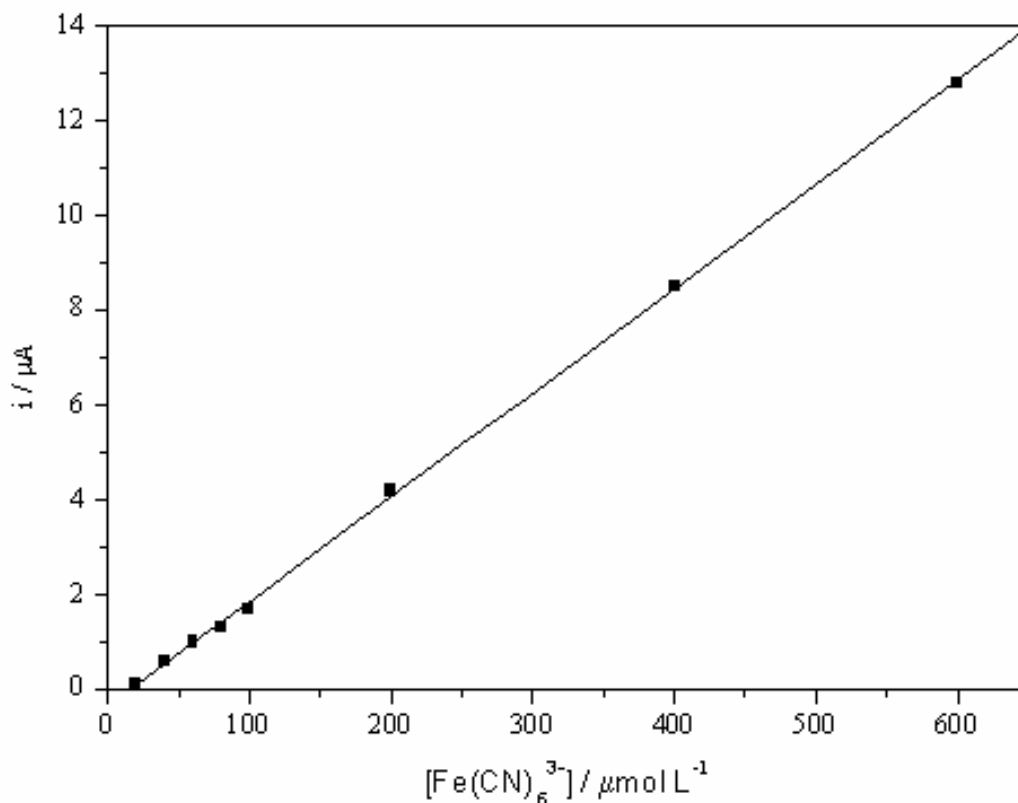


Figura 14 - Dependência da corrente de pico com a concentração para o $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ em $\text{KCl } 0,50 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH } 3$ utilizando o compósito 60% (grafite, m/m) em SWV, com $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

O intervalo de concentração estudado foi de 20 a 600 μmol L^{-1} , no qual se obteve uma resposta que obedece a Equação 11:

$$I_p = -0,35 \text{ μA} + 0,02 \text{ μA mmol}^{-1} \text{ L } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}, n = 8, R = 0,9998 \quad (11)$$

O limite de detecção (LD) encontrado foi de $7,14 \mu\text{mol L}^{-1}$, determinado como três vezes o desvio do branco (S_d) dividido pelo coeficiente angular da reta (b)¹³⁷, conforme a Equação 12.

$$\text{LD} = 3 S_d / b \quad (12)$$

O limite de quantificação (LQ) encontrado foi de $23,8 \mu\text{mol L}^{-1}$, determinado como dez vezes o desvio do branco (S_d) dividido pelo coeficiente angular da reta (b)¹³⁷, conforme a Equação 13.

$$\text{LQ} = 10 S_d / b \quad (13)$$

4.3 Determinação de Ferricianeto de Potássio Utilizando Eletrodo Rotatório

4.3.1 Voltametria de Varredura Linear

As medidas para determinação de ferricianeto de potássio foram realizadas com o eletrodo compósito de disco 60% (grafite, *m/m*), visando avaliar o comportamento do compósito nesta técnica.

Inicialmente, foram registrados voltamogramas de varredura linear sobre condições estáticas, utilizando solução $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em solução $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. Então, foi feito um estudo da velocidade de varredura, variando-se de 2 a 100 mV s^{-1} (Figura 15). Por esse estudo, pode ser observado que com o aumento da velocidade de varredura, há um aumento na intensidade de corrente do $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

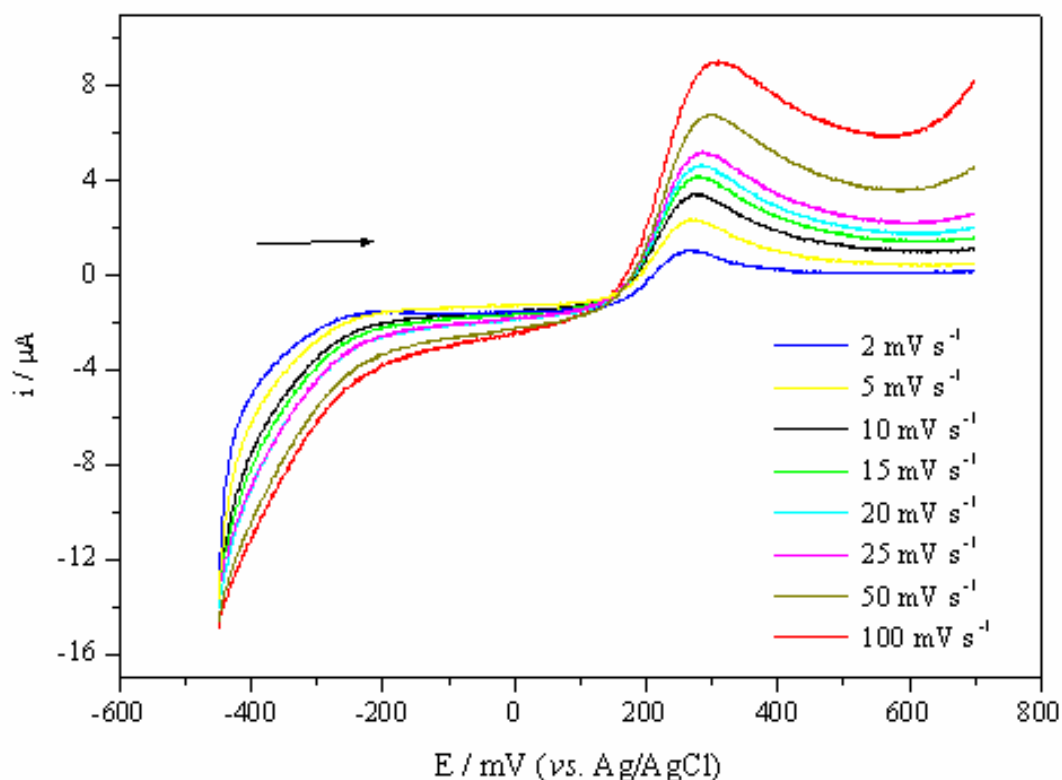


Figura 15 - Voltamogramas de varredura linear em velocidades entre 2 e 100 mV s^{-1} , utilizando o compósito 60% (grafite, m/m) em solução 1,0 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em 0,50 mol L^{-1} de KCl.

O mesmo procedimento foi feito em condições dinâmicas. A rotação foi mantida em 500 rpm e a velocidade de varredura variada entre 2 e 25 mV s^{-1} (Figura 16). Pode ser observado que não há uma diferença significativa de corrente quando a velocidade é mudada. Portanto, 15 mV s^{-1} , uma velocidade intermediária, foi escolhida para os estudos hidrodinâmicos.

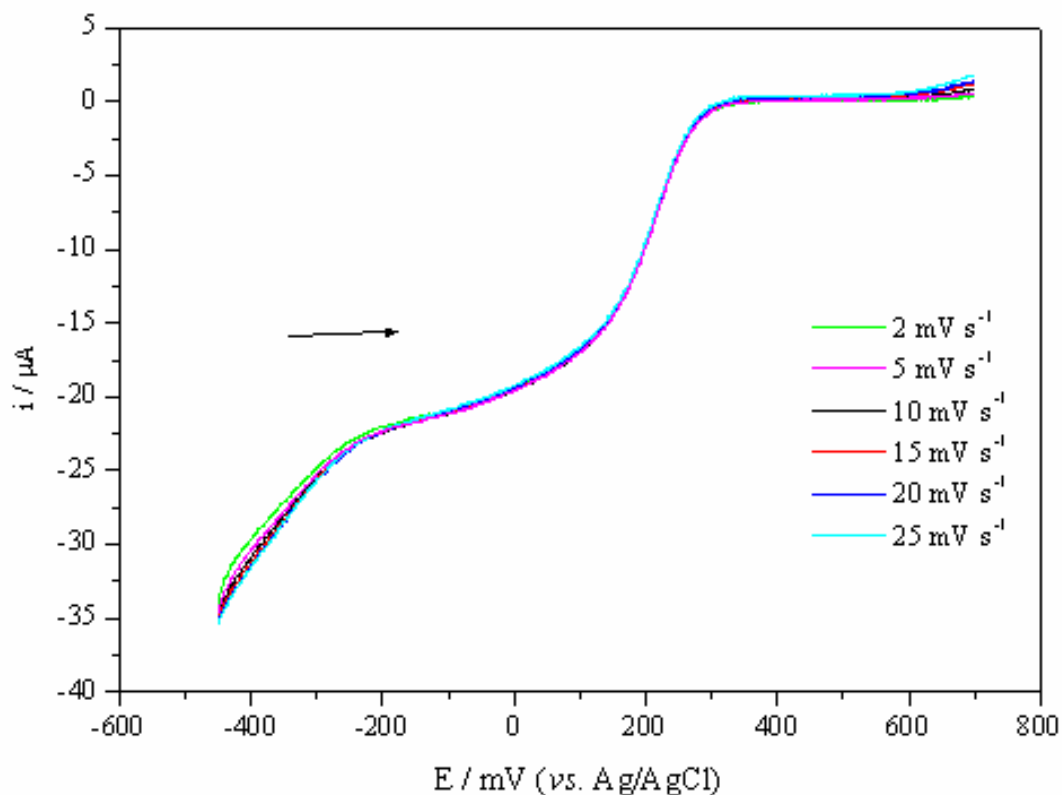


Figura 16 - Voltamogramas de varredura linear em velocidades de varredura entre 2 e 100 mV s^{-1} , com rotação de 500 rpm, utilizando o compósito 60% (grafite, m/m) em solução $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl .

A Figura 17 mostra que o voltamograma de varredura linear registrado sobre condições hidrodinâmicas apresentou um incremento na resposta da corrente do $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, quando comparado à condição estática, apesar da velocidade de varredura ser maior nesse caso. Isso pode ser explicado pelo transporte de massa mais eficiente.

Também pode ser observado pela Figura 17, que um patamar de corrente é atingido a partir de 260 mV. Portanto, o potencial de 260 mV foi adotado para a obtenção da curva analítica.

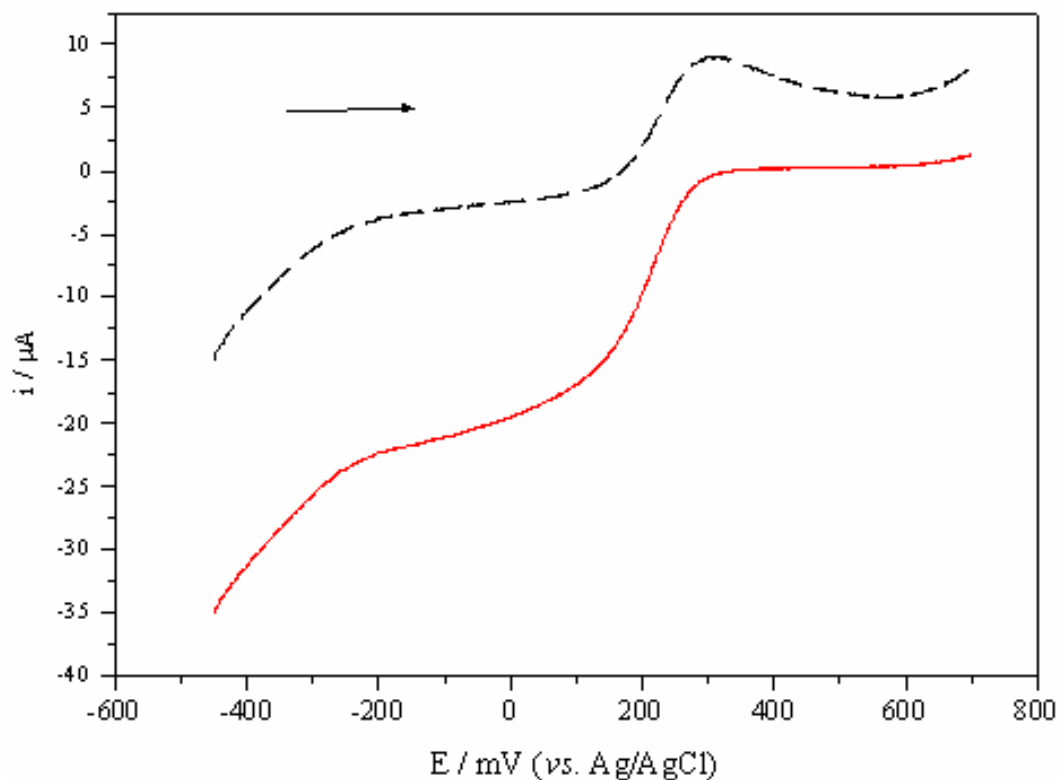


Figura 17 - Voltamogramas de varredura linear registrados em presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, m/m) em (--) condições estáticas a 100 mV s^{-1} e (—) condições dinâmicas a 500 rpm e 15 mV s^{-1} .

Em seguida, foi feito um estudo para otimizar a velocidade de rotação do eletrodo (ω). Então, foram registrados voltamogramas de varredura linear em valores de ω entre 500 e 2500 rpm, como apresentado na Figura 18.a, juntamente com o respectivo gráfico de Levich (Figura 18.b).

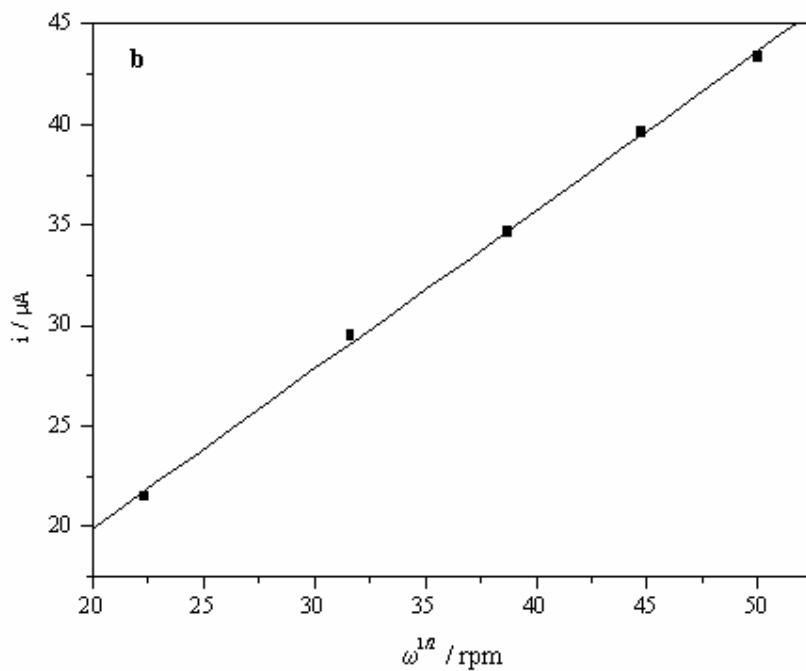
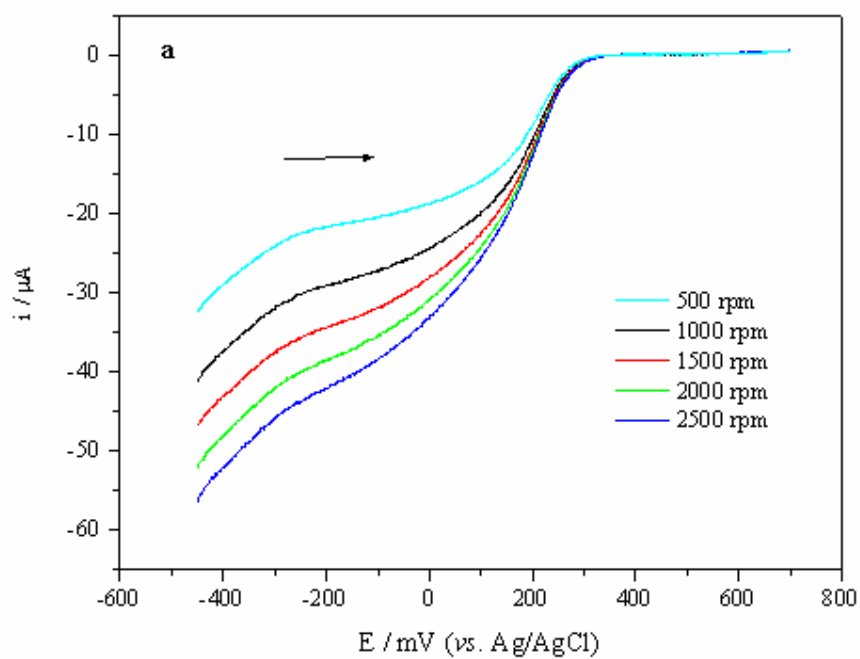


Figura 18 - Voltamogramas de varredura linear registrados em solução $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl , em diferentes valores de ω , $v = 15 \text{ mV s}^{-1}$, utilizando o eletrodo composto 60% (grafite, m/m) (a), Gráfico de Levich obtido a partir da Figura 18.a (b).

O gráfico de Levich apresentou linearidade da corrente limite i_L com $\omega^{1/2}$, no intervalo de 500 a 2500 rpm, segundo a Equação 14:

$$i_L = 4,07 \mu\text{A} + 0,79 \mu\text{A rpm}^{1/2}, \text{ com } R = 0,9995 \quad (14)$$

Portanto, foi escolhida a rotação de 2500 rpm para os estudos seguintes.

4.3.2 Curvas Analíticas

Utilizando os parâmetros otimizados anteriormente sob condições hidrodinâmicas, curvas analíticas foram obtidas para $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ utilizando o eletrodo compósito de disco 60% (grafite, *m/m*) (Figura 19). As curvas foram obtidas em um intervalo entre 0 e $153 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Utilizando o compósito, duas respostas lineares foram obtidas. A primeira no intervalo de $19,6$ a $56,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, seguindo a Equação 15:

$$I_p = 18,4 \mu\text{A} + 0,24 \mu\text{A} \mu\text{mol}^{-1} \text{ L } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}, n = 3, R = 0,9987 \quad (15)$$

E, a segunda, no intervalo de $56,6$ a $138 \mu\text{mol L}^{-1}$, obedecendo a Equação 16:

$$I_p = 25,2 \mu\text{A} + 0,12 \mu\text{A} \mu\text{mol}^{-1} \text{ L } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}, n = 6, R = 0,9951 \quad (16)$$

O limite de detecção encontrado foi de $7,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, referente à primeira região linear, determinado como descrito na Equação 12. E, o limite de quantificação encontrado foi de $25,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, determinado como descrito na Equação 13.

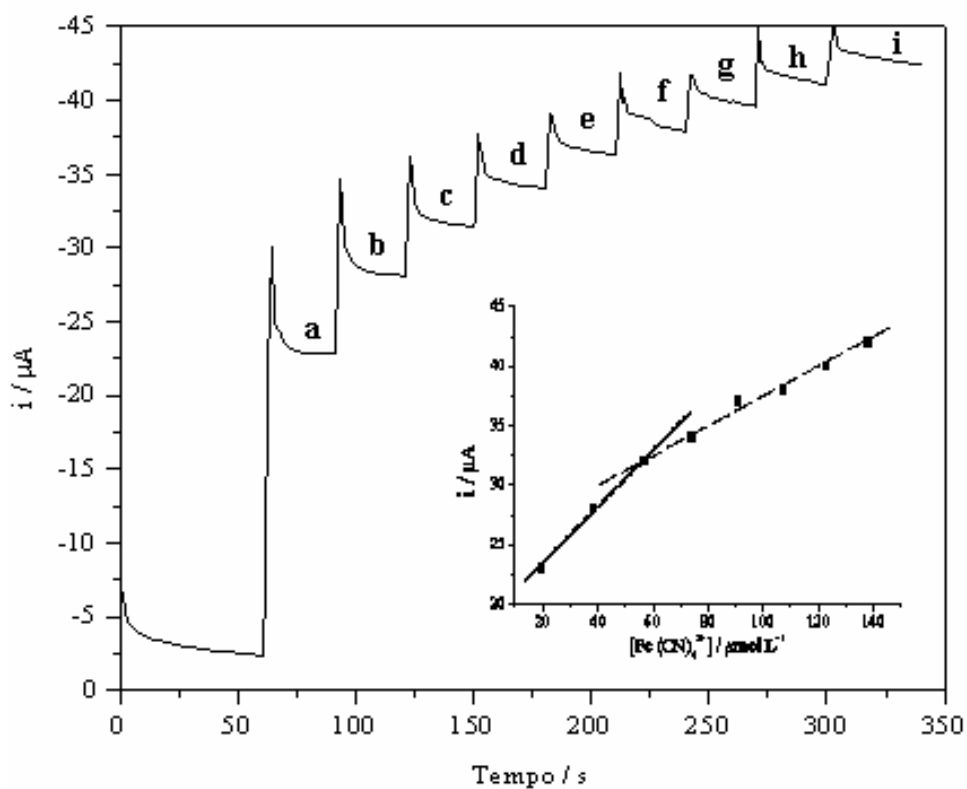


Figura 19 - Amperograma obtido para o eletrodo compósito 60% (grafite, m/m) em concentrações (a) 19, (b) 38, (c) 56, (d) 74, (e) 91, (f) 107, (g) 123, (h) 138 e (i) 153 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em 0,50 mol L^{-1} de KCl , com $\omega = 2500$ rpm, $E = 260$ mV (vs. Ag/AgCl). No detalhe, a curva analítica com a primeira (—) e a segunda (---) repostas lineares.

Assim, pode-se concluir que o eletrodo compósito 60% (grafite, m/m) pode ser usado como eletrodo rotatório, obedecendo a teoria.

4.4 Determinação de Hidroquinona em Reveladores Fotográficos Utilizando Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

4.4.1 Voltametria Cíclica

Os voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 20, quando comparados sob as mesmas condições experimentais, sugerem que o compósito 60% (grafite, *m/m*) apresenta maior intensidade de corrente de pico para HQ e menor diferença de potencial em relação ao carbono vítreo.

O comportamento voltamétrico da HQ é conhecido e representa uma reação redox *quasi*-reversível, apresentada no detalhe da Figura 20. O pico de oxidação da HQ utilizando o compósito 60% (grafite, *m/m*) ocorre aproximadamente em 400 mV.

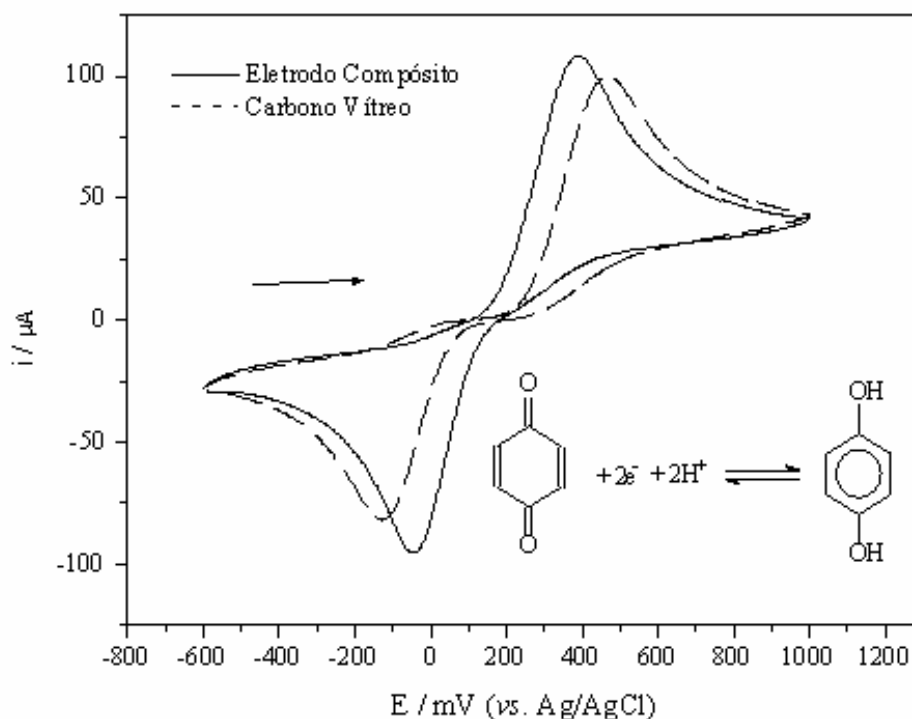


Figura 20 - Voltamogramas cíclicos obtidos com o compósito 60% (grafite, *m/m*) e para o carbono vítreo em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de HQ em tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Não foi feito um estudo de pH para a HQ, pois estudos prévios^{58,132} demonstraram que o tampão acetato pH 4,5 apresenta melhores resultados. Portanto, em todas as medidas envolvendo HQ foi utilizado esse tampão.

4.4.2 Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais

O efeito da velocidade de varredura foi verificado sobre a resposta voltamétrica do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em solução $1,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ de HQ em tampão acetato pH 4,5. Os resultados são apresentados na Figura 21, para velocidades entre 5 e 100 mV s⁻¹.

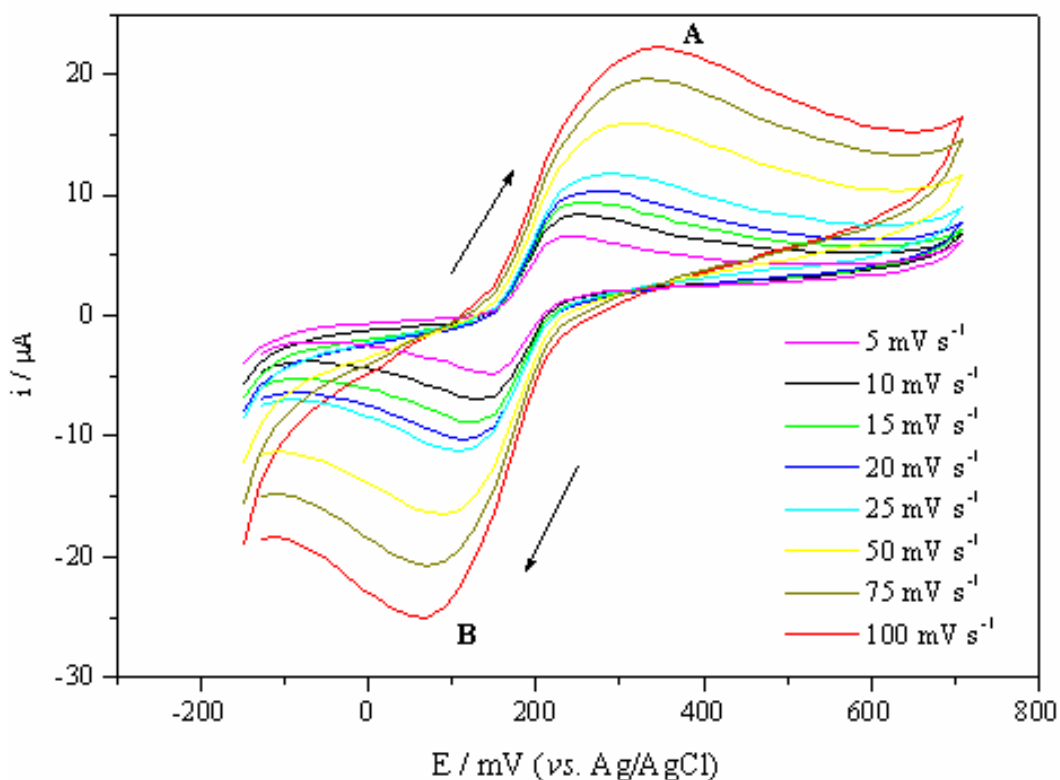


Figura 21 - Voltamogramas cíclicos em velocidades de varredura entre 5 e 100 mV s⁻¹, utilizando o compósito 60% (grafite, *m/m*) em solução $1,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ de HQ em tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5.

Os voltamogramas mostram um aumento na intensidade de corrente, com deslocamento dos picos anódicos e catódicos e perda de definição dos picos com o aumento da velocidade de varredura.

A análise da dependência das correntes de pico anódico (A) e catódico (B) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura (Figura 22) indica uma representação satisfatória da transferência de carga controlada por difusão¹³⁸, no compósito.

