

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS
ASSOCIADOS A BATCH INJECTION ANALYSIS (BIA) PARA
APLICAÇÕES ANALÍTICAS**

Maria do Socorro Maia Quintino

Tese de Doutorado

Prof. Dr. Lúcio Angnes

Orientador

São Paulo

11 de dezembro de 2003

A meus pais, Pedro e Laura, para mim exemplos
de integridade, força e amor.

Ao Prof. Lúcio Angnes, com quem
aprendi a ser mais tolerante.

Desejo agradecer

A Deus, POR TUDO.

Ao Prof. Dr. Lúcio Angnes, pela acolhida em seu laboratório, pela orientação e amizade.

À minha família, por tolerar a minha ausência e pelo incentivo constante.

Aos Profs. Drs. Henrique E. Toma, Koiti Araki e Mauro Bertotti, pela contribuição com discussões proveitosas.

Aos Profs. Drs. Fábio R. Piovezani e Sílvia H. P. Serrano, pelas sugestões em ocasião do meu exame de qualificação.

A Boehringer Ingelheim do Brasil, pela doação do padrão sulfato de salbutamol empregado nos estudos.

A Marcelo Nakamura (IQ-USP), pela obtenção das imagens por AFM dos filmes de poli-NiTRP e a Herbert Winnischofer (IQ-USP), particularmente, pelas discussões sobre a caracterização desses filmes.

Aos Profs. Drs. Claudimir L. do Lago e Ivano G. R. Gutz e aos colegas do Grupo de Pesquisa em Química Analítica Instrumental, que proporcionaram um convívio amigável e que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

A Efigênia, Eric, Fernando, José Roberto, Marlene e Ricardo, pelo apoio constante sempre que solicitado.

Aos professores, colegas e funcionários do Instituto de Química (USP), que tiveram qualquer participação na execução deste trabalho.

A CAPES, pela bolsa concedida; a FAPESP, CNPq e Pró Reitoria de Pós-Graduação da USP, pelo apoio financeiro.

**PARA SER GRANDE, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive.**

(Fernando Pessoa)

Conteúdo

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
INTRODUÇÃO	1
1. TEORIA	6
1.1. Técnicas Eletroquímicas	6
1.2. Batch Injection Analysis (BIA)	9
1.3. Sensores Eletroquímicos	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1. Porfirinas em Química Eletroanalítica	20
2.2. Batch Injection Analysis (BIA)	23
2.3. Análise de Ácido Acetilsalicílico, Salbutamol, Acetaminofen e Glicose	25
3. PARTE EXPERIMENTAL	30
3.1. Aparelhagem	30
3.2. Célula Eletroquímica e Eletrodos (sistema estacionário)	30
3.3. Sistema BIA	31
3.4. Reagentes e Soluções	32
3.5. Eletrodos de Trabalho	33
3.6. Rotina	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1. Quantificação de Ácido Acetilsalicílico Utilizando Eletrodo de Cobre em Meio Alcalino	43
4.2. Quantificação de Sulfato de Salbutamol Utilizando Eletrodo de Carbono Vítreo em Meio Alcalino	54
4.3. Quantificação de Acetaminofen Utilizando Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado por Adsorção de CoTRP	63
4.4. Quantificação de Glicose Utilizando Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado por Polimerização Eletroquímica de NiTRP	72
5. CONCLUSÕES	92
6. EM PERSPECTIVA	98
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103
ANEXOS	114

RESUMO

Sensores eletroquímicos, constituídos de substratos metálicos modificados por metaloporfirinas e de superfícies livres de agentes modificadores, foram desenvolvidos com vistas a aplicações analíticas. Eletrodos de cobre apresentaram ação electrocatalítica para a oxidação de ácido acetilsalicílico, com possível participação de Cu^{III} como mediador na reação de transferência de elétrons. A oxidação de salbutamol sobre eletrodos de carbono vítreo foi conduzida em solução fortemente alcalina, condição na qual a determinação do analito foi viabilizada devido à eliminação de problemas associados à presença de interferentes e ao envenenamento do eletrodo. Superfícies de carbono vítreo, modificadas por adsorção e por eletropolimerização de porfirinas tetrrutenadas de cobalto (CoTRP) e de níquel (NiTRP), respectivamente, demonstraram a versatilidade que tais compostos oferecem quanto ao modo de recobrimento do sensor, levando à obtenção de efeitos atrativos, tais como electrocatálise e prevenção de envenenamento. Filmes de CoTRP, cujos sítios ativos são atribuídos ao par redox $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$, mostraram-se úteis na determinação de acetaminofen, facilitando a reação de transferência de elétrons e protegendo o eletrodo contra o envenenamento. A atividade electrocatalítica de eletrodos modificados por NiTRP, baseados em filmes com centros redox $\text{Ni}^{\text{III}}/\text{Ni}^{\text{II}}$, foi evidente para a oxidação de glicose e de outros compostos orgânicos em meio alcalino. Os sensores desenvolvidos foram adaptados ao sistema BIA (batch injection analysis) para a determinação amperométrica dos analitos em amostras de produtos farmacêuticos. O método BIA mostrou-se adequado para as análises, sendo possível obter sinais transientes de corrente, boa estabilidade e alta dispersão. Os resultados bastante satisfatórios demonstram a aplicabilidade dessa técnica em análises em que alta velocidade e boa precisão são freqüentemente requisitadas.

ABSTRACT

Electrochemical sensors based on bare and modified electrodes were developed for analytical purposes. Copper electrodes exhibited electrocatalytical action for the acetylsalicylic acid oxidation, with the participation of Cu^{III} species as electron-transfer mediators. The salbutamol oxidation at glassy carbon electrodes was carried out in strongly alkaline solution. In such a condition, interferences and electrode fouling were eliminated and the analyte quantification was enabled. Glassy carbon surfaces modified *via* adsorption and electropolymerization of tetraruthenated cobalt (CoTRP) and nickel (NiTRP) porphyrins, respectively, displayed the usefulness of these compounds for the obtainment of electrocatalysis and fouling prevention. Films based on CoTRP, from what Ru^{III} are the active sites, were applicable to acetaminophen analysis by facilitating the electron transfer process and protecting the electrode against fouling. The electrocatalytical activity of modified NiTRP electrodes, based on films with $\text{Ni}^{\text{III}}/\text{Ni}^{\text{II}}$ redox centers, was evident for glucose oxidation and other organic compounds. The sensors were coupled to the BIA (batch injection analysis) system for the amperometric determination of the analytes in pharmaceutical products. BIA was suitable because it presented sharp current response peaks, excellent stability and rapid washing out. The satisfactory results demonstrate the feasibility of such technique for fast analyses with good precision.

INTRODUÇÃO

Segundo a definição de Janata [1], um sensor químico pode ser considerado um dispositivo utilizado para medir a concentração de uma espécie química em uma amostra de interesse. Idealmente, tal sensor deve funcionar de maneira contínua e reversível e realizar a medição diretamente na matriz da amostra, sem preparação prévia. Os que se baseiam em propriedades eletroquímicas são os mais conhecidos, podendo ser classificados em condutométricos, impedimétricos, potenciométricos, voltamétricos e amperométricos. A análise potenciométrica permite a determinação de atividades ou concentrações do analito, sendo que a especificidade é inerente ao material do eletrodo [2]. Já com os amperométricos (ou voltamétricos), além dos citados acima, também é possível a obtenção de parâmetros cinéticos e termodinâmicos dos processos envolvidos [2]. Por outro lado, há alguns fenômenos específicos à utilização destes eletrodos, que podem reduzir sua aplicação analítica. Dentre eles, destacam-se a falta de seletividade em sistemas complexos, o envenenamento da superfície por adsorção de produtos e/ou intermediários da reação eletroquímica e a necessidade de aplicar sobretensões elevadas para garantir a oxidação (redução) de algumas espécies com baixa velocidade de reação. Essas limitações têm estimulado muitos pesquisadores a dedicarem-se a estudos em que eletrodos modificados são utilizados numa busca constante por maior sensibilidade, estabilidade e seletividade. O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM), concebido há quase trinta anos [3], designa eletrodos com espécies quimicamente ativas adequadamente imobilizadas na superfície de tais dispositivos. Tem esse procedimento o objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução. Sendo assim, a reatividade e/ou seletividade do substrato são alteradas, possibilitando o desenvolvimento de sensores para vários fins e aplicações, incluindo eletroanálise, estudos de eletrocatalise, de cinética de transferência de elétrons, de permeação de membranas, síntese eletroorgânica e fotoeletroquímica [4]. A modificação de eletrodos pode ser conduzida seguindo diversos caminhos [4-6]. Dois exemplos a destacar são a adsorção química do modificador sobre a superfície do eletrodo [4] e a eletropolimerização [5]. No primeiro método, a espécie modificadora é dissolvida e a solução resultante, colocada em contato com o eletrodo. O solvente é evaporado, deixando o modificador imobilizado na superfície do material sólido. Já a polimerização eletroquímica pode ser realizada por três diferentes métodos: galvanostático, potenciostático ou por voltametria cíclica. Neste último, o potencial de eletrodo é variado dentro de um intervalo em que o

processo de polimerização ocorre. A eletropolimerização por voltametria cíclica é bastante conveniente, pois oferece a possibilidade de um monitoramento contínuo do processo [7].

Entre os diversos agentes modificadores conhecidos, as metaloporfirinas têm se destacado principalmente por sua capacidade de catalisar várias reações [8], muitas vezes de forma seletiva [9]. Verifica-se que esses compostos também podem conferir estabilidade a eletrodos sólidos, minimizando os problemas de envenenamento superficial [10]. Há mais de uma década, a síntese e caracterização de metaloporfirinas têm sido objeto de estudos intensos no Laboratório de Química Supramolecular e Nanotecnologia - IQUSP [11]. Uma das principais motivações para a preparação dessas porfirinas é o seu emprego como agentes modificadores de eletrodos que, dessa forma, encontram aplicações como sensores eletroquímicos. Neste sentido, o nosso grupo de pesquisa vem se destacando, com intensa colaboração ao longo dos últimos dez anos, no desenvolvimento de eletrodos modificados por metaloporfirinas, visando principalmente à realização de aplicações analíticas [8,10,12-15].

O emprego de detectores eletroquímicos (inclusive os não modificados) em eletroanálise amperométrica e voltamétrica é crescente. Houve um grande desenvolvimento de sensores baseados em materiais eletródicos para sistemas de fluxo. Tais sistemas oferecem respostas voltamétricas rápidas e possibilidade de monitoramento contínuo resultantes das características hidrodinâmicas [16-18]. Se a quantidade de amostra é pequena, métodos baseados em Análise por Injeção em Fluxo (FIA) [19] apresentam-se particularmente eficazes. Uma outra técnica analítica que pode ser usada com sucesso, combinada com sensores químicos, é conhecida por Batch Injection Analysis (BIA) [20]. A implementação dessa técnica é ainda pouco explorada, apesar de se mostrar apropriada para muitas aplicações analíticas [20-25]. BIA se baseia na injeção de pequenos volumes do analito sobre a superfície de um detector posicionado a uma curta distância da ponteira de uma pipeta motorizada destinada a adição do analito. À semelhança do sistema FIA, BIA é uma técnica que gera sinais transientes, sendo a informação analítica comumente baseada nas medidas das alturas de pico. Esse tipo de medição possui muitas características análogas àquelas apresentadas por FIA, tais como rapidez de análise, utilização de volumes pequenos de amostra, simplicidade, repetibilidade e sensibilidade. Além disso, como vantagem sobre FIA, descarta a necessidade do uso de válvulas, bombas e tubos de conexão. O conhecimento dessas características nos encorajou a fazer um levantamento bibliográfico, que resultou na confecção de um artigo de revisão [26] sobre todos os estudos envolvendo o emprego de BIA, até aqui publicados. Em nosso

laboratório, a combinação desta técnica com sensores eletroquímicos para a quantificação de diversos analitos de interesse vem sendo implementada com sucesso [15,23,27,28]. No presente trabalho, relatam-se estudos em que sensores amperométricos têm sido desenvolvidos para aplicações analíticas, quando associados a BIA. Neste sentido, fez-se uso de eletrodos modificados por porfirinas tetrarrutenadas de cobalto (quimicamente adsorvida) e de níquel (eletropolimerizada), bem como de detectores eletroquímicos livres de agentes modificadores, em estudos envolvendo a determinação de diferentes fármacos, tais como acetaminofen, ácido acetilsalicílico, salbutamol e glicose.

Justificativa e objetivos

Diversas áreas de atuação têm se beneficiado com os avanços tecnológicos já alcançados na área dos eletrodos quimicamente modificados. Esses sensores encontram considerável aplicação nas indústrias de alimentos [29] e bioprocessos, onde o monitoramento em tempo real é de grande valia. Na área de meio ambiente [30], as indústrias e os órgãos de vigilância ambiental necessitam de sensores para análise de muitos rejeitos industriais. Outro campo de atuação a citar é o da saúde pública [31], onde a detecção de drogas pode ser realizada *in vivo* em casos de emergência. Hospitais e laboratórios de análise [32,33] manifestam a necessidade do uso de sensores com alta sensibilidade, especificidade e rápida detecção. Sob a óptica da Química Analítica, o uso de EQMs se justifica quando a sensibilidade e/ou a seletividade de determinação são aumentadas e efeitos de envenenamento eliminados. Tais requisitos podem ser alcançados mediante exclusão de interferentes, pré-concentração e eletrocatalise. De um modo geral, a pré-concentração e a eletrocatalise de uma espécie de interesse levam a sensibilidades mais altas. Com a aplicação de um desses dois fenômenos, um inerente aumento da seletividade é alcançado.

A facilidade de adaptação de EQMs a métodos de Análise por Injeção em Fluxo (FIA) tem resultado no desenvolvimento de sistemas com alta frequência analítica. Batch Injection Analysis (BIA) representa um caminho alternativo e mais simples para a realização de análises rápidas e vem sendo implementada com excelentes resultados.

A proposta deste trabalho é dar contribuições à área do desenvolvimento de sensores eletroquímicos. As atividades de pesquisa realizadas, sobre as quais se discorre ao longo do presente texto, são baseadas na construção de sensores amperométricos com propostas analíticas para a determinação de alguns fármacos,

tais como acetaminofen, ácido acetilsalicílico, salbutamol e glicose. Fez-se uso de eletrodos modificados por porfirinas tetrarrutenadas de cobalto (quimicamente adsorvida) e de níquel (eletropolimerizada), bem como de sensores livres de agentes modificadores. Tais dispositivos foram construídos para adaptação a sistema BIA com detecção amperométrica, com o objetivo principal de difundir esta técnica, que se apresenta como uma ferramenta prática e útil em eletroanálise. Apesar de menos versátil do que FIA, BIA é mais simples e atraente, considerando entre outras vantagens, a possibilidade da criação de instrumentos portáteis, especialmente aqueles utilizados em análises *in loco*. Vale ressaltar que o estudo de supermoléculas constituídas por porfirinas e metais de transição como agentes modificadores tem revelado um comportamento singular desses compostos, quando utilizados para este fim. Destaque deve ser dado às excepcionais possibilidades criadas com a rota de eletropolimerização. O processo de preparação de eletrodos modificados por polimerização eletroquímica de porfirinas tetrarrutenadas abre múltiplas perspectivas, tanto de estudos de caráter mais fundamental como de novas aplicações a serem exploradas.

1. TEORIA

1.1. TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS

A eletroquímica moderna tem sido empregada como uma ferramenta poderosa para estudar processos tecnológicos em uma variedade de campos de pesquisa, incluindo biotecnologia, eletrônica e ciência dos materiais. Dos muitos métodos eletroquímicos disponíveis, a voltametria, nas suas diversas formas, é talvez a técnica mais versátil e efetiva para estudar sistemas redoxes, além de ser bastante útil em eletroanálise.

1.1.1. Voltametria cíclica

Dentre os métodos conhecidos para estudar os processos de eletrodo, os de varredura de potencial são provavelmente os mais usados [2,34-37]. A voltametria cíclica mostra-se particularmente eficiente quando se deseja conhecer a eletroatividade de compostos (especialmente moléculas biológicas), investigar reações químicas acopladas e estudar superfícies de eletrodos. A técnica também fornece informações a respeito da reversibilidade de um sistema. A reversibilidade eletroquímica está associada à troca rápida de elétrons entre as espécies redoxes e o eletrodo. Além disso, a voltametria cíclica é considerada uma importante técnica eletroquímica usada em Química Eletroanalítica.

Normalmente, utiliza-se uma célula convencional composta por um sistema de três eletrodos: um de trabalho (ET), um de referência (ER) e um auxiliar (EA), imersos em solução mantida em condição estacionária. O eletrodo mais importante, onde ocorre a reação de interesse, é o de trabalho, e pode ser composto de diferentes materiais, tais como carbono, ouro, prata, cobre, platina, níquel, paládio, etc. Os parâmetros experimentais são controlados por um potenciostato. Basicamente, o método consiste em aplicar ao eletrodo de trabalho um potencial que varia continuamente com o tempo, levando à ocorrência de reações de oxidação e/ou de redução de espécies eletroativas na solução (reações faradaicas) e à produção de uma corrente capacitiva, resultante do carregamento da dupla camada elétrica. A corrente necessária para sustentar a reação provém do eletrodo auxiliar. A função do eletrodo de referência é permitir o monitoramento do potencial do eletrodo de trabalho. Dessa forma, o potencial do ER (que deve ser fixo) não pode sofrer alterações resultantes do fluxo de correntes significativas através dele. Isto é evitado pelo uso de

potenciostatos modernos, que proporcionam grande impedância faradaica com relação ao eletrodo de referência. Se a presença de oxigênio na célula eletroquímica vem a ser um problema, pode-se efetuar borbulhamento com um gás inerte (nitrogênio ou argônio) para remoção antes dos experimentos.

No esquema básico, o potencial é linearmente variado com o tempo, partindo de um valor inicial, até atingir um potencial final. Neste ponto, a varredura é invertida até atingir novamente o potencial de partida. O resultado é um registro de corrente em função do potencial aplicado, comumente denominado voltamograma cíclico. No perfil voltamétrico corrente-potencial, os processos de oxidação e de redução ocorrendo no eletrodo de trabalho são representados por correntes de pico anódica ($I_{p,a}$) e catódica ($I_{p,c}$). Outros parâmetros importantes considerados em voltametria cíclica são os potenciais de pico anódico ($E_{p,a}$) e catódico ($E_{p,c}$). A definição desses parâmetros é mostrada na Tabela 1. Na Figura 1, é representado esquematicamente um experimento de voltametria cíclica.

Tabela 1. Parâmetros importantes considerados em voltametria cíclica.

Termo	Definição
$E_{p,a}$	Potencial de pico anódico. Potencial no qual a corrente anódica apresenta seu mais alto valor.
$I_{p,a}$	Corrente de pico anódica. O mais alto valor da corrente anódica.
$E_{p,c}$	Potencial de pico catódico. Potencial no qual a corrente catódica apresenta seu mais alto valor.
$I_{p,c}$	Corrente de pico catódica. O mais alto valor da corrente catódica.

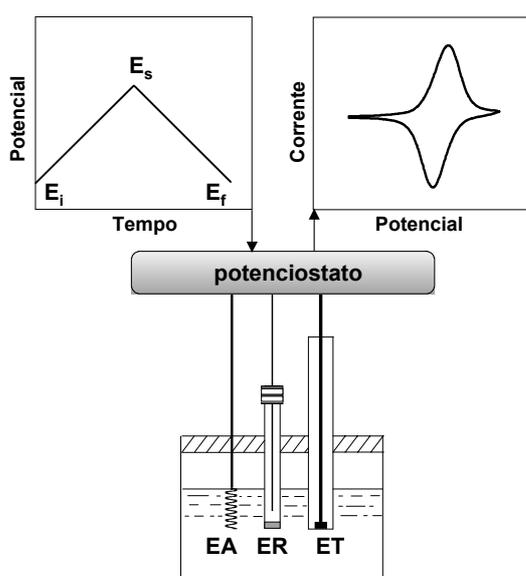


Figura 1. Representação esquemática de um experimento de voltametria cíclica. E_i : potencial inicial; E_f : potencial final, E_s : potencial de inversão; ET: eletrodo de trabalho; ER: eletrodo de referência; EA: eletrodo auxiliar.

Várias outras informações importantes podem ser obtidas com o auxílio da voltametria cíclica, com destaque para estudos de espécies redoxes difundindo livremente em solução, bem como de espécies imobilizadas sobre a superfície de eletrodos. Por outro lado, seu emprego em eletroanálise torna-se limitado quando se deseja quantificar baixas concentrações de analito. Isto é principalmente devido ao fato de que, durante a varredura de potencial, ao sinal faradaico soma-se a componente capacitiva, que se torna significativa em relação às baixas correntes geradas pelo processo faradaico.

1.1.2. Amperometria

Uma outra técnica voltamétrica bastante utilizada para estudar reações de eletrodo e suas velocidades é a amperometria. Neste sentido, esta técnica é normalmente empregada para complementar a voltametria cíclica na análise de mecanismos eletroquímicos. A amperometria se baseia na aplicação de um único degrau de potencial (Figura 2A), produzindo-se uma corrente que decai rapidamente com o tempo (Figura 2B).

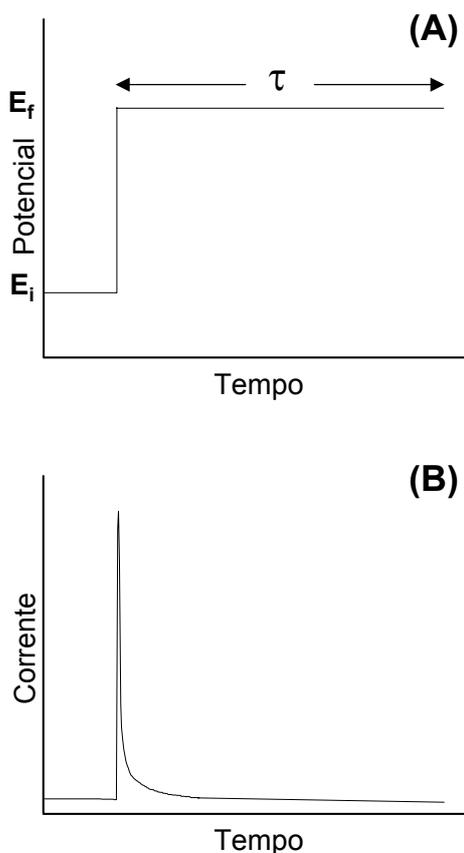


Figura 2. (A) Perturbação aplicada e (B) resposta de corrente para um experimento de degrau único de potencial.

A amperometria também é muito utilizada em eletroanálise, principalmente em aplicações envolvendo titulações amperométricas, sensores amperométricos e medições em fluxo. Quando associada a métodos de análise com alta velocidade, tais como FIA e BIA, esta técnica torna-se a mais atraente em eletroanalítica. Neste caso, as medidas são baseadas em picos de corrente em função do tempo, obtidas pela aplicação de um potencial constante ao eletrodo de trabalho. A diferença entre os sinais (corrente) produzidos pelo analito e pelo eletrólito suporte é a medida de interesse, e deve ser proporcional à concentração do analito. A corrente causada pelo eletrólito suporte apresenta valor muito baixo, provindo de pequenas quantidades de impurezas. Para este tipo de trabalho, estudos prévios envolvendo técnicas de varredura de potencial são necessários a fim de selecionar o potencial de oxidação (ou redução) adequado à análise.

Uma grande vantagem da amperometria é que, sendo uma técnica conduzida a potencial constante, a corrente residual obtida apresenta valores muito baixos. Uma vez que o potencial do eletrodo é mantido em um único valor fixo, a corrente capacitiva (resultante do carregamento da dupla camada elétrica do eletrodo) torna-se constante, virtualmente igual a zero. Isso confere à técnica maior sensibilidade, em relação à voltametria baseada na varredura de potenciais. Normalmente, aconselha-se utilizar uma concentração relativamente alta de eletrólito inerte, que deverá ser igual no carregador (FIA), ou no interior da célula BIA, e na amostra a ser analisada. Com isso, a mesma força iônica é mantida, minimizando variações na região da dupla camada elétrica e garantindo que o sinal transiente registrado possa ser atribuído ao processo faradaico.

Uma das limitações desta técnica é a baixa seletividade. Se a análise é realizada em potenciais extremos (positivos ou negativos), promove-se a oxidação ou a redução de todas as espécies que são eletroativas em potenciais abaixo do valor estabelecido. Portanto, é aconselhável empregar valores mínimos de potencial.

1.2. BATCH INJECTION ANALYSIS (BIA)

A demanda crescente por análises rápidas de um grande número de amostras tem resultado no desenvolvimento de sistemas de análise com alta velocidade e boa precisão. Métodos baseados em análise por injeção em fluxo (FIA) ou em fluxo contínuo têm sido particularmente populares para essa tarefa [38-40].

Batch injection analysis (BIA), uma técnica mais recente, introduzida por Wang e Taha [20] no início da década de 90, representa um caminho alternativo para a realização de análises rápidas. Nesta técnica, volumes pequenos do analito são

injetados, com o auxílio de uma micropipeta, diretamente sobre um detector imerso em um grande volume de solução inerte. A passagem do analito sobre a superfície do sensor resulta em sinais transientes semelhantes aos obtidos em FIA. Esse tipo de medição possui muitas características análogas às apresentadas por FIA, tais como rapidez, volumes pequenos de amostras, simplicidade, repetibilidade e sensibilidade. Além disso, como vantagem sobre FIA, descarta a necessidade do uso de válvulas, bombas e tubos de conexão.

O primeiro sistema proposto por Wang e Taha [20], utilizado para explicar os conceitos de BIA, era associado a amperometria. Tal sistema (esquemático na Figura 3) consiste em uma célula eletroquímica construída em acrílico. O eletrodo de trabalho (A) é invertido de sua posição usual, sendo fixado através de um orifício aberto na base da célula. Uma micropipeta (B) é acomodada em outro orifício localizado na tampa da célula, em oposição ao eletrodo de trabalho. Em duas outras aberturas feitas na tampa da célula, são ajustados os eletrodos de referência (C) e auxiliar (D). Um quarto orifício (E) é usado para introduzir o eletrólito suporte, que é mantido sob agitação (F). Um dreno (G) foi adaptado próximo à base da célula.