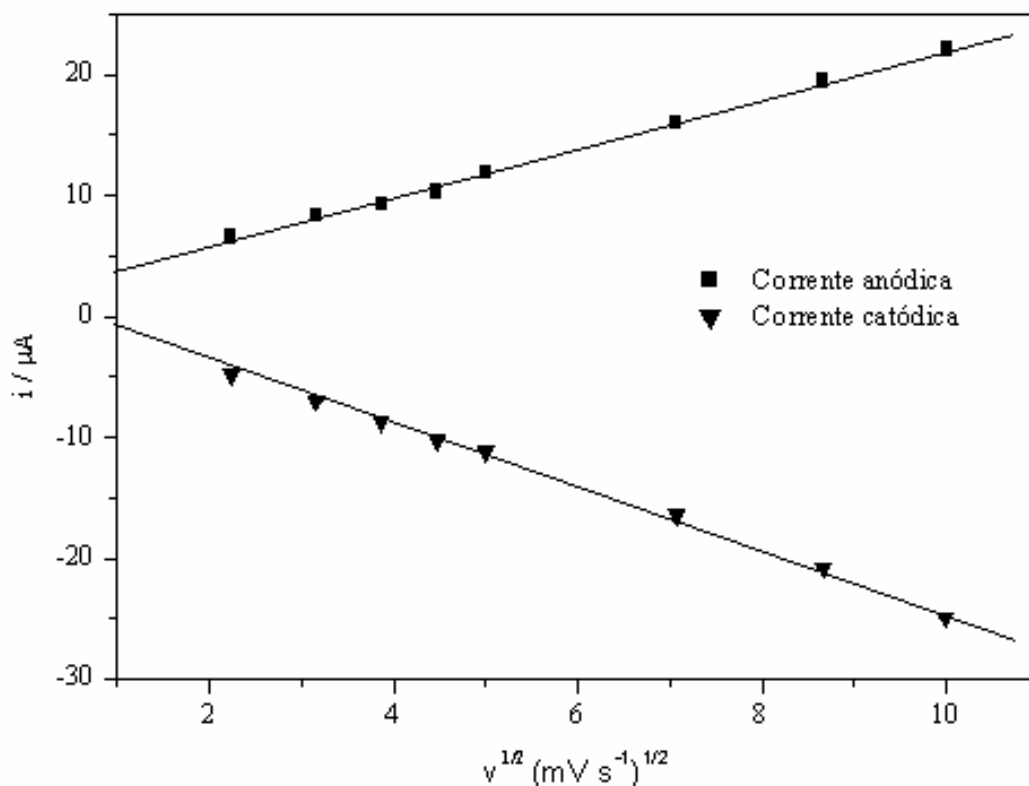


Figura 22 - Dependência da corrente dos picos anódico e catódico com a raiz quadrada da velocidade de varredura para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em solução $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de HQ em tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5.

A Figura 23 apresenta o logaritmo da intensidade da corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura. Pode ser observado que o gráfico apresenta

comportamento linear com inclinação de 0,41. O valor próximo de 0,5, é descrito na literatura¹³⁹ para sistemas controlados por difusão e não adsorção, o que justifica a não necessidade de renovação de superfície do compósito entre medidas.

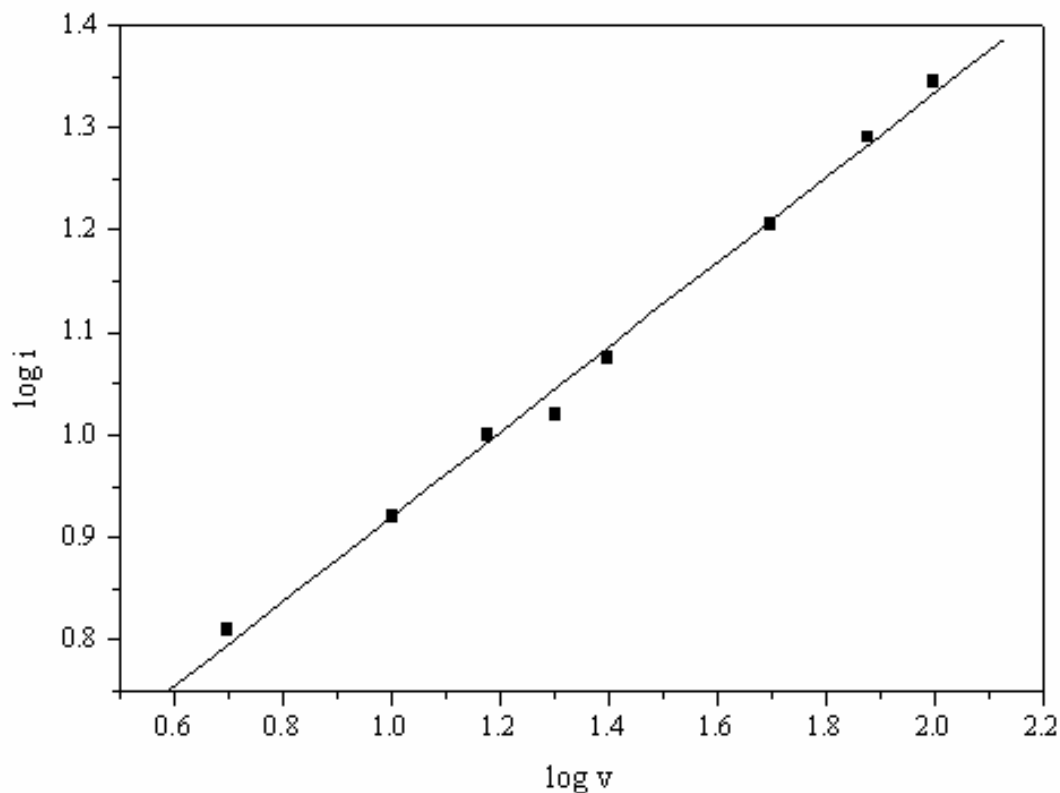


Figura 23 - Dependência do logaritmo da intensidade da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura para a HQ no compósito 60% (grafite, *m/m*) em solução $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de HQ em tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5.

4.4.3 Voltametria de Quadrada

A voltametria de onda quadrada é uma técnica eletroanalítica dependente da frequência (f) e do incremento de varredura (ΔE_s)^{64,65}. Portanto, esses parâmetros foram otimizados de acordo com um planejamento fatorial 2^n , utilizando f de 50 e 200 s^{-1} e ΔE_s de 10 e 50 mV, num total de quatro experimentos.

Os melhores resultados foram obtidos com $f = 50 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$, com a amplitude de pulso fixada em 50 mV (Figura 24).

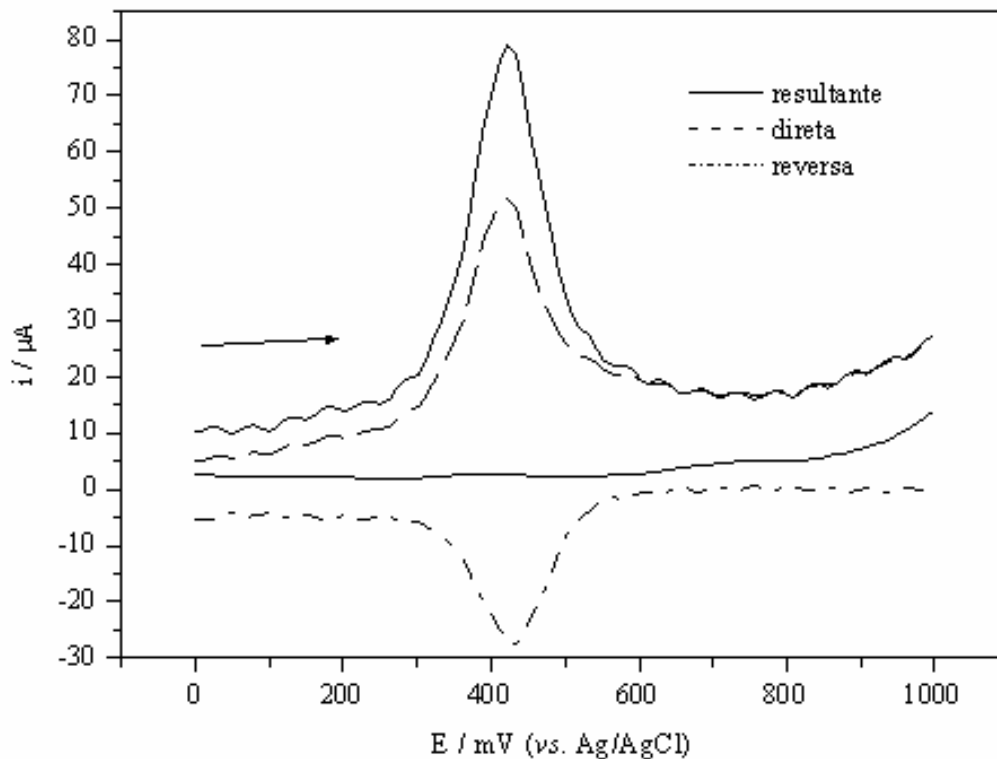


Figura 24 - Voltamogramas de onda quadrada da solução $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de HQ em tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5, $a = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Pela Figura 24 pode ser observado o pico de oxidação da HQ próximo a 420 mV , com boa definição nas curvas resultante, direta e reversa. Também pode ser observado que a corrente resultante é maior que a corrente direta, enquanto a corrente reversa apresenta um pico de menor intensidade. Este comportamento é esperado para um sistema *quasi-reversível*¹⁴⁰.

4.4.4 Curvas Analíticas

Utilizando os parâmetros otimizados anteriormente em SWV, como $a = 50$ mV, $f = 50$ s⁻¹ e $\Delta E_s = 10$ mV, curvas analíticas foram obtidas para HQ utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) e o carbono vítreo para comparação. Os voltamogramas foram obtidos sem necessidade de renovação de superfície entre determinações sucessivas, em um intervalo entre $1,0 \cdot 10^{-6}$ e $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹.

Os resultados estão apresentados na Figura 25. No detalhe está a curva para concentrações menores.

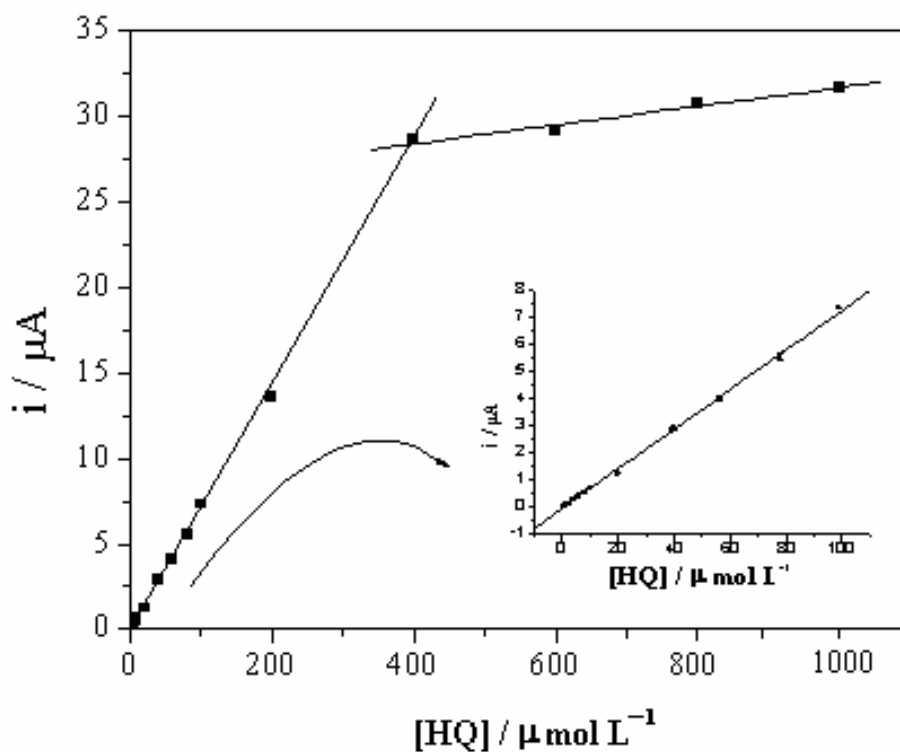


Figura 25 - Curva analítica obtida para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em tampão acetato $0,10$ mol L⁻¹, pH 4,5, em diferentes concentrações de HQ. No detalhe está a curva para concentrações mais baixas.

No intervalo estudado, foi encontrada uma resposta linear entre 1,0 e 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obedecendo a Equação 17:

$$I_p = 0,12 \mu\text{A} + 0,07 \mu\text{A}\mu\text{mol}^{-1} \text{L [HQ]}, n = 11, R = 0.999_4 \quad (17)$$

Em concentrações maiores que 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$, foram observadas correntes praticamente constantes, sugerindo uma saturação dos sítios ativos do eletrodo.

O limite de detecção (LD) obtido no intervalo de 1,0 a 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi de 283 nmol L^{-1} , determinado como descrito na Equação 12.

O limite de quantificação (LQ) encontrado foi de 942 nmol L^{-1} , determinado como descrito na Equação 13.

Curvas analíticas para HQ também foram obtidas utilizando o eletrodo de carbono vítreo nas mesmas condições empregadas nos experimentos com o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*), como apresentado na Figura 26.

Uma resposta linear foi determinada no intervalo de 6 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, seguindo a Equação 18:

$$I_p = -0,2 \mu\text{A} + 0,05 \mu\text{A}\mu\text{mol}^{-1} \text{L [HQ]}, n = 10, R = 0.998_8 \quad (18)$$

O primeiro sinal observado para HQ utilizando o GC foi coincidente com o primeiro sinal da região linear.

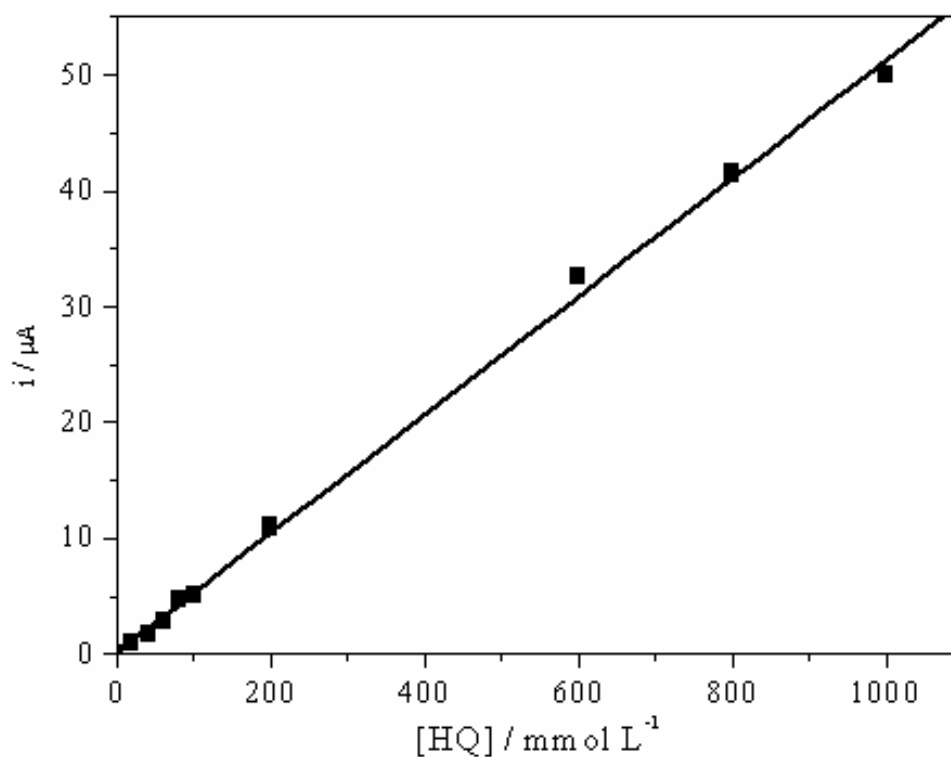


Figura 26 - Curva analítica obtida para o eletrodo de carbono vítreo em tampão acetato 0,10 mol L⁻¹, pH 4,5, em diferentes concentrações de HQ.

A resposta linear obtida para o GC foi maior que aquela obtida para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*), pois em altas concentrações há uma diminuição na sensibilidade da corrente do compósito.

Entretanto, foi observado que a corrente de pico é maior e o limite de detecção é menor para o compósito quando comparado ao GC. O LD do compósito está na ordem de nmol L⁻¹, enquanto o LD para o GC é 6 μmol L⁻¹.

4.4.5 Estudo da Repetibilidade

O estudo da repetibilidade da resposta do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi realizado em 5,0 10⁻⁵ mol L⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L⁻¹ para 10

replicatas, em SWV. Para cada medida voltamétrica a superfície do composto foi renovada. Foi encontrada uma repetibilidade de $2,60 \pm 0,14 \mu\text{A}$ (média \pm desvio padrão).

4.4.6 Método de Adição de Padrão

Para a determinação voltamétrica da quantidade de HQ presente no revelador fotográfico D-76, foi utilizado o método de adição de padrão.

Os voltamogramas de onda quadrada foram obtidos para o eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*), sem necessidade de renovação da superfície entre as medidas. A curva de adição de padrão foi realizada utilizando as condições descritas anteriormente (4.4.4).

Os resultados obtidos na determinação de HQ por SWV foram comparados ao método cromatográfico HPLC e estão apresentados na Tabela 5. Porém, para a análise por HPLC, houve necessidade da remoção de sulfito e carbonato de sódio presentes na amostra do revelador, como descrito anteriormente (3.3.6.8).

Tabela 5 - Determinação de HQ no revelador fotográfico Kodak D-76

Rotulado	Hidroquinona / mg g ⁻¹			
	SWV	HPLC	E ₁ / %	E ₂ / %
50,00	49,75 \pm 0,10	51,50 \pm 0,10	-0,50	3,40

E₁: SWV vs rotulado (SWV-rotulado/rotulado) x 100%

E₂: SWV vs HPLC (SWV-HPLC/HPLC) x 100%

Os resultados obtidos pelo método proposto SWV concordam com o valor rotulado e o método comparativo HPLC, no limite de confiança de 95%, de acordo com o teste *t*-Student.

As adições de HQ padrão às soluções do revelador fotográfico mostraram recuperação entre 99,1 e 101,5% para adições de $9,95 \cdot 10^{-5}$ a $2,96 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ de solução de HQ.

4.5 Determinação de Hidroquinona em Reveladores Fotográficos Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA)

4.5.1 Efeito do Potencial

O efeito do potencial de detecção foi avaliado entre 200 e 600 mV por injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L⁻¹ de HQ, em uma vazão de 4,1 mL min⁻¹ e volume da alça de amostragem de 50 µL fixadas inicialmente.

A Figura 27 mostra que não há diferença significativa nas correntes obtidas em valores de potencial maiores que 450 mV. Portanto, 450 mV foi escolhido para os estudos seguintes, pois também apresenta menor desvio padrão entre medidas sucessivas e menor risco de oxidar espécies contaminantes.

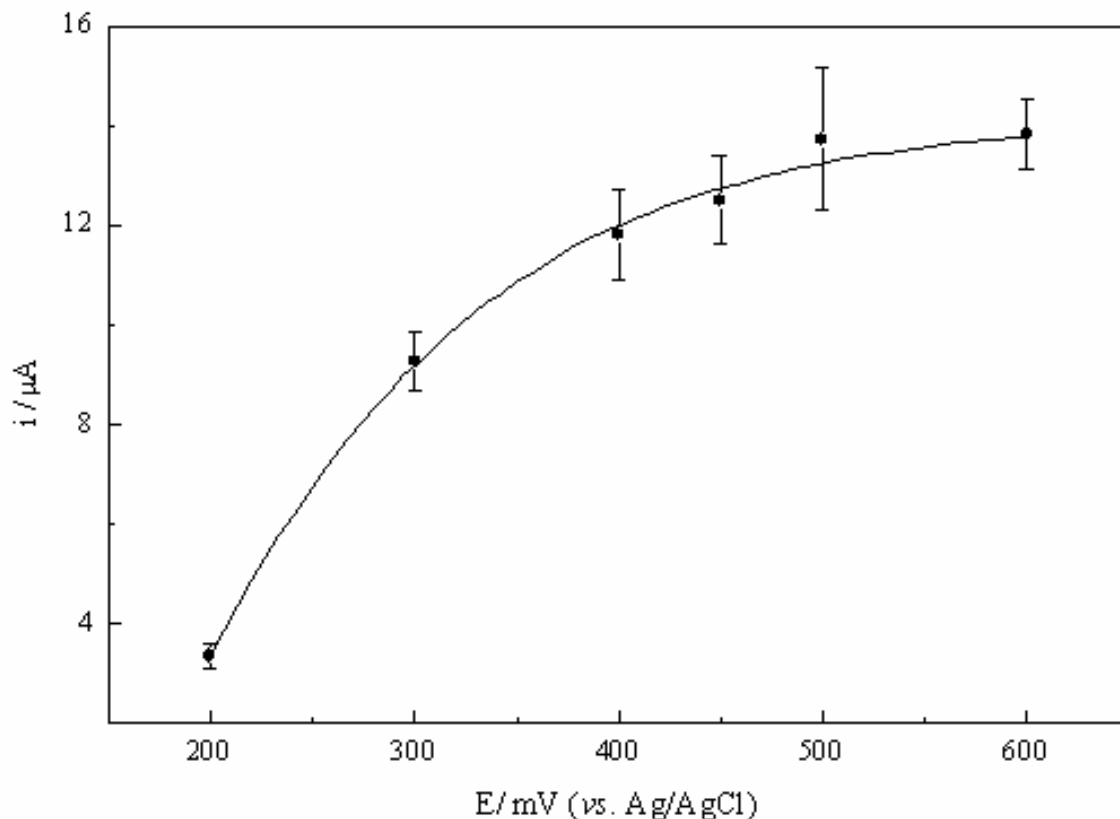


Figura 27 - Efeito do potencial de detecção na resposta amperométrica do eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L⁻¹, pH 4,5 como solução carregadora, usando volume da alça de amostragem de 50 μL e vazão de 4,1 mL min⁻¹.

4.5.2 Efeito da Vazão da Solução Carregadora

O efeito da vazão da solução carregadora foi avaliado entre 1,4 e 6,8 mL min⁻¹ por injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L⁻¹ de HQ, em um volume de alça de amostragem de 50 μL e no potencial de 450 mV otimizado anteriormente.

A Figura 28 mostra que a corrente aumenta até 5,5 mL min⁻¹, permanecendo praticamente constante a 6,8 mL min⁻¹. Portanto, a vazão de 5,5 mL min⁻¹ foi escolhida para os estudos seguintes.

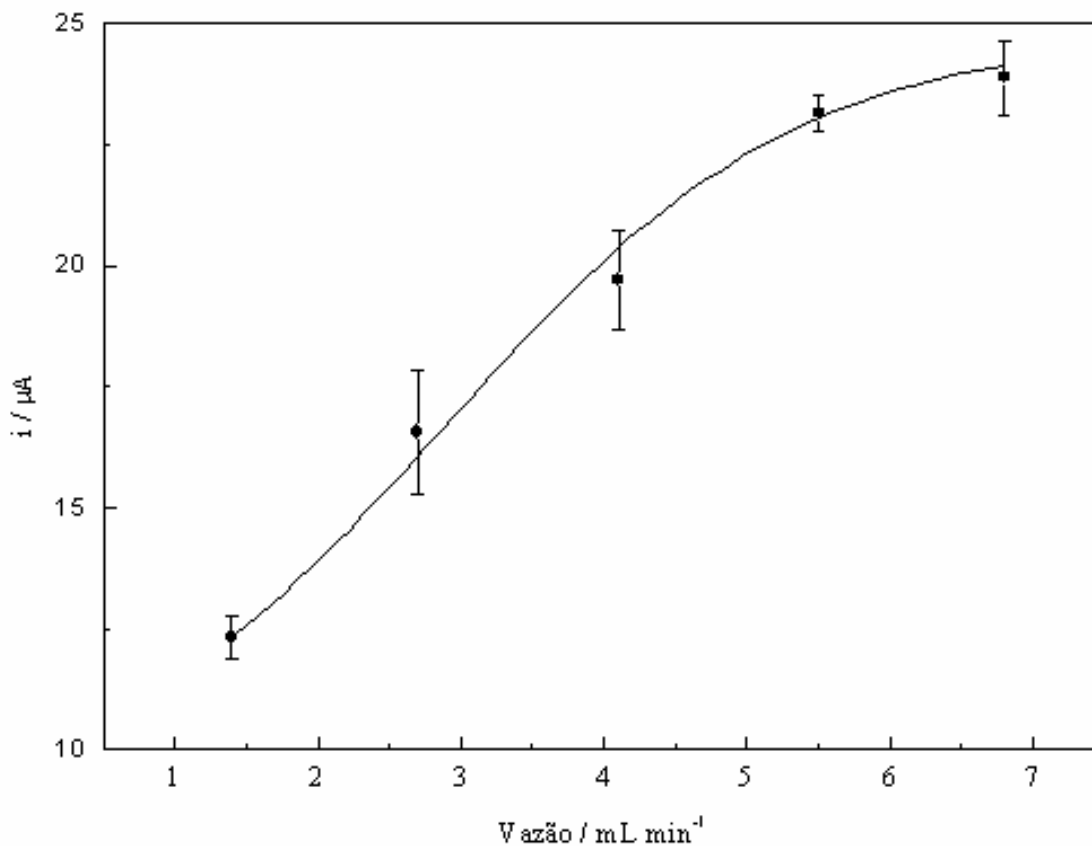


Figura 28 - Efeito da vazão da solução carregadora na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L⁻¹, pH 4,5 como solução carregadora, usando volume da alça de amostragem de 50 μL e potencial de detecção de 450 mV.

4.5.3 Efeito do Volume da Alça de Amostragem

O efeito do volume da alça de amostragem foi avaliado para volumes de 25 a 151 μL, correspondentes a alças de 5 a 30 cm, usando solução 5,0 mmol L⁻¹ de HQ. Para esse estudo, foi utilizado potencial de detecção de 450 mV e vazão de 5,5 mL min⁻¹, otimizados anteriormente.

A Figura 29 mostra que o sinal da corrente aumenta significativamente até 126 μL. Para volumes maiores, o sinal permanece praticamente constante. Portanto, foi selecionado o volume de 126 μL.

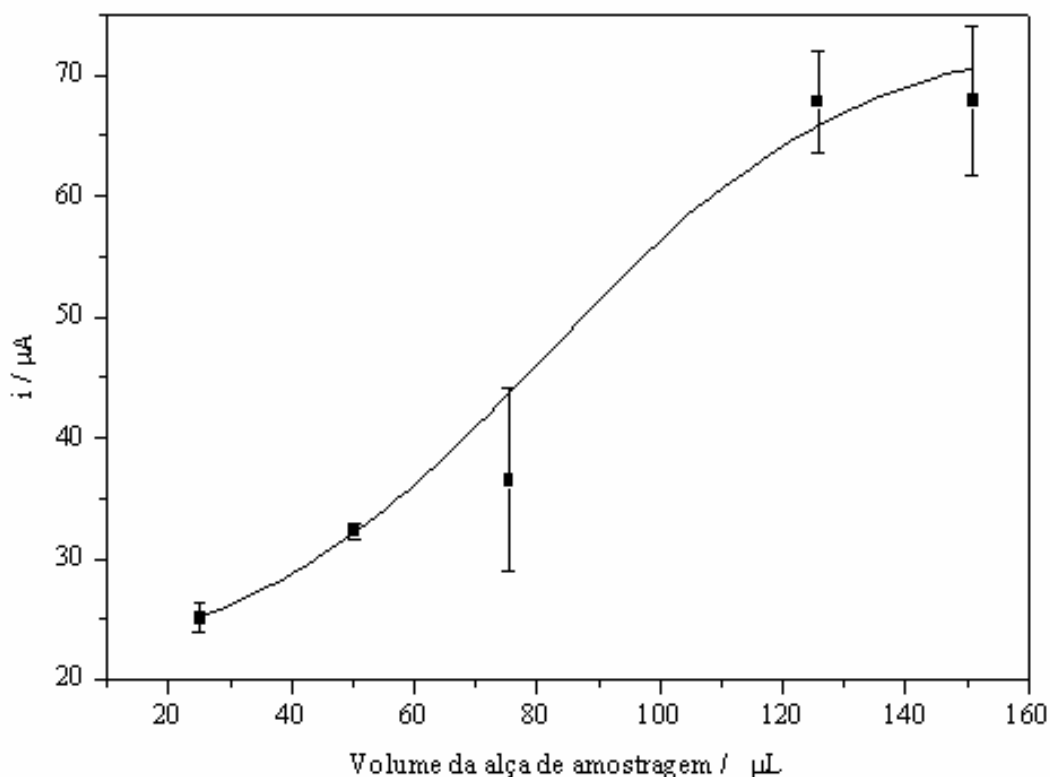


Figura 29 - Efeito do volume da alça de amostragem na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L⁻¹, pH 4,5 como solução carregadora, usando vazão de 5,5 mL min⁻¹ e potencial de detecção de 450 mV.

4.5.4 Curvas Analíticas

Curvas analíticas foram obtidas para avaliar o comportamento da resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em relação à concentração de HQ.

Os parâmetros foram otimizados anteriormente, e os melhores resultados foram com potencial de detecção de 450 mV (*vs.* Ag/AgCl), vazão da solução carregadora de 5,5 mL min⁻¹ e volume da alça de amostragem de 126 μL , correspondente à alça de 25 cm. Usando essas condições, foi obtida uma curva analítica, com uma resposta linear

em todo intervalo estudado, entre $1,0 \cdot 10^{-4}$ e $1,0 \cdot 10^{-2}$ mol L⁻¹ de solução de HQ (Figura 30).

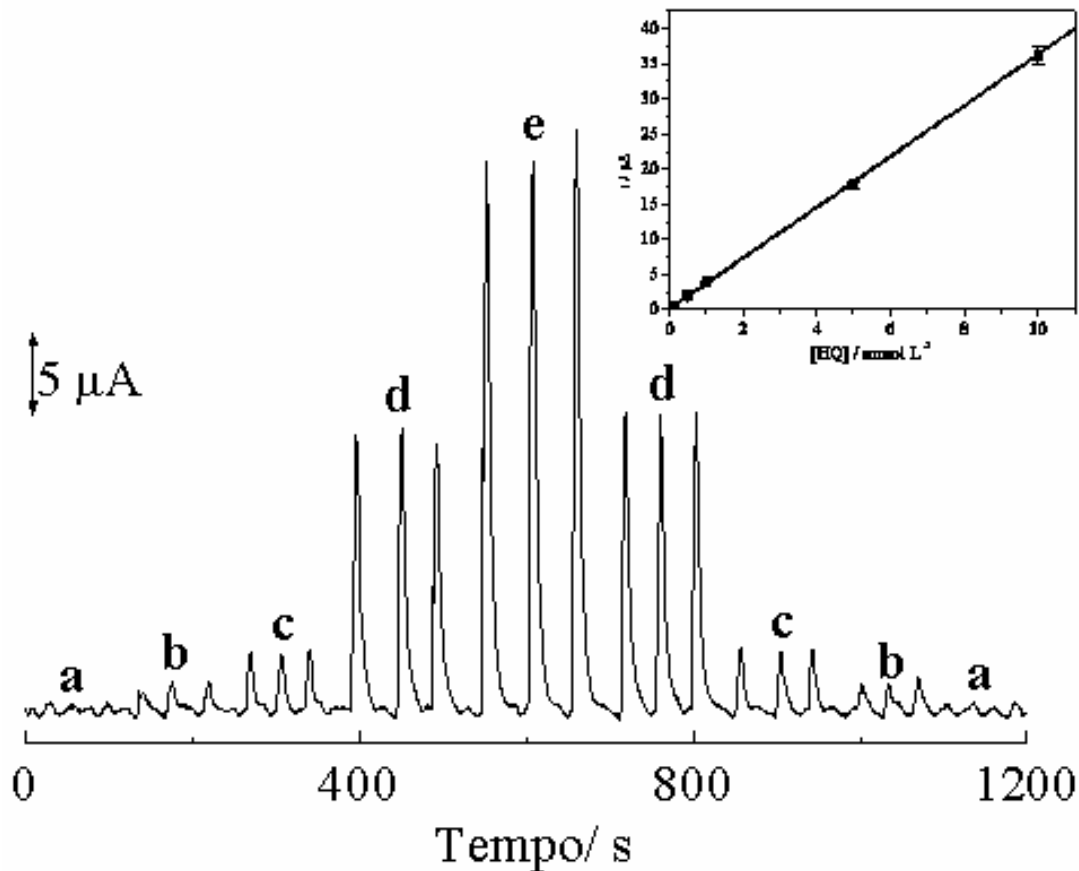


Figura 30 - Sinais transientes obtidos para o eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) usando (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-4}$, (c) $1,0 \cdot 10^{-3}$, (d) $5,0 \cdot 10^{-3}$ e (e) $1,0 \cdot 10^{-2}$ mol L⁻¹ de HQ, tampão acetato $0,10$ mol L⁻¹ pH 4,5 como solução carregadora, vazão de $5,5$ mL min⁻¹, potencial de detecção de 450 mV e volume da alça de amostragem de 126 μL. No detalhe está a curva analítica.

As injeções foram realizadas em ordem crescente de concentração e então, em ordem decrescente, para avaliar o possível efeito de memória. A resposta linear (detalhe na Figura 30) obedeceu à Equação 19:

$$I_p = 0,12 \mu\text{A} + 3,59 \mu\text{A mmol}^{-1} \text{L} [\text{HQ}], n = 5, R = 0,9999 \quad (19)$$

Foi observada uma frequência analítica de 81 determinações por hora. O limite de detecção obtido nesse intervalo, de acordo com a Equação 12, foi de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$. Este limite é suficiente para determinação de amostras como reveladores fotográficos e até mesmo em cosméticos. O LQ encontrado foi de $389 \mu\text{mol L}^{-1}$, de acordo com a Equação 13.

O LD para HQ utilizando o eletrodo de carbono vítreo como detector amperométrico, sob as mesmas condições utilizadas para o compósito, foi de $478 \mu\text{mol L}^{-1}$, isto é, quase cinco vezes maior.

4.5.5 Determinação de HQ no Revelador Fotográfico

A aplicabilidade do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) como detector amperométrico em FIA para determinação de HQ foi verificada analisando o revelador fotográfico Kodak D-76.

A Figura 31 apresenta os sinais transientes obtidos para as soluções de padrão e amostra. No detalhe está a curva resultante.

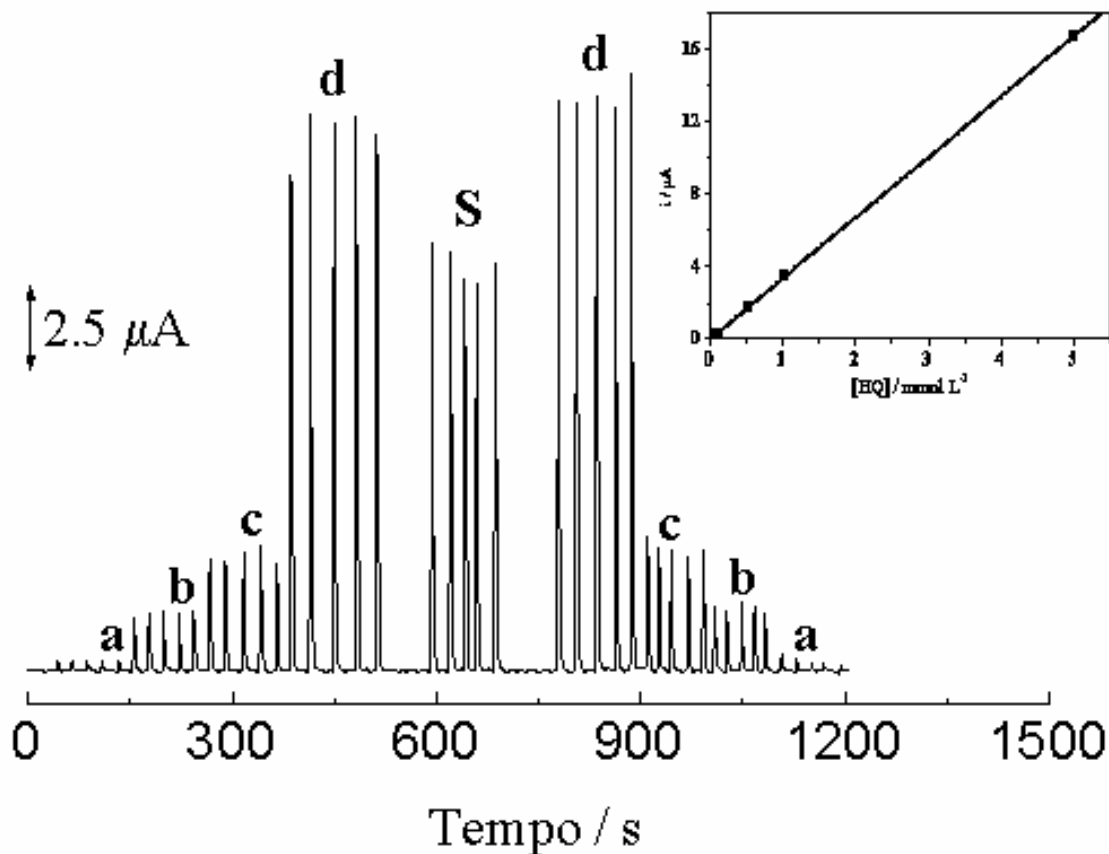


Figura 31 - Sinais transientes para determinação de HQ no revelador fotográfico usando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em tampão acetato $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5, como solução carregadora, vazão de $5,5 \text{ mL min}^{-1}$, potencial de detecção de 450 mV e volume da alça de amostragem de $126 \mu\text{L}$, com (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-4}$, (c) $1,0 \cdot 10^{-3}$, (d) $5,0 \cdot 10^{-3}$ e (S) amostras com $3,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. No detalhe, a resposta linear da curva.

Na Tabela 6 estão apresentados os resultados usando o compósito 60% (grafite, *m/m*) no método proposto (FIA) e no método cromatográfico HPLC para comparação.

Tabela 6 - Determinação de HQ no revelador fotográfico D-76 usando o método de fluxo proposto e o cromatográfico HPLC

Amostra	Hidroquinona /mg g ⁻¹			E ₁	E ₂
	Rotulado	FIA	HPLC		
1	50,0	50,3 ± 0,10	51,5 ± 0,10	0,6	2,3

E₁: FIA vs rotulado (FIA - rotulado/rotulado) x 100%

E₂: FIA vs HPLC (FIA - HPLC/HPLC) x 100%

Interferência de sulfito de sódio presente no revelador fotográfico foi observada na detecção em FIA e em HPLC, mas pôde ser removido como descrito anteriormente (3.3.6.8).

Os resultados obtidos pelo método proposto FIA quando comparados ao valor rotulado e ao método comparativo HPLC concordam em 95% de confiança segundo o teste *t*-Student.

Recuperações entre 98 e 110% foram observadas para injeção de 0,10 a 5,0 mmol L⁻¹ de solução de HQ na amostra do revelador fotográfico.

4.5.6 Estudo da Repetibilidade

A Figura 32 apresenta o estudo da repetibilidade utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em FIA, com 10 injeções de solução 5,0 mmol L⁻¹ de HQ em tampão acetato 0,10 mol L⁻¹, pH 4,5.

O eletrodo apresentou média de corrente ± desvio padrão de 36,9 µA ± 0,91, para n = 10.

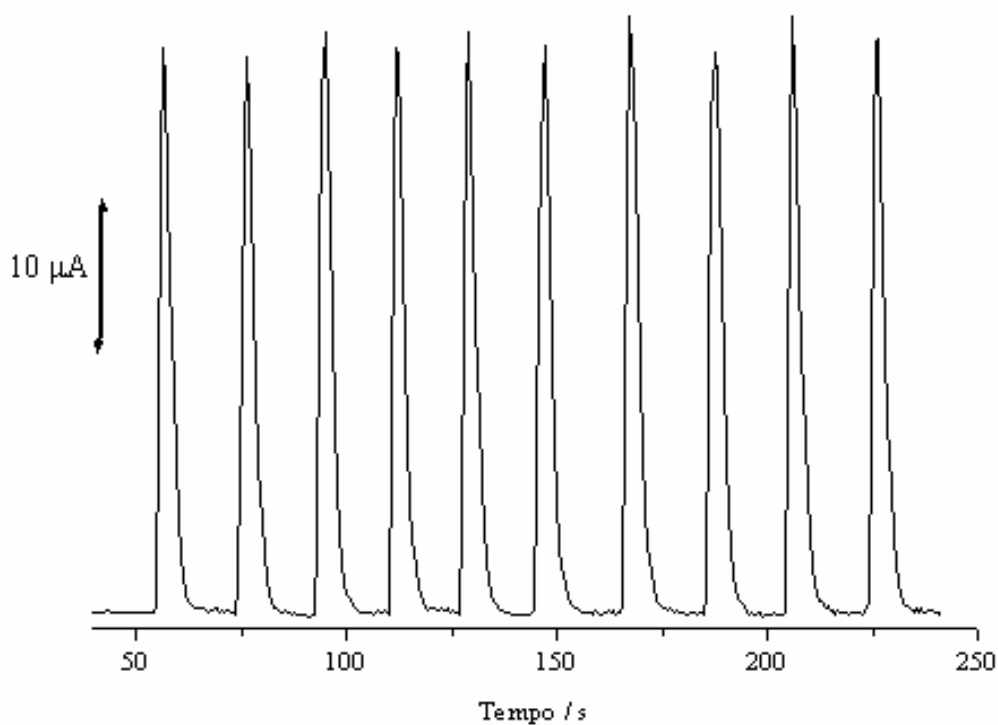


Figura 32 – Fiagrama para 10 injeções consecutivas de HQ, mostrando a repetibilidade do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*).

4.6 Determinação de Paracetamol em Formulações Farmacêuticas Utilizando Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

4.6.1 Voltametria Cíclica

O voltamograma cíclico apresentado na Figura 33 mostra o comportamento voltamétrico do APAP, utilizando o compósito 60% (grafite, *m/m*), sendo que o pico de oxidação do APAP ocorre aproximadamente em 370 mV.

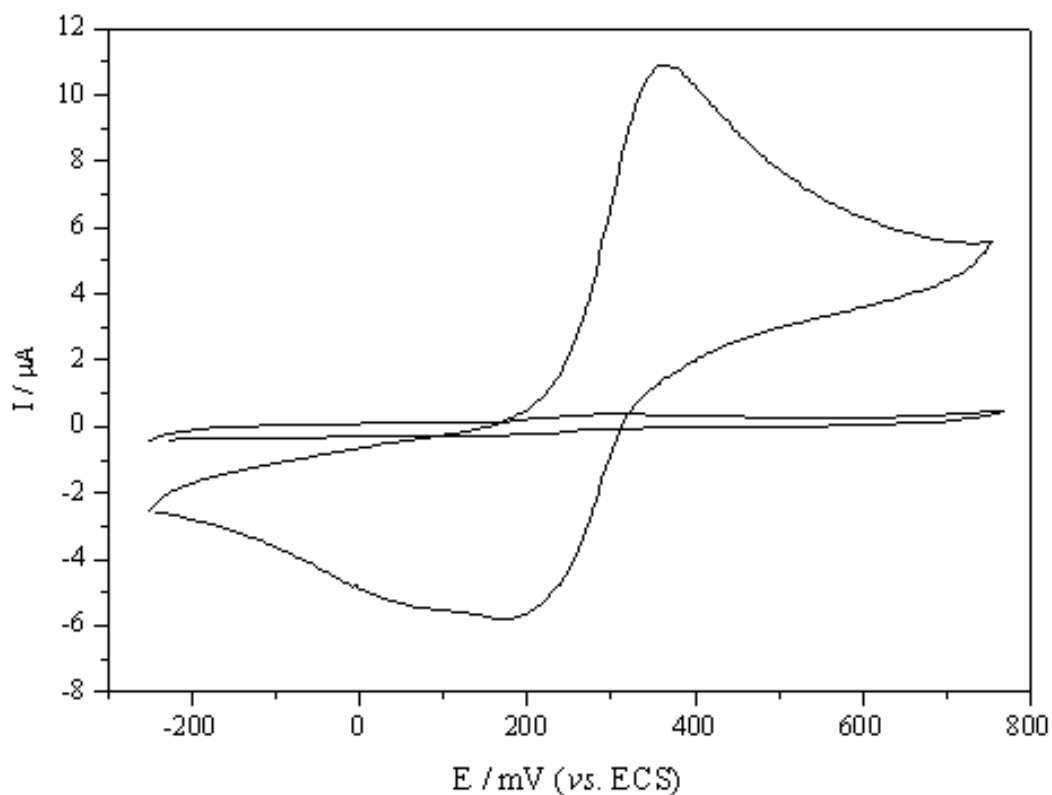
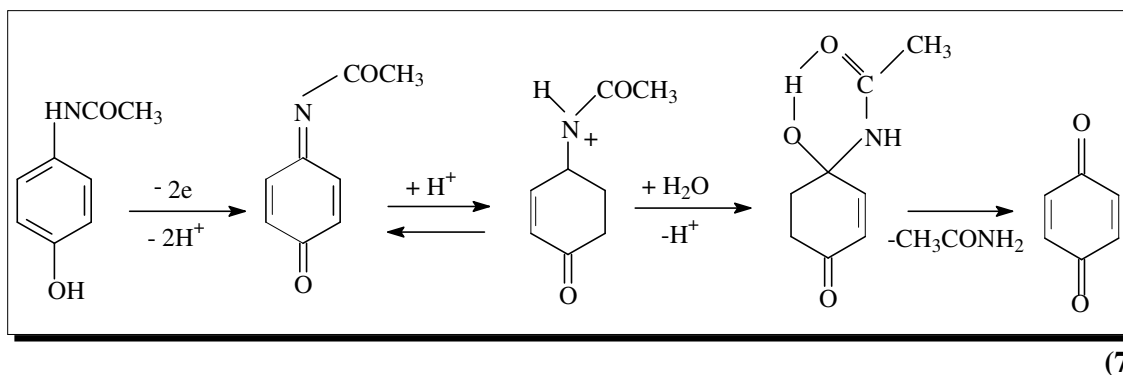


Figura 33 - Voltamograma cíclico obtido para o composto 60% (grafite, *m/m*) em solução 1,0 mmol L⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8, $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$.

O mecanismo de oxidação do APAP ocorre como apresentado na Equação 7^{113,114}.

A primeira reação é uma oxidação eletroquímica, em um processo envolvendo 2 elétrons e 2 prótons. O produto é a *N*-acetil-*p*-quinoneimina, que apresenta reações dependentes do pH, e o produto final é a benzoquinona.



Para iniciar os estudos utilizando o paracetamol, foram feitas medidas em voltametria cíclica, para a determinação do melhor pH. Para isso, foram feitas curvas analíticas utilizando o eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em valores de pH entre 2 e 10, em tampão universal.

A Tabela 7 apresenta os resultados obtidos para os diferentes valores de pH, utilizando APAP em voltametria cíclica.

Tabela 7 – Resultados referentes às curvas analíticas obtidas para o composto 60% (grafite *m/m*) utilizando solução de APAP entre $2,0 \cdot 10^{-4}$ e $10,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão universal, com diferentes valores de pH, em voltametria cíclica, com $v = 25$ mV s⁻¹

pH	Intercepto/ μ A	Sensibilidade/ 10^3 μ A μ mol ⁻¹ L	R*
2	-0,11	9,21	0,999 ₉
4	0,37	10,28	0,998 ₈
6	0,61	9,86	0,995 ₈
8	0,43	10,81	0,998 ₇
10	1,33	8,22	0,992 ₈

* n = 5

Pelos resultados da Tabela 7, pode ser observado que nos valores de pH 4 e 8 há maior sensibilidade de corrente. Entretanto, em pH 8 os picos mostraram-se mais definidos, portanto, foi o pH escolhido para os estudos seguintes.

4.6.2 Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais

Foi realizado um estudo do efeito da velocidade de varredura de potenciais em voltametria cíclica, entre 5 e 200 mV s^{-1} , como apresentado na Figura 34, no eletrodo compósito 60% (grafite, m/m) em solução 1,0 mmol L^{-1} de APAP em tampão universal pH 8.

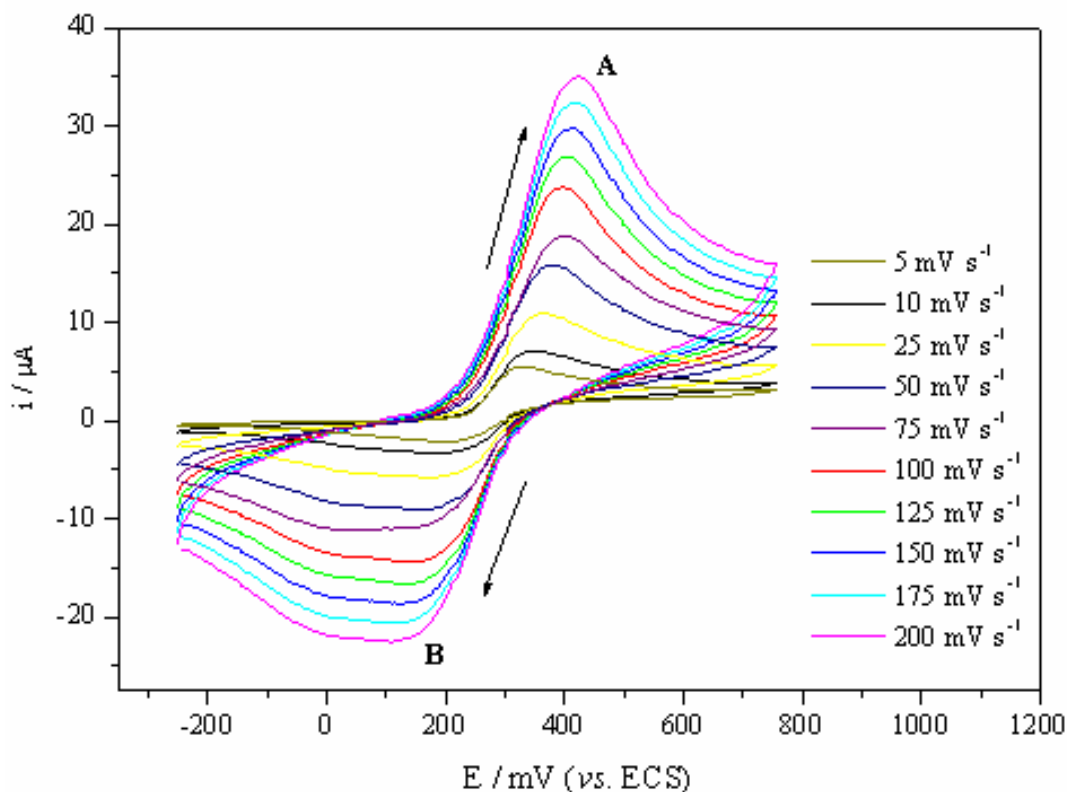


Figura 34 - Voltamogramas cíclicos em velocidades de varredura entre 5 e 200 mV s^{-1} , utilizando o compósito 60% (grafite, m/m) em solução 1,0 mmol L^{-1} de APAP em tampão universal pH 8.

Os voltamogramas mostram um aumento na intensidade de corrente com um deslocamento dos picos anódicos e catódicos. O aparecimento de um segundo pico catódico com o aumento da velocidade de varredura, é provavelmente referente a outros processos químicos envolvidos na redução do APAP, segundo a Equação 7.

A análise da dependência das correntes de pico anódico (A) e catódico (B) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura (Figura 35) indica transferência de carga controlada por difusão¹³⁸.

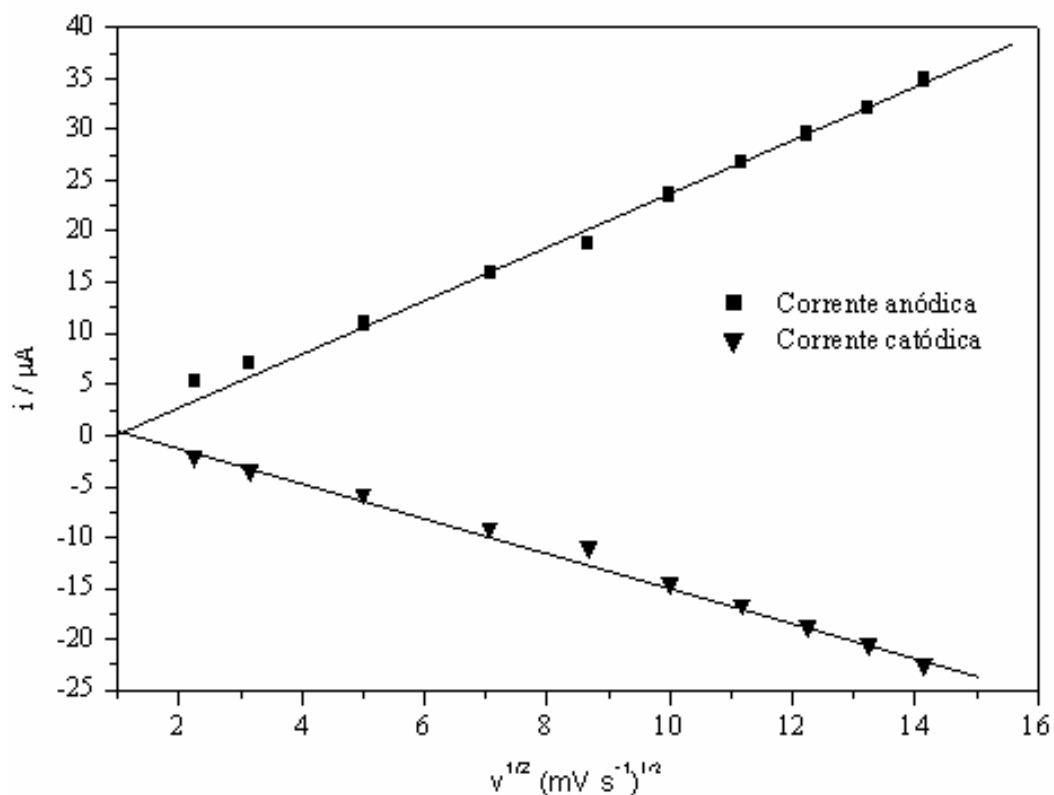


Figura 35 - Dependência da corrente dos picos anódico e catódico com a raiz quadrada da velocidade de varredura no eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em solução 1,0 mmol L⁻¹ de APAP em tampão universal, pH 8.

A Figura 36 apresenta o logaritmo da intensidade da corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura. Pode ser observado que o gráfico apresenta comportamento linear com inclinação de 0,52. Este valor é próximo de 0,5, que é descrito na literatura¹³⁹ para sistemas que não são controlados por adsorção das espécies.

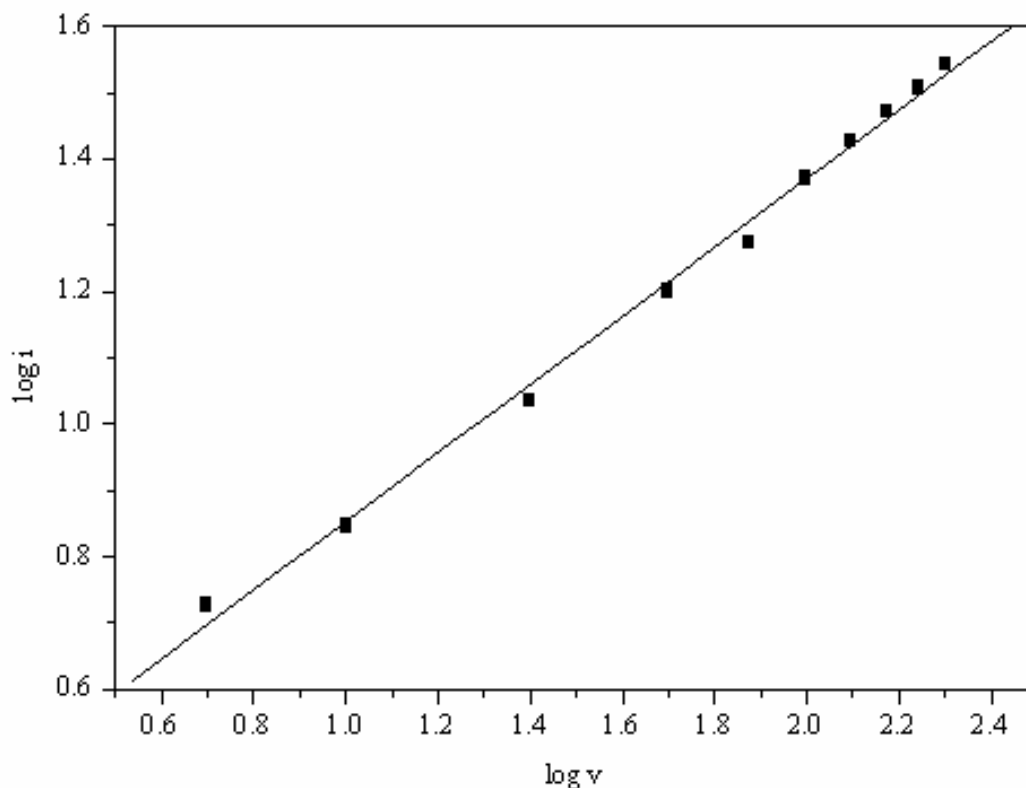


Figura 36 - Dependência do logaritmo da intensidade da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura para APAP, no eletrodo compósito 60% (grafite, m/m) em solução $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de APAP em tampão universal, pH 8.

4.6.3 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

Para a otimização dos parâmetros em DPV, foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial para APAP $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão universal pH 8, utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, m/m). A amplitude (a) foi fixada em 50 mV, com variações de velocidades de varredura (v) de 5, 10, 25 e 50 mV s^{-1} , como apresentado na Figura 37.