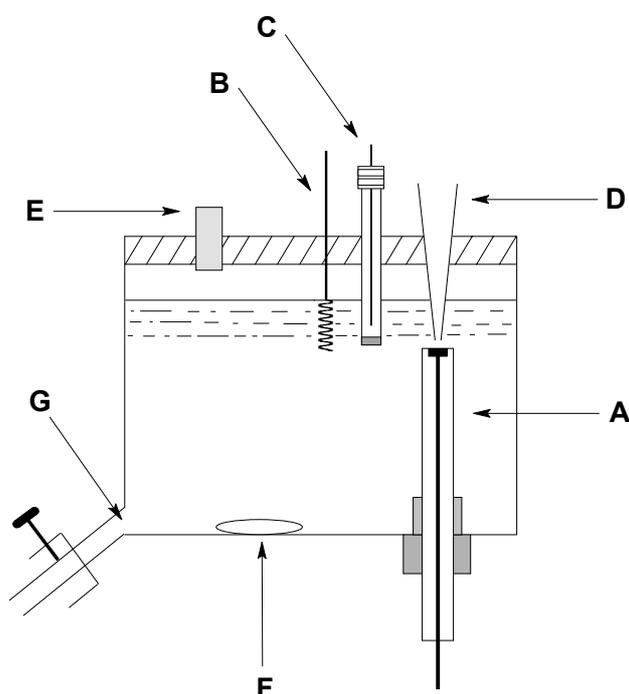


Figura 3. Diagrama esquemático da primeira célula BIA [20]: (A) eletrodo de trabalho; (B) eletrodo auxiliar; (C) eletrodo de referência; (D) ponteira da micropipeta; (E) orifício para preenchimento da célula; (F) barra de agitação; (G) dreno.

Os conceitos envolvidos em BIA podem ser explicados usando um sistema como aquele exibido na Figura 3. Quando a amostra (em volumes da ordem de microlitros) é injetada, forma uma zona que dispersa a caminho do detector, com

transporte reprodutível e dispersão controlada em tempo e espaço. A resposta tem forma de pico transiente, seguido de uma rápida queda do sinal até a linha de base. O decréscimo instantâneo é devido ao efeito “washing out” da configuração wall-jet [41] (Figura 4). A magnitude desse sinal é proporcional à concentração da amostra.

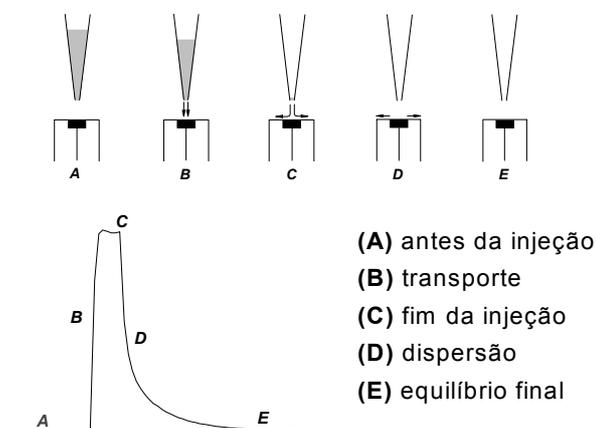


Figura 4. *Etapas na operação BIA [26].*

O sucesso de BIA tem sido atribuído à combinação de dois fatores: o princípio hidrodinâmico da superfície wall-jet e a alta diluição da amostra. As primeiras células desenvolvidas para esse tipo de operação possuíam capacidade para volumes grandes de solução inerte (250-700 mL), assegurando, dessa forma, alta diluição das amostras injetadas em microlitros. No entanto, tem sido demonstrado que os experimentos BIA com detecção amperométrica podem ser conduzidos com sucesso em células pequenas, nas quais o efeito de memória devido ao acúmulo do analito não é observado [42]. Isso foi atribuído a hidrodinâmica singular do sensor wall-jet, eliminando a necessidade de uma alta diluição. Esse aspecto foi anteriormente abordado por Gunasinghan [43,44], que demonstrou que para configurações wall-jet, o volume efetivo da célula é determinado basicamente pelo tamanho do sensor, o diâmetro do jato, a viscosidade e a vazão da solução transportada, mas não pelo volume da célula. As células de volume pequeno mantêm as características atraentes daquelas de grandes volumes, tais como alta frequência de análise, precisão e simplicidade.

Também tem sido demonstrado para sistemas BIA que a magnitude do sinal de corrente não é significativamente influenciada pela agitação da solução, pelo menos nas condições usuais. Esse parâmetro só mostra algum efeito sobre a dispersão da amostra. No entanto, mesmo com agitação ausente, um rápido decréscimo da corrente pode ser observado. O volume da célula BIA tem sido reduzido a poucos mililitros [15,27,28,42,45], ou mesmo a centenas de microlitros [46]. No presente trabalho, a célula empregada apresenta capacidade para 40 mL de eletrólito suporte,

sendo todas as determinações realizadas sem agitação. A repetibilidade das medidas pode ser considerada muito boa, com desvios padrões relativos variando entre 0,37% e 1,80%. Mesmo após várias injeções, nenhuma variação significativa na linha de base é observada. Para explicar esse paradoxo, é necessário comparar as diferenças entre o transporte forçado da solução injetada e a difusão do analito no interior da célula. Em soluções quiescentes, os coeficientes de difusão de analitos comuns são da ordem de 10^{-5} - 10^{-6} $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$. Considerando as injeções feitas com uma micropipeta motorizada (diâmetro da ponteira igual a 0,4 mm), a velocidade linear da solução é maior que 60 cm s^{-1} . Isso corresponde a uma diferença grande no transporte de massa e explica porque o sinal diminui tão rapidamente (a injeção da solução leva apenas alguns segundos). Após o fim da injeção, o transporte mecânico diminui bruscamente e o processo difusional se torna o principal responsável pelo transporte. Essa enorme diferença de transporte de massa explica porque a linha de base permanece quase inalterada. O uso de células BIA de volumes reduzidos é vantajoso porque evita desperdício de reagentes e diminui a quantidade de efluentes. Além disso, apresenta a possibilidade de desenvolver instrumentos portáteis miniaturizados.

As potencialidades, bem como os conceitos e princípios do método, têm sido explorados e ilustrados, considerando a associação de BIA com diferentes técnicas (espectrofotometria, calorimetria, fluorescência, amperometria, potenciometria e voltametria). Alguns parâmetros que influenciam a resposta foram discutidos e descritos na literatura. Várias configurações BIA com detecção amperométrica têm sido propostas, utilizando diferentes tipos de detectores. Geralmente, para esses sistemas, o diagrama do sinal de corrente em função da distância eletrodo-ponteira apresenta um aspecto típico não linear. Para distâncias muito curtas, a corrente é pequena e, então, aumenta até aproximadamente 2 mm. Acima deste valor, o sinal de corrente volta a diminuir. Tal fenômeno pode ser explicado de forma semelhante a da hidrodinâmica wall-jet [47]: efeitos de retorno (fluxo reverso) são atribuídos ao emprego de distâncias muito pequenas, uma vez que o perfil wall-jet não pode ser seguido nessa condição. Em distâncias grandes, ocorre um aumento da dispersão da zona de amostra.

Um transiente de corrente BIA típico tem uma resposta constante durante um curto período de tempo, no máximo de corrente (ver Figura 4). Isto reflete a sensibilidade máxima sendo atingida, para qual há um volume mínimo de injeção requerido. Esse volume mínimo pode ser conhecido analisando os gráficos do máximo de corrente em função do volume injetado. De acordo com Brett *et al.* [47], os diagramas do intervalo de tempo (que corresponde ao patamar de corrente) em função do volume injetado são muito mais ilustrativos, fornecendo linhas retas com

intersecções que correspondem ao volume mínimo necessário para atingir o patamar de corrente e, dessa forma, atingir a sensibilidade máxima.

Um outro parâmetro a ser considerado é a vazão, v_f , que é disponível em três diferentes valores em micropipetas eletrônicas motorizadas programáveis. Para detectores wall-jet, v_f é a velocidade de fluxo da solução. Uma relação linear entre $v_f^{3/4}$ e a corrente limite ($I_{L,D}$) é predita pela seguinte equação [48,49]:

$$I_{L,D} = 1,43nFR_1^{3/4}v_f^{3/4}D^{2/3}\nu^{-5/12}a^{-1/2}c_\infty \quad (1)$$

onde R_1 é o raio do eletrodo de disco, D o coeficiente de difusão das espécies eletroativas, c_∞ a concentração dessas espécies no seio da solução, ν a viscosidade da solução e a o diâmetro do jato. Os parâmetros n e F apresentam seus significados usuais. Em BIA, o patamar de corrente, I_{max} , deve ser igual a $I_{L,D}$ quando o potencial aplicado ao eletrodo está na região de corrente limite. Sendo assim, I_{max} deve apresentar uma relação linear com $v_f^{3/4}$ [47,50]. No entanto a relação na equação 1 é verificada somente na mais alta das três vazões da micropipeta. Quer dizer, uma boa correlação entre a corrente limite experimental e aquela da equação 1 somente é estabelecida na vazão mais alta. Isso pode ser atribuído à contribuição da difusão radial ao transporte de massa total quando vazões baixas são usadas. Efeitos da difusão radial tendem a aumentar a corrente medida, e a difusão radial na equação 1 é desprezada na dedução da corrente limite. A difusão radial não contribui para a corrente total medida se a vazão mais alta é empregada. Dessa forma, a vazão mais alta deve ser utilizada se for desejável aplicar a equação da corrente limite de detectores wall-jet a resultados BIA [47].

Uma outra característica singular da operação BIA/amperometria consiste na possibilidade do uso de soluções de amostras livres de eletrólito suporte [44,47,51]. Nessa operação, a amostra é injetada direta e rapidamente na célula, criando uma zona fina sobre o eletrodo. Neste caso, o uso de eletrólito suporte em concentrações relativamente altas no interior da célula ajuda a garantir uma queda ôhmica desprezível entre os eletrodos de trabalho e referência [47]. Isso mostra que BIA apresenta um grande potencial para análises de amostras reais em que a pré-adição de eletrólito torna-se supérflua ou, ainda, para análises em meios de alta resistência (não-aquosos), como foi descrito para células wall-jet [43,44]. Todavia, é importante ter em mente que, em casos não favoráveis, a variação na dupla camada elétrica pode gerar diferenças significativas nos sinais e uma queda ôhmica alta pode deslocar consideravelmente o potencial em que a reação redox de interesse ocorre.

Os conceitos e potencialidades de BIA são estendidos quando ela é combinada com outras técnicas para propostas analíticas. A associação de BIA com espectrofotometria, calorimetria, fluorescência, amperometria, potenciometria e

voltametria, bem como a discussão dos aspectos importantes relacionados a cada técnica, poderão ser consultadas em maiores detalhes num artigo de revisão, recentemente aceito para publicação [26].

1.2.1. Uma breve comparação entre BIA e FIA

Os sistemas baseados em análise por injeção em fluxo (FIA) surgiram na década de 70 e até agora são amplamente utilizados em muitos laboratórios de pesquisa. BIA permanece em sua “infância” e as suas vantagens são, atualmente, exploradas por um número limitado de pesquisadores.

Comparando o desempenho característico dessas duas técnicas, há muitos aspectos com boa equivalência, tais como possibilidade de trabalhar com volumes pequenos de amostra, alta frequência de análise, elevada sensibilidade, baixos limites de detecção, transporte reprodutível e baixo custo. O sistema BIA, por sua vez, apresenta algumas limitações em relação a FIA, principalmente quando é inevitável a manipulação de soluções e quando tal operação requer elevada versatilidade do sistema de detecção. Em BIA, a manipulação de soluções só é possível se reações rápidas estão envolvidas (por exemplo, reações ácido-base ou enzimáticas), uma vez que a distância injetor-detector é muito curta. Essa operação pode ser feita com o reagente presente no interior da célula BIA [20]. Por outro lado, o problema pode ser contornado se for possível a escolha de sensores específicos à reação de interesse [20]. Dentre as vantagens adicionais que podem ser citadas, destacam-se a minimização da “lixiviação” de alguns eletrodos modificados, devido à ausência de soluções carregadoras em fluxo contínuo, e o curto tempo de contato entre a amostra e o eletrodo, o que reduz a tendência a envenenar a superfície do sensor durante análises de matrizes complexas.

1.3. SENSORES ELETROQUÍMICOS

O controle da reatividade na interface eletrodo/solução, sendo um dos objetivos básicos do eletroquímico, apresenta fortes efeitos nas áreas de eletrocatalise, eletroanálise e corrosão, entre outras. Para propostas analíticas, sensores obtidos a partir de diversos substratos metálicos são aplicados na determinação de várias substâncias de interesse. Materiais de eletrodo, tais como platina [52-55], ouro [55-61], níquel [62-68], cobre [27,69-76], prata [77,78] e cobalto [79] apresentam-se úteis para a detecção de diversos analitos. Esses sistemas diferem substancialmente em muitas considerações fundamentais. O mecanismo de ação, a seletividade, a natureza do

eletrólito e as condições instrumentais requeridas para uma operação ótima são algumas delas. Os eletrodos baseados em metais nobres, como platina e ouro, têm sido amplamente utilizados na detecção de substâncias orgânicas. Esses compostos tendem a adsorver-se sobre a superfície dos dispositivos, sofrendo conseqüentes reações anódicas em potenciais baixos. No entanto, esse mesmo fenômeno de adsorção pode também representar um dos maiores problemas associados ao uso de eletrodos de platina e ouro: o acúmulo dos produtos de oxidação leva à passivação do eletrodo, com conseqüente decréscimo na resposta analítica. Para evitar esse tipo de problema, muitos pesquisadores sugerem a aplicação de pulsos de potenciais “extremos” (positivos ou negativos), de maneira a eliminar o material indesejável da superfície do eletrodo.

Uma das variáveis mais vantajosas utilizadas para controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução é o potencial aplicado. No entanto, tal operação permite somente variações modestas e, geralmente, apresenta baixa seletividade. Dessa forma, muitos pesquisadores dedicam-se a estudos envolvendo a modificação deliberada da superfície de eletrodos, como um meio de impor e controlar suas propriedades. Em outras palavras, essa modificação é feita com o objetivo de transferir as propriedades químicas e físico-químicas do agente modificador para a superfície do substrato, de tal modo que seja possível obter um comportamento previamente planejado do conjunto eletrodo-reagente. A construção de interfaces eletroquímicas com sistemas organizados de forma racional pode levar a obtenção de reatividade e seletividade desejadas para aplicações de interesse.

1.3.1. Eletrodos modificados

A modificação da superfície de um sensor base pode ser conduzida com vistas à diferentes propostas, a saber:

- (i) alterar as propriedades de transporte para a superfície do eletrodo (barreira para excluir interferentes);
- (ii) forçar reações na superfície do eletrodo (por exemplo, reações de pré-concentração, empregando propriedades de ligantes e reações enzimáticas);
- (iii) melhorar a transferência de elétrons, por exemplo, por eletrocatalise.

Uma variedade de métodos vem sendo empregada na modificação de superfícies de eletrodos [4-6]. Uma rápida abordagem sobre os métodos de preparação mais comuns é apresentada a seguir:

Adsorção

A adsorção representa a maneira mais antiga e mais simples de se modificar a superfície de um substrato metálico. O método se baseia na dissolução do agente modificador em um solvente apropriado e na exposição do eletrodo a esta solução, seja por imersão ou por transferência de um volume conhecido para a superfície a ser modificada. O agente modificador fixa-se sobre o substrato após evaporação do solvente. Ainda que os primeiros estudos tenham sido realizados empregando superfícies de platina [80,81], eletrodos de carbono vítreo e de grafite ainda são a preferência da maioria dos pesquisadores para esse tipo de operação. Eletrodos de carbono apresentam uma capacidade particular de quimissorver reagentes que possuem sistemas de elétrons π estendidos, como por exemplo, compostos orgânicos aromáticos. Esta adsorção é devida à forte interação entre o plano basal do eletrodo de carbono e o sistema de elétrons π da molécula aromática.

Embora simples e, em muitos casos, eficiente, o método possui a desvantagem de que o processo de dessorção do modificador possa ocorrer durante a utilização do sensor, comprometendo a sua durabilidade e a reprodutibilidade das medidas.

Ligação covalente

Uma ligação covalente entre o agente modificador e grupos funcionais presentes na superfície de um substrato metálico representa uma outra forma de obter eletrodos quimicamente modificados. São empregadas, por exemplo, reações de silanização, envolvendo organossilanos e óxidos presentes na superfície do eletrodo. Os eletrodos de óxidos como SnO_2 , RuO_2 e TiO_2 apresentam hidroxilas superficiais que podem ser utilizadas para ancorar substâncias por esta rota sintética. Porém, quando oxidadas em meio ácido, muitas superfícies metálicas (como platina e ouro) podem ser recobertas por uma fina camada de óxido, bastante reativa a silanos. Desta forma, após silanização, o eletrodo metálico pode sofrer reação posterior com outra molécula, levando à fixação do grupo funcional desejado, por ligação covalente.

Superfícies de carbono também podem ser ligadas covalentemente a reagentes, uma vez que apresentam grupos funcionais contendo oxigênio (álcoois, ácidos carboxílicos, cetonas e anidridos), resultantes da reação de oxigenação de átomos de carbono do plano vertical, contendo ligações incompletas. A modificação de eletrodos à base de carbono é fundamentada na manipulação da reatividade desses grupos funcionais oxigenados, frente a reagentes como organossilanos, cloreto de tionila e aminas, entre outros. Outro modo de se ligar moléculas a superfícies de carbono

consiste em retirar os grupos funcionais oxigenados por meio de “decapagem” por plasma de argônio (*argon plasma etching*), abrasão mecânica ou clivagem. A superfície do carbono exposta torna-se extremamente reativa e pode se ligar covalentemente a várias moléculas.

Os eletrodos modificados *via* ligação covalente são bastante estáveis em relação aos obtidos pelos demais métodos. Porém, esse método consome tempos mais longos para sua realização e é mais difícil de executar. É amplamente empregado na área de imobilização de enzimas.

Filmes poliméricos

A imobilização de espécies moleculares sobre eletrodos através da adsorção ou da ligação covalente direta pode levar ao recobrimento por até uma monocamada ou, no máximo, poucas camadas. Dessa forma, o recobrimento com filmes poliméricos é mais atraente por permitir a imobilização de muitas camadas (1 a 20000) da espécie ativa, o que resulta na ampliação da resposta eletroquímica. Dependendo da aplicação desejada, polímeros eletroativos (se o objetivo é uma eletrocatalise), quimicamente ativos (propriedades ligante ou de troca-iônica para pré-concentração) ou inertes (apenas exclusão de interferentes) podem ser explorados. Os filmes eletroativos se subdividem em duas categorias principais, dependendo de como o centro redox é imobilizado: polímeros redox e polímeros de troca-iônica. No primeiro caso, o centro redox é parte do esqueleto polimérico. Esse tipo de polímero possui sítios que podem ser oxidados ou reduzidos por uma sucessão de transferências eletrônicas de auto-troca entre os sítios vizinhos. Já os polímeros de troca-iônica são assim chamados porque o componente redox ativo é um contra-íon de um filme poli-iônico. Por exemplo, filmes de polivinilpiridina protonada podem ser utilizados para incorporar espécies aniônicas. Um material trocador iônico amplamente utilizado é o Nafion[®] (marca registrada da DuPont), cujos prótons sulfônicos podem ser facilmente trocados por cátions eletroativos.

Os polímeros podem ser aplicados sobre a superfície de eletrodos por simples adsorção ou por evaporação de sua solução preparada com um solvente volátil. Pode-se promover a polimerização por meio de métodos não eletroquímicos, como por exemplo: polimerização ativada por plasma, foto-induzida por radiação ultravioleta ou, ainda, polimerização de organossilanos. Um método bastante empregado é o da eletropolimerização que, através da oxidação ou redução do monômero, promove a polimerização diretamente sobre o eletrodo. Filmes bastante reprodutíveis são facilmente obtidos por eletropolimerização, uma vez que este método permite o

controle e o monitoramento das variáveis eletroquímicas de potencial, corrente e carga. Sendo assim, a polimerização eletroquímica constitui-se em um dos melhores métodos para a preparação de eletrodos quimicamente modificados.

Outros métodos

Um dos métodos ainda muito utilizados se baseia na modificação de eletrodos à base de carbono em pó (pasta de carbono, grafite-epóxi, pastilhas, etc) mediante mistura do agente modificador com o substrato do eletrodo (grafite, negro de carbono, etc). Quando possível, a mistura do carbono em pó com a solução do modificador é feita para obter uma distribuição mais homogênea do último, após evaporação do solvente. Em ambos os casos, também pode ocorrer perda gradual do modificador para o meio, prejudicando a reprodutibilidade.

As argilas, as zeólitas e os óxidos e hidróxidos metálicos também servem para imobilizar espécies eletroativas em eletrodos, em virtude de suas estruturas tridimensionais definidas, que podem conter poros, canais e lamelas. Eletrodos de partículas metálicas dispersas em filme polimérico são estudados por apresentar atividade catalítica muito promissora.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. PORFIRINAS EM QUÍMICA ELETROANALÍTICA

As porfirinas constituem uma classe de compostos macrocíclicos encontrados na natureza e que apresentam um papel muito importante no metabolismo de organismos vivos. São sítios ativos de numerosas proteínas, cujas funções compreendem transporte e armazenamento de oxigênio (hemoglobina, mioglobina), transporte de elétrons (citocromo c, citocromo oxidase) e conversão de energia (clorofila). A Figura 5 apresenta a estrutura de um anel porfirínico básico. Uma característica a destacar é a facilidade com que formam quelatos com íons metálicos. O núcleo porfirínico é um ligante tetradentado, cujo espaço disponível para um metal coordenado tem um diâmetro máximo de 3,7 angstroms, aproximadamente [82]. Os complexos porfirínicos com íons de metais de transição são muito estáveis e vários deles têm sido amplamente estudados para um melhor entendimento da formação biossintética e atividade biológica de compostos naturais.

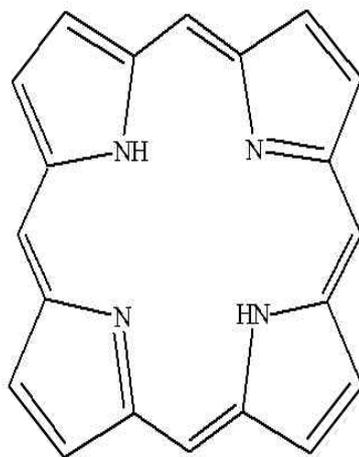


Figura 5. Estrutura do anel básico da porfirina.

A coordenação de complexos de íons de metais de transição aos átomos de nitrogênio piridínicos de *meso*-tetrapiridilporfirinas (Figura 6) altera as propriedades espectroscópicas, eletroquímicas e de reatividade, além de provocar alterações na solubilidade e nas interações intermoleculares [11]. A coordenação de grupos $[Ru(bipy)_2Cl]^+$ (*bipy* = 2,2'-bipiridina) torna as supermoléculas resultantes solúveis em vários solventes [83-85], inclusive água, dependendo do contra-íon utilizado. Além disso, filmes moleculares bastante homogêneos são formados quando soluções metanólicas são dispersas e evaporadas ao ar [8,12,85,86], podendo o método ser utilizado para a obtenção de eletrodos quimicamente modificados por porfirinas.

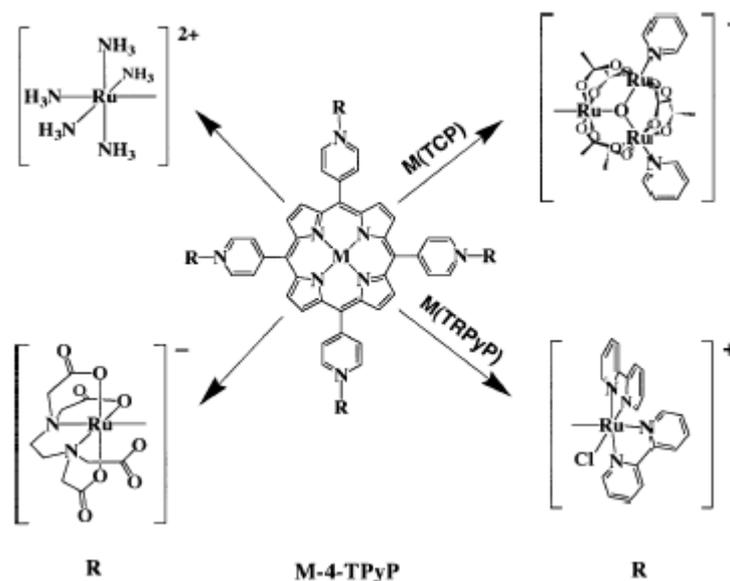


Figura 6. Esquema mostrando as estruturas das porfirinas supermoleculares obtidas pela coordenação de quatro grupos, $[Ru(bipy)_2Cl]^+$, $M(TRPyP)$; $[Ru_3O(CH_3COO)_6(py)_2]^+$, $M(TCP)$; $[Ru(edta)]^-$ e $[Ru(NH_3)_5]^{2+}$ a meso-tetra(4-piridil)porfirina, onde $M = 2H^+$, Zn^{2+} , Mn^{3+} ou Co^{3+} [11].