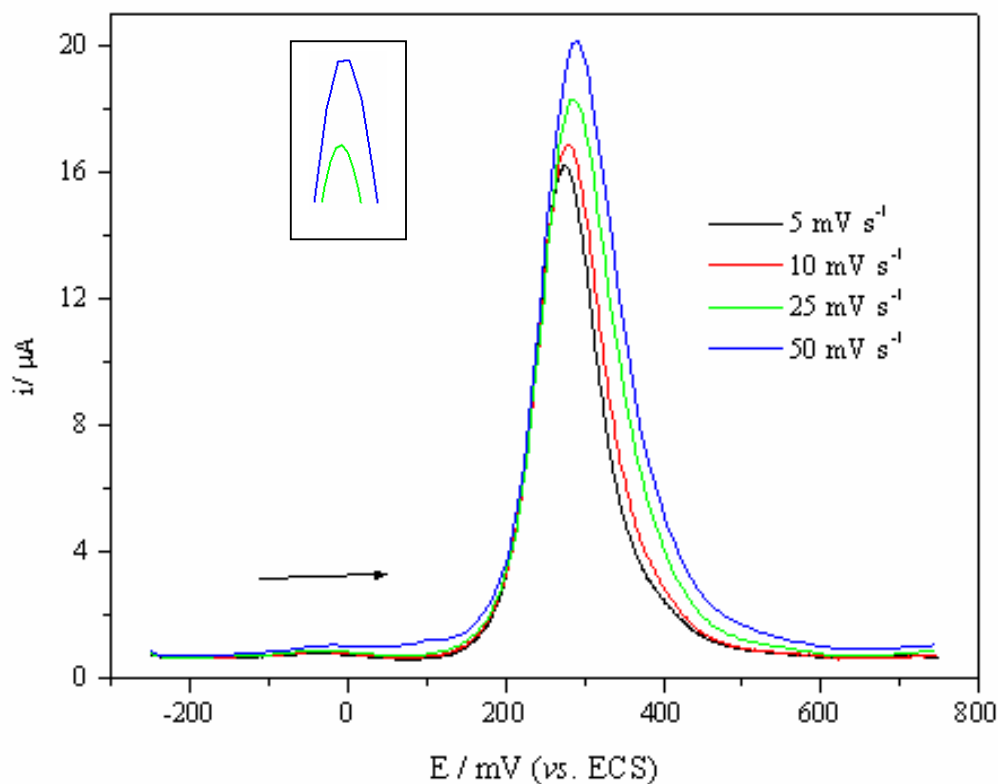


Figura 37 - Voltamogramas de pulso diferencial usando APAP $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, em tampão universal pH 8, para compósito 60% (grafite, m/m), com $a = 50 \text{ mV}$, em diferentes velocidades de varredura.

Pode ser observado, pelo estudo da velocidade de varredura em DPV (Figura 37), que a velocidade de 25 mV s^{-1} apresenta intensidade de corrente menor que em velocidade de 50 mV s^{-1} , mas esta apresentou uma distorção no pico (detalhe Figura 37). Portanto, a velocidade de 25 mV s^{-1} foi escolhida para estudos posteriores.

4.6.4 Curvas Analíticas

Utilizando os parâmetros otimizados anteriormente em DPV, como $a = 50 \text{ mV}$, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ e $\text{pH} = 8$, curvas analíticas foram obtidas para APAP utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, m/m) e o carbono vítreo para comparação. Os

voltamogramas foram obtidos sem necessidade de renovação de superfície entre determinações sucessivas, em um intervalo entre 2,0 e 180 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Utilizando o compósito, uma resposta linear foi obtida no intervalo de 6,0 a 180 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 38), segundo a Equação 20:

$$I_p = -0,14 \mu\text{A} + 0,025 \mu\text{A}\mu\text{mol}^{-1} \text{ L} [\text{APAP}], n = 10, R = 0,9991 \quad (20)$$

O limite de detecção encontrado foi de 3,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$, determinado como descrito na Equação 12. E, o limite de quantificação encontrado foi de 13,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$, determinado como descrito na Equação 13.

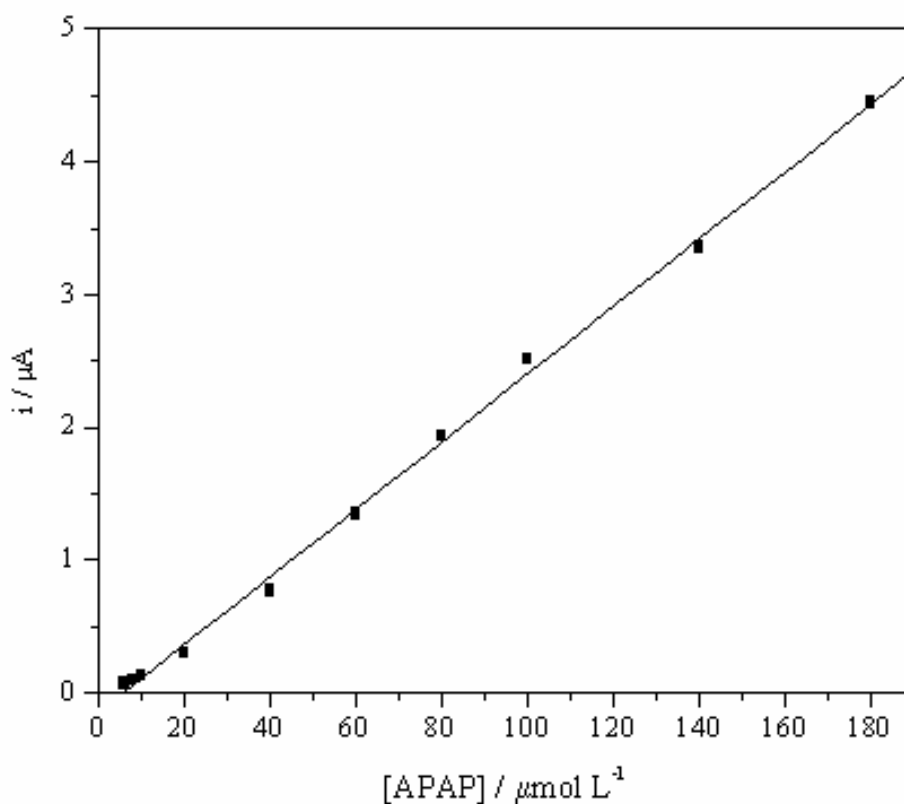


Figura 38 - Curva analítica para compósito 60% (grafite, *m/m*) utilizando solução de APAP entre 6,0 e 180 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão universal pH 8, em DPV, com $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$.

Curvas analíticas para APAP também foram obtidas utilizando o eletrodo de carbono vítreo nas mesmas condições empregadas nos experimentos com o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*).

Uma resposta linear foi determinada no intervalo de 20 a 180 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obedecendo à Equação 21:

$$I_p = -0,14 \mu\text{A} + 0,016 \mu\text{A}\mu\text{mol}^{-1} \text{L} [\text{APAP}], n = 6, R = 0,9988 \quad (21)$$

O limite de detecção encontrado foi de 7,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$, determinado como descrito na Equação 12. E, o limite de quantificação encontrado foi de 23,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, determinado como descrito na Equação 13.

4.6.5 Estudo da Repetibilidade

O estudo da repetibilidade da resposta do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi realizado em 1,0 mmol L^{-1} de APAP em tampão universal pH 8, para 10 replicatas, em DPV. Para cada medida voltamétrica a superfície do compósito foi renovada. Foi encontrada uma repetibilidade de $2,09 \pm 0,21 \mu\text{A}$ (média \pm desvio padrão).

4.6.6 Curvas de Adição de Padrão

Para a determinação voltamétrica da quantidade de APAP presente nas formulações farmacêuticas, foi utilizado o método de adição de padrão.

Os voltamogramas de pulso diferencial foram obtidos para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*), sem necessidade de renovação da superfície entre as

medidas. As curvas de adição de padrão foram realizadas utilizando as condições descritas anteriormente (4.6.4).

Os resultados obtidos na determinação de APAP por DPV foram comparados ao método cromatográfico HPLC e os resultados estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas usando o método proposto DPV e o método cromatográfico HPLC

Amostra	Paracetamol (mg /comprimido)			E ₁	E ₂
	Rotulado	DPV ^a	HPLC ^b		
Tylenol	750	759 ± 0,04	747 ± 0,01	1,54	1,20
Resfenol ^c	40,0	39,0 ± 0,07	39,8 ± 0,01	-2,03	-2,50
Buscopan Plus	500	502 ± 0,04	498 ± 0,03	0,74	0,40
Trimedal	500	481 ± 0,02	499 ± 0,01	-3,53	-3,80

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

^b = 2 determinações

^c = 40 mg por 100 mL de solução

E₁: DPV vs. HPLC (DPV-HPLC/HPLC) x100%

E₂: DPV vs. rotulado(DPV- rotulado / rotulado) x 100%

Os resultados obtidos pelo método proposto DPV concordam com o valor rotulado e o método comparativo HPLC, no limite de confiança de 95%, de acordo com o teste *t*-Student.

As adições de APAP padrão às soluções das formulações farmacêuticas mostraram recuperação entre 97 e 103%, para adições de $6,22 \cdot 10^{-5}$ a $9,94 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹ de solução de APAP.

4.6.7 Estudo de Interferentes

Um estudo de interferentes foi realizado para avaliar o efeito do ácido ascórbico ($C_6H_6O_6$) na resposta voltamétrica do APAP, pois são usados em associação em algumas amostras farmacêuticas. Experimentos em DPV foram feitos para solução 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de APAP na presença de 250, 500 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico. Foi observada interferência, como um aumento do pico referente ao APAP.

Uma das formulações analisadas, o Trimedal, possui em sua composição, uma associação desses dois compostos (500 mg de APAP e 40,0 mg de AA). Entretanto, foi possível contornar a interferência, como observado na Tabela 8, que mostra resultados satisfatórios em relação ao método cromatográfico.

4.7 Determinação de Paracetamol em Formulações Farmacêuticas Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA)

4.7.1 Efeito do Potencial

O efeito do potencial de detecção foi avaliado entre 200 e 600 mV por injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L^{-1} de APAP, em uma vazão de 3,9 mL min^{-1} e volume da alça de amostragem de 50 μL fixadas inicialmente.

A Figura 39 mostra que há um salto de corrente até 500 mV e acima desse valor as correntes obtidas permanecem praticamente constantes. Portanto, 500 mV foi escolhido para os estudos seguintes.

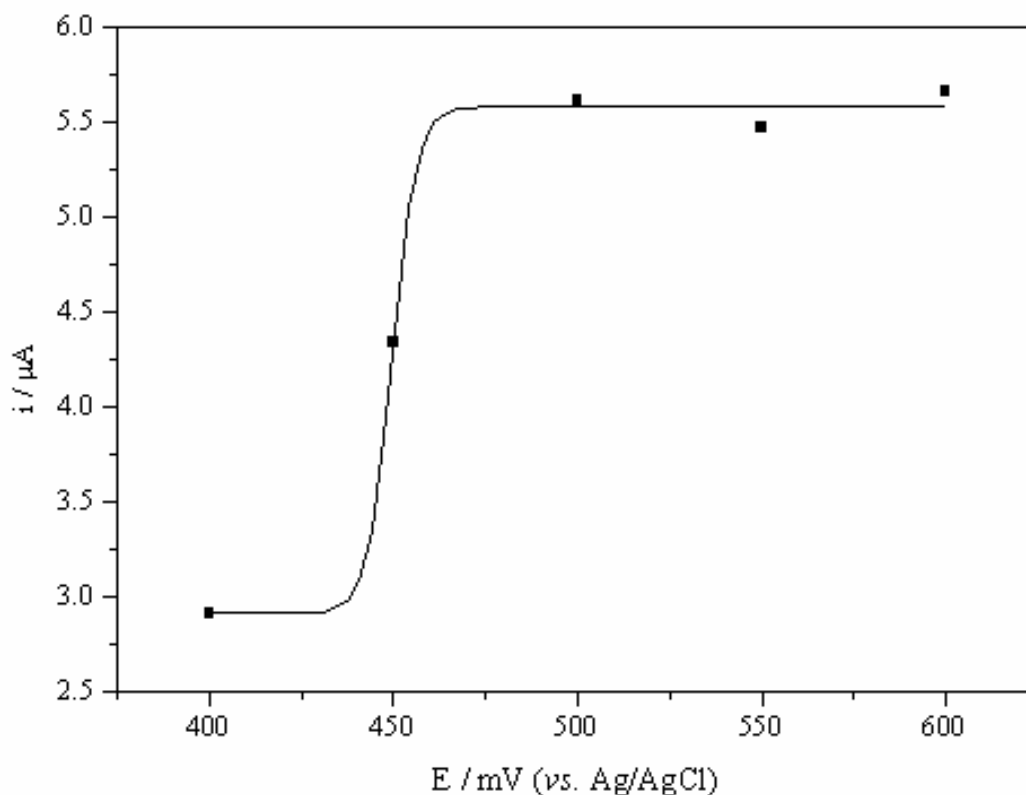


Figura 39 - Efeito do potencial de detecção na resposta amperométrica do eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8 como solução carregadora, usando volume da alça de amostragem de 50 μL e vazão de 3,9 mL min⁻¹.

4.7.2 Efeito da Vazão da Solução Carregadora

O efeito da vazão da solução carregadora foi avaliado entre 1,4 e 7,7 mL min⁻¹ por injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L⁻¹ de APAP, em um volume de alça de amostragem de 50 μL e no potencial de 500 mV otimizado anteriormente.

A Figura 40 mostra que a corrente aumenta até 7,7 mL min⁻¹. Porém, o desvio padrão é muito maior em relação à vazão de 6,5 mL min⁻¹. Portanto, a vazão de 6,5 mL min⁻¹ foi escolhida para os estudos seguintes.

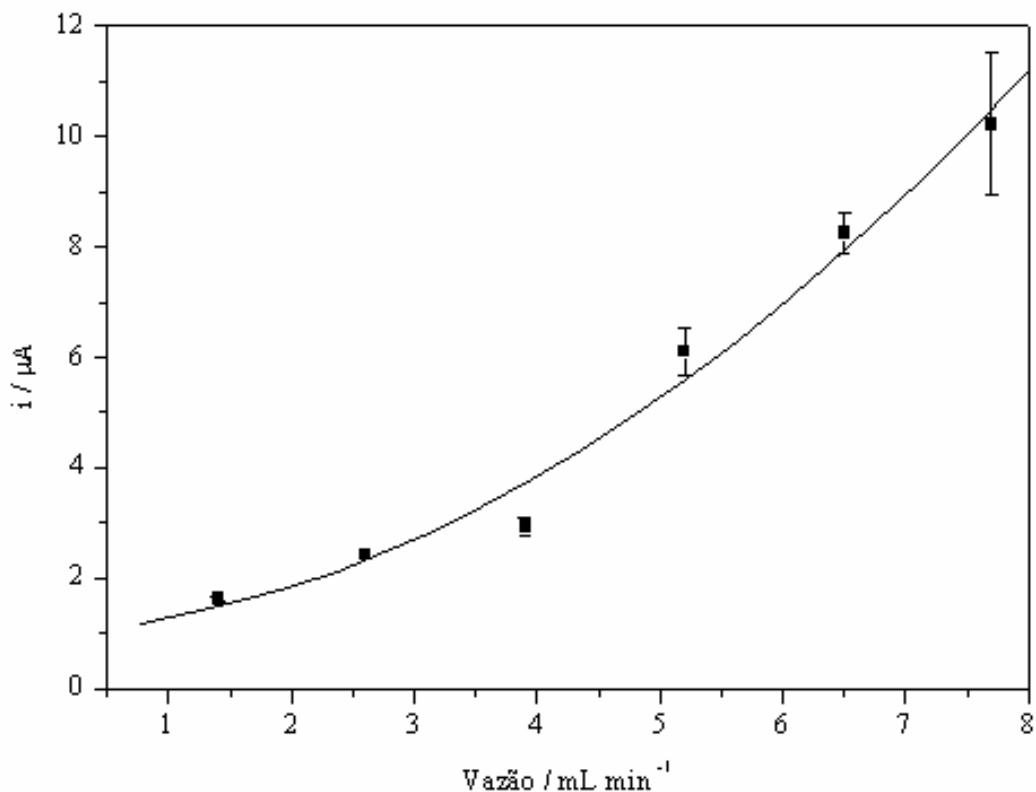


Figura 40 - Efeito da vazão da solução carregadora na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8 como solução carregadora, usando volume da alça de amostragem de 50 μL e potencial de detecção de 500 mV.

4.7.3 Efeito do Volume da Alça de Amostragem

O efeito do volume da alça de amostragem foi avaliado para volumes de 25 a 151 μL, correspondentes a alças de 5 a 30 cm, usando solução 5,0 mmol L⁻¹ de APAP. Para esse estudo, foi utilizado potencial de detecção de 500 mV e vazão de 6,5 mL min⁻¹, otimizados anteriormente.

A Figura 41 mostra que o sinal da corrente aumenta até 151 μL. Porém, o aumento de sinal não justifica o maior consumo de reagentes. Portanto, foi selecionado o volume de 100 μL.

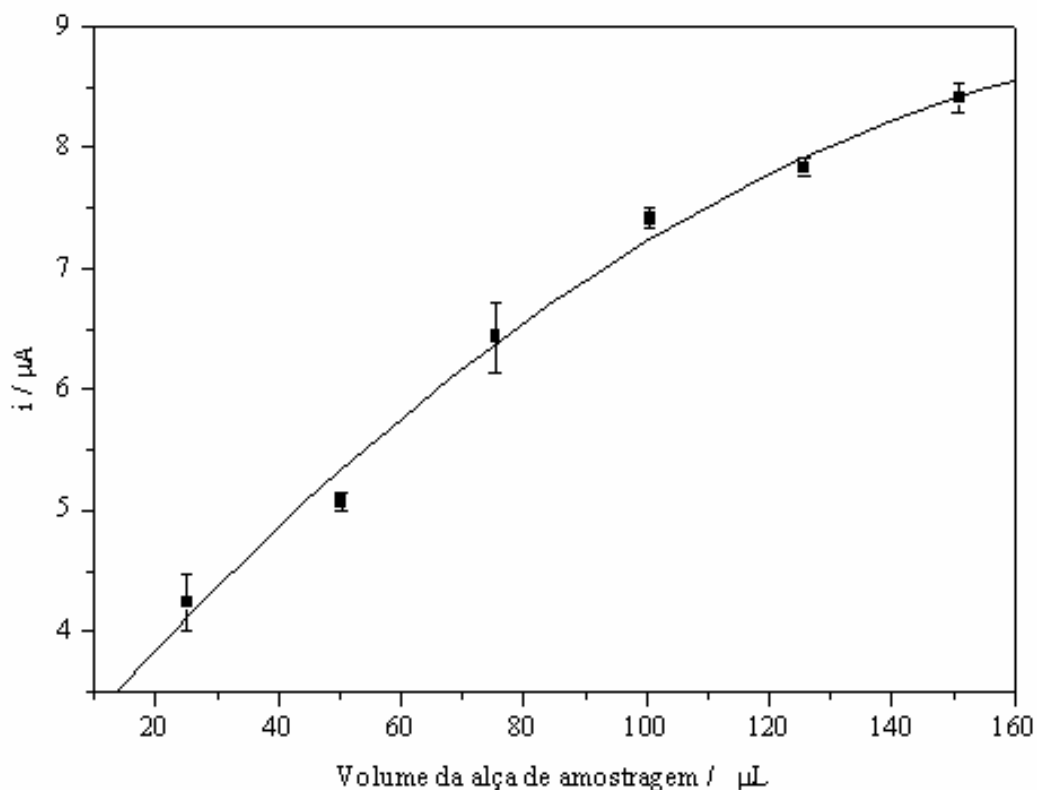


Figura 41 - Efeito do volume da alça de amostragem na resposta amperométrica do eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ de APAP em tampão universal pH 8 como solução carregadora, usando vazão de 6,5 mL min⁻¹ e potencial de detecção de 500 mV.

4.7.4 Curvas Analíticas

Curvas analíticas foram obtidas para avaliar o comportamento da resposta amperométrica do eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em relação à concentração de APAP.

Os parâmetros foram otimizados anteriormente, e os melhores resultados foram com potencial de detecção de 500 mV (*vs.* Ag/AgCl), vazão da solução carregadora de 6,5 mL min⁻¹ e volume da alça de amostragem de 100 μL , correspondente à alça de 20 cm. Usando essas condições, foi obtida uma curva analítica, com uma resposta linear

em todo intervalo estudado, entre $5,0 \cdot 10^{-5}$ e $5,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹ de solução de APAP (Figura 42).

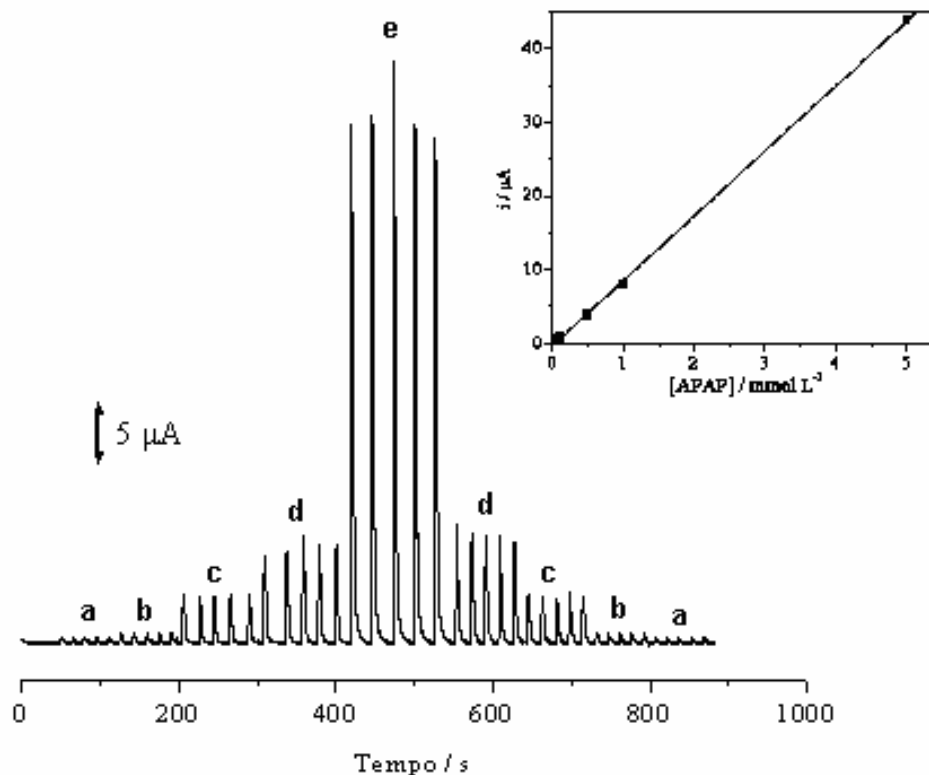


Figura 42 - Sinais transientes obtidos para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) usando (a) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (b) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (c) $5,0 \cdot 10^{-4}$, (d) $1,0 \cdot 10^{-3}$ e (e) $5,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹ de APAP, tampão universal pH 8 como solução carregadora, vazão de $6,5 \text{ mL min}^{-1}$, potencial de detecção de 500 mV e volume da alça de amostragem de $100 \mu\text{L}$. No detalhe está a curva analítica.

As injeções foram realizadas em ordem crescente de concentração e então, em ordem decrescente, para avaliar o possível efeito de memória. A resposta linear (detalhe na Figura 42) obedeceu à Equação 22:

$$I_p = -0,35 \mu\text{A} + 88 \cdot 10^2 \mu\text{A mmol}^{-1} \text{ L} [\text{APAP}], n = 5, R = 0,9998 \quad (22)$$

Foi observada uma frequência analítica de 185 determinações por hora. O limite de detecção obtido nesse intervalo, de acordo com a Equação 12, foi de $18,9 \mu\text{mol L}^{-1}$. O LQ encontrado foi de $243 \mu\text{mol L}^{-1}$, de acordo com a Equação 13.

O LD para APAP utilizando o eletrodo de carbono vítreo como detector amperométrico, sob as mesmas condições utilizadas para o compósito, foi de $108 \mu\text{mol L}^{-1}$, isto é, seis vezes maior, e apresentou saturação na superfície do eletrodo em concentrações acima de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, como observado na Figura 43.

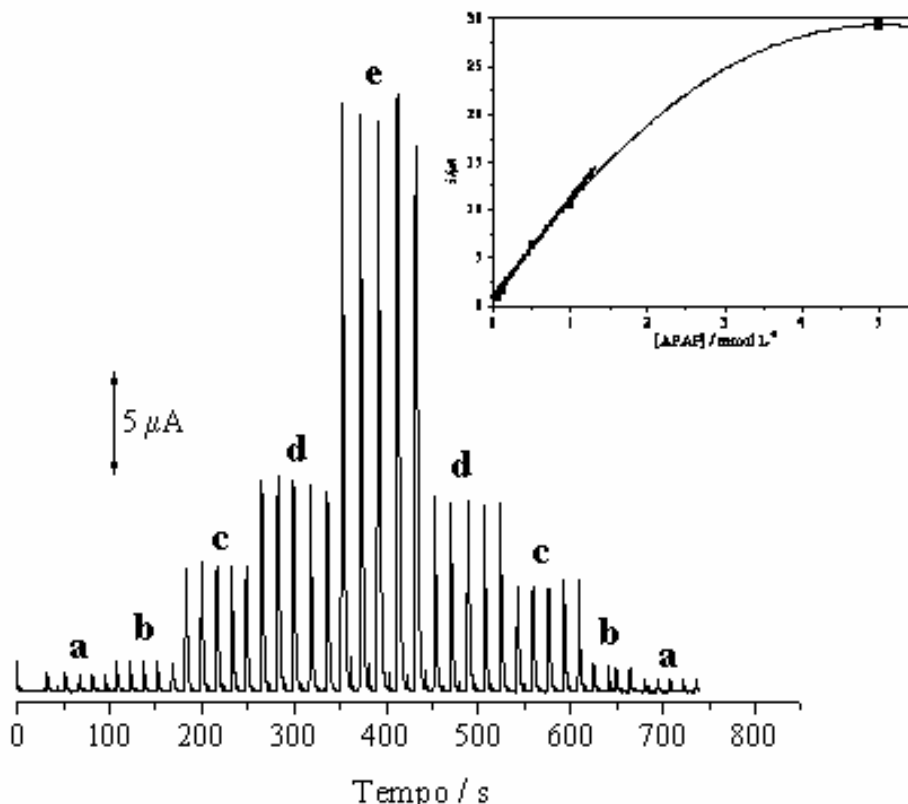


Figura 43 - Sinais transientes obtidos para o eletrodo de carbono vítreo usando (a) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (b) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (c) $5,0 \cdot 10^{-4}$, (d) $1,0 \cdot 10^{-3}$ e (e) $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de APAP, tampão universal pH 8 como solução carregadora, vazão de $6,5 \text{ mL min}^{-1}$, potencial de detecção de 500 mV e volume da alça de amostragem de $100 \mu\text{L}$. No detalhe está a curva analítica.

4.7.5 Determinação de APAP em Formulações Farmacêuticas

A aplicabilidade do eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) como detector amperométrico em FIA para determinação de APAP foi verificada analisando formulações farmacêuticas.

A Figura 44 apresenta os sinais transientes obtidos para as soluções de padrão e amostra. No detalhe está a curva resultante.

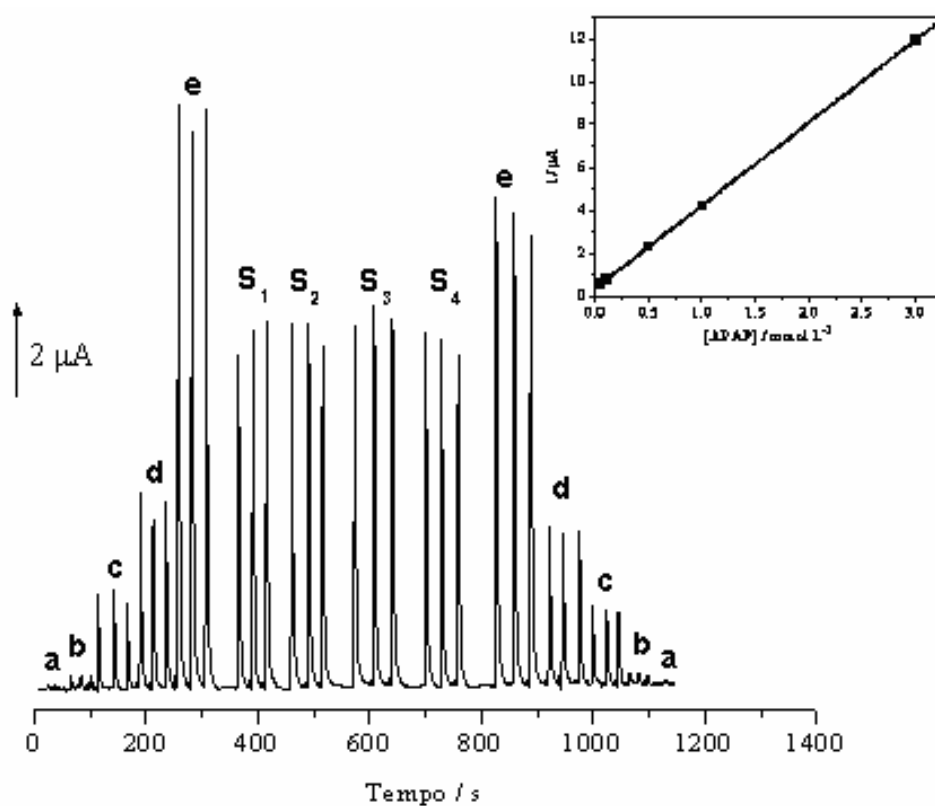


Figura 44 - Sinais transientes para determinação de APAP em formulações farmacêuticas usando o eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em tampão universal L^{-1} pH 8 como solução carregadora, vazão de $6,5 \text{ mL min}^{-1}$, potencial de detecção de 500 mV e volume da alça de amostragem de $100 \mu\text{L}$, com (a) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (b) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (c) $5,0 \cdot 10^{-4}$, (d) $1,0 \cdot 10^{-3}$, (e) $3,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, (S_1), (S_2), (S_3) e (S_4), referentes a Tylenol, Resfenol, Buscopan Plus e Trimedal $2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. No detalhe, a resposta linear da curva.

Na Tabela 9 estão apresentados os resultados usando o compósito 60% (grafite, *m/m*) no método proposto (FIA) e no método cromatográfico HPLC para comparação.

Tabela 9 - Determinação de APAP em formulações farmacêuticas usando o método de fluxo proposto e o cromatográfico HPLC

Amostra	Paracetamol (mg/ comprimido)			E ₁ %	E ₂ %
	Rotulado	FIA ^a	HPLC ^b		
Tylenol	750	748 ± 0,4	747 ± 0,01	+ 0,07	- 0,27
Resfenol ^c	40	40,6 ± 0,2	39,8 ± 0,01	+ 2,01	+ 1,50
Buscopan Plus	500	514 ± 0,2	498 ± 0,03	+ 3,15	+ 2,80
Trimedal	500	482 ± 0,2	499 ± 0,01	- 3,33	- 3,60

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

^b = 2 determinações

^c = 40 mg por 100 mL de solução

E₁: FIA vs. HPLC (FIA-HPLC/HPLC) x100%

E₂: FIA vs. rotulado (FIA- rotulado / rotulado) x 100%

Os resultados obtidos pelo método proposto FIA concordam com o valor rotulado e o método comparativo HPLC, com confiança de 95%, de acordo com o teste *t*-Student.

Recuperações entre 99,5 e 106% foram observadas para injeções de 2,0 mmol L⁻¹ das formulações farmacêuticas.

4.7.6 Estudo da Repetibilidade

A Figura 45 apresenta a repetibilidade utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em FIA, com 10 injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L⁻¹ de APAP em tampão universal, pH 8.

O eletrodo apresentou média de corrente \pm desvio padrão de $32,1 \mu\text{A} \pm 0,1$, para $n = 10$.

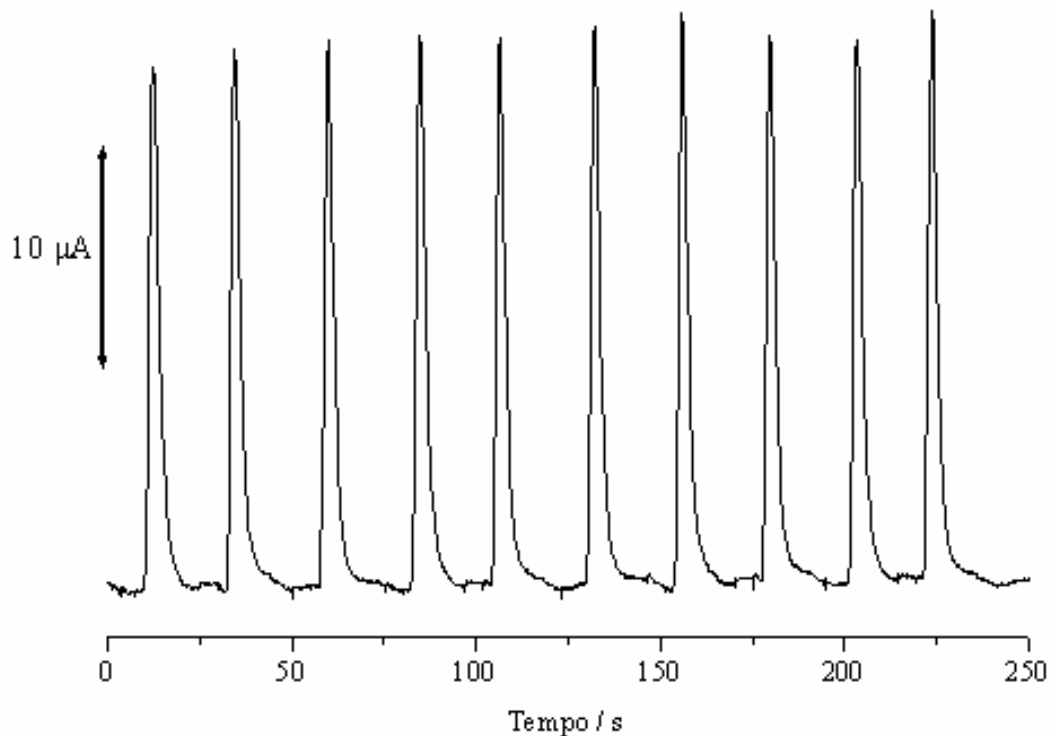


Figura 45 – Diagrama para 10 injeções sucessivas de APAP, mostrando a repetibilidade do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*).

4.7.7 Estudo de Interferentes

Um estudo de interferentes foi realizado para avaliar o efeito do ácido ascórbico na resposta amperométrica do APAP. Experimentos em FIA foram feitos para solução $50 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de APAP na presença de 25, 50 e $100 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico, como feito anteriormente em DPV. Foi observada interferência, com um aumento da corrente. Mas, foi possível contornar a interferência em relação ao Trimedal, como observado na Tabela 9, que possui ácido ascórbico em sua formulação.

4.8 Obtenção de Curvas Analíticas para o Paracetamol Utilizando Cronoamperometria

As medidas cronoamperométricas para a obtenção de curvas analíticas para o APAP foram realizadas com agitação constante e temperatura controlada em 25°C, usando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*).

4.8.1 Curvas Analíticas

Curvas analíticas foram obtidas para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) e para o carbono vítreo, para comparação, em cronoamperometria, com potencial fixo em 600 mV, determinado previamente em voltametria cíclica. Os amperogramas foram obtidos em um intervalo entre 25 e 116 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de APAP, em tampão universal pH 8. A Figura 46 apresenta a curva analítica, e no detalhe, o amperograma.

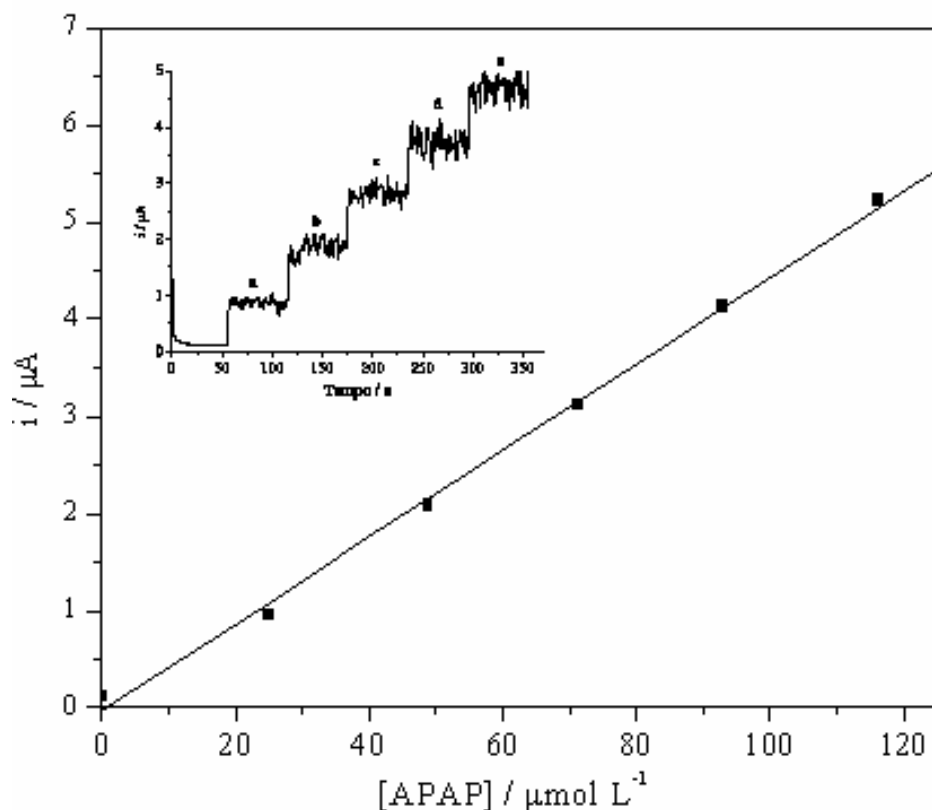


Figura 46 - Curva analítica obtida para o eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) usando (a) 25, (b) 49, (c) 71, (d) 93 e (e) 116 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de APAP em tampão universal pH 8, com agitação constante. No detalhe está o amperograma.

A resposta linear (Figura 46) obedeceu à Equação 23:

$$I_p = -0,03 \mu\text{A} + 0,05 \mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{ L [APAP]}, n = 5, R = 0,9987 \quad (23)$$

O limite de detecção obtido nesse intervalo, de acordo com a Equação 12, foi de $5,49 \mu\text{mol L}^{-1}$. O LQ encontrado foi de $18,3 \mu\text{mol L}^{-1}$, de acordo com a Equação 13.

O LD para APAP utilizando o eletrodo de carbono vítreo como detector amperométrico, sob as mesmas condições utilizadas para o composto, foi de $9,16 \mu\text{mol L}^{-1}$, isto é, quase o dobro do valor obtido para o composto.

4.9 Obtenção de Curvas Analíticas para o Paracetamol Utilizando Eletrodo Rotatório

4.9.1 Voltametria de Varredura Linear

As medidas para a obtenção de curvas analíticas para o APAP foram realizadas com o eletrodo compósito de disco 60% (grafite, *m/m*).

Inicialmente, foram registrados voltamogramas de varredura linear sobre condições estáticas, utilizando solução $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de APAP em de tampão universal pH 8. Então, foi feito um estudo do efeito da velocidade de varredura entre 5 e 100 mV s^{-1} (Figura 47). Por esse estudo, pode ser observado que, com o aumento da velocidade de varredura, há um aumento na intensidade de corrente do APAP.

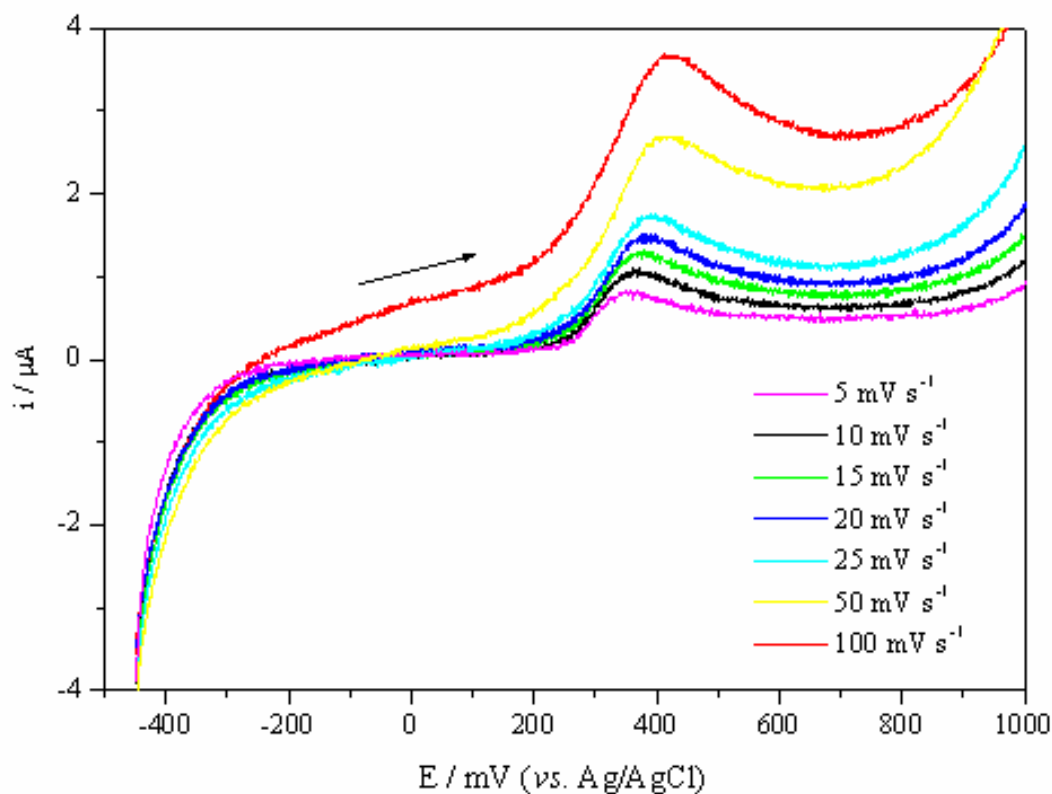


Figura 47 - Voltamogramas de varredura linear em velocidades entre 5 e 100 mV s^{-1} , utilizando o compósito 60% (grafite, *m/m*) em solução $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de APAP em tampão universal pH 8.

O mesmo procedimento foi feito em condições dinâmicas. A rotação foi mantida em 1000 rpm e a velocidade de varredura variada entre 2 e 25 mV s^{-1} (Figura 48). Pode ser observado que não há um aumento significativo de corrente em velocidades acima de 15 mV s^{-1} . Portanto, 15 mV s^{-1} foi a velocidade escolhida para os estudos hidrodinâmicos.

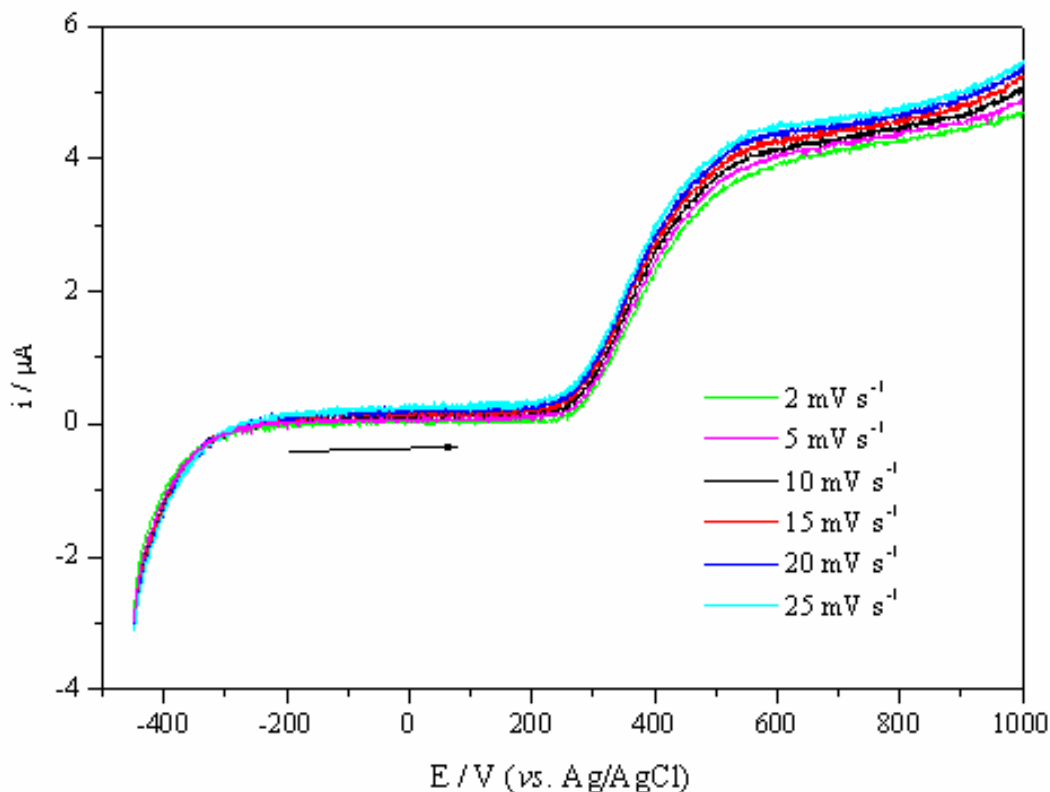


Figura 48 - Voltamogramas de varredura linear em velocidades entre 5 e 100 mV s^{-1} , com rotação de 1000 rpm, utilizando o compósito 60% (grafite, m/m) em solução $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de APAP em tampão universal pH 8.

A Figura 49 mostra que o voltamograma de varredura linear registrado sobre condições hidrodinâmicas apresentou um incremento na resposta da corrente do APAP, quando comparado à condição estática, apesar da velocidade de varredura ser maior nesse caso. Isso pode ser explicado pelo transporte de massa mais eficiente.

Também pode ser observado pela Figura 48, que um patamar de corrente é atingido a partir de 270 mV. Portanto, o potencial de 270 mV foi adotado para a determinação da curva analítica.

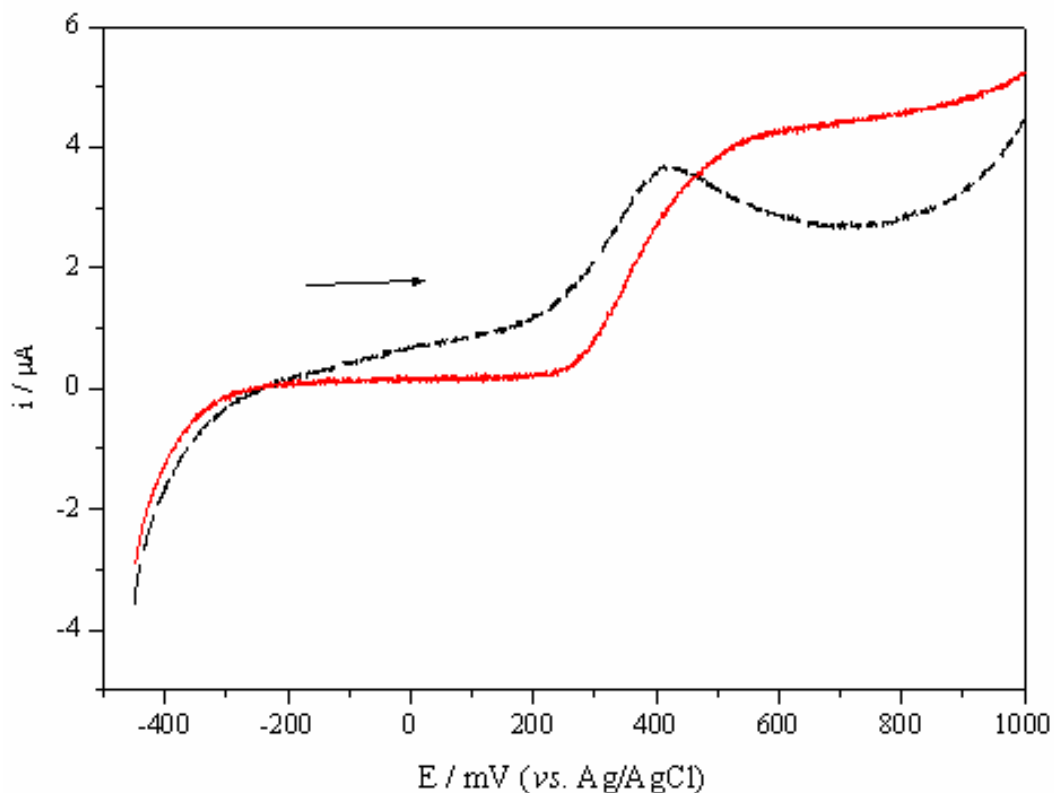


Figura 49 - Voltamogramas de varredura linear registrados em presença de $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de APAP, utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, m/m) em (--) condições estáticas a 100 mV s^{-1} e (—) condições dinâmicas a 1000 rpm e 15 mV s^{-1} .

Em seguida, foi feito um estudo para otimizar a velocidade de rotação do eletrodo (ω). Então, foram registrados voltamogramas de varredura linear em valores de ω entre 500 e 3000 rpm, como apresentado na Figura 50.a, juntamente com o respectivo gráfico de Levich (Figura 50.b).

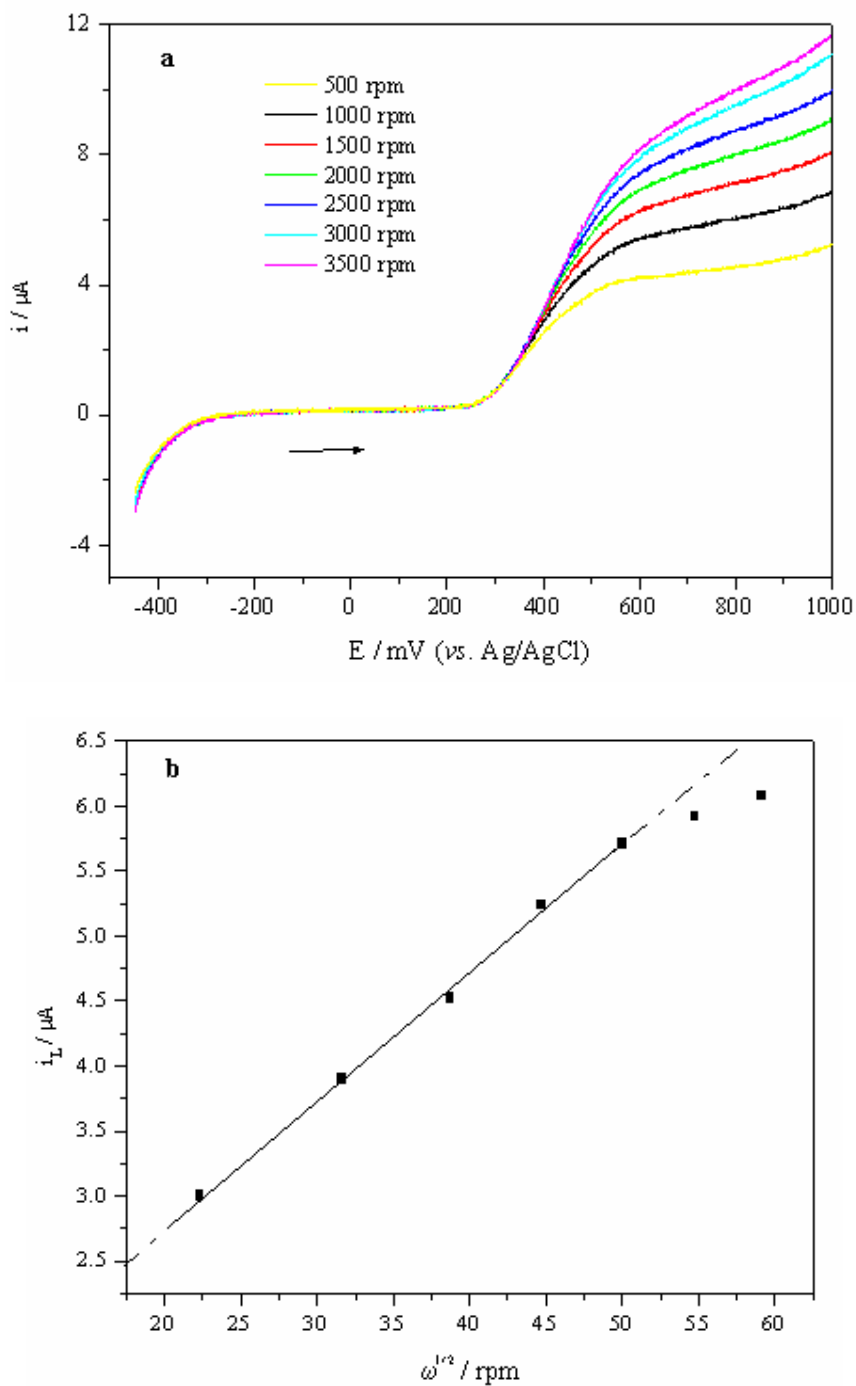


Figura 50 - Voltamogramas de varredura linear registrados em solução $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de APAP em tampão universal pH 8, em diferentes valores de ω , $v = 15 \text{ mV s}^{-1}$, utilizando o eletrodo composto 60% (grafite, m/m) (a), Gráfico de Levich obtido a partir da Figura 50.a (b).

O gráfico de Levich apresentou linearidade da corrente limite i_L com $\omega^{1/2}$, no intervalo de 500 a 2500 rpm, segundo a Equação 24:

$$i_L = 0,78 \mu A + 0,10 \mu A \text{ rpm}^{1/2}, R = 0,999_0 \quad (24)$$

Acima de 2500 rpm pode ser observado um desvio da linearidade. Portanto, foi escolhida a rotação de 2500 rpm para os estudos seguintes.

4.9.2 Curvas Analíticas

Utilizando os parâmetros otimizados anteriormente em condições hidrodinâmicas, curvas analíticas foram obtidas para APAP utilizando o eletrodo compósito de disco 60% (grafite, *m/m*) (Figura 51) e o eletrodo de disco de carbono vítreo para comparação. As curvas foram obtidas em um intervalo entre 0 e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O potencial foi fixado em 270 mV para o compósito, 410 mV para o GC e a rotação em 2500 rpm.

Utilizando o compósito, duas respostas lineares foram obtidas. A primeira no intervalo de 24 a 111 $\mu\text{mol L}^{-1}$, seguindo a Equação 25:

$$I_p = 0,26 \mu A + 0,22 \mu A \mu\text{mol}^{-1} \text{ L [APAP]}, n = 6, R = 0,999_7 \quad (25)$$

E, a segunda resposta linear, no intervalo de 111 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obedecendo à Equação 26:

$$I_p = 6,26 \mu A + 0,17 \mu A \mu\text{mol}^{-1} \text{ L [APAP]}, n = 6, R = 0,999_4 \quad (26)$$

O limite de detecção encontrado foi de 2,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, referente à primeira resposta linear, determinado como descrito na Equação 12. E, o limite de quantificação encontrado foi de 8,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$, determinado como descrito na Equação 13.

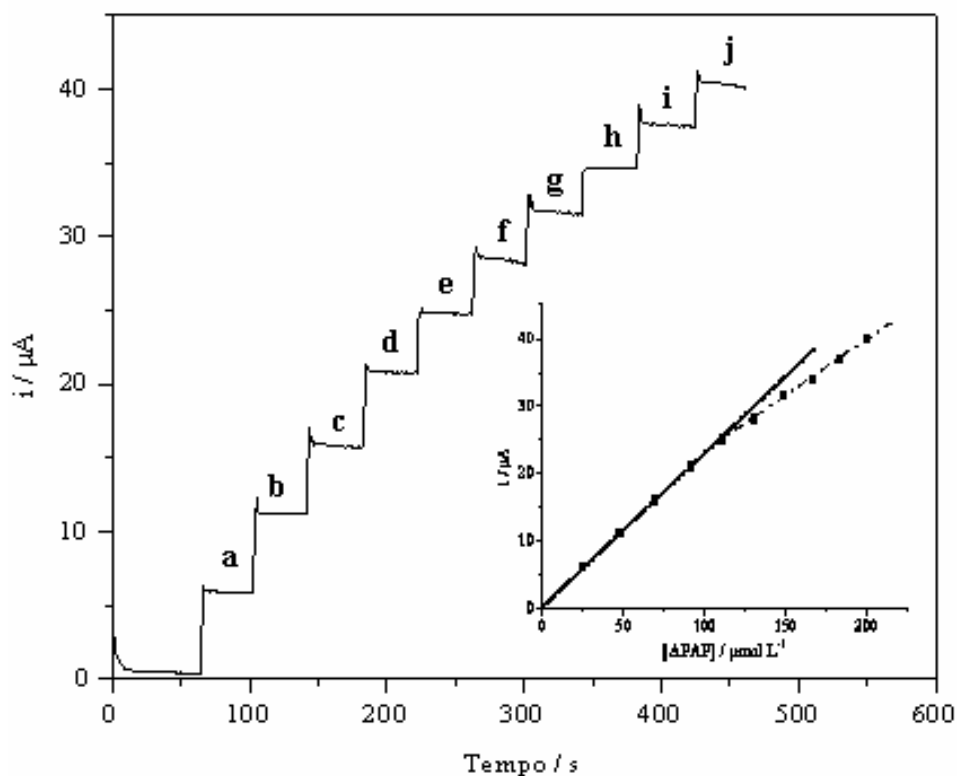


Figura 51 - Amperograma obtido para o eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em concentrações (a) 24, (b) 48, (c) 70, (d) 91, (e) 111, (f) 130, (g) 149, (h) 167, (i) 184 e (j) 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de APAP em tampão universal pH 8, com $\omega = 2500$ rpm, $E = 270$ mV (vs. Ag/AgCl). No detalhe, a curva analítica com a primeira (–) e a segunda (–) respostas lineares.