Os filmes moleculares de $[MTPyP\{Ru(bipy)_2Cl\}_4]^{n+}$ (ou $M(TRPyP)$, μ -{meso-tetra(piridil)porfirinato}-tetrakis{bis(bipiridina)(cloro)rutênio}) são suficientemente homogêneos e compactos para impedir a penetração de espécies, tais como $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$, $[Ru(edta)(H_2O)]^{-2-}$, ácido ascórbico e NADH, que não conseguem difundir até a interface filme/eletrodo [86]. Conseqüentemente, o filme atua como mediador do processo de transferência de elétrons, permitindo ou não a passagem de corrente, dependendo da espécie redox presente. Adicionalmente, o eletrodo modificado comporta-se como um diodo, permitindo a passagem de elétrons apenas em uma direção. Tais eletrodos apresentam-se eletrocataliticamente ativos para a oxidação de alguns analitos redutores e foram explorados como sensores amperométricos de nitrito, sulfito, NADH, dopamina, ácido ascórbico e fenol [8,10,12-14]. Nesses estudos, também ficou evidente que o filme molecular de porfirinas polinucleares também minimiza os problemas associados ao envenenamento da superfície do eletrodo. Um material (Figura 7) constituído por camadas alternadas das porfirinas pentacatiônica $M(TRPyP)$ e tetraaniônica meso-tetra-(4-sulfonatofenil)porfirina, $M(TPPS)$, foi desenvolvido para minimizar a solubilização dos filmes porfirínicos. Esse material pode ser obtido por automontagem eletrostática na forma de filmes finos, com controle de espessura em nível molecular [87]. Além disso, o método permite a preparação de filmes de composição variável na direção perpendicular à superfície do substrato.

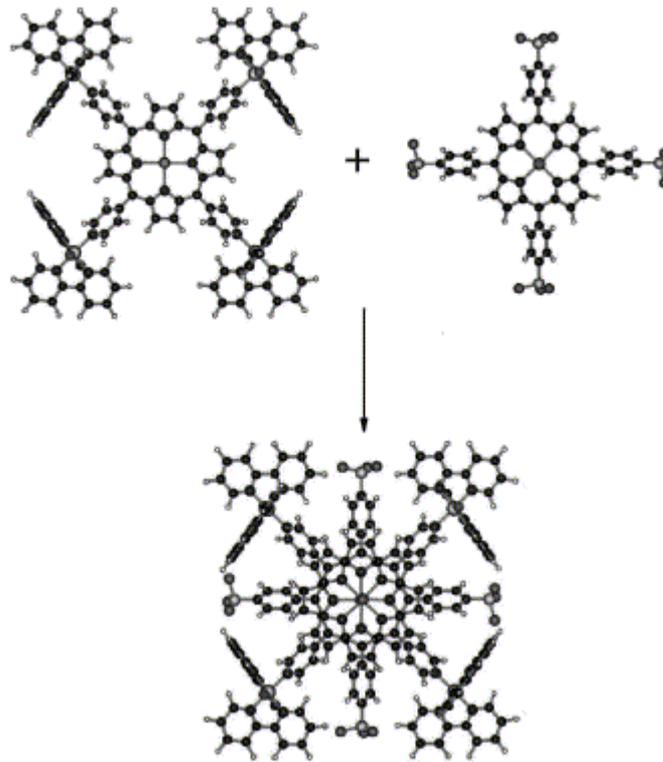


Figura 7. Esquema mostrando a associação de $M(\text{TRPyP})$ e $M(\text{TPPS})$ formando um par iônico. Os filmes são obtidos pela associação lateral de um número muito grande de colunas de porfirinas formadas pelo empilhamento controlado de pares iônicos [11].

As porfirinas têm encontrado diversas aplicações em eletroanálise e, para tanto, vários métodos de medição (potenciometria, voltametria, biossensores eletroquímicos) são empregados. Muitas metaloporfirinas foram utilizadas como componentes eletroativos na membrana de eletrodos íon-seletivos. Membranas dopadas com essas substâncias mostraram respostas potenciométricas para diferentes ânions da série clássica de Hofmeister ($\text{ClO}_4^- > \text{SCN}^- > \text{I}^- > \text{salicilato} > \text{Br}^- > \text{Cl}^-$). Para preparação de membranas, as metaloporfirinas podem ser imobilizadas em filmes de cloreto de polivinila (PVC) [88-93], eletropolimerizadas sobre polissiloxano (silicone) [94], carbono [95], ou sobre eletrodos de prata [96]. Sun *et al.* [96] descreveram a aplicação de um eletrodo baseado em *meso*-tetrakis(4-sulfofenil)porfirina para a determinação de iodeto em algas comestíveis. Steinle *et al.* [90] descreveram eletrodos de membranas poliméricas (seletivas a ânions) baseados em porfirinas de gálio(III), índio(III) e tálio(III). Os eletrodos de gálio-tetrafenilporfirina e gálio-octaetilporfirina exibiram uma resposta significativamente melhorada para fluoreto, enquanto que aqueles baseados em índio ou tálio-porfirina mostraram algumas preferências por cloreto. Jain *et al.* [93] relataram a possibilidade de aplicar eletrodos

íon-seletivos baseados em tetrafenilporfirinas como eletrodos indicadores em titulações potenciométricas de Co^{2+} com edta.

Eletrodos recobertos com filmes de polímeros eletroativos, incluindo filmes de porfirinas eletropolimerizáveis, têm recebido considerável atenção nos últimos anos. Complexos de níquel-tetrakis-(3-metoxi-4-hidroxifenil)porfirina (NiTMHPP) foram usados como agentes modificadores de microeletrodos de fibras de carbono [97-102]. A oxidação inicial de NiTMHPP monomérico leva à polimerização e à formação de um filme polimérico altamente condutor sobre a superfície dos eletrodos. Malinski e colaboradores [97-99] descreveram as aplicações de microeletrodos modificados por filmes NiTMHPP para medições quantitativas de NO em sistemas biológicos.

Um eletrodo de carbono vítreo modificado por tetrafenilporfirina foi empregado na determinação de metais pesados por voltametria de redissolução anódica [103]. O sensor mostrou um aumento na sensibilidade para a detecção de cobre, em comparação com os resultados obtidos com o eletrodo não modificado.

A interferência de ácido ascórbico pode ser suprimida, sem decréscimo significativo da resposta à dopamina, com eletrodos de grafite modificados por filmes de protoporfirina eletropolimerizada [104]. Filmes preparados por eletropolimerização de níquel, cobalto ou cobre-protoporfirina sobre eletrodos de carbono vítreo têm sido usados como sensores para fenóis [105].

Um eletrodo de mercúrio foi usado para a determinação da concentração de DNA com *meso*-tetrakis(4-N-trimetilaminofenil)porfirina (ou seu complexo com Cu(II)) ou níquel-tetrakis(1-metil-4-piridil)porfirina presentes na solução [106-108]. A interação da porfirina com DNA resultou na formação de um complexo não-eletroativo, com conseqüente decréscimo da intensidade de corrente de pico atribuída à porfirina.

As aplicações das porfirinas se estendem a biossensores. Entre outros exemplos, podem-se citar a eletrocatalise da oxidação de tiocolina por cobalto-tetrafenilporfirina para a detecção amperométrica de acetilcolinesterase [109] e o uso de um eletrodo de carbono modificado por um filme de Nafion[®] contendo cobalto-tetrakis(1-metil-4-piridil)porfirina para monitorar oxigênio na determinação enzimática de glicose [110].

2.2. BATCH INJECTION ANALYSIS (BIA)

Várias aplicações foram descritas sobre a combinação de BIA com outras técnicas, demonstrando a sua potencialidade para uso em Química Analítica. Um artigo de revisão, recentemente aceito para publicação, traz a compilação de todos os

estudos até agora realizados, envolvendo o emprego de BIA para diferentes propostas analíticas [26].

Até o presente momento, a amperometria e a voltametria conquistaram a preferência dos pesquisadores que trabalham com batch injection analysis. BIA, acoplada a amperometria, apresenta-se muito atraente para o uso de sensores que podem ser adaptados a uma variedade de reações químicas. Além de eletrodos quimicamente modificados, BIA (com detecção amperométrica) também vem sendo utilizada em conexão com sensores livres de agentes modificadores para a determinação de diversos analitos. Eletrodos de filmes finos de ouro foram empregados na quantificação de peróxido de hidrogênio [111] e, subseqüentemente, os mesmos filmes foram usados na construção de um biossensor para glicose [112]. A quantificação amperométrica indireta de mercúrio foi realizada mediante emprego de um biossensor de invertase, sendo a determinação baseada na inibição da enzima [113]. Eletrodos de pasta de carbono modificados por zeólitas e metil-viologênio foram utilizados na determinação indireta de cátions mono e divalentes [114] e o uso de enzimas, tecidos e células incorporados em pasta de carbono foi discutido por Gorton [115]. Hemoglobina foi determinada em amostras de sangue associando eletrodos modificados por filmes de poli(azul de metileno) a BIA [116]. Um aspecto interessante desse estudo é que as amostras de sangue de doadores sadios apresentaram boa correlação com o método espectrofotométrico, enquanto aquelas obtidas de pacientes enfermos apresentaram desvios do método oficial. Os autores sugeriram que o método descrito mostra-se potencialmente eficaz para detectar problemas hematológicos. Eletrodos modificados por porfirinas também foram explorados para aplicações em BIA/amperometria. Ciszewski e Milczarek [7] utilizaram uma porfirina polimérica de níquel para a oxidação eletrocatalítica de álcoois. Um eletrodo de gota de mercúrio foi utilizado para quantificação de ácido ascórbico em amostras comerciais de sucos de frutas [23]. Esse eletrodo foi desenvolvido em nosso laboratório, destacando-se por sua reprodutibilidade e versatilidade, pois pode ser utilizado como eletrodo gotejante, de gota pendente ou sésil [117].

Brett *et al.* [50] elucidaram operações em voltametria cíclica, voltametria de varredura linear e voltametria de onda quadrada como esquemas de detecção para batch injection analysis, utilizando hexacianoferrato(II) como composto modelo. De acordo com esses estudos, a combinação de BIA com as diferentes técnicas voltamétricas pode fornecer informações a respeito dos parâmetros cinéticos e termodinâmicos das reações de eletrodo, além de possibilitar a determinação da concentração do analito. As potencialidades de BIA associada à voltametria de redissolução anódica têm recebido atenção especial do grupo de pesquisa de Brett e

Brett [25,118-127]. Nos primeiros estudos, a possibilidade de combinar BIA com voltametria de redissolução anódica [25] e voltametria adsorviva por redissolução [118] foi demonstrada. Baixos níveis de zinco foram quantificados em soluções de zinco-insulina, por voltametria de onda quadrada, na presença de oxigênio dissolvido [119]. Nos estudos subseqüentes, a eletrodeposição de filmes finos de mercúrio no interior de filmes poliméricos de Nafion[®] [120,121,124-126], poli(éster ácido sulfônico) [122], poli(vinil ácido sulfônico), isolado e associado a diferentes polímeros [123], foi otimizada. Alguns desses envolveram a quantificação de metais pesados em amostras de efluentes e águas residuárias [120,123,124].

O sistema BIA também pode ser acoplado à potenciometria com eletrodos íon-seletivos, uma vez que se apresenta limitado a situações em que sensores muito específicos são requeridos. Eletrodos de membrana líquida foram utilizados para a quantificação de sódio e potássio em água mineral [128]. Um sistema BIA multicomponente foi desenvolvido para a quantificação simultânea de sódio, potássio e cálcio com eletrodos de membranas de cloreto de polivinila (PVC) [129]. Eletrodos seletivos foram explorados para a quantificação de salicilato em comprimidos de ácido acetilsalicílico [130] e para a determinação de mercúrio [131].

A detecção termométrica em sistema BIA também é possível, apresentando vantagens de miniaturização. A construção de biossensores calorimétricos foi apresentada por Bataillard [132]. A imobilização direta do biomaterial sobre um pequeno transdutor sensível a temperatura ou calor levou à obtenção de dispositivos sensíveis, que podem ser empregados em análise de amostras de volumes reduzidos. Um esquema de detecção calorimétrica foi explorado para a quantificação de sacarose em cana de açúcar, utilizando enzimas invertase imobilizadas sobre o termistor [133].

As aplicações envolvendo métodos ópticos e BIA ainda permanecem virtualmente inexploradas, apesar das potencialidades já demonstradas com a utilização de fibras ópticas [134] ou espectrofotometria [22].

2.3. ANÁLISE DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO, SALBUTAMOL, ACETAMINOFEN E GLICOSE

2.3.1. Ácido acetilsalicílico

Popularmente conhecido como aspirina, o ácido acetilsalicílico (AAS) é uma das drogas mais consumidas no mundo [135,136]. Esse fármaco apresenta qualidades superiores como antipirético e analgésico geral, sendo mais específico no alívio de dores de cabeça e musculares, gripes, resfriados e doenças respiratórias, artrites reumáticas, etc [137]. Embora tenha excelente eficácia, a aspirina é mais perigosa do

que comumente se acredita. Sua toxicidade é tanta que cerca de 15 g, apenas, podem ser fatais para uma criança pequena. O consumo continuado de grandes doses pode levar ao salicilismo (intoxicação crônica), caracterizado por sintomas diversos, tais como tontura, zumbido, distúrbios de audição, sudorese, náuseas, vômitos, cefaléia e confusão mental. Mesmo doses usuais podem inibir a agregação de plaquetas. Por esse motivo, a droga é contra-indicada aos que sofrem de distúrbios hemorrágicos. Uma reação alérgica bastante séria, observada quase que exclusivamente em crianças, é a chamada Síndrome de Reye, caracterizada por encefalopatia associada com degeneração gordurosa do fígado. Vários estudos têm demonstrado sua associação com ingestão prévia de aspirina. Por isso, a administração da droga em crianças não é recomendada em vários países.

Geralmente, o ácido acetilsalicílico é monitorado indiretamente após conversão por hidrólise a salicilato, com hidróxido de sódio, de acordo com o método padrão descrito pela Farmacopéia Britânica [138]. Outro método de referência para a determinação de salicilato é o Teste Trinder [139], que se baseia na reação de ácido salicílico com íons ferro(III), em meio ácido, para formar um composto de coloração violeta que pode ser monitorado espectrofotometricamente em 540 nm. Um grande número de técnicas para análise de salicilato e ácido acetilsalicílico em fluidos biológicos e produtos farmacêuticos tem sido relatado. Os principais problemas encontrados nessa tarefa são relacionados a especificidade, simplicidade e sensibilidade. Dentre os vários métodos descritos na literatura, podem ser citados a potenciometria [130,140-142], a espectrofotometria [143-145], a amperometria [146-148], a cromatografia [149,150] e a voltametria [151], alguns deles combinados com sistemas de injeção em fluxo.

A combinação de cromatografia de troca aniônica com um eletrodo de carbono vítreo modificado por cobre para analisar salicilato e outras substâncias orgânicas em amostras de bebidas e alimentos foi descrita por Casella *et al.* [152]. Eletrodos de cobre têm sido amplamente empregados na detecção e determinação de um grande número de compostos orgânicos, tais como carboidratos, aminoácidos e alditóis. Eletrodos convencionais (platina e ouro), geralmente usados para detecção anódica de substâncias orgânicas, mostram perda de atividade devido ao acúmulo de produtos de oxidação. Isso conduz ao envenenamento do eletrodo, com conseqüente decréscimo na resposta analítica. Eletrodos de trabalho baseados em cobre têm demonstrado capacidade de oxidar várias moléculas orgânicas eletroativas, envolvendo alta velocidade de transferência de elétrons, boa sensibilidade e reprodutibilidade satisfatória. Os métodos descritos na literatura para esse tipo de estudo variam de HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência) com detecção

eletroquímica [72,153,154] a eletrooxidação após separação por eletroforese capilar [155]. Muitos dos métodos usados nesses sistemas são combinados com análise por injeção em fluxo (FIA).

2.3.2. Salbutamol

Salbutamol, 2-(tert-butilamino)-1-(4-hidroxi-3-hidroximetilfenil)etanol, também conhecido como albuterol, é uma droga adrenérgica que exerce ação estimulante seletiva sobre os adrenorreceptores β_2 da musculatura brônquica. Normalmente administrado na forma de sulfato, esse fármaco é amplamente empregado no tratamento da asma brônquica, suprimindo a tosse espasmódica sem causar efeitos colaterais cardiovasculares. A droga pode também ser usada como descongestionante nasal e no bloqueio do parto prematuro [156]. O FDA (Food and Drug Administration) aprovou o salbutamol em 1982 e, desde então, ele tem sido o broncodilatador preferido em todo o mundo. Além da seletividade, esse composto tem a vantagem de apresentar efeitos mais duradouros (até seis horas), em comparação com outros broncodilatadores, cuja duração se situa entre uma e quatro horas [157].

Os métodos oficiais de análise de salbutamol descritos na Farmacopéia dos Estados Unidos [158] e na Farmacopéia Britânica [159,160] são baseados em titulações não-aquosas, HPLC e cromatografia de troca iônica e absorção no UV (276 nm) do cátion salbutamol em meio ácido. No entanto, nenhum desses métodos é aplicável a amostras de xarope. Várias técnicas têm sido exploradas para a quantificação de salbutamol em variados tipos de amostras, incluindo espectrofotometria [161-166], fluorescência [167,168], quimiluminescência [168,169], cromatografia [170-174], eletroforese capilar [171,175], potenciometria [176], condutometria [177] e voltametria [178-180]. Dentre as mais empregadas, destacam-se a cromatografia e a espectrofotometria. Uma vez que tais técnicas apresentam custo elevado ou requerem etapas de derivatização que consomem muito tempo, os métodos eletroquímicos surgem como um caminho alternativo vantajoso pela simplicidade que eles oferecem. Estudos voltamétricos foram realizados com eletrodos de platina [178], carbono vítreo [178,179] e pasta de carbono [179,180]. Nesses estudos, principalmente aqueles conduzidos em meio ácido, foi necessário desenvolver um esquema de tratamento para evitar o envenenamento do eletrodo. Além disso, o uso de meio ácido pode ser limitado, vez que alguns componentes de xaropes podem agir como interferentes nessas condições, tais como metilparabeno e propilparabeno.

2.3.3. Acetaminofen

O acetaminofen (N-acetil-p-aminofenol, 4-acetamidofenol, paracetamol, ou outros nomes comerciais) apresenta atividades analgésica e antipirética similares às da acetanilida e fenacetina, da qual é metabólito [181]. Este fármaco não possui atividade antiinflamatória; mesmo assim é provavelmente o antipirético-analgésico de segunda escolha, principalmente para os pacientes alérgicos ao ácido acetilsalicílico ou que sofram de úlceras pépticas. Por ser menos tóxico, o acetaminofen acabou substituindo a fenacetina em diversas formulações farmacêuticas.

Uma busca na literatura indica que há muitos estudos descrevendo procedimentos para a determinação de acetaminofen. Entre as técnicas utilizadas, citam-se a espectrofotometria [182,183], a fluorimetria [184], a cromatografia [185], a voltametria [186-189] e a cronoamperometria [190]. Em muitos casos, algumas reações prévias são requeridas, de modo a gerar um novo composto com características mais adequadas para a sua detecção [191-193].

2.3.4. Glicose

Os processos eletrocatalíticos envolvendo a oxidação de açúcares são de grande interesse em muitas áreas. Isso inclui aplicações em medicina, construção de células a combustível e aplicações analíticas na indústria de alimentos [194,195]. A pesquisa sobre as reações de oxidação da glicose teve início na década de sessenta e até agora essa área permanece muito ativa. Embora esse tipo de reação seja termodinamicamente favorável, a sua utilização para propostas analíticas é dificultada devido à cinética lenta sobre eletrodos convencionais [196]. Adicionalmente, dois fatores principais podem ser apontados: (i) a alta sobretensão dessa reação requer um potencial muito elevado para que a oxidação ocorra numa extensão apreciável, dando origem à falta de seletividade; (ii) os produtos da reação de oxidação causam o envenenamento da superfície do eletrodo [197,198]. Esse aspecto foi decisivo para o acentuado desenvolvimento de biossensores para glicose [199-210], principalmente para o monitoramento rápido do analito em sangue [211,212]. No entanto, para muitas outras aplicações, tais biossensores apresentam limitações, induzindo muitos pesquisadores à busca de soluções alternativas. Uma vez que a cinética da oxidação de glicose é muito complexa e a maioria dos novos sensores é altamente sensível a material de eletrodo, estrutura da superfície, meio eletrolítico, temperatura e pH [197,198,213], esse campo ainda continua sob intensa investigação.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. APARELHAGEM

3.1.1. Medições eletroquímicas

Para a obtenção das medidas eletroquímicas, foram empregados os sistemas potenciostato/galvanostato EG&G Princeton Applied Research (modelo 263A) e AutoLab (modelo PGSTAT30).

3.1.2. Medições espectroscópicas

Espectros de filmes, construídos a partir da eletropolimerização do complexo níquel μ -{meso-tetra(piridil)porfirinato}-tetrakis{bis(bipiridina)(cloro)rutênio}, foram obtidos por reflectância UV-Vis, utilizando um espectrofotômetro Guided-Wave (modelo 260) equipado com fibra ótica.

Para efeito de comparação com os resultados eletroquímicos, as amostras foram submetidas à análise espectrofotométrica. Para tanto, foi empregado um espectrofotômetro Hitachi (modelo U-2001).

3.1.3. Microscopia

A caracterização microscópica dos filmes citados na seção 3.1.2 foi feita mediante emprego de um microscópio de varredura por sonda mecânica (SPM-scanning probe microscopy) da Molecular Imaging (PicoSPM I) com MAClevers tipo 2 ($k \sim 2,8 \text{N/m}$; $f \sim 60 \text{kHz}$), operando com amplitude "setpoint" em torno de 5V, sob condições ambientes. As imagens de MAC Mode AFM (atomic force microscopy) das amostras foram obtidas com velocidade de varredura de 1 a 2 Hz e com 256 pontos por linha.

3.2. CÉLULA ELETROQUÍMICA E ELETRODOS (SISTEMA ESTACIONÁRIO)

A célula eletroquímica utilizada (10 mL de capacidade) era do tipo convencional com três eletrodos, composta de corpo principal em acrílico e tampa do mesmo material. Foram feitos orifícios na tampa para adaptação dos componentes da célula, que foi usada nos experimentos empregando voltametrias cíclica e de pulso diferencial e espectroscopia de impedância eletroquímica.

Os eletrodos utilizados nas medições eletroquímicas foram:

(i) eletrodo de trabalho: diferentes materiais de eletrodo, utilizados de acordo com a necessidade. Todos os eletrodos de trabalho empregados nos experimentos eletroquímicos serão descritos na seção 3.5;

(ii) eletrodo auxiliar: eletrodo de platina helicoidal;

(iii) eletrodo de referência: eletrodo de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{KCl sat.}}$, construído no laboratório. Todos os potenciais relacionados ao presente trabalho são referentes a este eletrodo.

3.3. SISTEMA BIA

O esquema do sistema BIA, utilizado na detecção amperométrica dos analitos, pode ser visualizado na Figura 8. O corpo da célula foi construído de acrílico e, numa altura apropriada, fez-se um orifício lateral, por onde era drenado o excesso de eletrólito. A base da célula era composta de um disco de acrílico de 1,2 cm de espessura, no centro do qual havia um orifício de 7,0 mm de diâmetro. Através deste orifício, o eletrodo de trabalho era posicionado, sendo firmemente fixado com dois o-rings. A célula era provida de uma tampa de Teflon[®], na qual foram feitos dois orifícios laterais para adaptação dos eletrodos auxiliar e de referência. O centro da tampa também foi perfurado de maneira a obter um orifício com forma cônica, para acomodar a ponteira da micropipeta. Uma micropipeta eletrônica motorizada EDP Plus EP-100 da Rainin Instrument foi utilizada para fazer as injeções. Esta pipeta permite efetuar injeções de volumes que variam entre 10 e 100 μL . O volume de eletrólito suporta na célula foi tipicamente 40 mL.

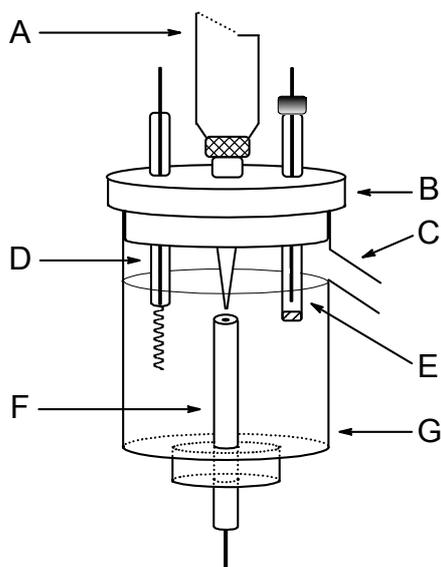


Figura 8. Representação esquemática do sistema BIA constituído de micropipeta motorizada (A), tampa de Teflon[®] (B), dreno (C), contra-eletrodo de platina (D), eletrodo de referência de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{KCl sat.}}$ (E), eletrodo de trabalho (F) e célula de acrílico (G).

3.4. REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados (hidróxido de sódio, acetato de sódio, ácido acético, perclorato de sódio, dihidrogeno fosfato de potássio, ácido nítrico, ácido clorídrico, nitrato de ferro(III), metanol, etanol, dimetilssulfóxido, citrato de sódio pentahidratado, carbonato de sódio anidro, sulfato de cobre, ácido acetilsalicílico, 4-acetamidofenol, glicose, sacarose, frutose, galactose, lactose, manitol, etc.) eram de elevado grau de pureza, com procedências Merck ou Sigma. Exceção para o sulfato de salbutamol, que foi gentilmente doado pela Boehringer Ingelheim do Brasil.

As porfirinas utilizadas [86,214-216] foram sintetizadas e caracterizadas no Laboratório de Química Supramolecular e Nanotecnologia (LQSN) do IQ-USP. Foram empregados os complexos μ -{meso-tetra(piridil)porfirinato}-tetrakis{bis(bipiridina)(cloro)rutênio}, contendo como metal central cobalto ou níquel ($[M\text{-TPyP}\{\text{Ru}(\text{bipy})_2\text{Cl}\}_4]^{n+}$, onde M pode ser Co^{II} ou Ni^{II}). Por simplicidade, os complexos (Figura 9) serão eventualmente referidos, no decorrer do texto, como CoTRP (porfirina tetrarrutenada de cobalto) e NiTRP (porfirina tetrarrutenada de níquel). Soluções de CoTRP foram preparadas em metanol. Para o preparo das soluções de NiTRP (utilizada para eletropolimerização), uma solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi empregada.