Utilizando o eletrodo de carbono vítreo, foi observada apenas uma resposta linear, em todo intervalo estudado, seguindo a Equação 27:

$$I_p = 1,73 \mu\text{A} + 0,07 \mu\text{A}\mu\text{mol}^{-1} \text{L} [\text{APAP}], n = 11, R = 0,999_0 \quad (27)$$

Porém, a corrente e sensibilidade obtidas para o composto foram maiores que aquelas obtidas para o carbono vítreo.

O LD para APAP utilizando o eletrodo de carbono vítreo como detector amperométrico, sob as mesmas condições utilizadas para o composto, foi de 5,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, isto é, duas vezes maior que o valor obtido para o composto.

4.10 Determinação de Atenolol Utilizando Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

4.10.1 Voltametria Cíclica

O comportamento voltamétrico do ATN pode ser visto nos voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 52. O pico de oxidação do ATN utilizando o compósito 60% (grafite, *m/m*) ocorre aproximadamente em 900 mV, representando um sistema irreversível.

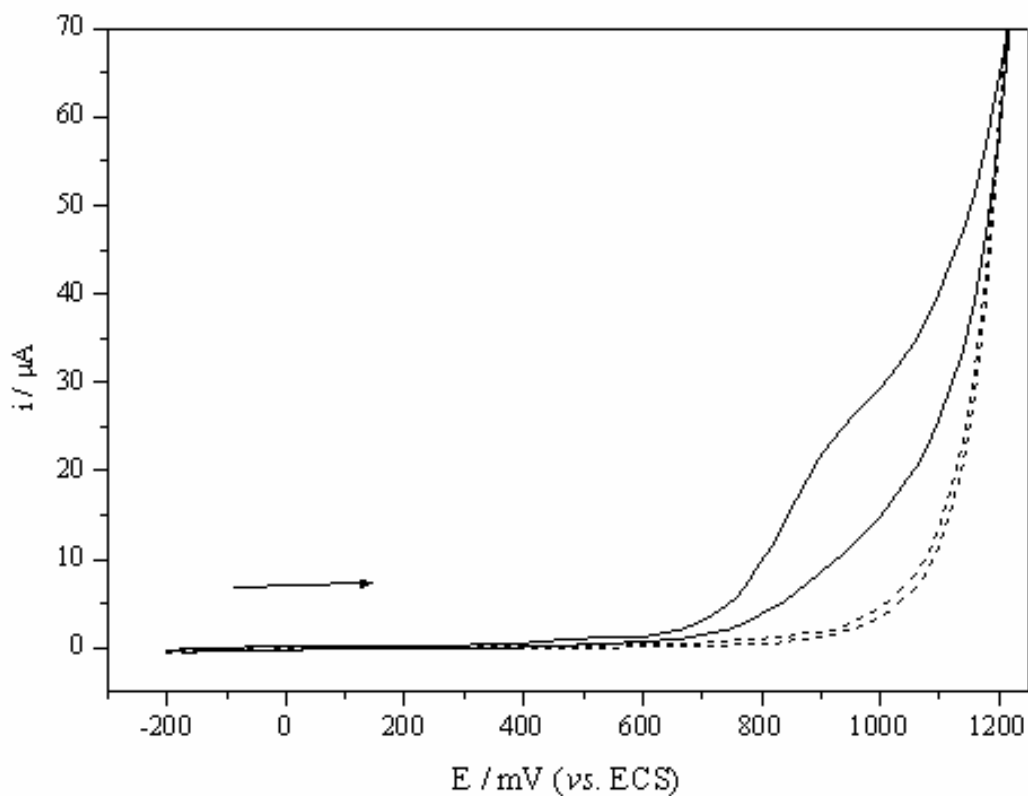


Figura 52 - Voltamogramas cíclicos obtidos para o compósito 60% (grafite, *m/m*) na presença (—) e na ausência (---) de 5,0 mmol L⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$.

Para iniciar os estudos utilizando o atenolol, foram feitas medidas em voltametria cíclica, para a determinação do melhor pH. Para isso, foram obtidos voltamogramas cíclicos utilizando o eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em valores de pH entre 2 e 12 em tampão universal. Mas, apenas a partir de pH 8, pode ser observado o pico de oxidação do ATN.

A Tabela 10 apresenta os resultados obtidos para os diferentes valores de pH, utilizando ATN em voltametria cíclica.

Tabela 10 - Dados referentes aos voltamogramas cíclicos obtidos para o composto 60% (grafite *m/m*) utilizando solução de ATN 5,0 mmol L⁻¹ em tampão universal, com diferentes valores de pH, com $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$

pH	$i / \mu\text{A}$	E / mV
8	1,7	1010
10	3,0	920
12	0,5	910

Pelos resultados da Tabela 10, pode ser observado que em pH 10 há maior intensidade de corrente, portanto, foi o pH escolhido para os estudos seguintes.

4.10.2 Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura de Potenciais

Foi realizado um estudo da velocidade de varredura de potenciais em voltametria cíclica, com velocidades de varredura entre 5 e 100 mV s⁻¹, como apresentado na Figura 53. O efeito da velocidade de varredura foi investigado em

relação à resposta voltamétrica do eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10.

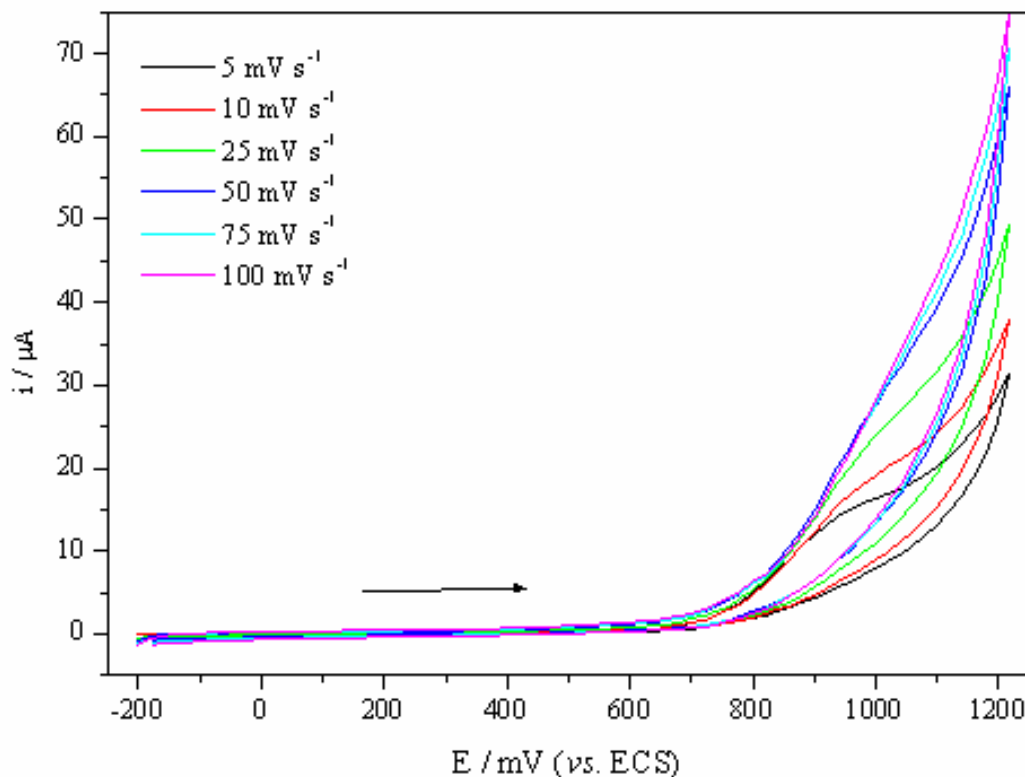


Figura 53 - Voltamogramas cíclicos em velocidades de varredura entre 5 e 100 mV s⁻¹, utilizando o composto 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10.

Os voltamogramas mostram uma perda da definição do pico de corrente, deslocamento do pico anódico para potenciais mais positivos e aumento 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 54) mostrou linearidade, indicando que a transferência de carga é controlada por difusão¹³⁸.

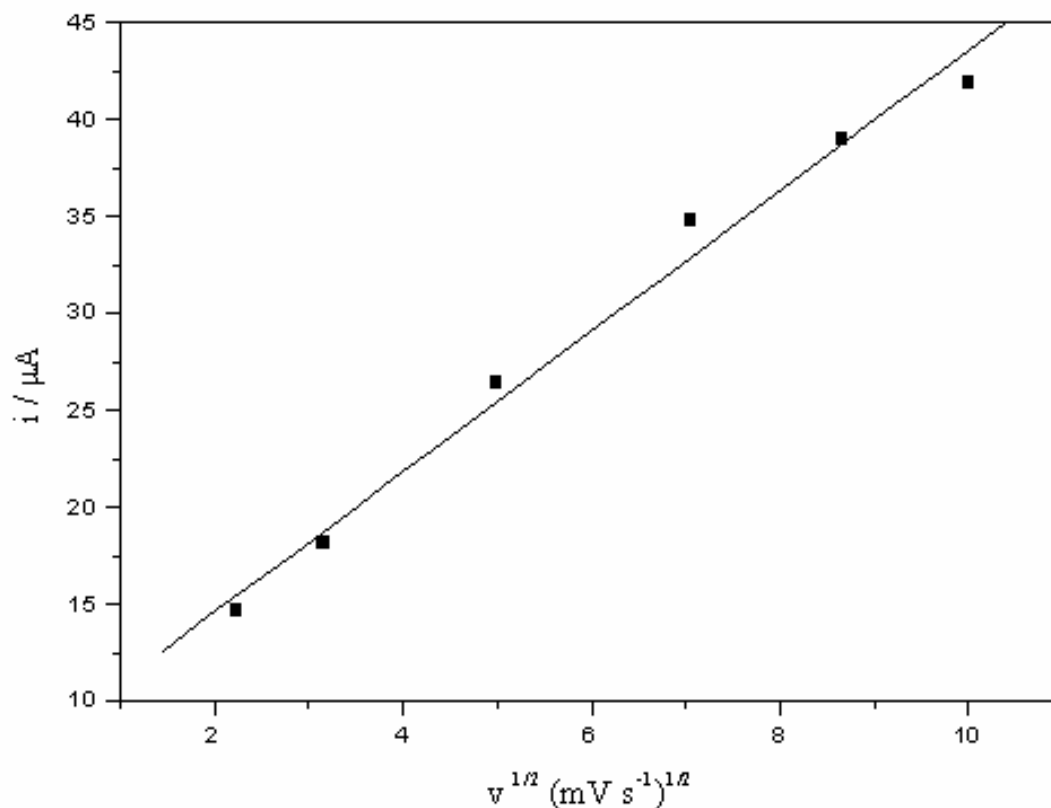


Figura 54 - Dependência da corrente dos picos anódicos com a raiz quadrada da velocidade de varredura para o eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10.

A Figura 55 apresenta o logaritmo da intensidade da corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura. Pode ser observado que o gráfico apresenta comportamento linear com inclinação de 0,36. Este valor está próximo de 0,35, que é previsto pela literatura¹³⁹ para sistemas que são controlados também por adsorção das espécies. Entretanto, a adsorção não leva à necessidade de renovar a superfície do composto após cada determinação.

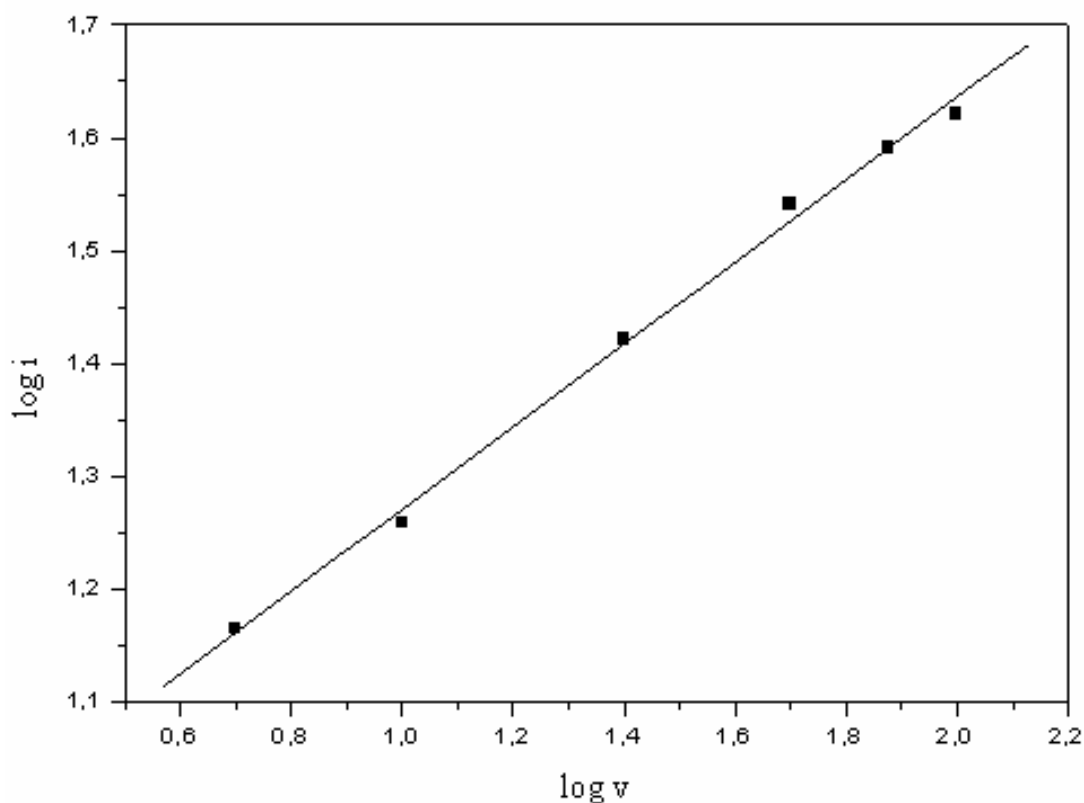


Figura 55 - Dependência do logaritmo da intensidade da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura para o ATN, no compósito 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10.

4.10.3 Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)

Para a otimização dos parâmetros em DPV, foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial para ATN 1,0 mmol L⁻¹ em tampão universal pH 10, utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*). Foram totalizados quatro experimentos, a partir de uma calibração multivariada, usando um planejamento fatorial de 2ⁿ, onde n = número de variáveis ($a = 10$ e 50 mV e $v = 5$ e 50 mV s⁻¹).

Os voltamogramas resultantes estão apresentados na Figura 56, na qual é possível observar o pico de oxidação do ATN próximo de 800 mV (*vs.* ECS), com melhor definição de pico com $a = 50$ mV e maiores sensibilidade com $v = 50$ mV s⁻¹.

Utilizando $a = 10$ mV, uma sensibilidade muito baixa foi encontrada. Então, 50 mV e 50 mV s⁻¹ foram usadas como amplitude de pulso e velocidade de varredura, respectivamente, para os estudos seguintes.

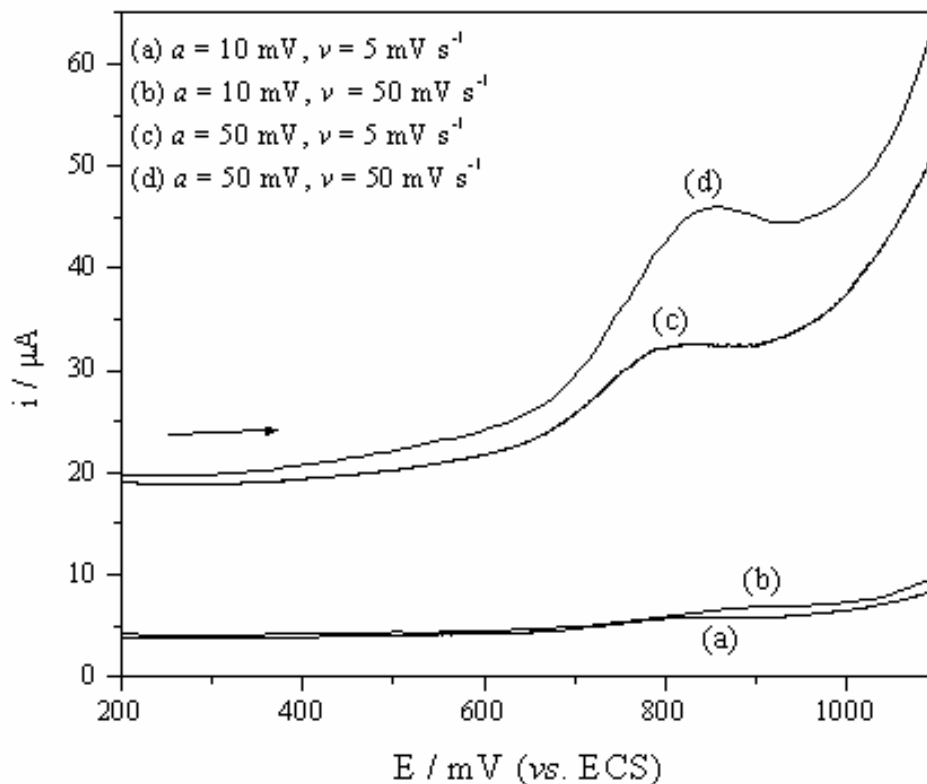


Figura 56 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o eletrodo compósito 60% (grafite, m/m), usando solução 1,0 mmol L⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10.

Depois da otimização dos parâmetros acima, foi feito um novo estudo do efeito do pH, entre 2 e 12, mas agora em DPV, como apresentado na Figura 57. Como observado anteriormente em voltametria cíclica, somente para os valores de pH 8, 10 e 12 foi observado sinal.

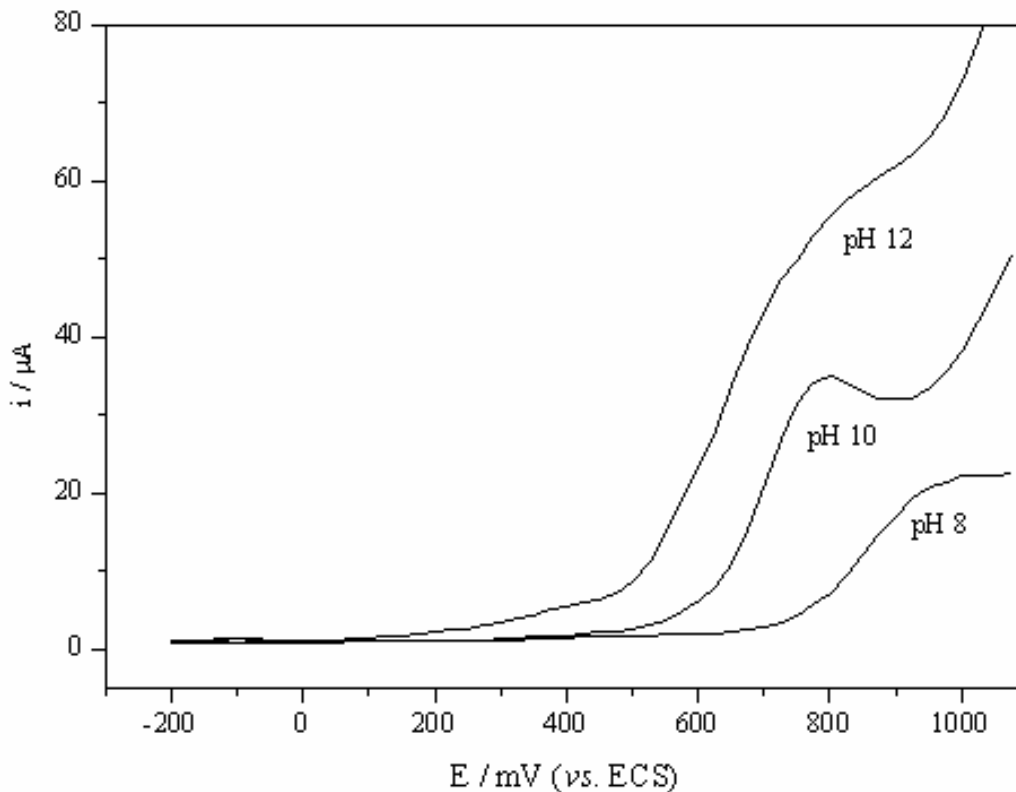
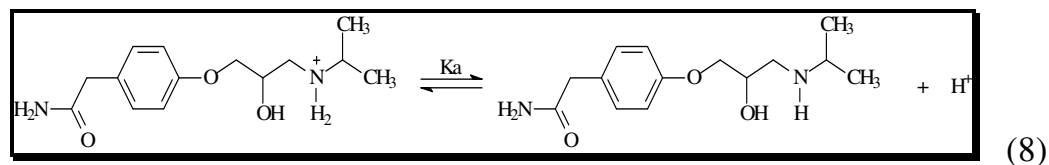


Figura 57 - Voltamogramas de pulso diferencial utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*), em solução 5,0 mmol L⁻¹ de ATN em tampão universal em diferentes valores de pH, $a = 50$ mV, $v = 50$ mV s⁻¹.

Esta resposta eletroquímica para o ATN em valores de pH acima de 8, é sustentada pelo equilíbrio ácido-base do grupo amino, cujo $pK_a = 9,4^{126}$, como apresentado na Equação 8.



Isto ocorre, pois grupos amino podem ser oxidados somente na forma não protonada, e portanto, esta oxidação não pode ser vista em meio ácido, isto é, em valores de pH mais baixos.

Estes resultados sugerem que o compósito pode ser utilizado em DPV na determinação de ATN em meio básico, mas em pH 10 a resposta é mais eficiente.

4.10.4 Curvas Analíticas

Utilizando os parâmetros otimizados anteriormente, como $a = 50 \text{ mV}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ e $\text{pH} = 10$, curvas analíticas foram obtidas para ATN utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, m/m) e o carbono vítreo para comparação. Os voltamogramas foram obtidos sem necessidade de renovação de superfície entre determinações sucessivas, em um intervalo entre $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $2,3 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figura 58).

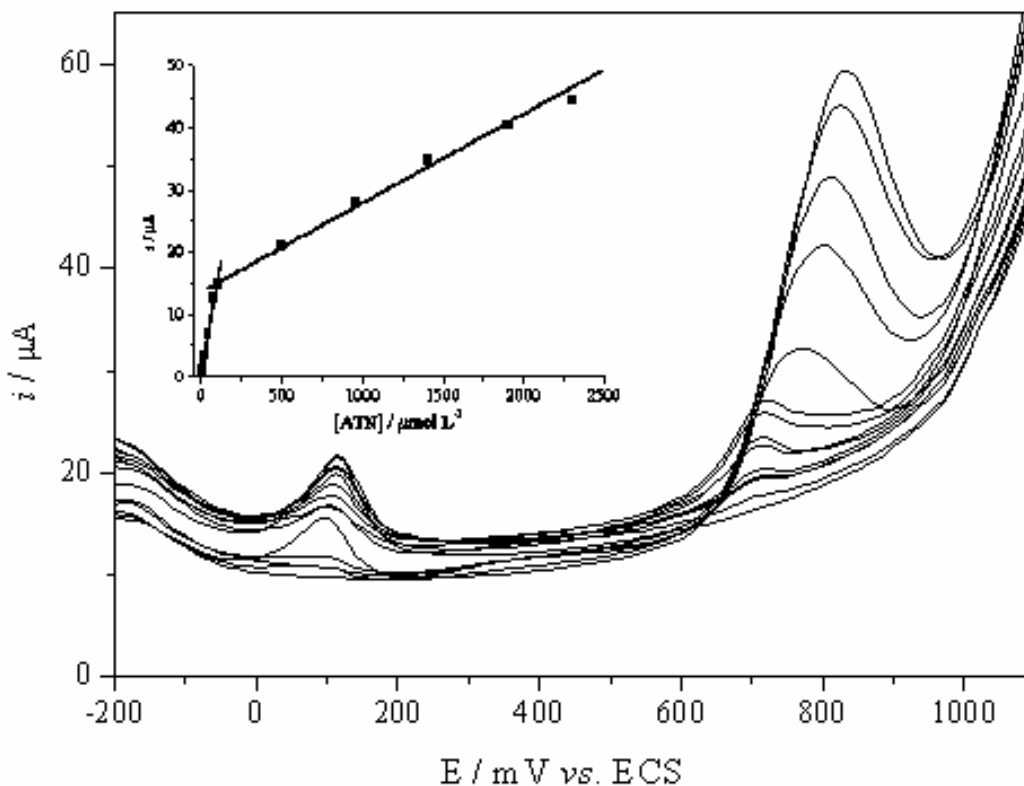


Figura 58 - Dependência dos voltamogramas DPV com a concentração de ATN de $4,0$ a $2300 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão universal $\text{pH} 10$, $a = 50 \text{ mV}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, m/m). No detalhe a curva analítica com as duas respostas lineares descritas no texto.

Os voltamogramas de pulso diferencial mostraram aumento da corrente de pico com o aumento da concentração de ATN. Também foi observado o aparecimento de dois picos em aproximadamente 100 e 800 mV (*vs.* ECS). De acordo com Goyal *et al.*¹²⁴, o pico em potencial mais catódico, estaria relacionado à oxidação do grupo hidroxila secundário, enquanto o pico mais anódico é atribuído à oxidação do grupo amino, quando um eletrodo de óxido de estanho e índio modificado com ouro em escala nanométrica foi usado. Em um segundo trabalho¹²³, Goyal e Singh descrevem um único pico para a oxidação do ATN, em torno de 1000 mV (*vs.* Ag/AgCl), atribuído à oxidação do grupo hidroxila secundário, em um eletrodo de carbono vítreo modificado com C₆₀.

Uma vez que no presente trabalho foram observados dois picos, esses devem estar relacionados com a primeira conclusão daqueles autores¹²⁴, sendo as diferenças nos potenciais de pico, atribuídas aos diferentes materiais de eletrodo empregados nos dois estudos: compósito 60% (grafite, *m/m*) neste trabalho e óxido de estanho e índio modificado com ouro em escala nanométrica na referência 126.

No intervalo estudado, duas respostas lineares foram determinadas considerando o pico de maior intensidade, referente à oxidação do grupo amino. A primeira entre 4 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obedecendo a Equação 28:

$$I_p = 0,55 \mu\text{A} + 0,15 \mu\text{A}\mu\text{mol}^{-1} \text{L} [\text{ATN}], n = 8, R = 0,998_6 \quad (28)$$

A segunda resposta linear foi obtida entre 0,1 e 2,3 mmol L^{-1} , obedecendo a Equação 29:

$$I_p = 15,6 \mu\text{A} + 0,01 \mu\text{A}\mu\text{mol}^{-1} \text{L} [\text{ATN}], n = 5, R = 0,995_6 \quad (29)$$

O limite de detecção encontrado no intervalo de 4,0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi de 3,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, determinado como descrito na Equação 12. E, o limite de quantificação encontrado foi de 10,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, determinado como descrito na Equação 13.

Uma curva analítica também foi obtida para o eletrodo de carbono vítreo, usando as mesmas condições empregadas para o compósito (Figura 59). Entretanto, somente uma resposta linear foi observada entre 0,49 e 1,4 mmol L^{-1} , obedecendo a Equação 30:

$$I_p = 2,30 \mu\text{A} + 3,48 \cdot 10^{-3} \mu\text{A}\mu\text{mol}^{-1} \text{L} [\text{ATN}], n = 3, R = 0,9999 \quad (30)$$

Para concentrações maiores que 1,4 mmol L^{-1} , uma corrente praticamente constante foi observada, sugerindo uma saturação dos sítios ativos do eletrodo de carbono vítreo, como observado na Figura 59.

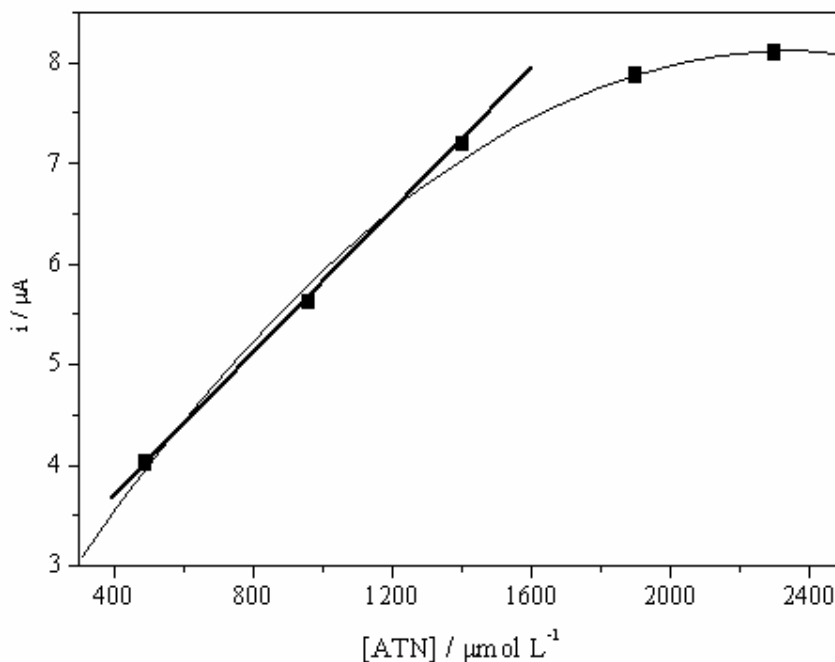


Figura 59 Curva analítica para o eletrodo de carbono vítreo, utilizando solução de ATN entre 490 e 2300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão universal pH 10, em DPV, com $a = 50 \text{ mV}$ e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

O LD obtido no intervalo de 0,49 a 1,4 mmol L⁻¹ foi 41,5 µmol L⁻¹, determinado como descrito na Equação 12. O LQ obtido nesse intervalo foi 138 µmol L⁻¹, determinado como descrito na Equação 13.