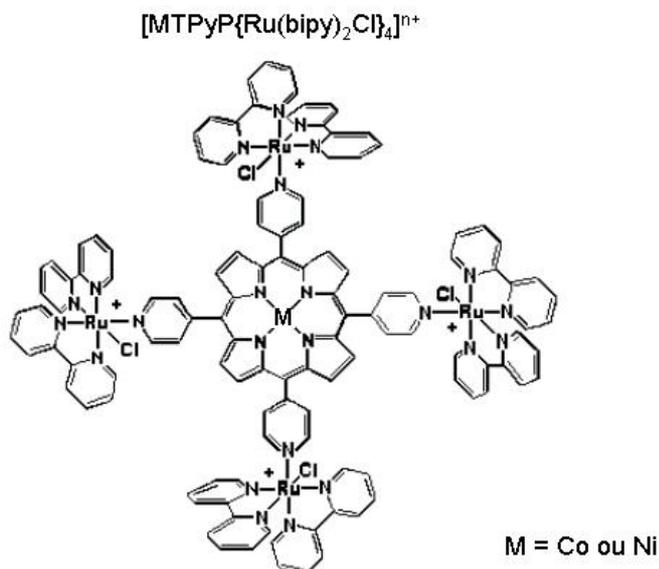


Figura 9. Estrutura de μ -{meso-tetra(piridil)porfirinato}-tetrakis{bis(bipiridina)(cloro)rutênio}.

Todas as soluções estoque dos analitos estudados (Figura 10), bem como aquelas utilizadas como eletrólito suporte ou em ensaios espectrofotométricos, foram preparadas com água deionizada, $18 \text{ M}\Omega$, provinda de sistema milli-Q Millipore®. As soluções dos

padrões e amostras empregadas nos experimentos amperométricos foram convenientemente diluídas com o eletrólito suporte apropriado.

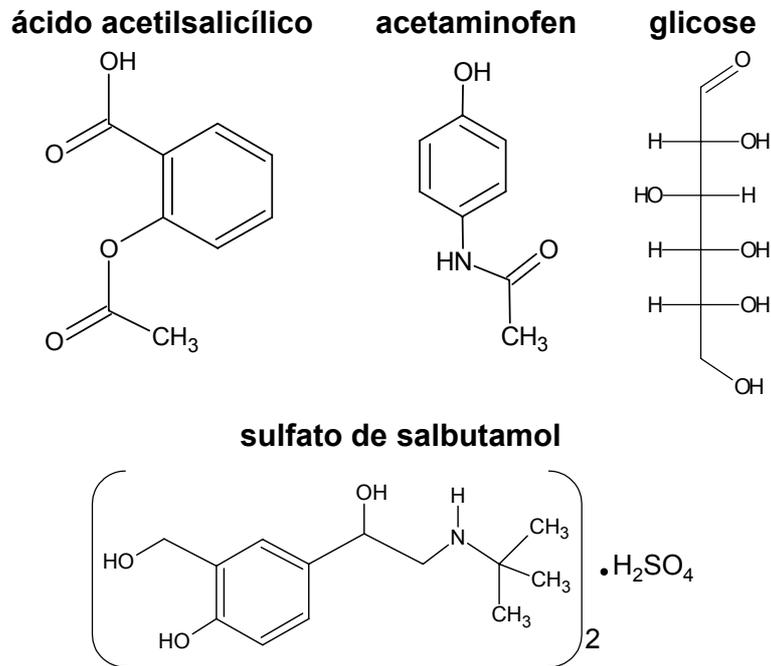


Figura 10. Estrutura molecular dos analitos estudados.

3.5. ELETRODOS DE TRABALHO

Durante a realização do presente estudo, os seguintes materiais foram empregados como eletrodos de trabalho:

- (i) carbono vítreo: eletrodo comercial (Bioanalytical System, modelo TL-5), com diâmetro de 3,0 mm.
- (ii) cobre: fio de cobre adquirido no comércio local. O arame foi embutido em Teflon[®] e, após polimento adequado, a superfície exposta apresentou diâmetro igual a 2,6 mm. Para avaliar a pureza do fio de cobre, uma pequena quantidade do material foi submetida à análise por espectroscopia de absorção atômica e o resultado mostrou a composição descrita na Tabela 2.

Tabela 2. Composição do eletrodo de cobre após análise por espectroscopia de absorção atômica.

	Cu	Ni	Cr	Pb	Sn	Zn
Teor (%)	99,7	0,014	0,0044	0,13	0,0019	0,15

(iii) ouro e platina: eletrodos comerciais adquiridos da Metrohm, com diâmetros de 2,0 mm (ouro) e 3,0 mm (platina).

(iv) filme de ouro: eletrodo obtido a partir de CDs graváveis de ouro. A área do eletrodo era definida pressionando um cilindro de borracha de silicone contra a superfície do CD. O espaço no interior do cilindro era utilizado como célula eletroquímica.

3.6. ROTINA

3.6.1. Eletrodos de trabalho

Pré-tratamento da superfície

Antes de iniciar os experimentos eletroquímicos, os eletrodos de trabalho (carbono vítreo, platina, ouro e cobre) eram submetidos a polimento mecânico com suspensão de alumina 0,3 e 0,02 μm , utilizando tecido feltro fixado em base de vidro ou acrílico. A seguir, eram lavados com jatos de água destilada e secos a temperatura ambiente.

A preparação dos eletrodos de CDs graváveis de ouro foi conduzida removendo o filme polimérico protetor por ataque químico com ácido nítrico concentrado. Posteriormente, um jato de água destilada era empregado para retirar o material remanescente. Com isso, uma superfície plana, recoberta por um filme fino de ouro, era facilmente obtida.

Modificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo

No trabalho ora relatado, eletrodos de carbono vítreo modificados por adsorção química de CoTRP ou por eletropolimerização de NiTRP foram utilizados como sensores para a determinação de acetaminofen e glicose, respectivamente. Os procedimentos adotados para a preparação de cada um dos sensores são descritos a seguir:

(i) carbono vítreo/CoTRP: com o auxílio de um capilar, 1 μL de uma solução de CoTRP (1 mg/5 mL metanol) era transferido para a superfície do eletrodo previamente polida. Posteriormente, o solvente era evaporado a temperatura ambiente. O procedimento era repetido, então, duas vezes mais.

(ii) carbono vítreo/NiTRP: após pré-tratamento da superfície, o eletrodo era imerso em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo NiTRP $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e , então, submetido a varreduras cíclicas sucessivas de potencial (entre 0,0 e 0,9 V) a 100 mV s^{-1} . Com isso, filmes poliméricos da porfirina tetrarrutenada de níquel (poli-NiTRP) eram obtidos. Volumes pequenos ($200 \text{ }\mu\text{L}$) de solução recém-preparada eram empregados, vez que a porfirina apresenta degradação em meio alcalino. Por isso, uma célula (Figura 11) constituída de um tubo de borracha de silicone foi adaptada para este procedimento.

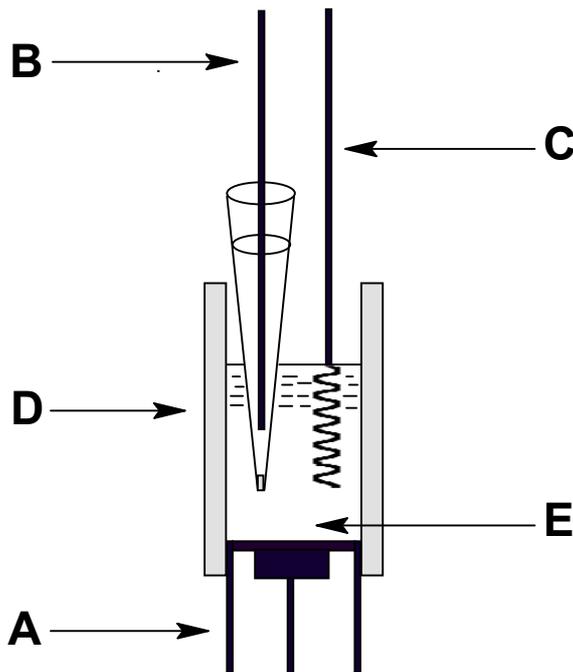


Figura 11. Esquema da célula adaptada para a polimerização eletroquímica de NiTRP: (A) eletrodo de trabalho, (B) eletrodo de referência $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{KCl sat.}}$, (C) eletrodo auxiliar de platina, (D) tubo de borracha de silicone e (E) solução alcalina de NiTRP ($200 \text{ }\mu\text{L}$).

3.6.2. Procedimentos eletroquímicos

Voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial

O eletrodo de trabalho (modificado ou livre de agente modificador) era inserido na célula eletroquímica previamente montada, contendo 10 mL do eletrólito suporte adequado a cada sistema estudado. Posteriormente, os ensaios potenciodinâmicos eram realizados. Quando necessário, adições dos analitos eram feitas à célula de maneira a obter concentrações finais desejadas das espécies químicas em estudo.

BIA com detecção amperométrica

Com o eletrodo de trabalho previamente modificado ou livre de agente modificador, o sistema era montado e um potencial constante apropriado, aplicado. O

eletrodo assim permanecia, durante um determinado período de tempo, suficiente para obtenção de uma corrente de valor muito baixo e praticamente constante. A seguir, os picos relacionados à resposta analítica eram registrados, após efetuar injeções de soluções padrão e das amostras dos diferentes analitos, em várias concentrações.

As variáveis envolvidas na operação BIA foram avaliadas a fim de estabelecer as condições mais favoráveis para a quantificação dos analitos. A Tabela 3 mostra os resultados obtidos para cada um dos sistemas eletroquímicos estudados.

Tabela 3. Condições experimentais empregadas em BIA para os sistemas eletroquímicos estudados.

	Potencial aplicado (mV)	Distância eletrodo-ponteira (mm)	Volume de injeção - V_{inj} (μL)	Vazão - v_f ($\mu\text{L s}^{-1}$)
cobre/NaOH 0,1 mol L ⁻¹ /AAS ^a	530	2,0	100	75,3
CV ^b /NaOH 3,0 mol L ⁻¹ /salbutamol	420	2,0	100	24,5
CoTRP/NaClO ₄ 0,2 mol L ⁻¹ /acetaminofen	650	2,0	100	75,3
NiTRP/NaOH 1,0 mol L ⁻¹ /glicose	470	2,0	100	75,3

^a AAS: ácido acetilsalicílico

^b CV: carbono vítreo

3.6.3. Procedimento de análise

Todas as amostras de produtos farmacêuticos empregadas neste estudo foram adquiridas comercialmente em drogarias locais. O ácido acetilsalicílico (aspirina) e o acetaminofen foram quantificados em amostras de comprimidos. O salbutamol (na forma de sulfato), foi analisado em xaropes, enquanto uma solução comercial farmacêutica foi empregada para determinar glicose.

BIA com detecção amperométrica

(i) ácido acetilsalicílico: foram analisadas sete diferentes amostras de comprimidos contendo ácido acetilsalicílico e outras substâncias. Cada um dos comprimidos era dissolvido em um volume apropriado de eletrólito suporte (NaOH 0,1 mol L⁻¹) em balões volumétricos de 200 mL ou 100 mL, que eram completados até a marca com a mesma solução. Alíquotas das soluções resultantes eram convenientemente diluídas (dependendo do teor do analito

em cada amostra) com eletrólito suporte para atingir uma concentração nominal de $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em ácido acetilsalicílico.

(ii) sulfato de salbutamol: para a análise de sulfato de salbutamol, foram empregadas quatro diferentes amostras de xarope contendo o analito e outros componentes. Alíquotas de $200 \mu\text{L}$ de cada amostra eram transferidas para balões volumétricos de 5 mL e o volume era completado com eletrólito suporte ($\text{NaOH } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$).

(iii) acetaminofen: cada um dos comprimidos das seis diferentes amostras a analisar era dissolvido em um volume apropriado de água deionizada, diluindo, posteriormente, de modo a completar 1 L em balão volumétrico. Uma alíquota de $100 \mu\text{L}$ era, então, transferida para um segundo balão volumétrico (5, 10 ou 25 mL), o qual era completado até a marca com solução tampão acetato/ácido acético $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) + $\text{NaClO}_4 \text{ } 0,2 \text{ mol L}^{-1}$.

(iv) glicose: a quantificação deste analito foi realizada em uma amostra farmacêutica de uma solução aquosa de glicose. A preparação da amostra para análise consistia em diluição direta de uma alíquota de $14,5 \mu\text{L}$ da amostra com eletrólito suporte ($\text{NaOH } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$) em balão volumétrico de 5 mL.

Voltametria cíclica

A glicose também foi quantificada na amostra acima referida, utilizando voltametria cíclica. A diluição foi feita diretamente, pela adição de $12 \mu\text{L}$ da amostra ao volume inicial (5 mL) de $\text{NaOH } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$ na célula eletroquímica.

Espectrofotometria

(i) ácido acetilsalicílico: para efeito de comparação, o ácido acetilsalicílico foi quantificado nas amostras, empregando o teste Trinder [139]. O método se baseia na reação do ácido salicílico (formado após hidrólise do ácido acetilsalicílico) com íons ferro (III), em meio ácido, para formar um complexo de coloração violeta, que é monitorado espectrofotometricamente em 540 nm. O mesmo procedimento para a dissolução das amostras, descrito acima, foi realizado aqui para hidrolisar o ácido acetilsalicílico antes da adição de ácido nítrico, que foi feita de maneira a atingir uma concentração final de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em HNO_3 .

(ii) sulfato de salbutamol: verificou-se que nenhum método oficial foi descrito para a análise de salbutamol em amostras de xarope. Além disso, os métodos

estabelecidos na literatura são morosos e/ou laboriosos. Sendo assim, não foi possível realizar a análise comparativa dos resultados com outro método.

(iii) acetaminofen: o paracetamol foi quantificado nas amostras, empregando um método descrito na literatura [217]. Na preparação das amostras, cada comprimido foi pesado e triturado. A seguir, uma quantidade do pó obtido foi pesada e dissolvida em etanol, completando-se um volume de 5 mL com o mesmo solvente. A partir desta solução, diluições apropriadas foram feitas, sendo as soluções resultantes empregadas na análise por espectrofotometria derivativa, com absorbâncias medidas em 263,4 nm.

(iv) glicose: um teste de Benedict modificado foi empregado para a análise espectrofotométrica de glicose na amostra. Este método é baseado na oxidação do grupo aldeído da glicose pelos íons Cu(II). Um dos produtos da reação é um precipitado vermelho de Cu₂O. A presença de íons Cu(II) confere uma coloração azul-esverdeada à solução de Benedict. A intensidade de cor desta solução depende da concentração de glicose. Durante o procedimento, alíquotas de 90 µL da amostra eram diluídas com água deionizada em balões volumétricos de 5 mL. As soluções obtidas eram transferidas para tubos de ensaio, aos quais eram adicionados 5 mL de solução de Benedict [218]. Soluções padrão de glicose em concentrações crescentes também foram submetidas ao mesmo tratamento. Todos os tubos de ensaio (inclusive o utilizado para obter o “branco”: 5 mL de água deionizada + 5 mL de solução de Benedict) permaneceram sob aquecimento em banho-maria durante 8 minutos. Após resfriamento, os tubos de ensaio foram centrifugados durante 2 minutos e os sobrenadantes, utilizados nas medições espectrofotométricas ($\lambda = 735$ nm).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme já mencionado, o trabalho experimental foi dedicado ao desenvolvimento de sensores amperométricos, associando-os à técnica batch injection analysis (BIA), com vistas a aplicações analíticas. Quatro diferentes sistemas foram estudados e destinados à análise de ácido acetilsalicílico, sulfato de salbutamol, acetaminofen e glicose em produtos farmacêuticos.

Para estabelecer as condições mais favoráveis para a determinação dos analitos, algumas variáveis envolvidas na operação BIA foram estudadas:

(i) potencial de trabalho: correspondeu ao valor observado para o máximo de corrente dos voltamogramas registrados para cada sistema estudado. O valor do potencial, empregado em cada sistema, é apresentado na Tabela 3 (seção 3.6.2).

(ii) distância eletrodo-ponteira: a medição da distância entre a ponteira e a superfície do eletrodo era realizada de acordo com o procedimento descrito a seguir: com o sistema BIA montado (mas com a célula vazia), placas de cobre de 0,5 e 1,0 mm de espessura eram posicionadas entre o eletrodo e a ponteira. Com isso, delimitava-se a região do eletrodo em contato com a parte externa da base da célula BIA, utilizando caneta esferográfica de ponta fina. Posteriormente, desmontava-se o sistema, preparando-o novamente após obter o sensor para o experimento. A distância era, então, baseada no sinal feito conforme descrito acima. Para distâncias diferentes de 0,5, e 1,0 mm, as placas de cobre eram combinadas de modo a obter os valores desejados. A distância empregada foi de 2,0 mm para todos os sistemas estudados. Um gráfico do sinal amperométrico em função da distância eletrodo-ponteira obtido para o sistema eletrodo de carbono vítreo/CoTRP/NaClO₄ 0,2 mol L⁻¹ (pH 4,7)/acetaminofen é mostrado na Figura 12. Os demais sistemas estudados apresentaram um perfil semelhante. Conforme se pode observar nessa figura, a região delimitada entre 2,0 e 3,0 mm apresenta-se mais favorável. No entanto, estudos de repetibilidade apresentaram resultados mais satisfatórios na distância de 2,0 mm, levando à escolha desse valor para os experimentos subseqüentes.

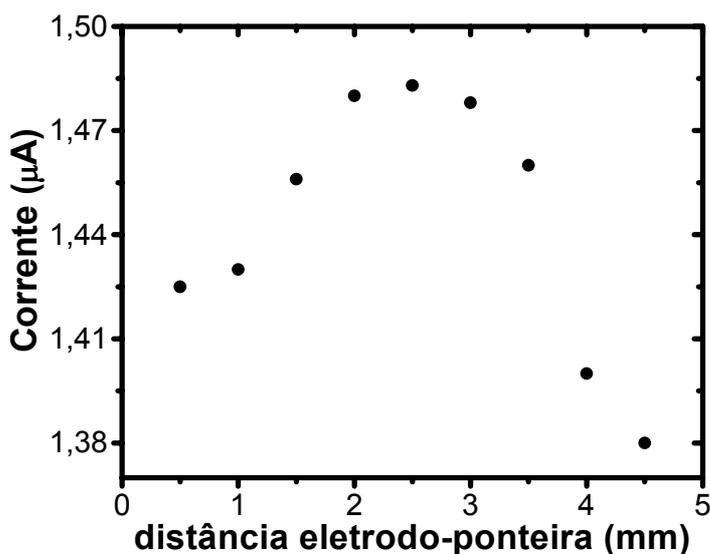


Figura 12. Gráfico do sinal BIA em função da distância eletrodo-ponteira obtido para injeções de acetaminofen $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado por um filme de CoTRP e imerso em solução tampão Ac^-/HAc $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) + NaClO_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. E: 650 mV; V_{inj} : 100 μL ; A: 0,07 cm^2 .

(iii) vazão (v_f): a relação entre o sinal de corrente e a vazão obtida para o sistema eletrodo de carbono vítreo/ NaOH $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ / salbutamol é apresentada na Figura 13. Com base nessa figura, em que a corrente aumenta continuamente com v_f , verifica-se que a condição mais apropriada é a que corresponde a vazão mais alta ($75,3 \mu\text{L s}^{-1}$). Esse comportamento também foi observado para os outros sistemas eletroquímicos. Dessa forma, o valor mais alto de v_f foi eleito para todos os sistemas, exceto para aquele descrito na Figura 13. Neste caso, a vazão de $24,5 \mu\text{L s}^{-1}$ (a mais baixa) se mostrou mais favorável porque para valores mais altos os sinais apresentaram uma repetibilidade pobre, provavelmente devido à viscosidade relativamente alta do meio empregado (NaOH $3,0 \text{ mol L}^{-1}$).

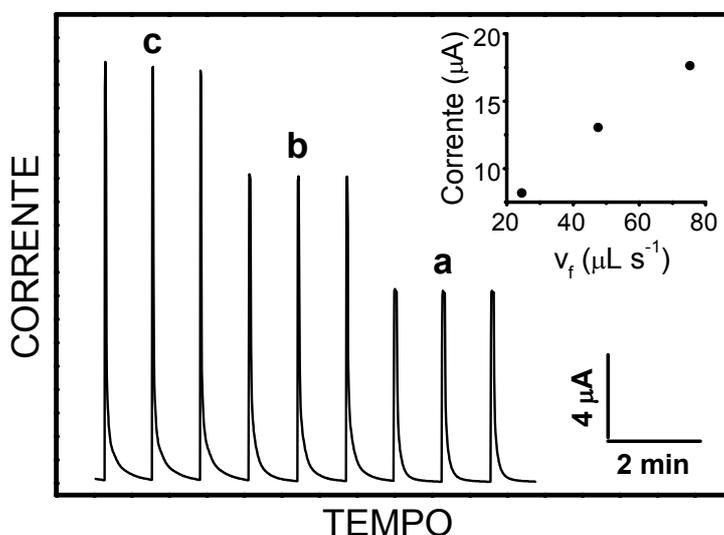


Figura 13. Efeito da vazão sobre os sinais decorrentes de injeções de uma solução padrão de sulfato de salbutamol $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. v_f : (a) 24,5, (b) 47,6 e (c) $75,3 \mu\text{L s}^{-1}$. E: 420 mV; V_{inj} : 100 μL .

(iv) volume de injeção (V_{inj}): o efeito do volume do analito sobre a corrente também foi estudado para os quatro sistemas descritos. O comportamento geral foi semelhante ao representado na Figura 14, que ilustra o gráfico de corrente em função do volume injetado para o sistema eletrodo de carbono vítreo/NaOH 3,0 mol L⁻¹/salbutamol. A Figura 14 mostra que os valores de corrente aumentam rapidamente no início, apresentando um aumento posterior pouco significativo entre 40 e 100 μ L. Dessa forma, volumes situados entre 40 e 50 μ L poderiam, aparentemente, ser empregados. No entanto, decidiu-se utilizar sempre um volume de 100 μ L em todos os estudos realizados, uma vez que se verificou que, nessa condição, a repetibilidade dos sinais era superior quando soluções de concentrações muito baixas eram empregadas.

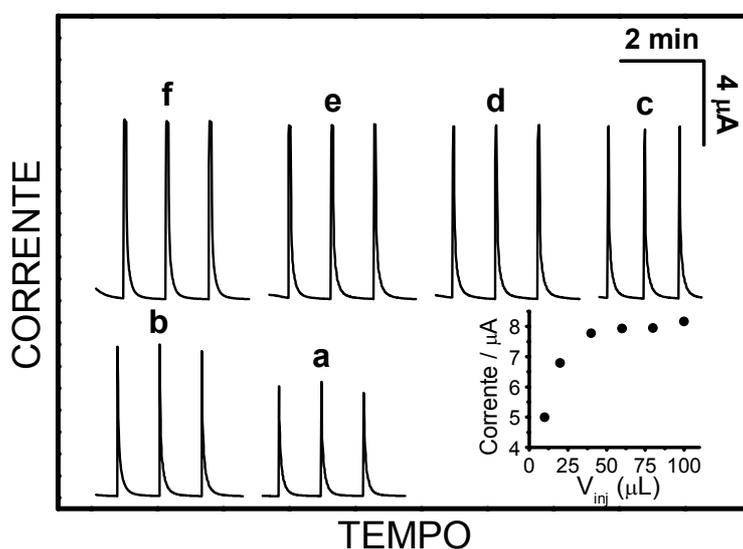


Figura 14. Variação da corrente em função do volume de amostra injetada. Foram feitas injeções de uma solução padrão de sulfato de salbutamol $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, utilizando diferentes V_{inj} : (a) 100, (b) 80, (c) 60, (d) 40, (e) 20 e (f) 10 μ L. E: 420 mV; v_f : 24,5 μ L s⁻¹.

4.1. QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO UTILIZANDO ELETRODO DE COBRE EM MEIO ALCALINO

4.1.1. Estudos voltamétricos

O comportamento voltamétrico do eletrodo de cobre em NaOH 0,1 mol L⁻¹ é ilustrado na Figura 15. O potencial foi variado dentro do intervalo de -900 mV a 800 mV, a 50 mV s⁻¹. O perfil corrente-potencial observado na Figura 15A corresponde à primeira varredura, registrada para o eletrodo recém-polido. Após varreduras continuadas, quando as correntes não apresentavam qualquer variação significativa (5 ciclos), o voltamograma resultante foi aquele exibido na Figura 15B.

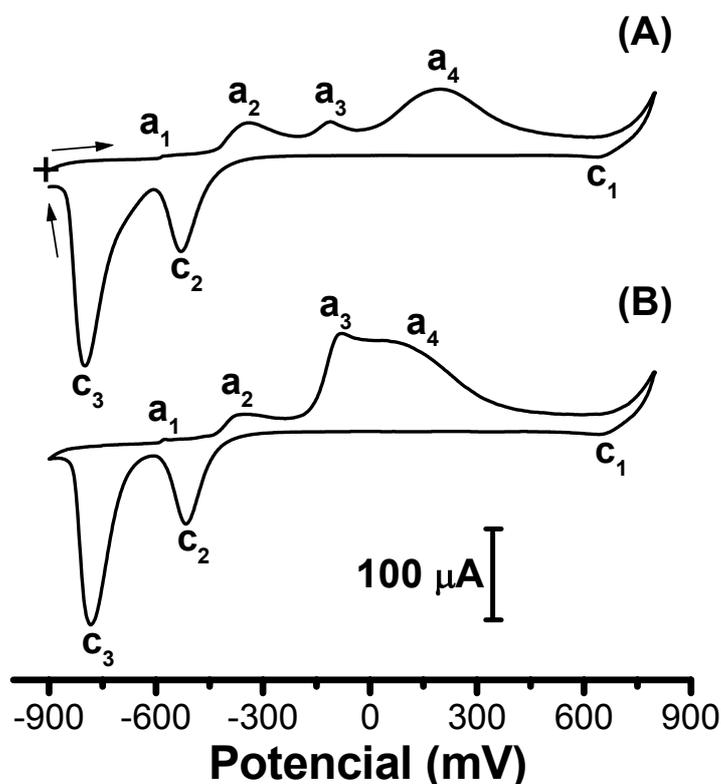


Figura 15. Voltamogramas cíclicos registrados para um eletrodo de cobre em NaOH 0,1 mol L⁻¹ após o 1º ciclo (A) e após 5 varreduras sucessivas (B). *v*: 50 mV s⁻¹; A: 0,05 cm².

O aspecto dos voltamogramas da Figura 15 está de acordo com aquele estabelecido na literatura. Vários picos anódicos e catódicos são observados durante as varreduras positiva e negativa, respectivamente. É perfeitamente possível comparar esses resultados com dados previamente descritos. O pico a₁ foi atribuído a adsorção de oxigênio, com base em estudos elipsométricos *in situ* e por voltametria cíclica [219,220]. O pico a₂ é o resultado da oxidação de cobre metálico (Cu⁰) ao seu estado de oxidação inicial, Cu(I) [221-225]. O pico a₃ envolve as transições Cu⁰/Cu(II) e Cu(I)/Cu(II) [223]. O pico a₄ está associado à formação de espécies solúveis, de

acordo com estudos cronopotenciométricos descritos na literatura [226]. Na primeira varredura, os picos a_3 e a_4 apresentam-se separados (Figura 15A). No entanto, após varreduras consecutivas (Figura 15B), eles tendem a sobrepor-se. Isso é acompanhado por um aumento da carga consumida, associada a tais picos de oxidação. A sobreposição dos picos a_3 e a_4 tem sido relatada, não havendo explicação para o mecanismo resultante [227]. A formação anódica de espécies Cu(III) é facilitada se concentrações mais altas de hidróxido são empregadas [223]. Nos resultados ora apresentados, a formação dessas espécies pode estar ocorrendo durante a varredura positiva entre 700 e 800 mV, em que se observa um aumento contínuo da corrente de oxidação (Figura 15A-B). Durante a varredura reversa, uma pequena onda catódica, c_1 , pode ser observada e é atribuída à redução de Cu(III) a Cu(II). Os picos assinalados por c_2 e c_3 são associados à redução de Cu(II) a Cu(I) e de Cu(I) a Cu(0), respectivamente.

O voltamograma da Figura 16 ilustra a eletrooxidação do ácido acetilsalicílico sobre o eletrodo de cobre em meio alcalino.

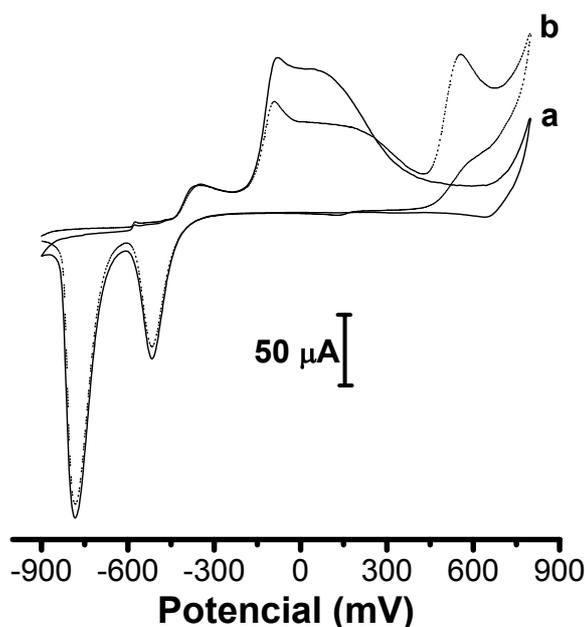
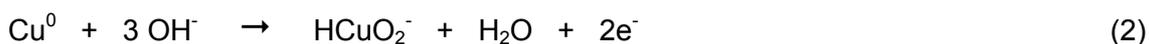


Figura 16. Voltamogramas cíclicos de um eletrodo de cobre em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ antes (a) e após (b) adição de ácido acetilsalicílico $4,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (concentração final). v : 50 mV s^{-1} ; A : $0,05 \text{ cm}^2$.

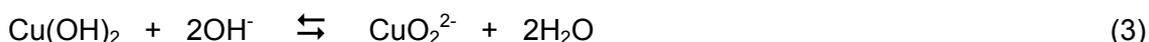
Duas importantes variações podem ser observadas no perfil voltamétrico da Figura 16, em que os voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de cobre na ausência e na presença de ácido acetilsalicílico são comparados. A primeira variação consiste em um decréscimo considerável na quantidade de carga consumida para a formação de Cu(II), na região entre -200 mV e 250 mV . A segunda é caracterizada pelo desenvolvimento de uma onda de oxidação entre 450 e 800 mV . Somente um pequeno decréscimo na corrente dos picos c_2 e c_3 foi observado após adição do analito. Aparentemente, isso se deve a um simples deslocamento da linha de base,

uma vez que as cargas consumidas sob esses picos são praticamente as mesmas antes e após a adição de ácido acetilsalicílico. O comportamento voltamétrico exibido na Figura 16 é semelhante ao observado para a oxidação de glicose sobre eletrodos de cobre em meio alcalino [227-229]. Marioli e Kuwana [227] sugeriram um possível mecanismo, responsável pelo decréscimo dos picos a_3 e a_4 na presença de glicose. Tal mecanismo consiste na interação (ou complexação) do carboidrato com espécies Cu(I) formadas na região de potenciais entre -400 mV e -200 mV, afetando a produção de Cu(II) e de espécies solúveis, sendo o composto resultante oxidado em potenciais mais positivos. Segundo os pesquisadores, o processo acima descrito não exclui o envolvimento de espécies Cu(III) na catálise. Em seus experimentos, utilizando eletrodo rotativo de disco-anel, foi demonstrado que Cu(III) apresenta um papel importante na oxidação da glicose.

Conforme já mencionado, quando o eletrodo de cobre é submetido a varreduras consecutivas entre -900 mV e 800 mV em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, o perfil resultante é, invariavelmente, aquele exibido na Figura 15B. Quando a varredura de potenciais é limitada entre 0 e 700 mV, o comportamento observado para o eletrodo recém-polido, após o primeiro ciclo, é tal como aquele ilustrado na Figura 17a. Nessa figura, o voltamograma apresenta o desenvolvimento de uma onda larga de oxidação durante a primeira varredura positiva. Essa onda anódica pode ser atribuída à formação de espécies solúveis, uma vez que ela ocorre na mesma região quando um intervalo mais amplo de potenciais (-900 mV a 800 mV) é empregado (ver Figura 15A). Tais espécies solúveis são formadas de acordo com a seguinte equação da reação redox [227]:



e a partir do equilíbrio de dissolução [227]:



Durante varreduras subseqüentes, a onda de oxidação desaparece e a curva resultante é aquela mostrada na Figura 17b. Observações semelhantes foram descritas por Prabhu e Baldwin [71], sendo que estes pesquisadores verificaram um máximo de corrente, durante a primeira varredura, em 450 mV (vs. Ag/AgCl KCl 3 mol L^{-1}). No entanto, eles empregaram velocidades de varredura mais baixas e um eletrodo quimicamente modificado, preparado pelo recobrimento de uma superfície de carbono vítreo com uma camada de Cu(II). De acordo com os autores, a onda observada durante a primeira varredura foi devida, provavelmente, à oxidação de Cu(II) a Cu(III). Miller [221] também descreveu um comportamento semelhante em seus estudos, observando um decréscimo rápido da onda de oxidação após

varreduras continuadas, e atribuiu a ocorrência desse fato experimental a um processo de passivação resultante da formação muito rápida de um filme.

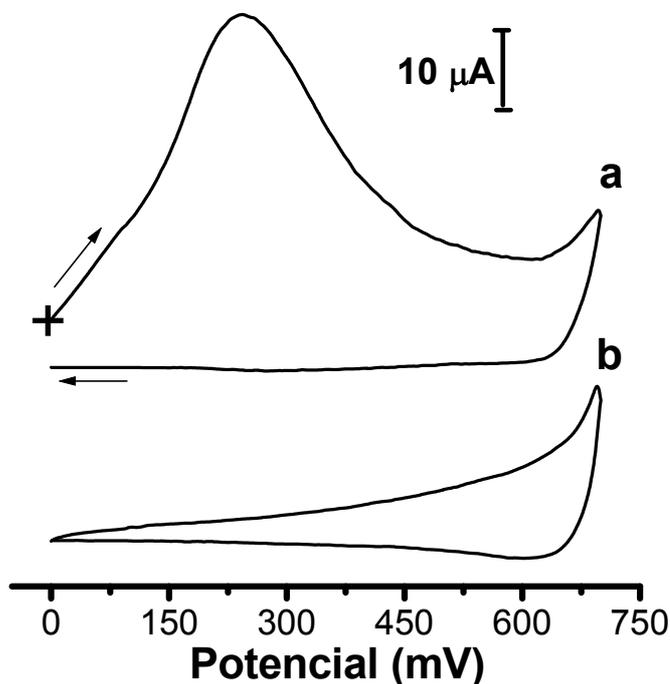


Figura 17. Voltamogramas cíclicos registrados para um eletrodo de cobre em NaOH 0,1 mol L⁻¹ após a primeira (a) e a quinta (b) varreduras. v : 50 mV s⁻¹; A : 0,05 cm².

Um perfil voltamétrico semelhante ao da curva b na Figura 17 foi observado por Johnson e colaboradores [230] para eletrodos de filmes de óxido de cobre (CuO) depositados eletroquimicamente sobre superfícies condutoras em soluções alcalinas contendo cianeto de cobre (I e II). Esses autores sugeriram que, durante a varredura positiva, somente a camada de CuO em contato com a solução eletrolítica foi convertida a um óxido de Cu(III), talvez CuO(OH). Eles propuseram que a conversão anódica de Cu(II) a Cu(III) tem início em potenciais maiores que 200 mV (vs. ECS) e sugeriram um mecanismo no qual a eletrocatalise de CN⁻ ocorre por um processo de mediação de transferência de oxigênio facilitado pela formação de sítios de Cu(III) na superfície de CuO.

Se considerarmos como verdadeiro o mecanismo envolvendo a interação do ácido acetilsalicílico com espécies Cu(I), como primeira etapa, tal como foi sugerido para a glicose [227], poderia-se esperar que a oxidação do analito não ocorresse, pelo menos em extensão apreciável, dentro do intervalo limitado de potenciais de 0 a 700 mV. Ou seja, quando o eletrodo é submetido a condições experimentais em que a varredura é feita somente entre 0 e 700 mV (Figura 17), admite-se que não há formação de espécies Cu(I) e, por conseqüência, nenhum composto se formaria para ser oxidado em potenciais mais positivos que 400 mV. Todavia, a mesma onda anódica atribuída à oxidação do ácido acetilsalicílico acima de 450 mV foi observada quando o eletrodo sofreu tratamento eletroquímico nos diferentes intervalos de potenciais

de -900 a 800 mV e de 0 a 700 mV. Isso pode ser confirmado por análise da Figura 18. Nessa figura, a pequena diferença entre os valores de corrente, observada para as curvas b e d acima de 450 mV, é atribuída principalmente à diferença nas concentrações de ácido acetilsalicílico empregadas. Dessa forma, parece óbvio que o processo envolvendo a oxidação do analito acima de 450 mV não tem relação com o fenômeno que ocorre entre -250 mV e 200 mV, assinalado pelo decréscimo dos picos a_3 e a_4 quando da adição do analito (Figuras 16 e 18A).

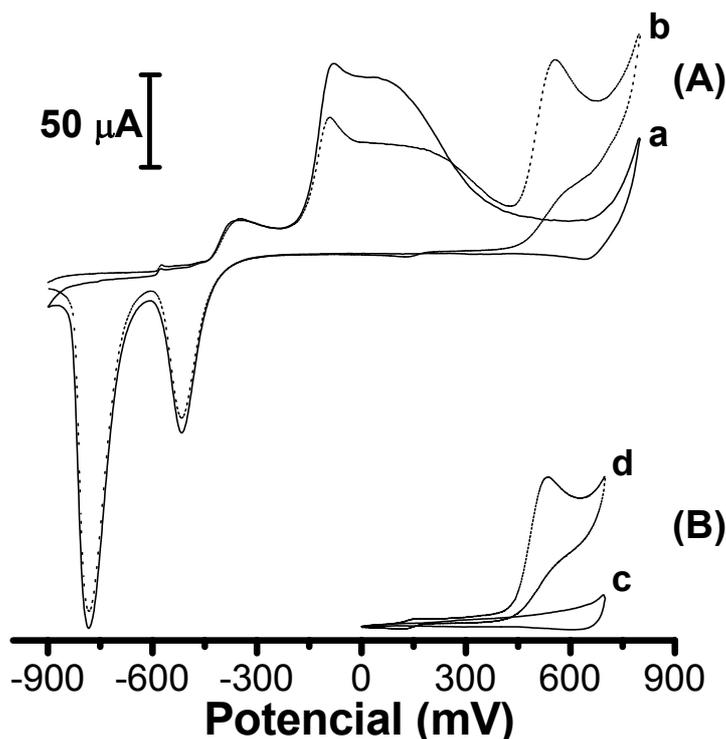


Figura 18. Voltamogramas cíclicos registrados para um eletrodo de cobre, em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, entre -900 e 800 mV (A) e 0 e 700 mV (B), antes (a e c) e após adição de ácido acetilsalicílico $4,6 \text{ mmol L}^{-1}$ (b) ou $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ (d) (concentrações finais). v : 50 mV s^{-1} ; A : $0,05 \text{ cm}^2$.

A formação de espécies solúveis de oxi-hidróxidos de Cu(III) tem sido descrita em estudos realizados com eletrodos rotativos de disco-anel [221]. Esse processo eletroquímico é altamente dependente da concentração de hidróxido e da formação prévia de uma camada específica de óxido de Cu(II) [76]. Tem-se sugerido, como explicação do bom desempenho de eletrodos de cobre em meio alcalino em processos anódicos de várias substâncias orgânicas, a participação de Cu(III) como mediador em reações de transferência de elétrons. Em nossos estudos, os voltamogramas mostrados nas Figuras 16 e 18 também demonstram a utilidade de um substrato de cobre para a oxidação do ácido acetilsalicílico. No entanto, o mecanismo envolvendo esse processo eletroquímico não foi elucidado.

A oxidação do ácido acetilsalicílico (AAS) foi estudada para diferentes materiais de eletrodo em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos para os eletrodos de carbono vítreo, platina, ouro e cobre são mostrados na Figura 19. Para efeito de comparação,

também são mostrados os voltamogramas cíclicos obtidos sob condições experimentais idênticas, mas na ausência do analito (curva a).

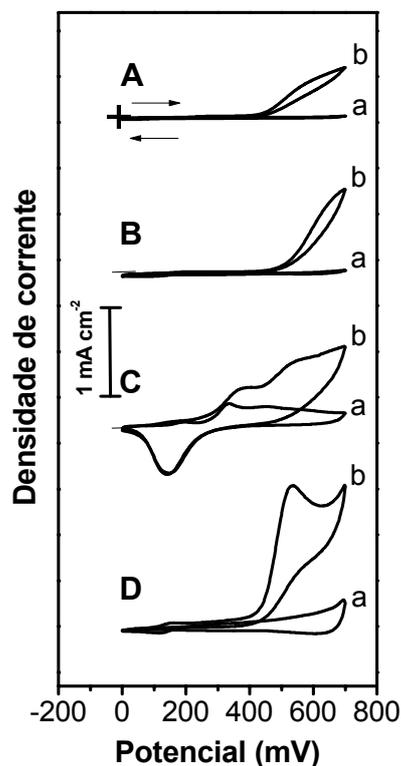


Figura 19. Voltamogramas cíclicos de eletrodos de carbono vítreo (A), platina (B), ouro (C) e cobre (D) em NaOH 0,1 mol L⁻¹ antes (a) e após (b) adição de ácido acetilsalicílico 3,67 x 10⁻³ mol L⁻¹ (concentração final). Área dos eletrodos: (A) 0,07, (B) 0,07, (C) 0,03 e (D) 0,05 cm²; v: 50 mV s⁻¹.

Para todos os sistemas de eletrodo estudados, um processo anódico é observado durante a varredura positiva devido à oxidação do ácido acetilsalicílico, com início em potenciais acima de 300 mV. A corrente começa a aumentar entre 400 e 450 mV para os eletrodos de carbono vítreo, platina e cobre (curvas A-b, B-b e D-b, respectivamente). Para o eletrodo de ouro, o processo inicia em potenciais menos positivos, em torno de 330 mV (curva C-b). Os perfis voltamétricos em todos os sistemas mostraram uma única onda anódica irreversível, mas somente o eletrodo de cobre apresentou uma onda bem definida (corrente de pico em 530 mV). Além disso, a magnitude de corrente anódica para o eletrodo de cobre foi maior do que aquelas observadas para os outros sistemas. Isto é uma clara indicação de que um desempenho eletroquímico mais favorável para a oxidação do ácido acetilsalicílico é obtido em uma superfície de cobre.

A Figura 20 apresenta voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de cobre em NaOH 0,1 mol L⁻¹ contendo o ácido acetilsalicílico em diferentes concentrações. O sinal observado para cada concentração de AAS foi muito estável e reprodutível. Essa característica foi verificada mesmo após ciclos repetitivos (10 ciclos), com os sinais tornando-se estáveis após o segundo ciclo. Uma relação bastante linear entre a magnitude de corrente e a concentração do AAS, ilustrada no detalhe da Figura 20,

demonstra a possibilidade de empregar o eletrodo de cobre na quantificação de ácido acetilsalicílico.

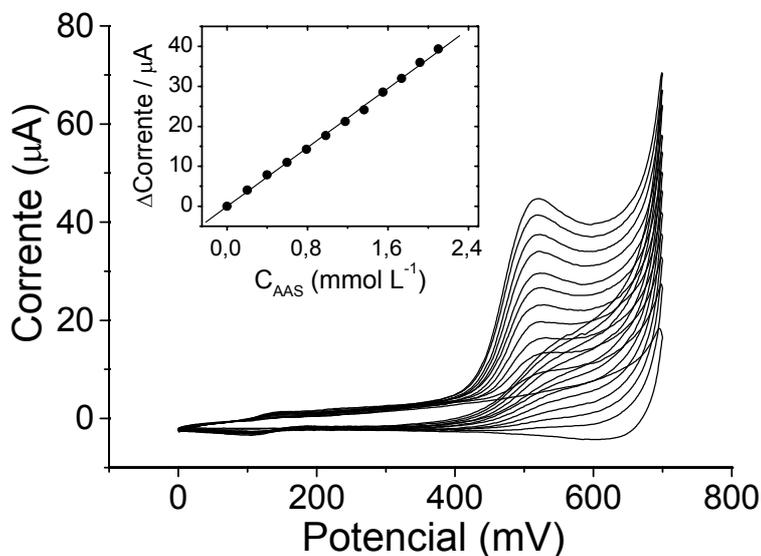


Figura 20. Voltamogramas cíclicos obtidos para um eletrodo de cobre em solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ contendo ácido acetilsalicílico em diferentes concentrações (0 a 2,1 mmol L⁻¹). v : 50 mV s⁻¹; A : 0,05 cm².

4.1.2. Batch injection analysis

Curvas de calibração e estudos de repetibilidade

Uma série de experimentos em triplicata foi conduzida para construir as curvas de calibração. A linearidade entre os sinais de corrente obtidos por BIA e a concentração do analito foi estabelecida dentro do intervalo de $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, com uma regressão linear dando um coeficiente de correlação de 0,9998 (Figura 21).

Um limite de detecção de $4,8 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ foi estimado (3 vezes o desvio padrão do branco [231]). Mesmo em concentrações tão baixas quanto aquelas situadas entre $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, os valores de corrente mostraram-se muito favoráveis à relação sinal/ruído, apresentando uma linha de base muito estável (Figura 22). Faz-se importante, desde já, chamar a atenção para os bons resultados que podem ser obtidos utilizando BIA. Os picos mostraram-se bem definidos, com queda rápida da corrente amperométrica ao término da injeção, indicando uma alta dispersão do analito. Os bons resultados também se caracterizam pela ausência de efeito de memória, mesmo se soluções de ácido acetilsalicílico em concentrações muito diferentes são empregadas (ver Figura 22).

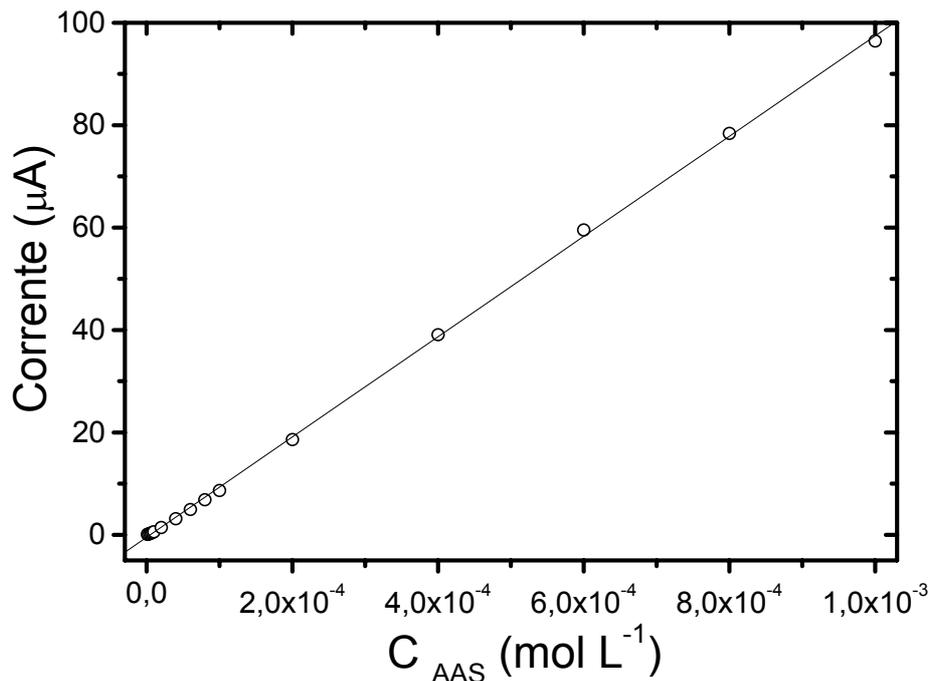


Figura 21. Curva de calibração construída a partir dos resultados obtidos por BIA/amperometria, após injeções em triplicata de soluções de ácido acetilsalicílico em concentrações variando de $1,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹.

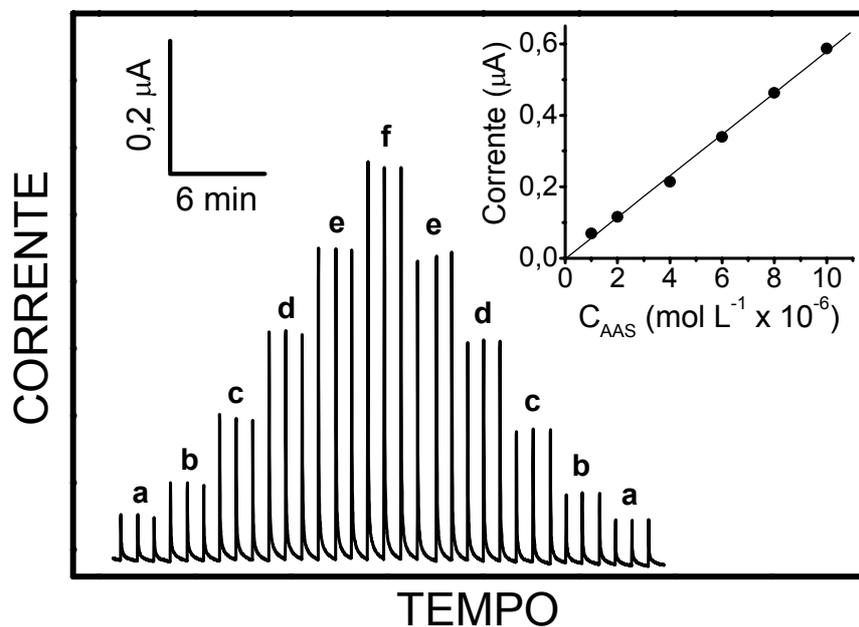


Figura 22. Resultados BIA para um eletrodo de cobre em NaOH $0,1$ mol L⁻¹, após injeções de soluções de ácido acetilsalicílico (a) $1,0$, (b) $2,0$, (c) $4,0$, (d) $6,0$, (e) $8,0$ e (f) $10,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. O detalhe mostra a curva de calibração correspondente. V_{inj} : $100\mu\text{L}$; v_f : $75,3 \mu\text{L s}^{-1}$; E : $0,53$ V; A : $0,05$ cm².

Em concentrações acima de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, a curva de calibração perdeu a linearidade como resultado de uma possível saturação do sistema, conforme se observa na Figura 23.

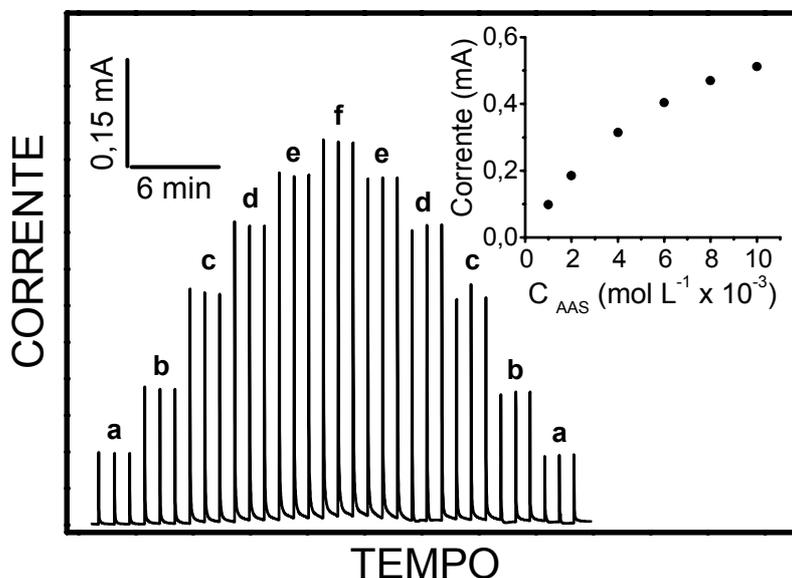


Figura 23. Resultados BIA para um eletrodo de cobre em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, após injeções de soluções de ácido acetilsalicílico (a) $1,0$, (b) $2,0$, (c) $4,0$, (d) $6,0$, (e) $8,0$ e (f) $10,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. O detalhe mostra a curva de calibração correspondente. V_{inj} : $100 \mu\text{L}$; v_f : $75,3 \mu\text{L s}^{-1}$; E : $0,53 \text{ V}$; A : $0,05 \text{ cm}^2$.