Estes resultados permitem concluir que o compósito é mais sensível, apresentando um LD cerca de dez vezes menor que aquele obtido pelo carbono vítreo.

4.10.5 Estudo da Repetibilidade

O estudo da repetibilidade do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foi realizado em 5,0 mmol L⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10, para 10 replicatas, em DPV. Para cada medida voltamétrica a superfície do compósito foi renovada. Foi encontrada uma repetibilidade de 11,63 ± 1,51 µA (média ± desvio padrão).

4.10.6 Método de Adição de Padrão

Para a determinação voltamétrica da quantidade de ATN presente nas formulações farmacêuticas, foi utilizado o método de adição simples de padrão, isto é, com um ponto.

Os voltamogramas de pulso diferencial foram obtidos para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*), utilizando as condições descritas anteriormente (4.10.4).

Os resultados obtidos na determinação de ATN por DPV foram comparados ao método cromatográfico HPLC e os resultados estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Determinação de ATN em formulações farmacêuticas usando o eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em DPV e o método cromatográfico HPLC

Amostra	Atenolol (mg/ comprimido)			E ₁ %	E ₂ %
	Rotulado	DPV ^b	HPLC ^c		
Atenolol (G1) ^a	100	95,9 ± 0,82	93,9 ± 0,02	2,08	-4,12
Atenol	50,0	51,0 ± 0,78	49,0 ± 0,06	4,12	2,00
Atenolol (G2) ^a	50,0	49,1 ± 0,34	48,9 ± 0,17	0,41	-1,72
Angipress	25,0	26,8 ± 0,93	25,1 ± 0,04	6,82	7,08

^a G = genérico^b = resultado ± desvio padrão (n = 3)^c = 1 determinação ± desvio padrão (n = 2)E₁: DPV vs. HPLC (DPV-HPLC/HPLC) x 100%E₂: DPV vs. rotulado (DPV - rotulado / rotulado) x 100%

Os resultados obtidos pelo método proposto DPV concordam com o valor rotulado e o método comparativo HPLC em 95% de confiança, segundo o teste *t*-Student.

As adições de ATN padrão às soluções das formulações farmacêuticas mostraram recuperação entre 95 e 108%, para adições simples de $1,96 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de solução padrão de ATN.

4.10.7 Estudo de Interferentes

Um estudo de interferentes foi realizado para avaliar o efeito de outros anti-hipertensivos como propranolol ($\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_2$) e furosemida ($\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_5\text{SCL}$) na resposta voltamétrica do ATN. Experimentos em DPV foram feitos para solução $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$ de ATN na presença de 0,12; 0,25 e 0,50 mmol L^{-1} de propranolol e furosemida, separadamente. Foi observada interferência em ambos os casos. Na

presença de propanolol, dois picos foram observados nos voltamogramas com um aumento na corrente na resposta do ATN quando a concentração do interferente foi aumentada. A furosemida causou um aumento na corrente do ATN sem o aparecimento de um novo pico no voltamograma.

Como nenhuma interferência foi observada pelos componentes das formulações farmacêuticas, foi possível usar o método de adição de padrão para quantificar o ATN nessas formulações, usando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*).

4.11 Determinação de Atenolol em Formulações Farmacêuticas Utilizando Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA)

4.11.1 Efeito do Potencial

O efeito do potencial de detecção foi avaliado entre 700 e 1200 mV por injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L⁻¹ de ATN, em uma vazão de 3,9 mL min⁻¹ e volume da alça de amostragem de 50 µL fixadas inicialmente.

A Figura 60 mostra que há um aumento de corrente até 1200 mV. Porém, com o aumento do potencial, houve um aumento da corrente residual. Portanto, 1100 mV foi escolhido para estudos seguintes, apesar de apresentar menor intensidade de corrente, buscando-se evitar a oxidação de outras espécies e ficar muito próximo do limite de uso do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*)¹³².

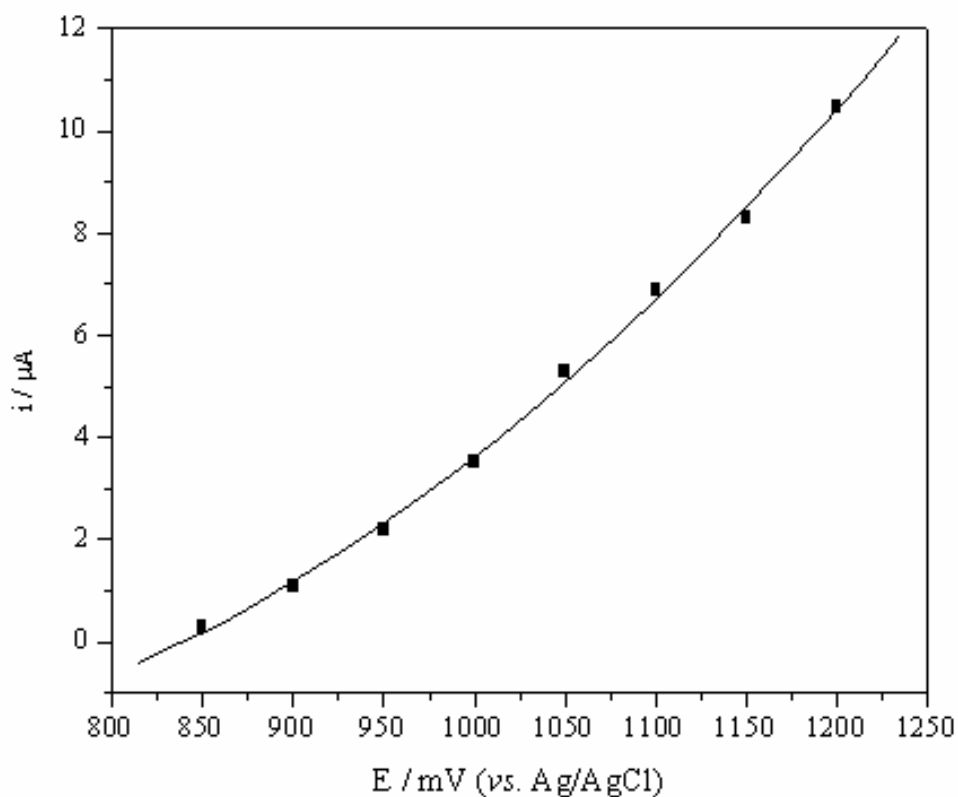


Figura 60 - Efeito do potencial de detecção na resposta amperométrica do eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ e ATN em tampão universal pH 10 como solução carregadora, usando volume da alça de amostragem de 50 μL e vazão de 3,9 mL min⁻¹.

4.11.2 Efeito da Vazão da Solução Carregadora

O efeito da vazão da solução carregadora foi avaliado entre 1,4 e 7,7 mL min⁻¹ por injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L⁻¹ de ATN, em um volume de alça de amostragem de 50 μL e no potencial de 1100 mV otimizado anteriormente.

A Figura 61 mostra que a corrente aumenta até 3,9 mL min⁻¹ e em seguida decai até 7,7 mL min⁻¹. Portanto, a vazão de 3,9 mL min⁻¹ foi escolhida para os estudos seguintes.

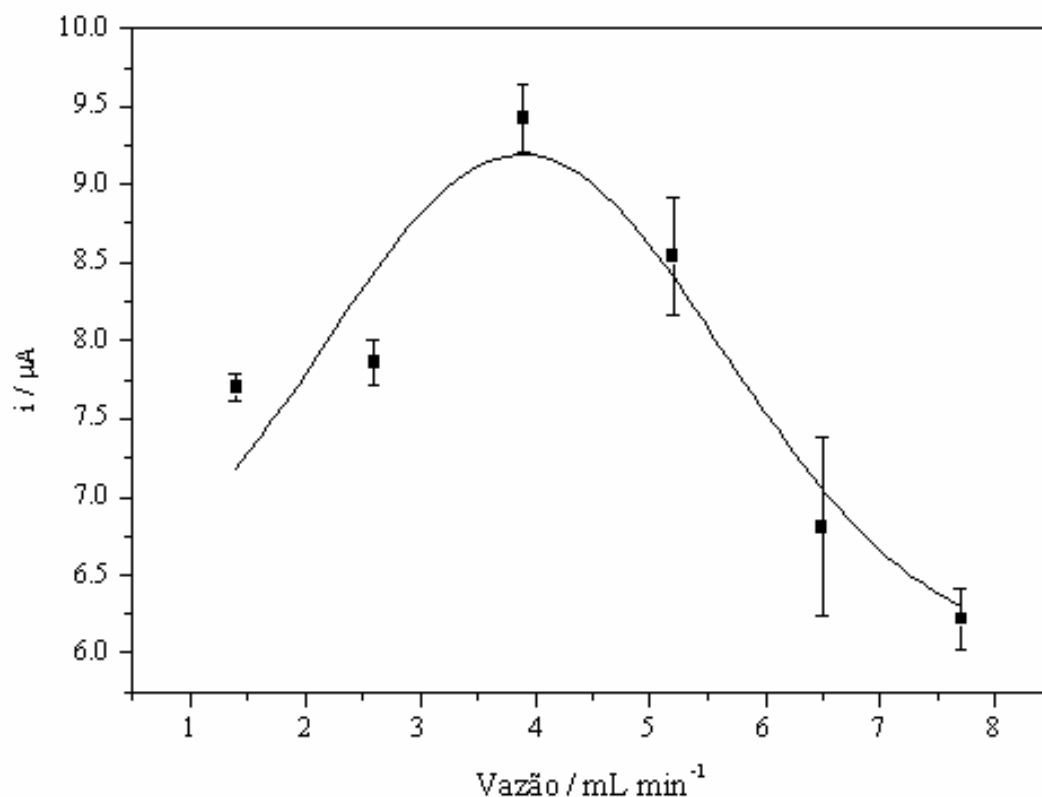


Figura 61 - Efeito da vazão da solução carregadora na resposta amperométrica do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10 como solução carregadora, usando volume da alça de amostragem de 50 μL e potencial de detecção de 1100 mV.

4.11.3 Efeito do Volume da Alça de Amostragem

O efeito do volume da alça de amostragem foi avaliado para volumes de 25 a 151 μL, correspondentes a alças de 5 a 30 cm, usando solução 5,0 mmol L⁻¹ de ATN. Para esse estudo, foi utilizado potencial de detecção de 1100 mV e vazão de 3,9 mL min⁻¹, otimizados anteriormente.

A Figura 62 mostra que o sinal da corrente aumenta até 151 μL. Portanto, esse volume foi selecionado para os estudos seguintes.

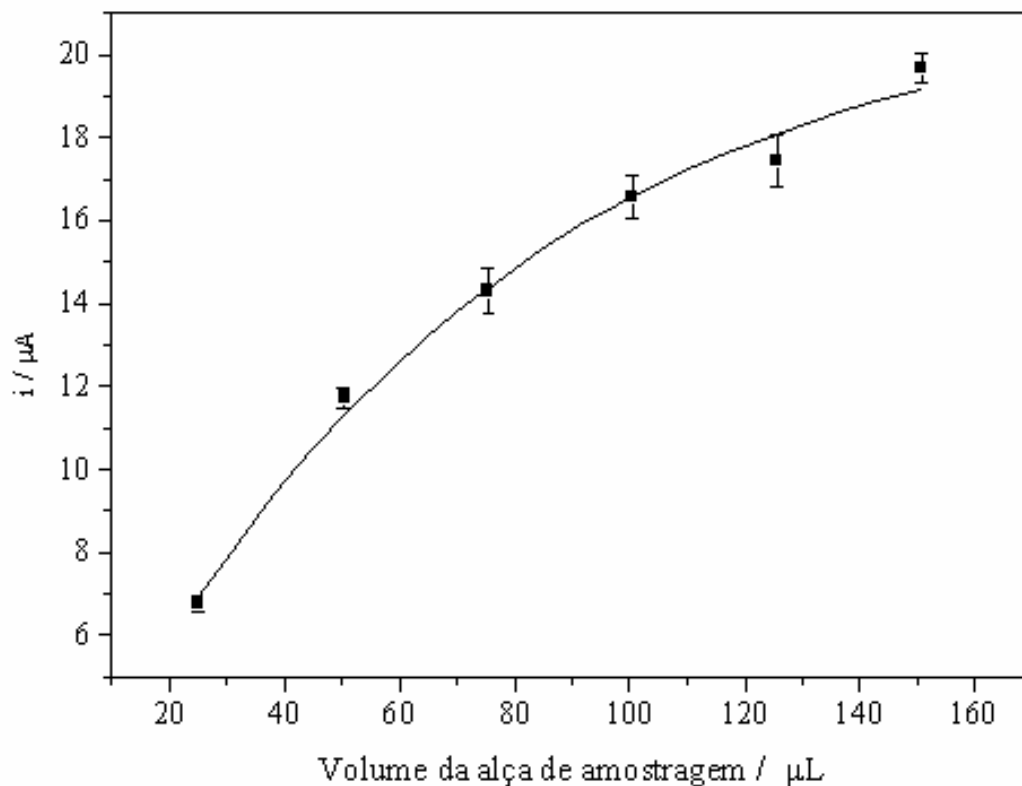


Figura 62 - Efeito do volume da alça de amostragem na resposta amperométrica do eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em solução 5,0 mmol L⁻¹ de ATN em tampão universal pH 10 como solução carregadora, usando vazão de 3,9 mL min⁻¹ e potencial de detecção de 1100 mV.

4.11.4 Curvas Analíticas

Curvas analíticas foram obtidas para avaliar o comportamento da resposta amperométrica do eletrodo composto 60% (grafite, *m/m*) em relação à concentração de ATN.

Os parâmetros foram otimizados anteriormente, e os melhores resultados foram obtidos com potencial de detecção de 1100 mV (*vs.* Ag/AgCl), vazão da solução carregadora de 3,9 mL min⁻¹ e volume da alça de amostragem de 151 μL , correspondente à alça de 30 cm. Usando essas condições, foi obtida uma curva

analítica, com uma resposta linear em todo intervalo estudado, entre $2,0 \cdot 10^{-4}$ e $3,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹ de solução de ATN (Figura 63).

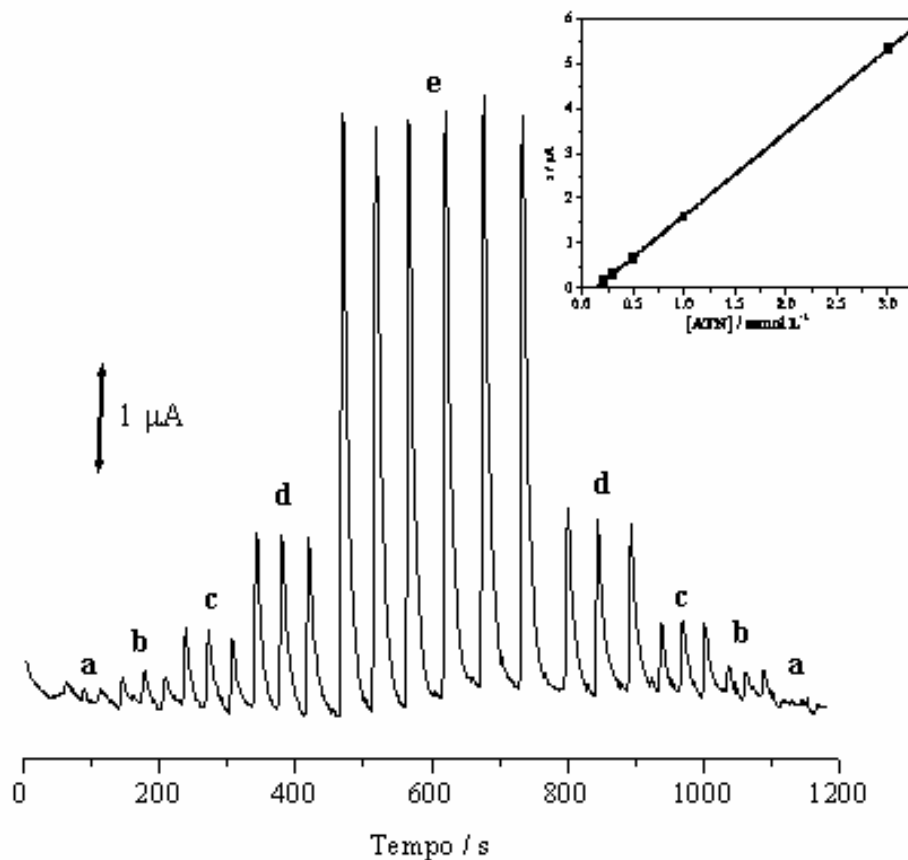


Figura 63 - Sinais transientes obtidos para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) usando (a) $2,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $3,0 \cdot 10^{-4}$, (c) $5,0 \cdot 10^{-4}$, (d) $1,0 \cdot 10^{-3}$ e (e) $3,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹ de ATN, tampão universal pH 10 como solução carregadora, vazão de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$, potencial de detecção de 1100 mV e volume da alça de amostragem de $151 \mu\text{L}$. No detalhe está a curva analítica.

As injeções foram realizadas em ordem crescente de concentração e então, em ordem decrescente, para avaliar o possível efeito de memória. A resposta linear (detalhe na Figura 63) obedeceu à Equação 31:

$$I_p = -0,25 \mu\text{A} + 1,8 \cdot 10^{-3} \mu\text{A mmol}^{-1} \text{L} [\text{ATN}], n = 5, R = 0,999, \quad (31)$$

Foi observada uma frequência analítica de 90 determinações por hora. O limite de detecção obtido nesse intervalo, de acordo com a Equação 12, foi de $18,1 \mu\text{mol L}^{-1}$. O LQ encontrado foi de $60,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, de acordo com a Equação 13.

O LD para ATN utilizando o eletrodo de carbono vítreo como detector amperométrico, sob as mesmas condições utilizadas para o compósito, foi de $141 \mu\text{mol L}^{-1}$, isto é, oito vezes maior que aquele obtido para o compósito.

4.11.5 Determinação de ATN em Formulações Farmacêuticas

A aplicabilidade do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) como detector amperométrico em FIA para determinação de ATN foi verificada analisando formulações farmacêuticas.

A Figura 64 apresenta os sinais transientes obtidos para as soluções de padrão e amostra. No detalhe está a curva resultante.

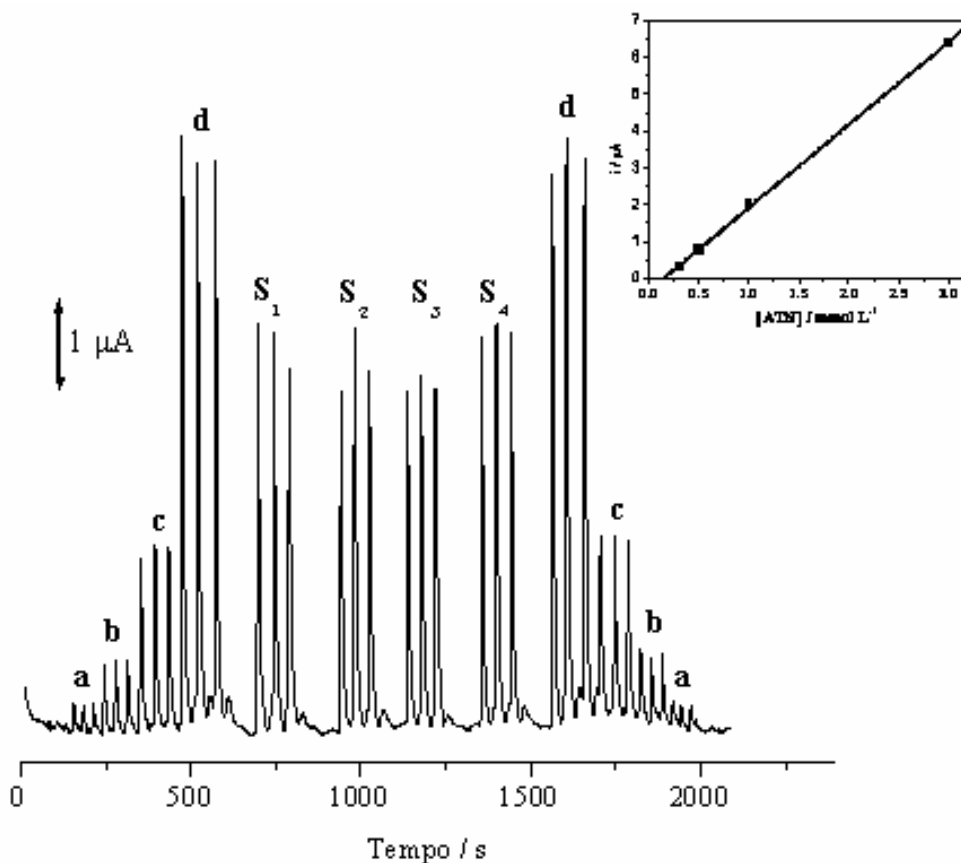


Figura 64 - Sinais transientes para determinação de ATN em formulações farmacêuticas usando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em tampão universal L^{-1} pH 10 como solução carregadora, vazão de $3,9 \text{ mL min}^{-1}$, potencial de detecção de 1100 mV e volume da alça de amostragem de $151 \mu\text{L}$, com (a) $3,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-4}$, (c) $1,0 \cdot 10^{-3}$, (d) $3,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, (S_1), (S_2), (S_3) e (S_4), referentes a Atenolol G1, Atenol, Atenolol G2 e Angipress $2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. No detalhe, a região linear da curva.

Na Tabela 12 estão apresentados os resultados usando o compósito 60% (grafite, *m/m*) no método proposto (FIA) e no método cromatográfico HPLC para comparação.

Tabela 12 - Determinação de ATN em formulações farmacêuticas usando o método de fluxo proposto e o cromatográfico HPLC

Amostra	Atenolol (mg/ COMPRIMIDO)			E ₁ %	E ₂ %
	Rotulado	FIA ^b	HPLC ^c		
Atenolol (G1) ^a	100	102 ± 0,02	93,9 ± 0,02	8,40	1,80
Atenol	50,0	48,9 ± 0,05	49,0 ± 0,06	- 0,08	- 2,12
Atenolol (G2) ^a	50,0	46,2 ± 0,03	48,9 ± 0,17	-5,60	-7,60
Angipress	25,0	26,2 ± 0,2	25,1 ± 0,04	4,55	+ 4,80

^a G = genérico

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

^c = 1 determinação ± desvio padrão (n = 2)

E₁: FIA vs. HPLC (FIA-HPLC/HPLC) x100%

E₂: FIA vs. rotulado (FIA- rotulado / rotulado) x 100%

Os resultados obtidos pelo método proposto FIA concordam com o valor rotulado e o método comparativo HPLC em 95% de confiança, de acordo com o teste *t*-Student.

Recuperações entre 94 e 105% foram observadas para injeções de 2,0 mmol L⁻¹ das formulações farmacêuticas.

4.11.6 Estudo da Repetibilidade

A Figura 65 apresenta o estudo da repetibilidade utilizando o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em FIA, em 10 injeções sucessivas de solução 5,0 mmol L⁻¹ de ATN em tampão universal, pH 10.

O eletrodo apresentou média de corrente ± desvio padrão de 2,27 µA ± 0,07, para n = 10.

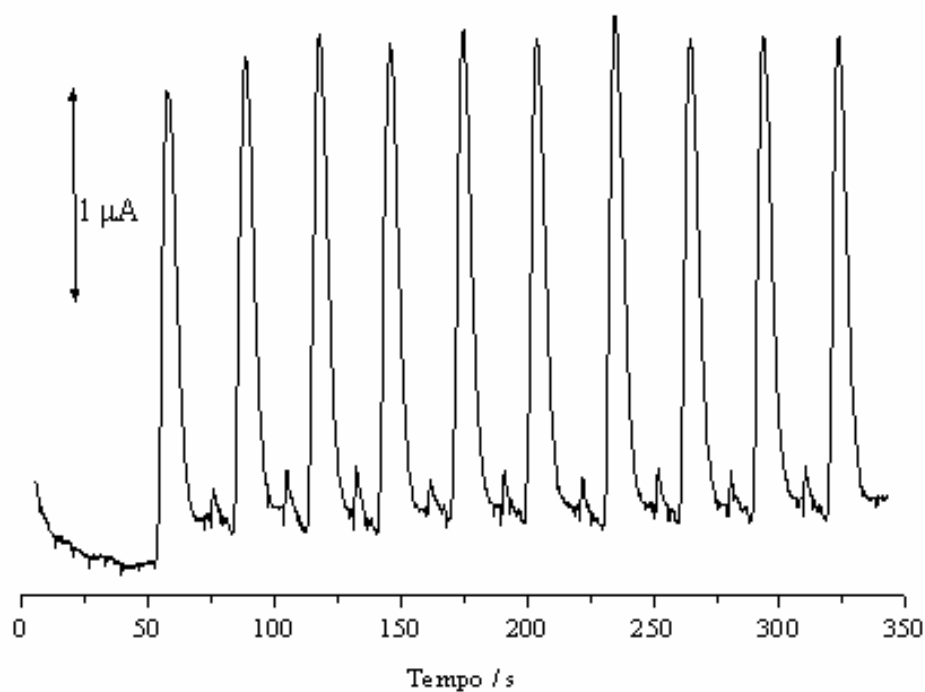


Figura 65 – Diagrama para 10 injeções sucessivas de ATN, mostrando a repetibilidade do eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*).

4.11.7 Estudo de Interferentes

Um estudo de interferentes foi realizado para avaliar o efeito do propranolol e da furosemida na resposta amperométrica do ATN. Experimentos em FIA foram feitos para solução $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$ de ATN na presença de 0; 0,12; 0,25 e $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ de propranolol e furosemida, separadamente, como feito anteriormente em DPV. Foi observada interferência, com um aumento da corrente em ambos os casos, mas com interferência em dobro com a furosemida em relação ao propranolol.

4.12 Resumo dos limites de detecção e quantificação obtidos com o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) e carbono vítreo utilizando as diferentes técnicas e analitos descritos neste trabalho

Tabela 13 – Resultados obtidos utilizando os eletrodos compósito 60% (grafite, *m/m*) e carbono vítreo descritos neste trabalho

Eletrodo	Analito	Técnica	Resposta Linear/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Sensibilidade / $\mu\text{A}\mu\text{mol}^{-1}\text{L}$
	HQ	SWV	1,0 – 400	0,28 100	0,07
		FIA	100 – 10000	3,9	0,004
Compósito Grafite-PU	APAP	DPV	6,0 – 180	18,9	0,025
		FIA	50 – 5000	2,6	0,01
		RDE	24 – 111		0,05
	ATN	DPV	4,0 – 100	3,2	0,15
		FIA	200 – 3000	18,1	0,002
	HQ	SWV	6,0 – 1000	6	0,05
		FIA	100 – 5000	478	0,006
Carbono Vítreo	APAP	DPV	20 – 180	7,1	0,016
		FIA	50 – 1000	108	0,01
		RDE	24 – 200	5,6	0,05
	ATN	DPV	490 – 1400	41,5	0,003
		FIA	300 – 3000	141	0,0002

A Tabela 13 apresenta as figuras de mérito obtidas utilizando o compósito 60% (grafite, *m/m*) e o eletrodo de carbono vítreo. Pode ser observado, que em todos os casos o compósito apresenta vantagens em relação ao GC.

CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES

Os estudos realizados neste trabalho permitiram concluir o que se segue:

√ A prensagem do compósito durante a cura da resina permite aumentar a intensidade de corrente, provavelmente por melhorar o contato entre as partículas condutoras de grafite;

√ O eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) pode ser usado em técnicas voltamétricas tais como SWV, DPV e RDE, seguindo as respostas esperadas, de acordo com os estudos realizados usando diferentes analitos;

√ O eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) pode ser usado como sensor amperométrico para análise em fluxo e cronoamperometria para os analitos usados, os quais não se adsorvem na superfície do eletrodo;

√ As interferências observadas em alguns casos mostraram-se como um ponto fraco do material, quanto à seletividade. Entretanto, o uso de modificadores adequados poderia auxiliar na melhoria deste aspecto;

√ Em todos os casos as sensibilidades observadas para o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) foram superiores às aquelas obtidas com o carbono vítreo, provavelmente devido aos grupos funcionais da resina poliuretana, que poderiam auxiliar na pré-concentração dos analitos;

√ Não foram observadas perdas de resposta durante as determinações e o eletrodo se mostrou repetitivo em todos os casos. Excluindo-se eventuais necessidades de renovação mecânica da superfície, o eletrodo se mostrou durável e confiável na escala de tempo dos experimentos realizados.