Os sinais obtidos após injeções repetitivas de $100 \mu\text{L}$ de ácido acetilsalicílico $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ são mostrados na Figura 24. Trinta injeções do analito apresentaram um valor médio de corrente de $8,97 \mu\text{A}$, com um desvio padrão relativo de apenas $0,37\%$. As injeções foram conduzidas com uma frequência de 60 determinações por hora. A repetibilidade extraordinária da resposta amperométrica foi atribuída principalmente ao bom desempenho do eletrodo de cobre.

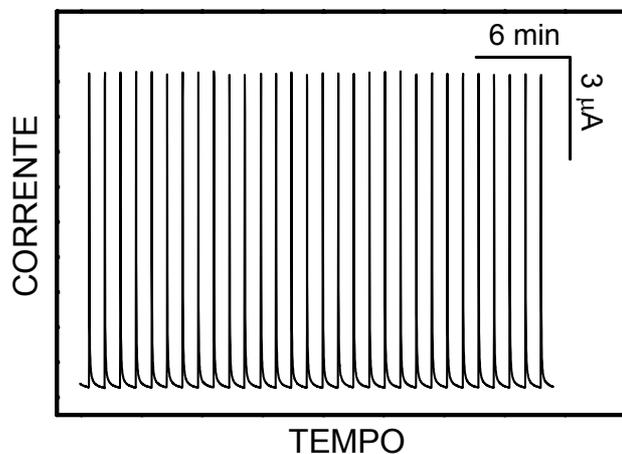


Figura 24. Resultados BIA após injeções repetitivas de uma solução padrão de ácido acetilsalicílico $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. $V_{inj} = 100 \mu\text{L}$; v_f : $75,3 \mu\text{L s}^{-1}$; E : $0,53 \text{ V}$; A : $0,05 \text{ cm}^2$.

Quantificação de ácido acetilsalicílico, como salicilato, em fármacos

Para a quantificação do analito em formulações farmacêuticas, sete diferentes produtos foram empregados. A Figura 25 apresenta os resultados de BIA obtidos para essas amostras e para injeções de soluções padrão em diferentes concentrações ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). A proporcionalidade entre a corrente amperométrica e a concentração dos padrões pode ser confirmada observando a curva de calibração ilustrada no detalhe da Figura 25.

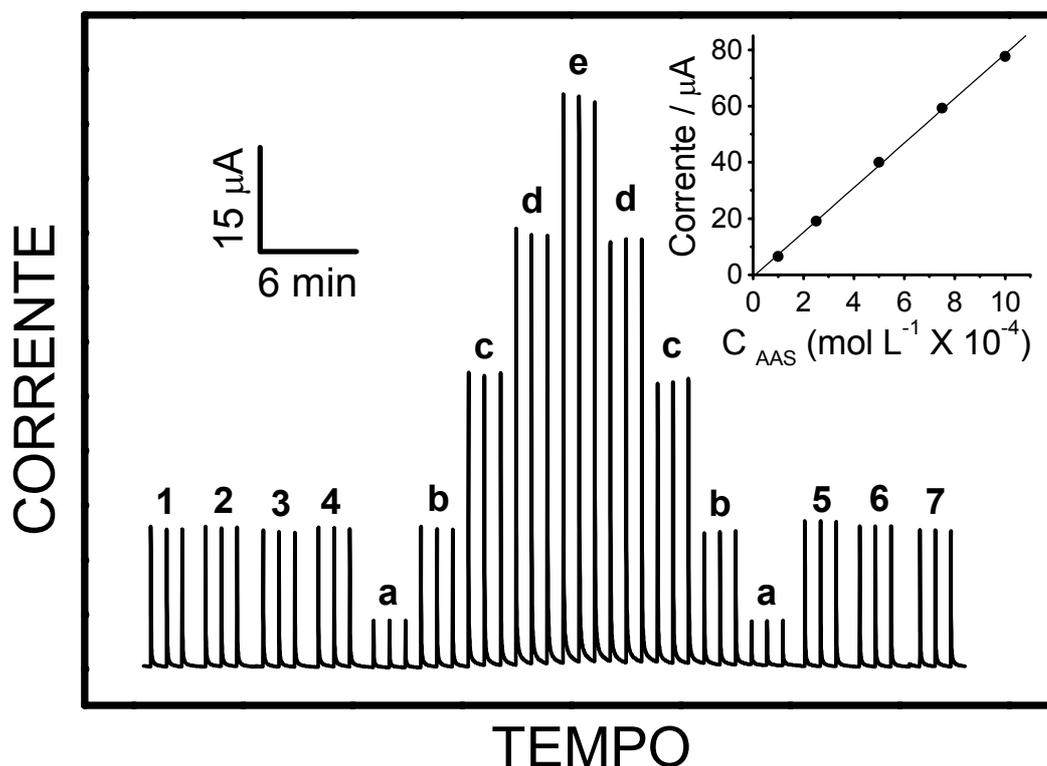


Figura 25. Resultados BIA para a análise de ácido acetilsalicílico em sete diferentes amostras, utilizando um eletrodo de cobre em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Detalhe: curva de calibração construída para soluções padrão de AAS (a) $1,0$, (b) $2,5$ (c) $5,0$, (d) $7,5$ e (e) $10,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. V_{inj} : $100 \mu\text{L}$; v_f : $75,3 \mu\text{L s}^{-1}$; E : $0,53 \text{ V}$; A : $0,05 \text{ cm}^2$.

Para efeito de comparação, os teores de ácido acetilsalicílico também foram determinados mediante emprego da técnica espectrofotométrica. Para tanto, utilizou-se o procedimento descrito na seção 3.6.3. Os resultados atingidos para todas as amostras, comparados com aqueles obtidos pelo método espectrofotométrico, apresentaram erros relativos variando de 0,4% a 1,6% e estão resumidos na Tabela 4.

Compostos como cafeína, carbonato de cálcio e óxido de magnésio, bem como componentes coloridos contidos nos comprimidos, não afetaram os resultados das

análises. A boa correlação entre os dados experimentais obtidos pelos métodos amperométrico e espectrofotométrico pode ser vista no gráfico exibido na Figura 26. Para este gráfico, a regressão linear apresentou coeficientes angular e linear próximos da unidade e de zero, respectivamente ($0,995 \pm 0,033$ e $0,0007 \pm 0,0178$).

Tabela 4. Resultados obtidos após análise de ácido acetilsalicílico em sete diferentes amostras de produtos farmacêuticos.

Amostra	Composição	Valor nominal (mg)	Amperometria \pm DP (mg) ^a	Espectrofotometria \pm DP (mg) ^a
1	AAS ^b , cafeína	500	498 \pm 6	504 \pm 2
2	AAS, cafeína	650	651 \pm 3	655 \pm 3
3	AAS, amido de milho	500	489 \pm 4	487 \pm 4
4	AAS, carbonato de cálcio, óxido de magnésio, carbonato de magnésio	500	499 \pm 3	491 \pm 6
5	AAS, cafeína	500	523 \pm 2	520 \pm 2
6	AAS, cafeína	650	659,0 \pm 0,1	650 \pm 8
7	AAS	500	490 \pm 1	487 \pm 2

^a Média \pm desvio padrão de três determinações.

^b AAS: ácido acetilsalicílico.

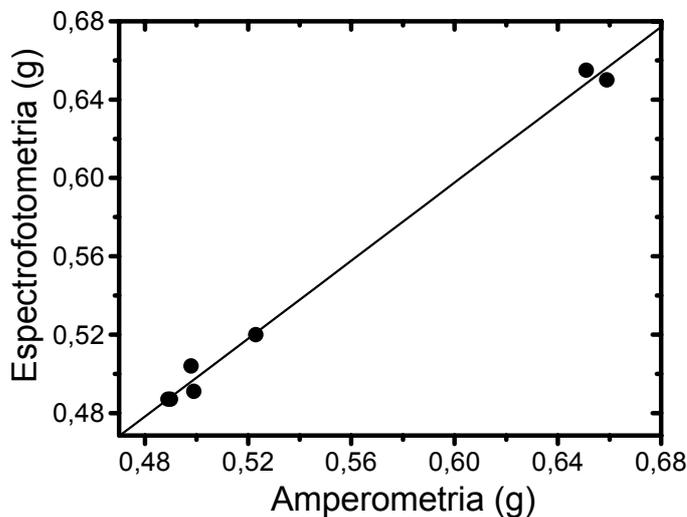


Figura 26. Gráfico comparativo dos resultados obtidos pelos métodos amperométrico e espectrofotométrico após análise de ácido acetilsalicílico em sete diferentes amostras comerciais de produtos farmacêuticos.

4.2. QUANTIFICAÇÃO DE SULFATO DE SALBUTAMOL UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO EM MEIO ALCALINO

4.2.1. Estudos voltamétricos

A eletroquímica do salbutamol ainda não está bem estabelecida. Com base em estudos relatados em poucos artigos publicados [178-180], verifica-se que o sinal eletroquímico é muito dependente das condições experimentais. Dessa forma, na busca das condições mais favoráveis para a análise do salbutamol por BIA associada a amperometria, alguns estudos preliminares envolvendo diversos materiais de eletrodo e diferentes eletrólitos suporte foram realizados.

A Figura 27 apresenta os voltamogramas cíclicos para diferentes sistemas de eletrodo em NaOH 3,0 mol L⁻¹, antes e após a adição de sulfato de salbutamol. Comparando esses resultados, a resposta do eletrodo de carbono vítreo (Figura 27A) à oxidação do analito é indubitavelmente mais favorável do que aquelas atingidas por eletrodos de cobre, ouro e platina (Figura 27B, C e D, respectivamente).

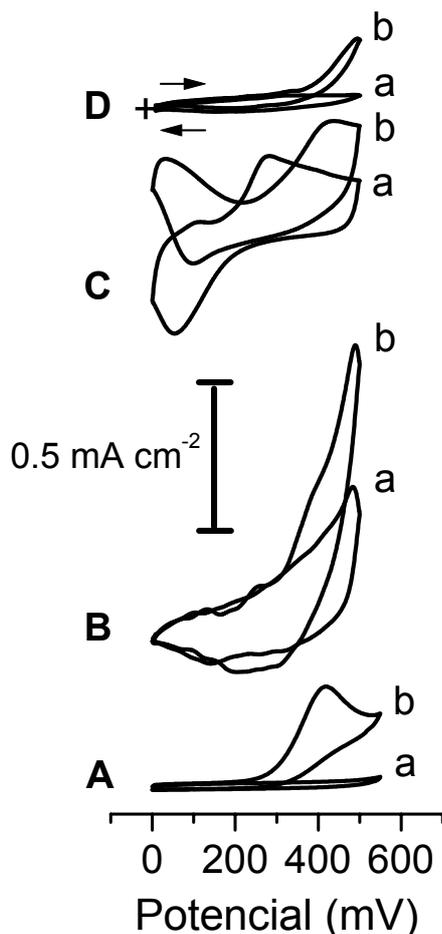


Figura 27. Voltamogramas cíclicos de eletrodos de carbono vítreo (A), cobre (B), ouro (C) e platina (D) em NaOH 3,0 mol L⁻¹, na ausência (a) e na presença (b) de sulfato de salbutamol 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹. Área dos eletrodos: (A) 0,07, (B) 0,05, (C) 0,03 e (D) 0,07 cm²; v: 50 mV s⁻¹.

Em soluções menos concentradas de NaOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), a resposta voltamétrica fornecida pelo eletrodo de cobre também foi satisfatória quando comparada com os resultados observados para o eletrodo de carbono vítreo. No entanto, ambos materiais apresentaram problemas associados ao envenenamento da superfície dos eletrodos, possivelmente causados pela adsorção de produtos da reação. Esse problema pôde ser contornado quando soluções de NaOH suficientemente concentradas, por exemplo $3,0 \text{ mol L}^{-1}$, foram empregadas. Isso foi confirmado após avaliação do desempenho de ambos eletrodos quando acoplados a BIA. No entanto, os sinais amperométricos obtidos por BIA revelaram uma repetibilidade superior, com uma linha de base mais estável, para o eletrodo de carbono vítreo. Tais resultados foram decisivos na escolha desse sensor para os estudos posteriores. A solução de NaOH $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi eleita para uso como eletrólito suporte devido a duas razões principais: sob tais condições, os problemas relacionados ao envenenamento do eletrodo de carbono vítreo são eliminados e, ainda, a oxidação do salbutamol em meio alcalino ocorre em regiões de potenciais menos positivos, minimizando os problemas que envolvem a presença de interferentes. Na Figura 28, são apresentados alguns resultados obtidos por voltametria de pulso diferencial e em que se verifica a última afirmação.

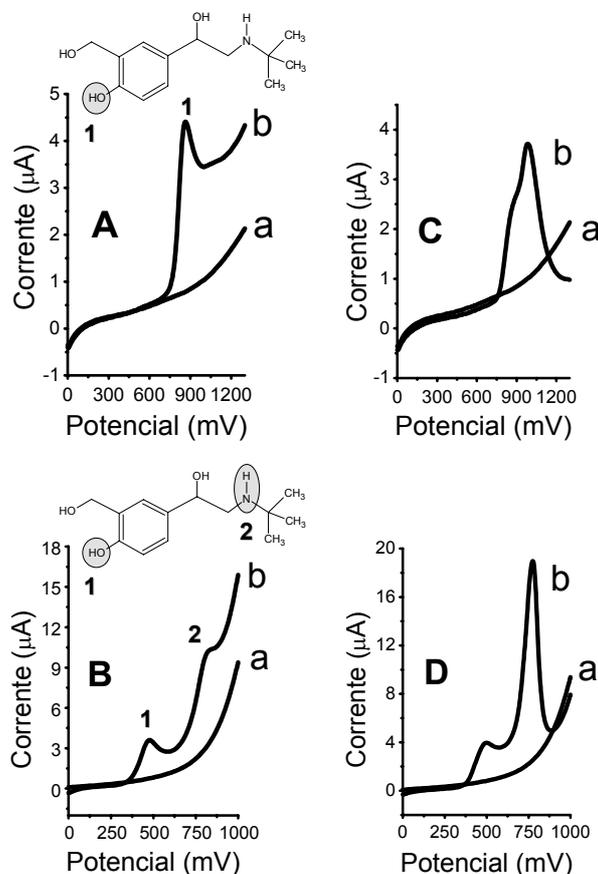


Figura 28. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para um eletrodo de carbono vítreo em solução tampão acetato de sódio/ácido acético $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (A e C) e em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (B e D), antes (a) e após (b) adição de sulfato de salbutamol $2,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (concentração final) (para A e B), ou antes (a) e após (b) diluição de uma amostra de xarope contendo sulfato de salbutamol (para C e D). A: $0,07 \text{ cm}^2$; $v: 10 \text{ mV s}^{-1}$.

Em meio ácido, a oxidação de sulfato de salbutamol ocorre em regiões de potenciais bastante positivos ($E_{p,a} = 860$ mV), sendo o processo provavelmente atribuído à oxidação dos grupos hidroxifenólicos da molécula (Figura 28A). Esse processo também pode ser observado em meio alcalino, mas em potenciais menos positivos ($E_{p,a} = 475$ mV), conforme se verifica no pico de oxidação 1 assinalado na Figura 28B. Um segundo evento observado somente em meio alcalino (Figura 28B, pico 2), com máximo de corrente em $E = 835$ mV, foi atribuído à oxidação dos grupos amino [180]. Esses grupos podem ser oxidados somente na forma não protonada e em potenciais mais altos do que os grupos hidroxifenólicos, ou seja, os grupos amino não são eletroativos em meio ácido [180]. Estudos descritos na literatura [179] revelam que o potencial de pico anódico ($E_{p,a}$) é fortemente influenciado pelo pH, deslocando-se para valores menos positivos com o aumento da alcalinidade do meio. Dessa forma, o pico de oxidação 1 é antecipado, podendo atingir um valor de $E_{p,a}$ de 420 mV quando soluções de NaOH $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ são empregadas (Figura 27). Do ponto de vista da eletroanálise, tal fato experimental vem a ser vantajoso, uma vez que muitos problemas causados por interferência de outras substâncias eletroativas (por exemplo, os parabenos) podem ser minimizados. Os voltamogramas de pulso diferencial ilustrados nas Figuras 28C e 28D correspondem aos sinais registrados quando uma amostra complexa de xarope é diluída em meio ácido de tampão acetato e em meio alcalino de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Em meio ácido, um segundo pico anódico é observado em 985 mV como resultado da oxidação de metilparabeno e propilparabeno presentes na amostra (Figura 28C). Este processo eletroquímico ocorre em potenciais muito próximos àqueles observados para a oxidação do salbutamol, indicando que o uso de meio ácido é inadequado para a análise de amostras complexas. Em meio básico, os processos de oxidação dos parabenos e do grupo hidroxifenólico da molécula de salbutamol ocorrem em potenciais suficientemente distintos (Figura 28D). Por sua vez, a oxidação dos parabenos ocorre na mesma região dos grupos amino do salbutamol, resultando em valores de corrente muito maiores do que os correspondentes nas Figuras 28B e 28C. Pelo exposto, torna-se evidente a vantagem do uso de soluções alcalinas para distinguir o salbutamol de outras espécies eletroativas.

Um outro aspecto a ser considerado, conforme já mencionado, é o processo de envenenamento do eletrodo. De acordo com Sagar *et al.* [179], os produtos da reação de oxidação do salbutamol são adsorvidos sobre a superfície, levando à perda de atividade do eletrodo e afetando os experimentos subsequentes. Para minimizar esse problema, estratégias como renovação da superfície do sensor, mediante emprego de diferentes pré-tratamentos eletroquímicos, foram adotadas antes do início de cada

análise [178,179]. Uma vez que a técnica BIA/amperometria envolve um transiente de corrente, o processo de envenenamento do eletrodo também varia o sinal de maneira significativa, conforme será demonstrado na seção 4.2.3.

4.2.2. Estudos espectrofotométricos

A escolha de soluções muito concentradas de NaOH ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) como eletrólito suporte foi baseada nos melhores resultados obtidos em tal condição. No entanto, há que se considerar que em meio tão fortemente alcalino é possível ocorrer uma deterioração da solução de sulfato de salbutamol, levando à formação de produtos de degradação. Sendo assim, a hipótese de que a análise se baseia na determinação do analito na forma de um desses produtos não poderia ser desprezada. Objetivando averiguar tal hipótese, alguns espectros de absorbância na região do ultravioleta foram obtidos para soluções de sulfato de salbutamol em diferentes valores de pH. Na Figura 29 é exibido o espectro ultravioleta do analito em etanol 99%. A absorção máxima da radiação em 276-278 nm é confirmada por dados da literatura [232]. O máximo obtido em 225 nm também foi relatado em ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ [233] e em etanol [232]. Em nossos estudos, a absorção em 225 nm também foi observada em tais condições.

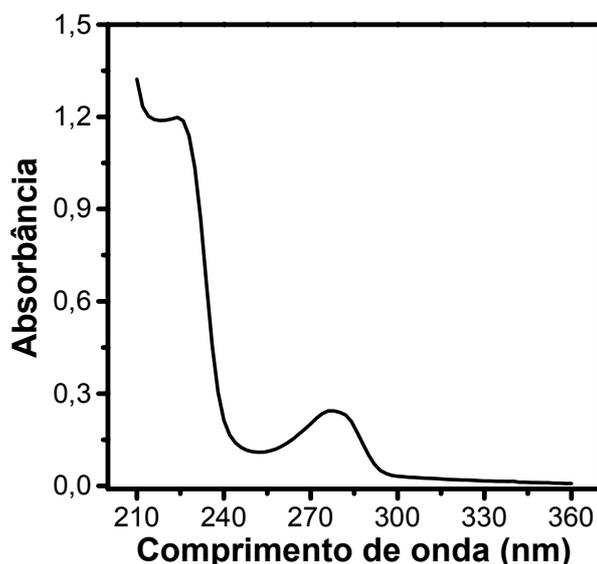


Figura 29. Espectro de absorção na região do ultravioleta obtido para uma solução de sulfato de salbutamol $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol 99%.

Uma vez que a banda de absorção com máximo em 276-278 nm se apresenta mais bem definida, os estudos com soluções de diferentes valores de pH foram limitados à região entre 244 e 360 nm. Na Figura 30 são mostrados os espectros obtidos para soluções de sulfato de salbutamol $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ preparadas com água

deionizada (a), HCl 0,01 (b) e 0,1 mol L⁻¹ (c) e NaOH 0,01 (d), 0,1 (e) e 3,0 mol L⁻¹ (f). O analito apresenta a mesma intensidade de absorvância, com valor máximo em 276 nm, quando presente em água e HCl 0,01 e 0,1 mol L⁻¹ (curvas a, b e c, respectivamente). Quando o pH do meio varia para valores altos (NaOH 0,01, 0,1 e 3,0 mol L⁻¹), um deslocamento batocrômico, acompanhado de um efeito hiperacrômico, é observado (curvas d, e e f, respectivamente).

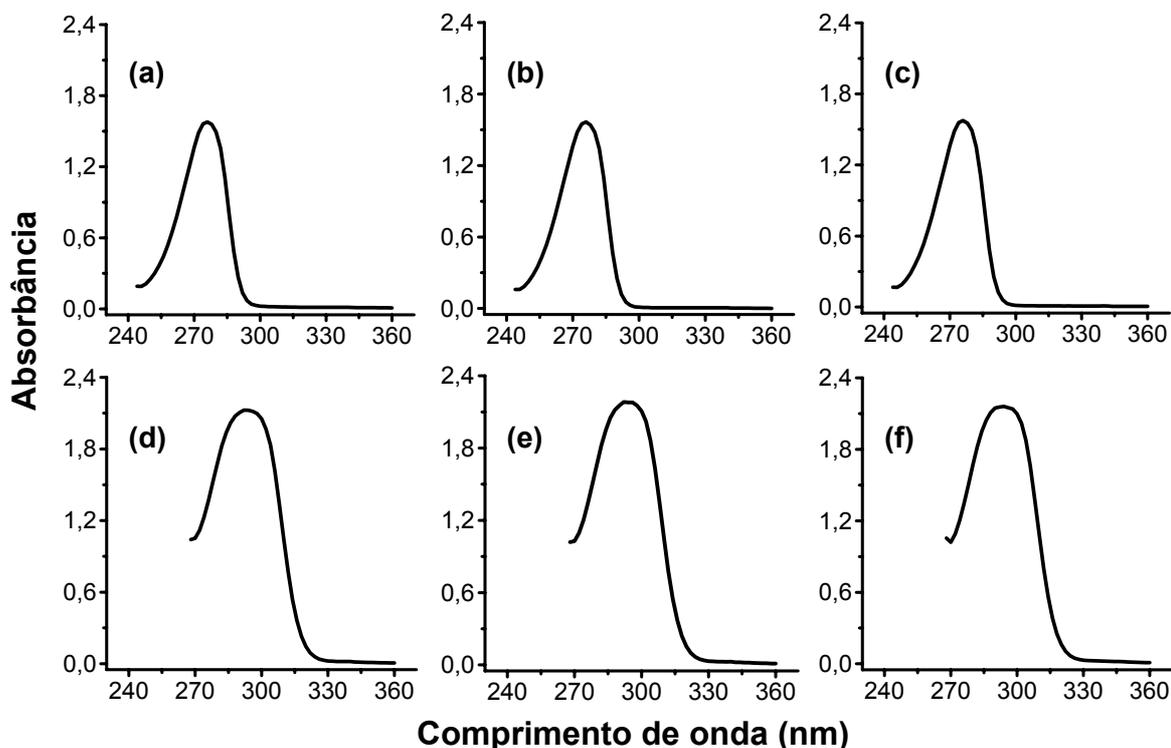


Figura 30. Espectros de absorvância na região do ultravioleta registrados para soluções de sulfato de salbutamol $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ preparadas com água (a), HCl 0,01 (b) e 0,1 mol L⁻¹ (c) e NaOH 0,01 (d), 0,1 (e) e 3,0 mol L⁻¹ (f).

Evans *et al.* [234] também observaram variação de 276 nm para 296 nm do máximo de absorvância de soluções de salbutamol com pH 2 e 12, respectivamente. Essa variação também foi acompanhada de um aumento da intensidade de absorção. Os pesquisadores compararam esses resultados com os obtidos, nas mesmas condições experimentais, para um metabólito isolado em ser humano. A comparação revelou que o metabólito não sofreu deslocamento batocrômico, havendo apenas uma diferença pouco significativa na intensidade de absorção quando o pH variou de 2 a 12 [234]. Voltando a atenção para a Figura 30, verifica-se que o uso de soluções de NaOH 3,0 mol L⁻¹ praticamente não altera o espectro de absorção (comparar curvas d, e e f). Sendo assim, pode-se admitir que o salbutamol não sofre alteração quando a concentração de NaOH varia de 0,01 a 3,0 mol L⁻¹.

4.2.3. Batch injection analysis

Para a técnica BIA, os processos de renovação de superfícies propostos em estudos previamente relatados [178,179] não são práticos. Durante ensaios preliminares do presente estudo, verificou-se que o eletrodo sofria envenenamento de maneira muito mais significativa em meio ácido do que em soluções alcalinas. Isso pode ser confirmado pela observação dos sinais amperométricos resultantes de injeções de soluções padrão de sulfato de salbutamol $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de carbono vítreo imerso em diferentes meios (Figura 31).

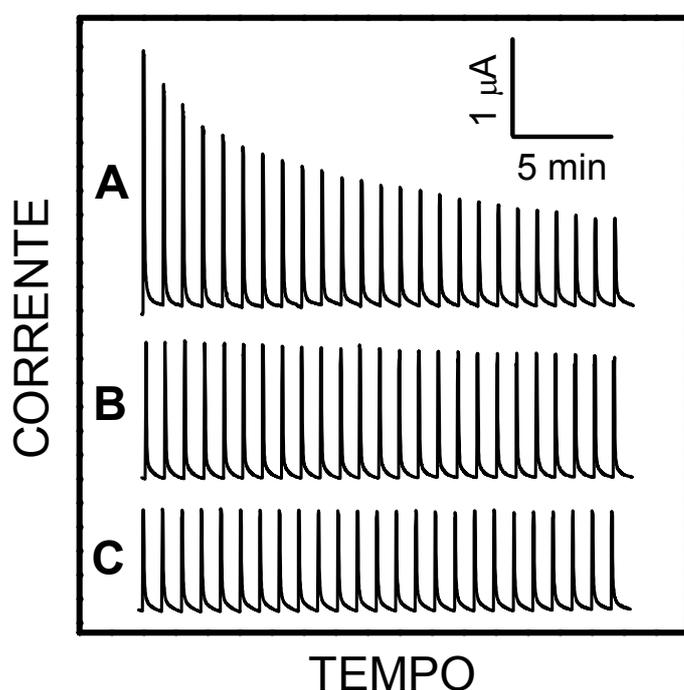


Figura 31. Resultados BIA obtidos para um eletrodo de carbono vítreo em soluções tampão fosfato, pH 5,8 (A), NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (B) e NaOH $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ (C), após injeções de sulfato de salbutamol $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. V_{inj} : $100 \mu\text{L}$; v_f : $24,5 \mu\text{L s}^{-1}$; A: $0,07 \text{ cm}^2$; E: (A) 860, (B) 480 e (C) 420 mV.

A primeira série de medidas (Figura 31A) foi obtida em tampão fosfato (pH 5,8) e mostra a expressiva diferença entre os meios ácido e alcalino. Para essa série, um decréscimo contínuo dos sinais de corrente é observado como resultado do rápido envenenamento da superfície do eletrodo. Após 25 injeções, o pico registrado exibiu um valor de corrente de apenas 35% do sinal original. Variando o eletrólito para NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 31B), o envenenamento do eletrodo diminuiu significativamente (10%, após 25 injeções). A utilização de NaOH $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte levou a repostas muito mais estáveis, sem qualquer decréscimo dos sinais, mesmo após muitas injeções do analito (Figura 31C). Esta condição experimental foi adotada em todos os experimentos posteriores.

Curvas de calibração e estudos de repetibilidade e de efeito de memória do analito

A Figura 32 mostra resultados de injeções seqüenciais de sulfato de salbutamol em duas concentrações diferentes: $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (a) e $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (b). Picos bem definidos e nenhum efeito de memória são observados, apesar do uso de níveis de concentrações bem diferentes.

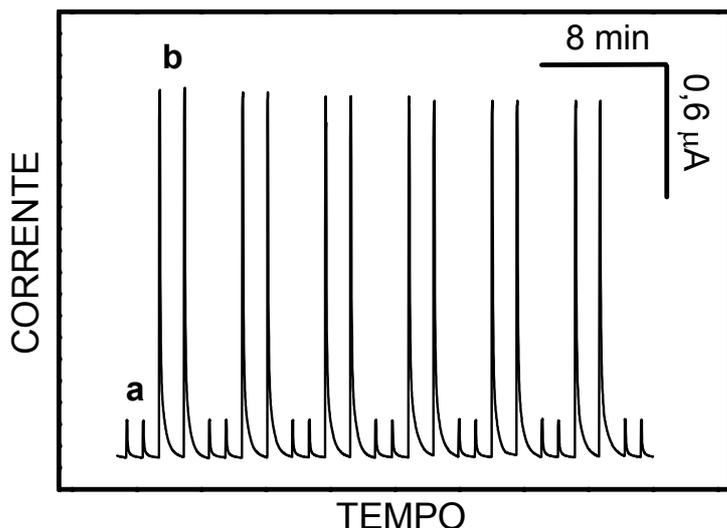


Figura 32. Resultados BIA obtidos para um eletrodo de carbono vítreo em NaOH $3,0 \text{ mol L}^{-1}$, após injeções alternadas de soluções de sulfato de salbutamol $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (a) e $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (b). V_{inj} : $100 \mu\text{L}$; v_f : $24,5 \mu\text{L s}^{-1}$; A: $0,07 \text{ cm}^2$; E: 420 mV .

A Figura 33 ilustra a resposta de uma série de 50 injeções consecutivas de sulfato de salbutamol $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, empregando uma frequência analítica de 60 injeções por hora. A altura dos picos de corrente permanece praticamente inalterada, revelando uma boa estabilidade em períodos relativamente longos. O desvio padrão relativo para a série completa foi de 0,92%. Tal desempenho vem corroborar a ausência dos processos de envenenamento da superfície do eletrodo em meios muito alcalinos.

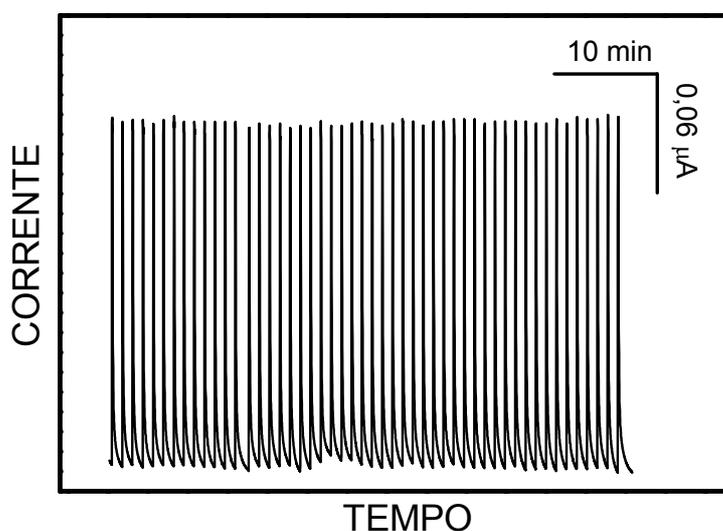


Figura 33. Resultados BIA obtidos após injeções de uma solução de sulfato de salbutamol $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando eletrodo de carbono vítreo em NaOH $3,0 \text{ mol L}^{-1}$. V_{inj} : $100 \mu\text{L}$; v_f : $24,5 \mu\text{L s}^{-1}$; A: $0,07 \text{ cm}^2$; E: 420 mV .

Com o intuito de determinar a relação linear entre os sinais de corrente amperométrica e a concentração de sulfato de salbutamol, vários experimentos envolvendo BIA foram realizados. A partir dos resultados obtidos, foi possível estabelecer uma curva analítica entre $8,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, de acordo com o que se observa na Figura 34. O limite de detecção foi estimado em $2,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (três vezes o desvio padrão do branco [231]).

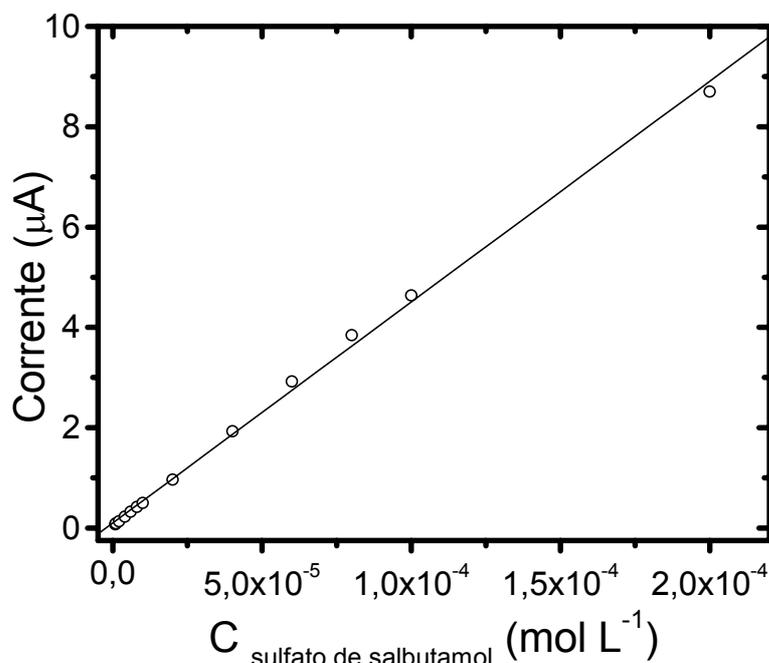


Figura 34. Curva de calibração construída a partir dos resultados obtidos por BIA/amperometria após injeções em triplicata de soluções de sulfato de salbutamol em concentrações variando de $8,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando eletrodo de carbono vítreo em $\text{NaOH } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$.

Quantificação de sulfato de salbutamol em xaropes

O método desenvolvido para a análise rápida de sulfato de salbutamol foi testado em xaropes de quatro diferentes formulações farmacêuticas comerciais. A Figura 35 exibe séries obtidas para duas amostras diferentes. Para tanto, cinco soluções padrão de sulfato de salbutamol, cujos valores de concentração situaram-se entre $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (a-e), foram injetadas, seguindo-se as injeções das amostras convenientemente diluídas (1 e 2).

A Tabela 5 traz os resultados obtidos para as quatro amostras de xarope analisadas. A comparação com o valor nominal indicado nas embalagens dos produtos farmacêuticos exibiu boa concordância, com erros relativos em torno de 3,5%. Em vista da falta de métodos-padrão descritos para a análise de salbutamol em

xaropes, a comparação dos resultados com um segundo método analítico não foi possível.

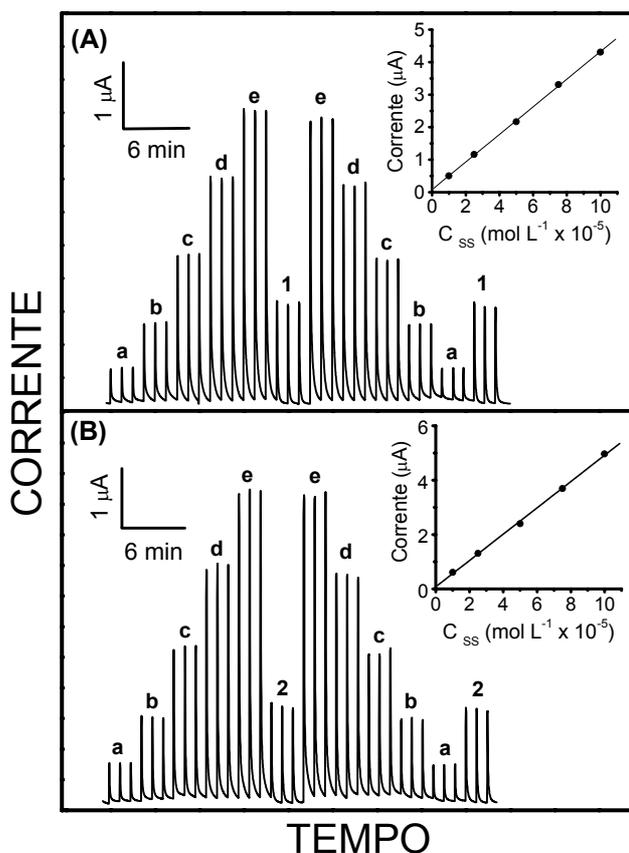


Figura 35. Resultados BIA obtidos após injeções de soluções padrão de sulfato de salbutamol (a) 1,0, (b) 2,5, (c) 5,0, (d) 7,5 e (e) 10,0 $\times 10^{-5}$ mol L $^{-1}$ e das amostras 1 (A) e 2 (B) de xaropes, utilizando eletrodo de carbono vítreo em NaOH 3,0 mol L $^{-1}$. Os detalhes mostram as curvas de calibração correspondentes. V_{inj} : 100 μ L; v_f : 24,5 μ L s $^{-1}$; A: 0,07 cm 2 ; E: 420 mV.

Tabela 5. Resultados obtidos para a análise de quatro diferentes amostras de xarope contendo sulfato de salbutamol como princípio ativo.

Amostra	Composição	Valor nominal (mg/5 mL)	BIA/amperometria \pm D.P. (mg/5 mL) ^a	Δ (%)
1	Sulfato de salbutamol, ácido cítrico, corante, aroma, hidroxietilcelulose, sacarina sódica, propilparabeno, metilparabeno, hidróxido de sódio, ciclamato sódico	2,4	2,47 \pm 0,11	(+) 3,1
2	Sulfato de salbutamol, ácido cítrico, citrato de sódio, hidroxietilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, benzoato de sódio, aroma, cloreto de sódio	2,4	2,30 \pm 0,17	(-) 4,0
3	Sulfato de salbutamol, sacarina sódica, propilparabeno, metilparabeno, corante, ciclamato sódico, ácido cítrico, aroma	2,4	2,45 \pm 0,38	(+) 2,5
4	Sulfato de salbutamol, sacarina sódica, propilparabeno, metilparabeno, corante, ciclamato sódico, ácido cítrico, aroma	2,4	2,47 \pm 0,32	(+) 3,0

^a Média \pm desvio padrão de nove determinações.

4.3. QUANTIFICAÇÃO DE ACETAMINOFEN UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO POR ADSORÇÃO DE CoTRP

4.3.1. Considerações sobre eletrodos de carbono vítreo modificados por CoTRP

A eletroquímica da molécula de porfirina polimetalada é muito rica devido à presença de múltiplos grupamentos eletroativos [216,235-237]. Os complexos de rutênio(II) com 2,2-bipiridina podem ser oxidados aos correspondentes complexos de rutênio(III), enquanto os ligantes bipiridina são reduzidos. O anel porfirínico pode ser oxidado ou reduzido gerando o cátion radical porfirina e o respectivo dicátion ou o ânion radical e o correspondente diânion. O metal central também é eletroquimicamente ativo. Esses processos redox são altamente dependentes das características do solvente utilizado e do intervalo de potencial empregado.

Quando o complexo $[\text{CoTPyP}\{\text{Ru}(\text{bipy})_2\text{Cl}_4\}]^{5+}$ é dissolvido em metanol e transferido para a superfície de um eletrodo de carbono vítreo, filmes aderentes podem ser formados após evaporação do solvente. Em soluções aquosas, os voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado pelo complexo exibem um único par de ondas dentro do intervalo de potenciais de 0,0 a 1,0 V, com valores de potenciais de pico anódico ($E_{p,a}$) e catódico ($E_{p,c}$) em torno de 760 mV e 690 mV, respectivamente (Figura 36).

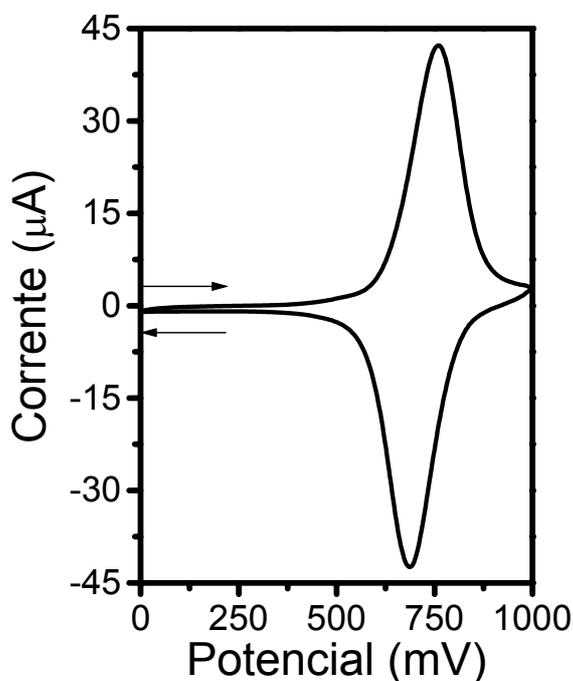


Figura 36. Voltamograma cíclico obtido para um eletrodo de carbono vítreo, modificado por um filme de CoTRP, em solução tampão Ac^-/HAc $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) + NaClO_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. v : 100 mV s^{-1} ; A : $0,07 \text{ cm}^2$.

As correntes de pico anódica ($I_{p,a}$) e catódica ($I_{p,c}$) têm praticamente a mesma intensidade e são separadas por 70 mV, sugerindo que o processo envolvido, atribuído ao par redox Ru^{III}/Ru^{II} , é quase idealmente reversível. Isso mostra que a cinética de reação não é diferente para os processos de oxidação e de redução. As correntes de pico são proporcionais à quantidade de complexo depositado sobre a superfície do eletrodo, indicando que o filme é um condutor redox. O comportamento eletroquímico do filme de CoTRP em solução aquosa foi discutido em estudos anteriores desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa [8,10,238]. A ação catalítica de filmes da porfirina tetrarrutenada de cobalto sobre a oxidação eletroquímica de NADH, dopamina, sulfito e nitrito foi relatada [8,10,12-14]. Inicialmente, fez-se necessário utilizar o contra-íon trifluorometanossulfonato (TFMS) como eletrólito suporte para minimizar a solubilização do filme porfirínico [8,12]. Posteriormente, as propriedades e aplicações analíticas de filmes eletrostaticamente organizados pela formação de camadas alternadas de complexos catiônicos de CoTRP e aniônicos de zinco meso-tetra(4-sulfonatofenil)porfirinato ($[ZnTPPS]^{4-}$) foram exploradas [10,13,14]. No presente estudo, a otimização dos processos de síntese da CoTRP permitiu a obtenção de filmes muito estáveis em meio de perclorato, sem a necessidade do uso de uma porfirina aniônica na construção dos filmes ou de um eletrólito de custo elevado, como o TFMS. A boa estabilidade do novo filme porfirínico em solução pode ser confirmada por observação da Figura 37, em que se verifica uma variação desprezível na resposta voltamétrica após mais de uma centena de varreduras repetitivas de potencial (150 ciclos).

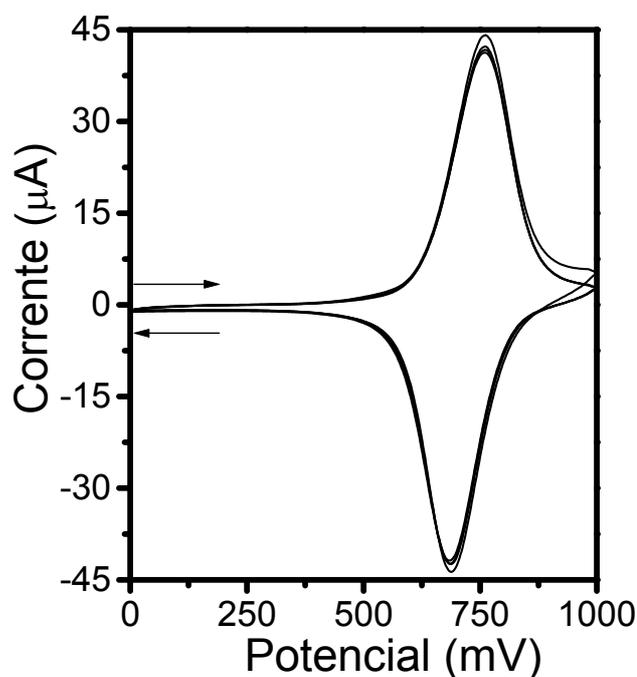


Figura 37. Registros dos 1º, 50º, 100º e 150º voltamogramas cíclicos de um eletrodo de carbono vítreo, modificado por um filme de CoTRP, em solução tampão Ac/HAc $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) + $NaClO_4$ $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. v : 100 mV s^{-1} ; A : $0,07 \text{ cm}^2$.

Este sensor apresentou utilidade na determinação de acetaminofen em produtos farmacêuticos comerciais, conforme descrito nas seções seguintes.

4.3.2. Estudos voltamétricos

A Figura 38 compara voltamogramas cíclicos registrados para o eletrodo de carbono vítreo livre de agente modificador (A) e modificado pela deposição da porfirina CoTRP (B). Para ambos sensores, a voltametria cíclica foi realizada em solução tampão Ac⁻/HAc 0,1 mol L⁻¹ + NaClO₄ 0,2 mol L⁻¹, antes e após a adição de acetaminofen em concentrações variando entre 0,2 e 1,1 x 10⁻³ mol L⁻¹.

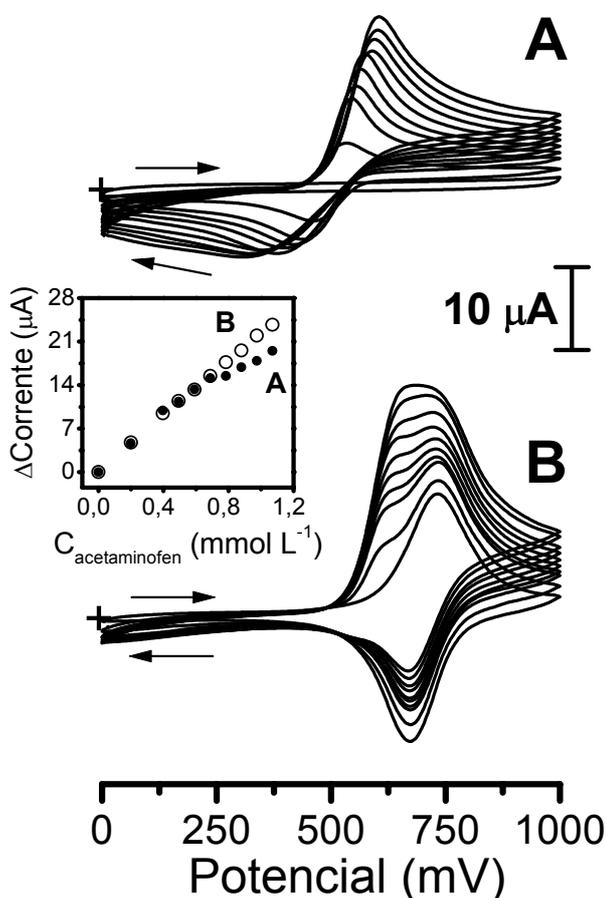


Figura 38. Voltamogramas cíclicos registrados para um eletrodo de carbono vítreo, antes (A) e após modificação por um filme de CoTRP (B), imerso em solução tampão Ac⁻/HAc 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,7) + NaClO₄ 0,2 mol L⁻¹ contendo acetaminofen em concentrações crescentes (0 a 1,1 x 10⁻³ mol L⁻¹). v: 50 mV s⁻¹; A: 0,07 cm². Detalhe: curva de calibração construída para soluções de acetaminofen em concentrações variando entre 0 e 1,1 x 10⁻³ mol L⁻¹, empregando o eletrodo modificado por CoTRP (○) e livre de agente modificador (●).

O processo eletroquímico envolvendo a oxidação de acetaminofen sobre o eletrodo não modificado mostra-se bastante irreversível, com uma onda de oxidação pronunciada, mas a de redução correspondente particularmente menor, principalmente em concentrações mais altas do analito. Além disso, o potencial de pico anódico (E_{p,a} ≅ 550 mV) é deslocado para valores mais positivos quando a concentração de acetaminofen aumenta. De fato, o gráfico de corrente em função da concentração

apresenta-se linear até $7,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Acima desse valor, o gráfico perde a linearidade. Isso mostra fortes evidências de que o processo envolvido é relativamente lento e que o sistema está se aproximando de condições de saturação dos sítios ativos. No entanto, experimentos envolvendo varreduras repetitivas de potencial, na presença de acetaminofen em concentrações altas, mostraram um decréscimo do sinal quando o eletrodo não modificado foi empregado. Já para o eletrodo modificado, um sinal constante foi obtido, sugerindo que o filme porfirínico também protege a superfície do eletrodo contra o envenenamento [10].

O processo eletroquímico permanece irreversível com o emprego do eletrodo modificado, como pode ser deduzido da ausência da onda de redução do acetaminofen nos voltamogramas da Figura 38. Os potenciais de pico anódicos relacionados à oxidação do acetaminofen foram deslocados para valores próximos a 620 mV, em comparação às respostas obtidas com o eletrodo não modificado. Por outro lado, o processo de transferência de elétrons tornou-se mais rápido, uma vez que a curva de calibração mostrou-se linear para todo o intervalo de concentração de $0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Esse comportamento é similar ao previamente observado para eletrodos de carbono vítreo modificados por CoTRP [8,10,12,86,238], indicando que o filme porfirínico atua como um mediador (Figura 39), em vez de permitir transferência direta de elétrons para a superfície do eletrodo. Nesse caso, a etapa lenta pode estar associada à reação de transferência de elétrons entre o substrato e os sítios ativos de Ru(III) no filme, porque os filmes porfirínicos são altamente condutores em regiões próximas ao potencial redox do par $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$ [86,239].

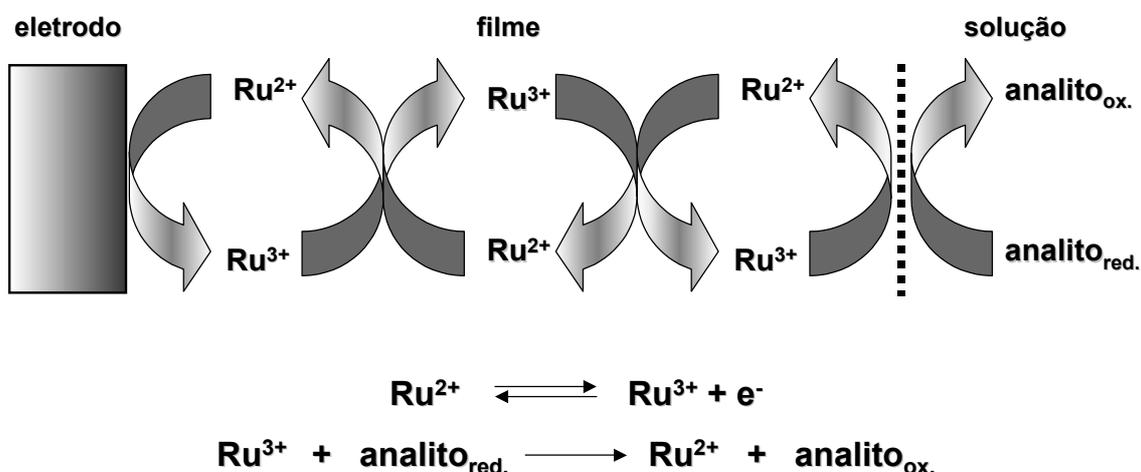


Figura 39. Representação esquemática da transferência de elétrons entre o analito e o substrato metálico, mediada pelos pares redox $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$ do filme porfirínico.