CAPÍTULO 6 – TRABALHOS FUTUROS

√ Utilizar o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) para determinar outros analitos;

√ Introduzir modificadores tais como hexacianoferratos, óxidos metálicos e polímeros molecularmente impressos, para melhorar a seletividade e sensibilidade do compósito;

√ Realizar tratamentos de superfície tais como aplicação de extremos de potencial e exposição à agentes químicos redutores e/ou oxidantes para ativar a superfície e melhorar a sensibilidade do compósito;

√ Utilizar o eletrodo compósito 60% (grafite, *m/m*) em meio não orgânico;

√ Utilizar o eletrodo compósito grafite-PU em fluidos biológicos sintéticos para estudos medicinais.

CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ KUCERA, B. **Annals of Physics**, v. 11, p. 529, 1903. Kucera B. *Ann. Phys.* 1903; 11: 529.
- ² HEYROVSKÝ, J. **Principles of polarography**. New York: Academic Press, 1966.
- ³ ADAMS, R.N. **Electrochemistry at solid electrodes**. New York: Marcel Dekker, 1969.
- ⁴ ADAMS, R.N. Carbon Paste Electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 30, p. 1576, 1958.
- ⁵ PUNGOR, E.; SZEPESVÁRY, É. Voltammetric studies with silicone rubber-based graphite electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 43, p. 289-296, 1968.
- ⁶ PEREIRA, A.C.; SANTOS, A.D.; KUBOTA, L.T. Trends in amperometric electrodes modification for electroanalytical applications. **Quimica Nova**, v. 25, p. 1012-1021, 2002.
- ⁷ KISSINGER, P.T.; HEINEMAN, W.R. (Eds.). **Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 986.
- ⁸ 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.
- ⁹ TALLMAN, D.E.; PETERSEN, S.L. Composite Electrodes for Electroanalysis: Principles and Applications. **Electroanalysis**, v. 2, p. 499-510, 1990.
- ¹⁰ MASCINI, M.; PALLOZZI, F.; LIBERTI, A. A polythene graphite electrode for voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 43, p. 126-131, 1973.

¹¹ KLATT, L.N.; CONNELL, D.R.; ADAMS, R.E. Voltammetric characterization of a graphite-teflon electrode. **Analytical Chemistry**, v. 47, p. 2470-2472, 1975.

¹² SWOFFORD, H.S.; CARMAN, R.L. Voltammetric applications of rotating and stationary carbon-epoxy electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 38, p. 966-969, 1966.

¹³ WANG, J.; NASER, N. Modified carbon-wax composite electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 316, p. 253-259, 1995.

¹⁴ 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.

¹⁵ WURTZ, A.; LIEBIGS, J. **Analytical Chemistry**, v. 71, p. 236, 1849.

¹⁶ BAYER, W.G. **The ICI Polyurethane Book**. New York: John Wiley, 1987. p. 432.

¹⁷ CLARO-NETO, S. **Caracterizações físico-químicas de um poliuretano derivado de óleo de mamona utilizado para implantes ósseos**. 1997. 153f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

¹⁸ BRUINS, P. F. **Polyurethane technology**. New York: Interscience Publishers, 1969. p. 289.

¹⁹ VILAR, W.D. **Química e tecnologia dos poliuretanos**. Rio de Janeiro: Vilar Consultoria Técnica, 1999. p. 340.

²⁰ O' HARE, D.; MACPHERSON, J.V.; WILLOWS, A. On the microelectrode behavior of graphite-epoxy composite electrodes. **Electrochemical Communication**, v. 4, p. 245-250, 2002.

- ²¹ MORENO-BARON, L.; MERKOÇI, A.; ALEGRET, S. Graphite-epoxy composite as an alternative material to design mercury free working electrodes for stripping voltammetry. **Electrochimica Acta**, v. 48, p. 2599-2605, 2003.
- ²² DOMÉNECH, A.; ALARCÓN, J. Determination of hydrogen peroxide using glassy carbon and graphite/polyester composite electrodes modified by vanadium-doped zirconias. **Analytica Chimica Acta**, v. 452, p. 11-22, 2002.
- ²³ DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DOMÉNECH-CARBÓ, M.T.; OSETE-CORTINA, L.; GIMENO-ADELANTADO, J.V.; BOSCH-REIG, F.; MATEO-CASTRO, R. Electrochemical identification of metal ions in archaeological ceramic glazes by stripping voltammetry at graphite/polyester composite electrodes. **Talanta**, v. 56, p. 161-174, 2002.
- ²⁴ SHUISHENG, S.; CHUNZHONG, L.; LING, Z.; BURNELL-GRAY, J.S. Effects of surface modification of fumed silica on interfacial structures and mechanical properties of poly(vinyl chloride) composites. **European Polymer Journal**, v. 42, p. 1643–1652, 2006.
- ²⁵ LEE, H.Y.; KIM, J.Y.; PARK, J.H.; JOE, Y.G.; LEE, T.H. Performance of polypyrrole-impregnated composite electrode for unitized regenerative fuel cell. **Journal Power Sources**, v. 131, p. 188-193, 2004.
- ²⁶ HOSSEINI, MG.; SABOURI, M.; SHAHRABI, T. Comparison between polyaniline-phosphate and polypyrrole-phosphate composite coatings for mild steel corrosion protection. **Materials And Corrosion-Werkstoffe Und Korrosion**, v. 57, p. 407-410, 2006.
- ²⁷ NAIR, J.B.; MUNK, M.N.; MCLEAN, J.D. Improved high-performance liquid chromatographic method with electrochemical detection for the determination of urinary catecholamines using a new- electrochemical detector. **Journal of Chromatography: Biomedical Applications**, v. 416, p. 340-346, 1987.

- ²⁸ SUFFREDINI, H.B.; TRICOLI, V.; VATISTAS, N.; AVACA, L.A. Electro-oxidation of methanol and ethanol using a Pt–RuO₂/C composite prepared by the sol–gel technique and supported on boron-doped diamond. **Journal of Power Sources**, v. 158, p. 124–128, 2006.
- ²⁹ SALIMI, A.; MAMKHEZRI, H.; HALLAJ, R. Simultaneous determination of ascorbic acid, uric acid and neurotransmitters with a carbon ceramic electrode prepared by sol–gel technique. **Talanta**, 2006. No prelo.
- ³⁰ ÁLVAREZ-ROMERO, G.A.; GARFIAS-GARCÍA, E.; RAMÍREZ-SILVA, M.T.; GALÁN-VIDAL, C.; ROMERO-ROMO, M.; PALOMAR-PARDAVÉ, M. Electrochemical and AFM characterization of the electropolymerization of pyrrole over a graphite–epoxy resin solid composite electrode, in the presence of different anions. **Applied Surface Science**, v. 252, p. 5783–5792, 2006.
- ³¹ OLIVEIRA, A. C. **Desenvolvimento e Aplicação de Eletrodos Compósitos à Base de Borracha de Silicone e Grafite**. 2004. 89f. Dissertação (Mestrado) –Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.
- ³² MENDES, R.K.; CERVINI, P.; CAVALHEIRO, E.T.G. The use of a graphite–castor oil polyurethane composite electrode for the determination of hydroquinone in photographic developers. **Talanta**, v. 68, p. 708-712, 2006.
- ³³ CALIXTO, C.M.F. **Desenvolvimento de Eletrodo Compósitos a Base de Araldite e Grafite**. 2005. 48f. Monografia (Bacharelado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
- ³⁴ CARRALERO, V.; MENA, M.L.; GONZALEZ-CORTÉS, A., YÁNÉZ-SEDEÑO, P.; PINGARRÓN, J.M. Development of a high analytical performance-tyrosinase biosensor based on a composite graphite–Teflon electrode modified with gold nanoparticles. **Biosensors and Bioelectronics**, 2006. No prelo.
- ³⁵ BEAUNIER, L.; KEDDAM, M.; GARCÍA-JAREÑO, J.J.; VICENTE, F.; NAVARRO-LABOULAIS, J. Surface structure determination by SEM image processing and electrochemical impedance of graphite + polyethylene composite electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 566, p. 159–167, 2004.

- ³⁶ AGUILAR, R.; DÁVILA, M.M.; ELIZALDE, M.P.; MATTUSCH, J.; WENNRICH, R. Capability of a carbon–polyvinylchloride composite electrode for the detection of dopamine, ascorbic acid and uric acid. **Electrochimica Acta**, v. 49, p. 851–859, 2004.
- ³⁷ FERNÁNDEZ, C.; REVIEJO, A.J.; PINGARRÓN, J.M. Development of graphite-poly(tetrafluoroethylene) composite electrodes - voltammetric determination of the herbicides thiram and disulfiram. **Analytica Chimica Acta**, v. 305, p. 192-199, 1995.
- ³⁸ JIN, J.; XU, F.; MIWA, T. Cathodic stripping voltammetry for determination of trace manganese with graphite/styrene-acrylonitrile copolymer composite electrodes. **Electroanalysis**, v. 12, p. 610-615, 2000.
- ³⁹ CATALDI, T.R.I.; CENTONZE, D. Development of a carbon composite electrode made from polyethylene and graphite powder modified with copper (I) oxide. **Analytica Chimica Acta**, v. 326, p. 107-115, 1996.
- ⁴⁰ LIBERTI, A.; MORGIA, C.; MASCINI, M. Carbon-black in polyethylene as an electrochemical sensor. **Analytica Chimica Acta**, v. 173, p. 157-164, 1985.
- ⁴¹ ALBERTUS, F.; LLERENA, A.; ALPIZAR, J.; CERDA, V.; LUQUE, M.; RIOS, A.; VALCÁRCEL, M. A PVC-graphite composite electrode for electroanalytical use. Preparation and some applications. **Analytica Chimica Acta**, v. 355, p. 23-32, 1997.
- ⁴² LEECH, D.; WANG, J.; SMYTH, M. R. Electrocatalytic detection of streptomycin and related antibiotics at ruthenium dioxide modified graphite-epoxy composite electrodes. **Analyst**, v. 115, p. 1447-1450, 1990.
- ⁴³ WANG, J.; GOLDEN, T.; VARUGHESE, K.; ELRAYES, I. Polishable and robust modified graphite epoxy electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 61, p. 508-512, 1989.

- ⁴⁴ MARTORELL, D.; CESPEDES, F.; MARTINEZ-FABREGAS, E.; ALEGRET, S. Amperometric determination of pesticides using a biosensor based on a polishable graphite-epoxy biocomposite. **Analytica Chimica Acta**, v. 290, p. 343-348, 1994.
- ⁴⁵ CESPEDES, F.; MARTINEZ-FABRAGAS, E.; ALEGRET, S. Amperometric glucose biosensor based on an electrocatalytically bulk-modified epoxy-graphite biocomposite. **Analytica Chimica Acta**, v. 284, p. 21-26, 1993.
- ⁴⁶ FALAT, L.; CHENG, H.Y. Voltammetric differentiation of ascorbic-acid and dopamine at an electrochemically treated graphite epoxy electrode. **Analytical Chemistry**, v. 54, p. 2108-2111, 1982.
- ⁴⁷ CHEN, Z.; YU, J.C. Potentiometric detection of ascorbate using a graphite carbon electrode. **Talanta**, v. 49, p. 661-665, 1999.
- ⁴⁸ VIEIRA, I.C.; FATIBELLO-FILHO, O.; ANGNES, L. Zucchini crude extract-palladium-modified carbon paste electrode for the determination of hydroquinone in photographic developers. **Analytica Chimica Acta**, v. 398, p. 145-151, 1999.
- ⁴⁹ DANTONI, P.; SERRANO, S.H.P.; BRETT, A.M.O.; GUTZ, I.G.R. Flow-injection determination of catechol with a new tyrosinase/DNA biosensor. **Analytica Chimica Acta**, v. 366, p. 137-145, 1998.
- ⁵⁰ SALIMI, A.; HALLAJ, R. Adsorption and reactivity of chlorogenic acid at a hydrophobic carbon ceramic composite electrode: Application for the amperometric detection of hydrazin. **Electroanalysis**, v. 16, p. 1984-1991, 2004.
- ⁵¹ SHAHROKHIAN, S.; KARIMI, M. Voltammetric studies of a cobalt(II)-4-methylsalophen modified carbon-paste electrode and its application for the simultaneous determination of cysteine and ascorbic acid. **Electrochimica Acta**, v. 50, p. 77-84, 2004.

- ⁵² CARREGALO, S.; MERKOCI, A. ALEGRET, S. Application of graphite-epoxy composite electrodes in differential pulse anodic stripping voltammetry of heavy metals. **Microchimica Acta**, v. 147, p. 245-251, 2004.
- ⁵³ PALENZUELA, B.; SIMONET, B.M.; GARCIA, R.M.; RIOS, A.; VALCARCEL, M. Amperometric screening of bacterial food contamination using a composite modified electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 524, p. 167-174, 2004.
- ⁵⁴ TEH, H.F.; YANG, X.H.; GONG, H.Q.; TAN, S.N. Voltammetric and differential pulse stripping study of adenine on a sol-gel derived carbon composite electrode. **Electroanalysis**, v. 16, p. 769, 2004.
- ⁵⁵ SHANKARAN, D.R.; IIMURA, K.; KATO, T. Simultaneous determination of ascorbic acid and dopamine at a sol-gel composite electrode. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 94, p. 73-80, 2003.
- ⁵⁶ SHANKARAN, D.R.; UEHARA, N.; KATO, T. Sol-gel derived metal dispersed ceramic-graphite composite electrode for amperometric determination of dopamine. **Analytica Chimica Acta**, v. 478, p. 321-327, 2003.
- ⁵⁷ PALENZUELA, B.; RODRIGUEZ-AMARO, R.; RIOS, A. VALCARCEL, M. Screening of polyphenols in grape marc by online supercritical fluid extraction - Amperometric detection with a PVC-graphite composite electrode. **Electroanalysis**, v. 14, p. 1427-1432, 2002.
- ⁵⁸ MENDES, R.K.; CLARO-NETO, S.; CAVALHEIRO, E.T.G. Evaluation of a new rigid carbon-castor oil polyurethane composite as an electrode material. **Talanta**, v. 57, p. 909-917, 2002.
- ⁵⁹ KHORASANI, J.H.; AMINI, M.K.; GHANEI, H.; TANGESTANINEJAD, S. Flow-injection amperometric determination of ascorbic acid using a graphite-epoxy composite electrode modified with cobalt phthalocyanine. **Iranian Journal of Chemistry & Chemical Engineering-International English Edition**, v. 20, p. 66, 2001.

- ⁶⁰ CHANG, M.L.; CHANG, C.M. Voltammetric determination of sunscreen by convenient epoxy-carbon composite electrodes. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 9, 2001.
- ⁶¹ SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. **Principles of Instrumental Analysis**. 5. ed. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1998. p. 917.
- ⁶² RUPP, E.B.; ZUMAN, P. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 2016, 1992.
- ⁶³ SOUZA, D.; MACHADO, S.A.S.; AVACA, L.A. Voltametria de Onda Quadrada. Primeira Parte: Aspectos Teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.
- ⁶⁴ OSTERYOUNG, J.G.; OSTERYOUNG, R.A. Square wave voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 57, p. 101-110, 1985.
- ⁶⁵ OSTERYOUNG, J.; SCHREINER, M.M. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, supl 1, p. 19, 1988.
- ⁶⁶ ALEIXO, L.M. **Voltametria: Conceitos e Técnicas**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, SP. p. 40. Apostila.
- ⁶⁷ OSTERYOUNG, J.G.; O'DEA, J.J. Square-Wave Voltammetry. In: BARD, A.J. **Electroanalytical Chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1982. v. 14.
- ⁶⁸ RAMALEY, L.; KRAUSE JUNIOR, M.S. Theory of Square Wave Voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 41, n. 11, p. 1362-1365, 1969.
- ⁶⁹ RAMALEY, L.; KRAUSE Jr, M.S. Analytical Application of Square Wave Voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 41, n. 11, p. 1365-1369, 1969.

- ⁷⁰ CHRISTIE, J.H.; TURNER, J.A.; OSTERYOUNG, R.A. Square Wave Voltammetry at the Dropping Mercury Electrode: Theory. **Analytical Chemistry**, v. 49, n. 13, p. 1899-1903, 1977.
- ⁷¹ CHRISTIE, J.H.; TURNER, J.A.; OSTERYOUNG, R.A. Square Wave Voltammetry at the Dropping Mercury Electrode: Experimental. **Analytical Chemistry**, v. 49, n. 13, p. 1904-1908, 1977.
- ⁷² GALLI, A.; SOUZA, D.; GARBELLINI, G.S.; COUTINHO, C.F.B.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A.; MACHADO, S.A.S. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, v. 29, n.1, p. 105-112, 2006.
- ⁷³ LEVICH, V.G. **Physicochemical Hydrodynamics**. New York: Prentice-Hall, 1962.
- ⁷⁴ PLETCHER, D.A. **First Course in Electrode Processes**. London: Electrochemical Consultancy, 1991.
- ⁷⁵ BARD, A.J. **Electroanalytical Chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1982.
- ⁷⁶ BARD, A.J.; FAULKNER, L.R. **Electrochemical Methods**. New York: Wiley, 1980. p.718.
- ⁷⁷ RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. Flow injection analyses : Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytical Chimica Acta**, v. 78, p. 145-157, 1975.
- ⁷⁸ STEWART, J.W.B.; RUZICKA, J.; BERGAMIN, F.H.; ZAGATTO, E.A.G. Flow injection analysis : Part III. Comparison of continuous flow spectrophotometry and potentiometry for the rapid determination of the total nitrogen content in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, v. 81, p. 371-389, 1976.
- ⁷⁹ RUZICKA, J.; STEWART, J.W.B.; ZAGATTO, E.A.G. Flow injection analysis : Part IV. Stream sample splitting and its application to the continuous spectrophotometric determination of chloride in brackish waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 81, p. 387-396, 1976.

- ⁸⁰ BERGAMIN, F.H.; REIS, B.F.; ZAGATTO, E.A.G. A new device for improving sensitivity and stabilization in flow-injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 97, p. 427-431, 1978.
- ⁸¹ MICRONAL. Análises químicas por injeção em fluxo. Meios e Métodos, n.41, 1984.
- ⁸² REIS, B.F.; GINÉ, M.F.; KRONKA, E.A.M. A análise química por injeção em fluxo contínuo. **Química Nova**, v. 12, p. 82, 1996.
- ⁸³ LUNDBACK, H. Amperometric determination of hydrogen peroxide in pickling baths for copper and copper alloys by flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 145, p. 189-196, 1983.
- ⁸⁴ KRUG, F.J.; BERGAMIN, F.H.; ZAGATTO, E.A.G. Commutation in flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 179, p. 103-118, 1986.
- ⁸⁵ KRUG, F.J.; REIS, B.F.; GINÉ, M.F.; FERREIRA, J.R.; JACINTHO, A.O. Zone trapping in flow injection analysis: Spectrophotometric determination of low levels of ammonium ion in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 151, p. 39-48, 1983.
- ⁸⁶ RUZICKA J.; HANSEN, E.H. **Flow Injection Analysis**. New York: John Wiley, 1988.
- ⁸⁷ MICRONAL. Análises químicas por injeção em fluxo. Meios e Métodos, n.43, 1984.
- ⁸⁸ REIS, B.F. Análise química por injeção em fluxo: vinte anos de desenvolvimento. **Química Nova**, v. 19, p. 51-58, 1996.
- ⁸⁹ KALBERG, B.; PACEY, G.E. **Flow injection analysis: A practical guide**. Amsterdam: Elsevier, 1989. p. 372.
- ⁹⁰ CLAVIJO, M.J.L., **La formulación magistral en la oficina de farmacia**. Valencia: Vicent Baixauli Comes, 1981. p. 92-93.
- ⁹¹ HOOVER, J.E. **Remington's Pharmaceutical Sciences**. 15. ed. Easton: Mack Publishing Company, 1975. p. 726.
- ⁹² KIRK, R.E.; OTHMER, D.F. **Encyclopedia of Chemical Technology**. New York, 1981. v. 3.

- ⁹³ VIEIRA, I.C.; FATIBELLO-FILHO, O. Biossensor based on paraffin/graphite modified with sweet potato tissue for the determination of hydroquinone in cosmetic cream in organic phase. **Talanta**, v. 52, p. 681-689, 2000.
- ⁹⁴ BRUNETON, J. **Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales**, in: Acribia S.A., Zaragoza (Ed), 2.ed. p. 243-245.
- ⁹⁵ CERVINI, P.; RAMOS, L.A.; CAVALHEIRO, E.T.G. Determination of Hydroquinone using a composite graphite-PU in FIA. **Analytical Chemistry: An Indian Journal**, v. 2, p. 187-194, 2006.
- ⁹⁶ MEDIEN, H.A.A.; ZAHRAN, A.A. Spectrophotometric kinetic and determination of quinones and barbiturates. **Spectrochimica Acta A**, v. 57, p. 2505-2511, 2001.
- ⁹⁷ GAO, J.; REN, J.; YANG, W.; LIU, X.; YANG, H.; LI, Q.; DENG, H. Kinetic determination of hydroquinone by a Belousov-Zhabotinskii oscillating chemical reaction. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 520, p. 157-161, 2002.
- ⁹⁸ PENNER, N.A.; NESTERENKO, P.N. Simultaneous determination of dihydroxybenzenes, aminophenols and phenylenediamines in hair dyes by high-performance liquid chromatography on hypercross-linked polystyrene. **Analyst**, v. 125, p. 1249-1254, 2000.
- ⁹⁹ PENNER, N.A.; NESTERENKO, P.N.; RYBALKO, N.A. Use of hypercrosslinked polystyrene for the determination of pyrocatechol, resorcinol, and hydroquinone by reversed-phase HPLC with dynamic on-line preconcentration. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 56, p. 934-939, 2001.
- ¹⁰⁰ ZOU, G.; SHI, R.; XIE, X.; CHEN, H.; NEEB, R. Determination of hydroquinone and metol in photographic developer by reversed-phase ion-pair chromatography with amperometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 208, p. 337-342, 1988.
- ¹⁰¹ OHNO, T.; MIZUSAWA, S.; TAKAI, N. **Chemistry Letters**, v. 10, p. 1247, 1979.
- ¹⁰² WADE, A. **Martindale, The Extra Pharmacopia**. 27. ed. London: The Pharmaceutical Press, 1979.
- ¹⁰³ SWEETMAN, S.C. (Ed.), **Martindale, The Complete Drug Reference**. 33. ed. London: Pharmaceutical Press, 2002. p. 71-74.

- ¹⁰⁴ ANKER, A. In: MARX, J. (Ed.). **Clinical Toxicology**. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001. p. 265–274.
- ¹⁰⁵ MINER, D.J.; RICE, J.R.; RIGGIN, R.M.; KISSINGER, P.T. Voltammetry of acetaminophen and its metabolites. **Analytical Chemistry**, v. 53, p. 2258-2263, 1981.
- ¹⁰⁶ KUMAR, K.G.; LETHA, R. Determination of Paracetamol in pure form and in dosage forms using *N,N*-dibromo dimethylhydantoin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 15, p. 1725-1728, 1997.
- ¹⁰⁷ CANADA, M.J.A.; REGUERA, M.I.P.; MEDINA, A.R.; de CORDOVA, M.L.F.; A. DIAZ, M. Fast determination of paracetamol by using a very simple photometric flow-through sensing device. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 22, p. 59-66, 2000.
- ¹⁰⁸ NI, Y.; LIU, C.; KOKOT, S. Simultaneous kinetic spectrophotometric determination of acetaminophen and phenobarbital by artificial neural networks and partial least squares. **Analytica Chimica Acta**, v. 419, p. 185-196, 2000.
- ¹⁰⁹ VILCHEZ, J.L.; BLANC, R.; AVIDAD, R.; NAVALON, A. Spectrofluorimetric determination of paracetamol in pharmaceuticals and biological fluids. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 13, p. 1119-1125, 1995.
- ¹¹⁰ KNOCHEN, M.; GIGLIO, J.; REIS, B.F. Flow-injection spectrophotometric determination of paracetamol in tablets and oral solutions. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 33, p. 191-197, 2003.
- ¹¹¹ RAVISANKAR, S.; VASUDEVAN, M.; GANDHIMATHI, M.; SURESH, B. Reversed-phase HPLC method for the estimation of acetaminophen, ibuprofen and chlorzoxazone in formulations. **Talanta**, v. 46, p. 1577–1581, 1998.
- ¹¹² AL-OBAIDY, S.S.; PO, A.L.W.; MCKIERNAN, P.J.; GLASGOW, J.F.T.; MILLERSHIP, J. Assay of paracetamol and its metabolites in urine, plasma and saliva of children with chronic liver disease. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 13, p. 1033–1039, 1995.

- ¹¹³ KISSINGER, P.T.; ROSTON, D.A.; BENSCHOTEN, J.J.V.; LEWIS, J.Y.; HEINEMAN, W.R. **Journal of Chemical Education**, v. 60, p. 772, 1983.
- ¹¹⁴ MINER, J.; RICE, J.R.; RIGGIN, R.M.; KISSINGER, P.T. Voltammetry of acetaminophen and its metabolites. **Analytical Chemistry**, v. 53, p. 2258-2263, 1981.
- ¹¹⁵ WINKLER, H.; RIED, W.; LEMMER, B. High-performance liquid chromatographic method for the quantitative analysis of the aryloxypropanolamines propranolol, metoprolol and atenolol in plasma and tissue. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 228, p. 223-234, 1982.
- ¹¹⁶ WADSWORTH, A. N.; MURDOCH, D.; BROGDEN, R.N. **Drugs**, v. 42, p. 468, 1991.
- ¹¹⁷ SIREN, H.; SAARINEN, M.; HAINARI, S.; RIEKKOLA, M.L. Screening of β -blockers in human serum by ion-pair chromatography and their identification as methyl or acetyl derivatives by gas chromatography—mass spectrometry. **Journal of Chromatography and Biomedical Application**, v. 632, p. 215-227, 1993.
- ¹¹⁸ SNOOK, C.P.; SIGVALDASON, K.; KRISTINSSON, J. **Journal Toxicol and Clinical Toxicol**, v. 387, p. 661, 2000.
- ¹¹⁹ ABBASI, I.A; SORSBY, S. **Clinical Pharmacy**, v. 5, p. 836, 1986.
- ¹²⁰ 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.
- ¹²¹ LELOUX, M.S.; DOST, F. Determination of captopryl using HPC. **Chromatographia**, v. 32, p. 429, 1991.
- ¹²² ROSSEEL, M.T.; VERMEULEN, A.N.; BELPAIRE, F.M. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic 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.

- ¹²³ GOYAL, R. N.; SINGH, S. P. Voltammetric determination of atenolol at C₆₀-modified glassy carbon electrodes. **Talanta**, v. 69, p. 932-937, 2006.
- ¹²⁴ 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.
- ¹²⁵ MARTÍNEZ, V.; 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.
- ¹²⁶ 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.
- ¹²⁷ RAMOS, L.A.; PRIETO, K.R.; CAVALHEIRO, C.C.S.; CAVALHEIRO, E.T.G. Chemical identification of atenolol, propranolol and rutin in SWV and FIA procedures. **Journal of Chemical Education**, 2006. No prelo.
- ¹²⁸ PERRIN, D.D.; DEMPSEY, B. **Buffers for pH and Metal Ion Control**. London: Chapman and Hall, 1974. p. 190.
- ¹²⁹ **FARMACOPEIA Brasileira**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988. p. 98.
- ¹³⁰ WANG, J. Anodic stripping voltammetry as an analytical tool. **Environmental Science & Technology**, v. 16, p. 104A, 1982.
- ¹³¹ CAVALHEIRO, E.T.G.; BRAJTER-TOTH, A. Amperometric determination of xanthine and hypoxanthine at carbon electrodes. Effect of surface activity and the instrumental parameters on the sensitivity and the limit of detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 19, p. 217-230, 1999.
- ¹³² MENDES, R.K. **Desenvolvimento e Aplicação de Eletrodos Compósitos a Base de Poliuretano e Grafite**. 2002. 92f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002. 2002.
- ¹³³ THE UNITED STATES PHARMACOPEIA: The National Formulary, NF23. 28. ed. Rockville:United States Pharmacopoeial Convention, 2004. p. 17.
- ¹³⁴ 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.

- ¹³⁵ NAVARRO-LABOULAIS, J.; TRIJUEQUE, J.; VICENTE, F.; SCHOLL, H. Voltammetric determination of optimal conductive load proportion in graphite-epoxy composite electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 379, p. 159-163, 1994.
- ¹³⁶ TRIJUEQUE, J.; GARCIA-JARENO, J.J.; NAVARRO-LABOULAIS, J.; SAMANTIAS, A.; VICENTE, F. Ohmic drop of Prussian-blue/graphite+epoxy electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 45, p. 789-795, 1999.
- ¹³⁷ LONG, G.L.; WINEFORDNER, J.D. Limit of Detection. **Analytical Chemistry**, v. 55, p. 712A-724A, 1983.
- ¹³⁸ WEISSBERGER, A.; ROSSITER, B.W. **Physical Methods of Chemistry**. New York: Wiley-Interscience, 1971. v. 1.
- ¹³⁹ GOSSER, D.K. **Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms**. New York: VCH Publishers, 1993. p. 154.
- ¹⁴⁰ SCHOLTZ, F (Ed). **Square Wave Voltammetry: electroanalytical methods**. Berlin: Springer, 2002. p. 11-136.