4.3.3. Batch injection analysis

O resultado de uma série de injeções (em triplicata) de soluções de acetaminofen em concentrações variando entre $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ é mostrado na Figura 40A.

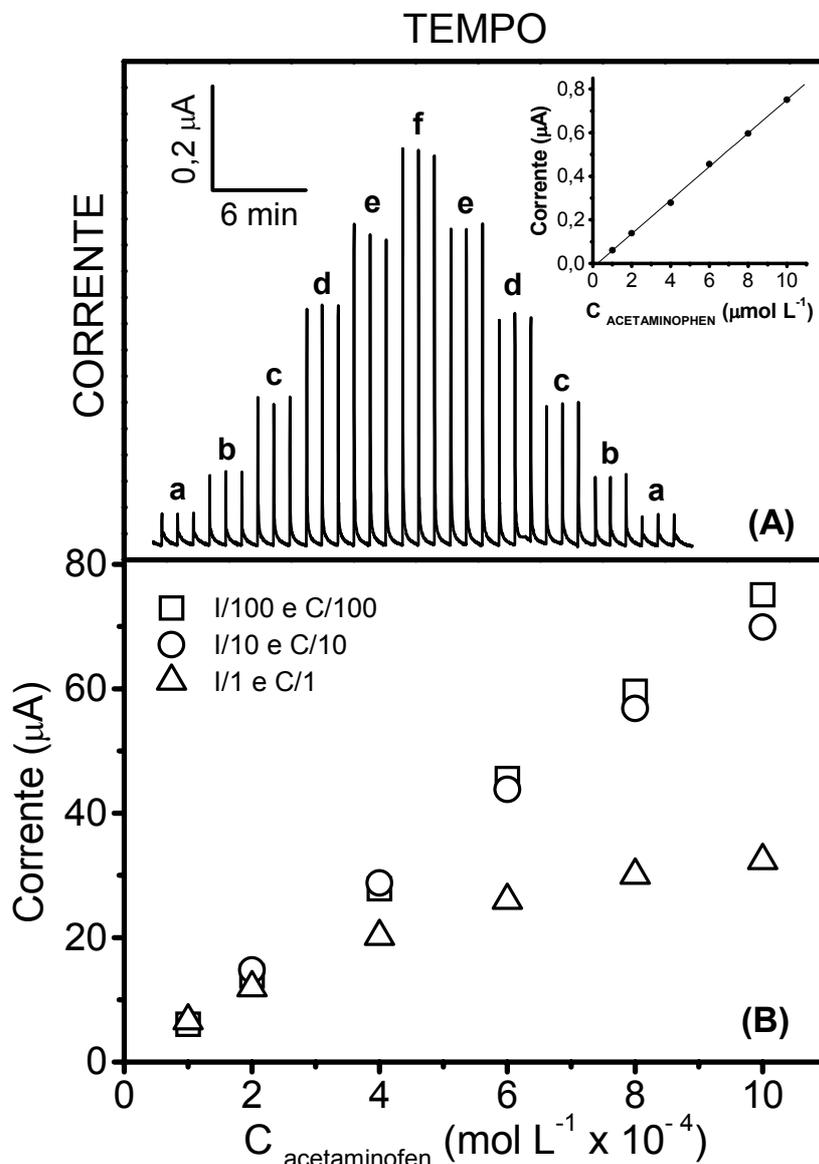


Figura 40. (A) Resultados BIA após injeções de soluções de acetaminofen (a) $1,0$, (b) $2,0$, (c) $4,0$, (d) $6,0$, (e) $8,0$ e (f) $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado por um filme de CoTRP. (B) Curvas de calibração construídas a partir das respostas amperométricas obtidas após injeções de soluções de acetaminofen em diferentes intervalos de concentração: (\square) $1,0 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, (\circ) $1,0 \times 10^{-5}$ a $10,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e (\triangle) $1,0 \times 10^{-4}$ a $10,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrólito suporte: solução tampão Ac^-/HAc $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) + NaClO_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$; V_{inj} : $100 \mu\text{L}$; v_f : $75,3 \mu\text{L s}^{-1}$; E : $0,65 \text{ V}$; A : $0,07 \text{ cm}^2$.

Uma resposta bastante linear foi atingida para esse intervalo de concentração. Praticamente, o mesmo resultado foi obtido para o intervalo de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, indicando que a sensibilidade do sensor se mantém. Para concentrações mais elevadas ($2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), um perfil não linear da curva analítica foi verificado, provavelmente devido a um comportamento relacionado à saturação dos sítios ativos (Figura 40B). O limite de detecção foi estimado em $1,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (três vezes o desvio padrão do branco [231]).

Os estudos de repetibilidade foram conduzidos empregando uma solução de acetaminofen $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. A Figura 41A mostra o resultado de uma série de 25 injeções sucessivas, feitas com uma frequência de 60 determinações por hora. Para esta série, um desvio padrão relativo de 1,76% foi calculado. Conforme se pode observar na Figura 41B, os picos de corrente obtidos são muito bem definidos. Verificou-se que o tempo necessário para o sinal atingir o valor máximo foi menor que 2 segundos, enquanto o tempo suficiente para o sinal atingir menos do que 2% do valor do máximo foi somente cerca de 27 segundos. Isso sugere que é possível trabalhar com frequências de 120 injeções por hora.

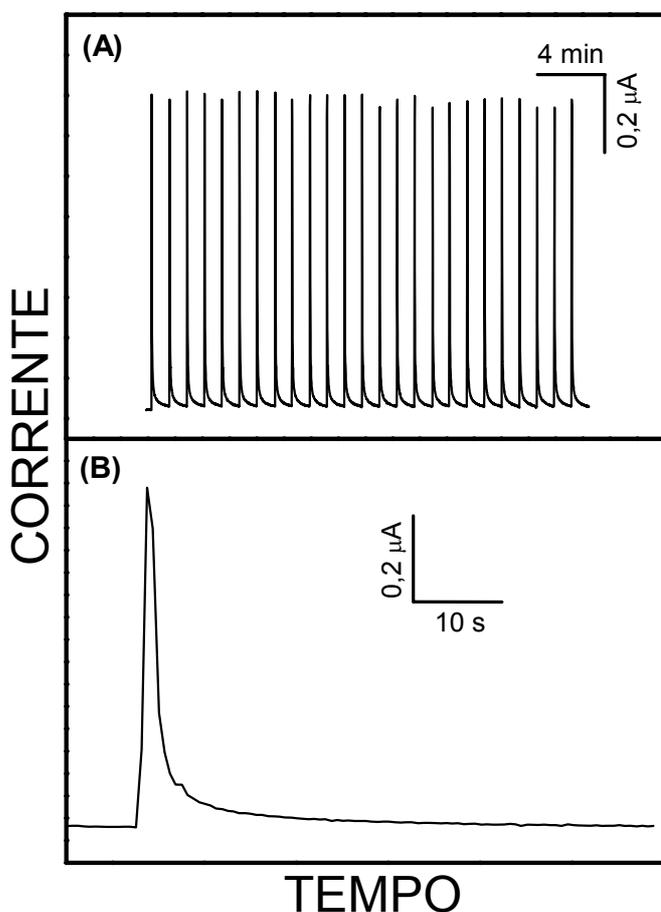


Figura 41. (A) Resultados BIA após injeções sucessivas de uma solução de acetaminofen $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando um eletrodo de carbono vítreo (modificado por um filme de CoTRP) em solução tampão Ac^-/HAc $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) + NaClO_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. (B) Vista ampliada de um pico registrado em (A). V_{inj} : $100 \mu\text{L}$; v_f : $75,3 \mu\text{L s}^{-1}$; E : $0,65 \text{ V}$; A : $0,07 \text{ cm}^2$.

Para avaliar a aplicabilidade do novo sensor, seis diferentes produtos farmacêuticos comerciais, contendo acetaminofen e outras substâncias, foram analisados. Resultados típicos obtidos para dois deles são mostrados na Figura 42. Os primeiros picos de cada série de medidas em triplicata correspondem a injeções de uma solução contendo somente a amostra (a). As séries seguintes estão relacionadas às soluções da amostra, às quais foram adicionadas quantidades crescentes do padrão (b-e). A Figura 42A exibe os resultados da análise da amostra 1, que contém somente um composto ativo misturado a vários outros componentes biologicamente inativos (ver Tabela 6). Os resultados obtidos para a amostra 6, que contém três diferentes ingredientes ativos usados como analgésico (propifenazona, cafeína e acetaminofen) são mostrados na Figura 42B. Em ambos casos (bem como para as demais amostras), uma correlação linear excelente foi estabelecida entre os sinais de corrente amperométrica e a concentração.

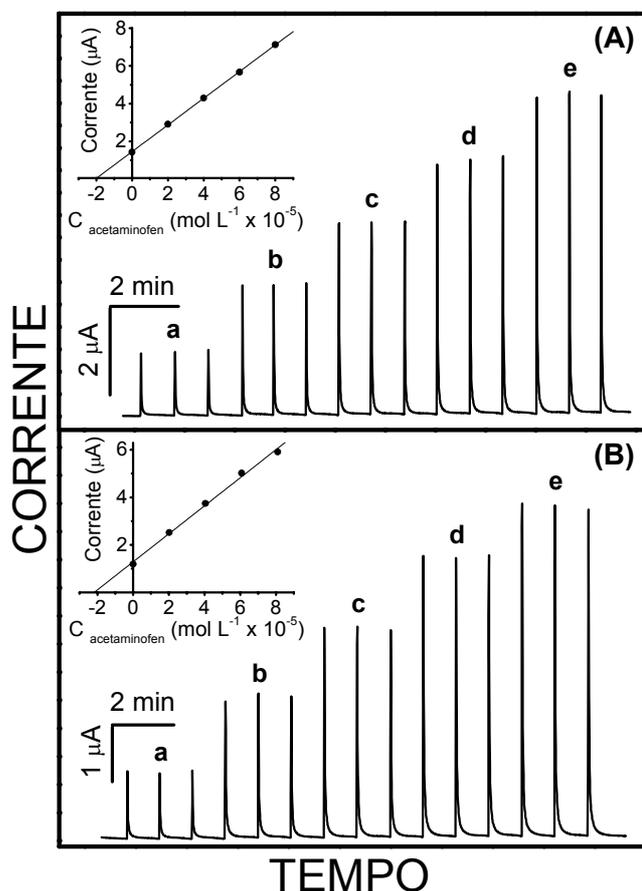


Figura 42. Respostas BIA obtidas para a análise de acetaminofen nas amostras 1 (A) e 6 (B) de produtos farmacêuticos, utilizando um eletrodo de carbono vítreo (modificado por um filme de CoTRP) em solução tampão Ac^-/HAc $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) + NaClO_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. V_{inj} : $100 \mu\text{L}$; v_f : $75,3 \mu\text{L s}^{-1}$; E : $0,65 \text{ V}$; A : $0,07 \text{ cm}^2$.

Os resultados das análises de todas as amostras estão reunidos na Tabela 6, onde é possível comparar os valores alcançados utilizando os métodos amperométrico e espectrofotométrico [217]. A composição de cada amostra é especificada na segunda coluna.

Tabela 6. Resultados experimentais obtidos após análise de acetaminofen em diferentes produtos farmacêuticos comerciais.

Amostra	Composição	Valor nominal (g)	BIA/amperometria \pm D.P. (g) ^a	Espectrofotometria \pm D.P. (g) ^a
1	Acetaminofen, celulose microcristalina, polivinilpirrolidona, dioctilsulfossuccinato de sódio, carboximetilcelulose, macrogol, estearato de magnésio, hidroxipropilmetilcelulose.	0,75	0,76 \pm 0,02	0,73 \pm 0,03
2	Acetaminofen, amido, glicolato amido sódico, ácido esteárico, sorbato de potássio, polividona.	0,75	0,68 \pm 0,01	0,69 \pm 0,02
3	Acetaminofen, cafeína, carisoprodol, diclofenaco sódico.	0,30	0,33 \pm 0,01	0,32 \pm 0,01
4	Acetaminofen, cafeína.	0,50	0,51 \pm 0,02	0,50 \pm 0,02
5	Acetaminofen, cafeína.	0,50	0,48 \pm 0,01	0,48 \pm 0,03
6	Acetaminofen, propifenazona, cafeína.	0,25	0,26 \pm 0,06	0,26 \pm 0,01

^a Média \pm desvio padrão de três determinações.

A correlação entre os dados experimentais foi muito boa. A inclinação e a intersecção do gráfico das concentrações de acetaminofen determinadas por amperometria e espectrofotometria apresentaram valores de 0,98 (\pm 0,03) e 0,002 (\pm 0,020), respectivamente, com um coeficiente de correlação maior que 0,998 (Figura 43). Além disso, os resultados também são coerentes com as concentrações do analito especificadas pelos fabricantes dos medicamentos.

Os filmes de CoTRP apresentaram durabilidade satisfatória. Nenhuma alteração significativa foi observada entre as respostas voltamétricas de um filme recém-preparado e do mesmo filme submetido às condições da análise por BIA, durante um dia inteiro (Figura 44). De maneira geral, o eletrodo de carbono vítreo modificado por adsorção da metaloporfirina apresentou boa estabilidade, podendo ser empregado nas análises durante uma semana, sem queda significativa da sensibilidade. Ressalta-se que a modificação da superfície do eletrodo é um procedimento muito simples e rápido, viabilizando o preparo diário dos filmes porfirínicos.

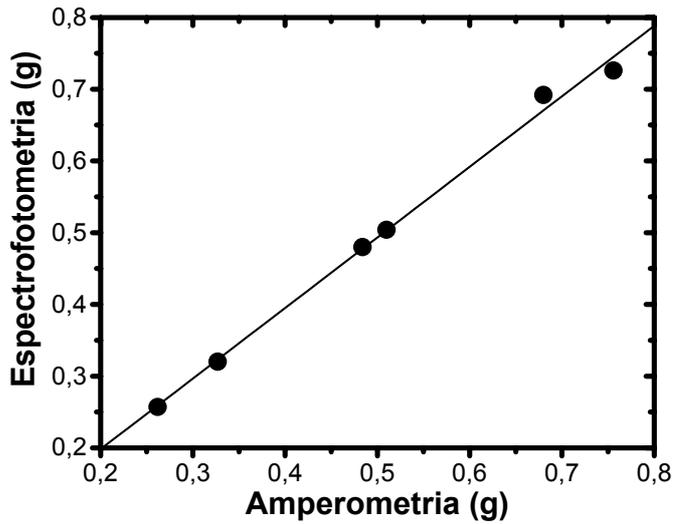


Figura 43. Gráfico comparativo dos resultados obtidos pelos métodos amperométrico e espectrofotométrico após análise de acetaminofen em seis diferentes amostras comerciais de produtos farmacêuticos.

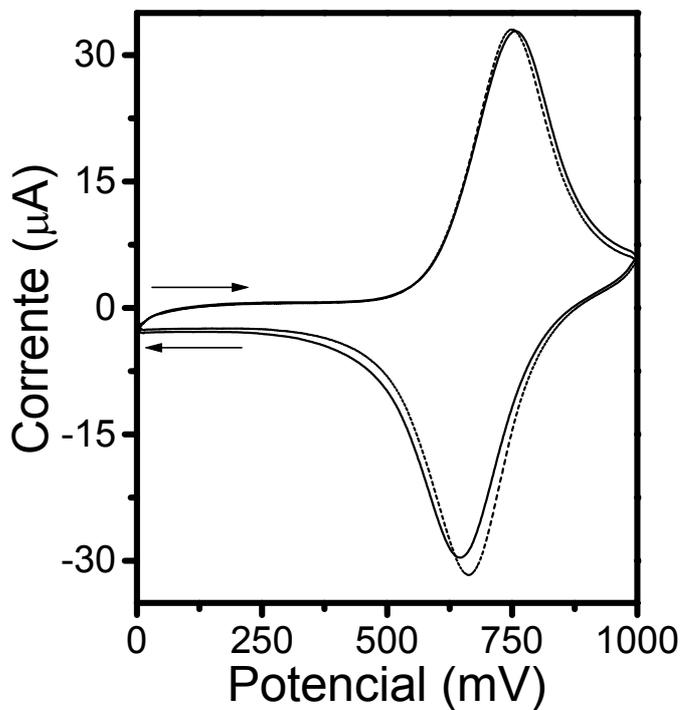


Figura 44. Voltamogramas cíclicos de um eletrodo de carbono vítreo recém-modificado por um filme de CoTRP (.....) e após sua utilização em análises de acetaminofen por BIA, durante um dia inteiro (___). Eletrólito suporte: solução tampão Ac^-/HAc $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) + NaClO_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. v : 100 mV s^{-1} ; A : $0,07 \text{ cm}^2$.

4.4. QUANTIFICAÇÃO DE GLICOSE UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO POR POLIMERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DE NiTRP

4.4.1. Considerações sobre eletrodos modificados por NiTRP

Voltametria cíclica

A modificação da superfície dos eletrodos *via* eletropolimerização de uma porfirina tetrarrutenada de níquel (NiTRP) em meio alcalino foi realizada de acordo com o procedimento geral descrito na seção 3.6.1. Os voltamogramas cíclicos obtidos para um eletrodo de carbono vítreo em NaOH 0,1 mol L⁻¹ contendo NiTRP 5,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ exibem um crescimento contínuo das intensidades de correntes de pico (Figura 45), indicando um aumento progressivo da quantidade de material eletroativo depositado sobre a superfície do eletrodo. Normalmente, pode-se observar um par redox com máximos de corrente em 500 mV (I_{p,a}) e 400 mV (I_{p,c}), aproximadamente. Esse par redox foi atribuído ao processo Ni^{III}/Ni^{II}, de acordo com estudos descritos para casos semelhantes [240-244]. Além disso, um ombro em potenciais próximos a 800 mV (que pode estar relacionado ao par redox Ru^{III}/Ru^{II}) e correntes anódicas acima desse potencial também podem ser visualizados na Figura 45.

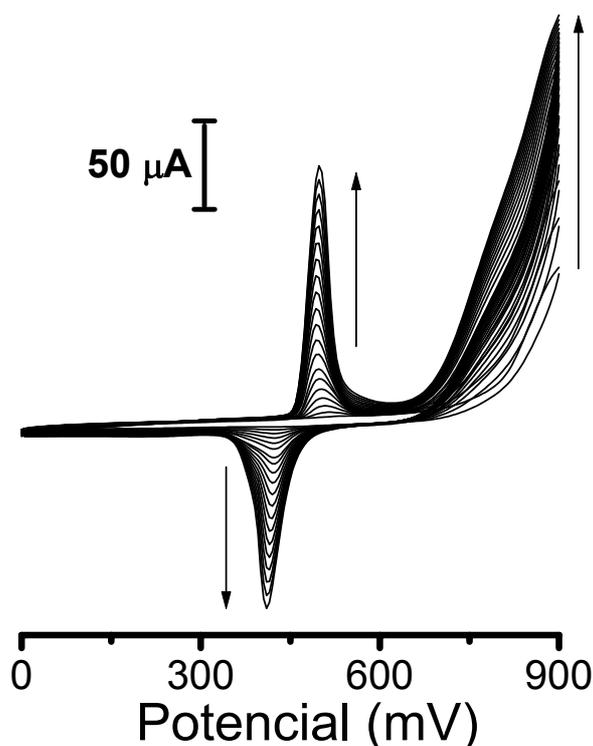


Figura 45. Voltamogramas cíclicos registrados para um eletrodo de carbono vítreo em NaOH 0,1 mol L⁻¹ + NiTRP 5,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, durante o processo de eletropolimerização do complexo porfirínico. *v*: 100 mV s⁻¹; *A*: 0,071 cm²; 40 ciclos.

O complexo porfirínico base-livre correspondente não eletropolimerizou nas mesmas condições experimentais. Tal fato revela a importância da presença de níquel no centro da molécula. As espécies OH^- também demonstram apresentar um papel importante no processo de polimerização. A Figura 46 ilustra voltamogramas registrados (após 40 ciclos) para eletrodos de CDs graváveis de ouro em solução alcalina de NiTRP $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, empregando diferentes intervalos de potencial. Por análise dessa figura, observa-se que o par de ondas característico do processo de eletropolimerização está ausente quando o potencial anódico de inversão atinge valores de 700 mV (A) e 800 mV (B). As correntes de pico anódica e catódica podem ser vistas somente quando limites de potenciais acima de 800 mV são empregados (C-D). Ou seja, o material é efetivamente depositado sob essas condições. Adicionalmente, supõe-se que a quantidade de complexo eletropolimerizado aumenta com intervalos mais amplos de potencial utilizados (por exemplo, de 0 a 1000 mV), uma vez que as intensidades de correntes de pico observadas em (D) são maiores em comparação com as correspondentes em (C). Os voltamogramas cíclicos da Figura 46 também apresentam ondas anódica ($\sim 480 \text{ mV}$) e catódica ($\sim 150 \text{ mV}$) associadas aos processos eletroquímicos envolvendo a formação de óxidos de ouro e sua redução, respectivamente.

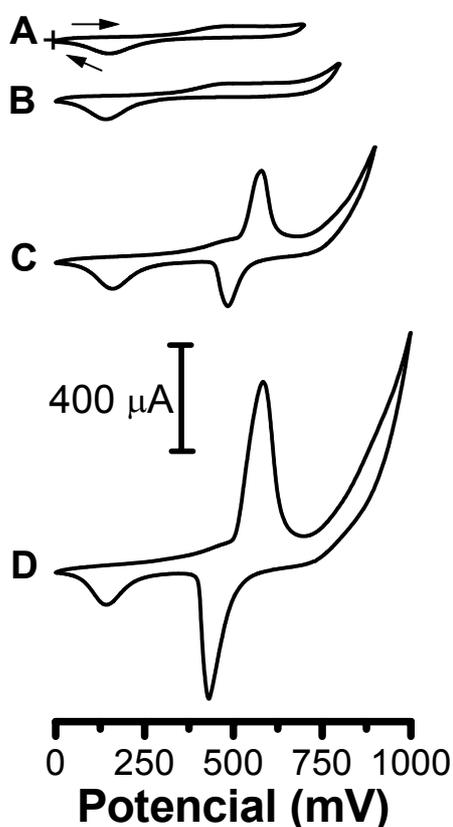


Figura 46. Voltamogramas registrados após o 40º ciclo utilizando eletrodos de CDs graváveis de ouro em $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1} + \text{NiTRP } 5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Intervalos de potencial: (A) 0 a 700 mV; (B) 0 a 800 mV; (C) 0 a 900 mV e (D) 0 a 1000 mV. v : 100 mV s^{-1} ; A : $0,20 \text{ cm}^2$.

O mecanismo de polimerização eletroquímica da porfirina tetrarrutenada de níquel não parece fácil elucidar. No entanto, levando em consideração estudos descritos na literatura [240-244], que envolveram a oxidação de diferentes complexos macrocíclicos de níquel em meio alcalino, supõe-se que o composto NiTRP é eletropolimerizado de uma maneira similar. Embora a eletroquímica de porfirinas e complexos tetraazamacrocíclicos de níquel tenha sido bem estudada em solventes orgânicos [215,235,245-251], poucos dados existem sobre o comportamento dessas substâncias químicas em soluções alcalinas aquosas.

Conforme já mencionado, o processo eletroquímico representado pelas ondas anódica e catódica das Figuras 45 e 46 foi atribuído ao par redox Ni^{III}/Ni^{II} , semelhantemente ao observado para sistemas previamente relatados [240-244]. Inicialmente, vamos considerar que a formação do filme depende principalmente da oxidação de espécies OH^- , uma vez que nenhum processo de eletropolimerização ocorreu quando a varredura foi limitada a potenciais em que íons OH^- não sofrem oxidação ($E < 800$ mV). Sendo assim, supõe-se que radicais OH^\cdot , formados como produto primário da oxidação de OH^- , criariam uma variedade de grupos funcionais sobre a superfície do sensor. A presença desses grupos permitiria a ligação do complexo porfirínico à superfície do eletrodo. Para verificar a confirmação de tal hipótese, um pré-tratamento eletroquímico do eletrodo em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (na ausência do composto porfirínico), empregando varreduras múltiplas de potenciais com limite máximo acima de 800 mV, foi realizado. Em seguida, o eletrodo foi transferido para uma solução de NiTRP $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e submetido a varreduras sucessivas dentro do intervalo de 0 a 800 mV. O resultado desse experimento pode ser visto na Figura 47. O voltamograma da Figura 47A, registrado após o 40º ciclo em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, apresentou correntes relativamente altas somente em potenciais muito positivos (acima de 1000 mV). Isso foi feito para garantir a formação de espécies radiculares, por oxidação de OH^- . Se a varredura era limitada ao intervalo de 0 a 900 mV (que é suficiente para a eletropolimerização da porfirina) os valores máximos de corrente eram da ordem de $30 \mu\text{A}$, apenas. Ou seja, são valores muito baixos se comparados com os correspondentes quando o complexo porfirínico está presente na solução de hidróxido de sódio (ver Figura 45). Isto faz supor que as correntes altas observadas em potenciais acima de 800 mV (Figuras 45 e 46) não são devidas unicamente à oxidação de OH^- , mas sim à presença da porfirina em meio fortemente alcalino. Após submeter o eletrodo (pré-tratado eletroquimicamente em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) a 40 varreduras cíclicas entre 0 e 800 mV, enquanto imerso em solução alcalina de NiTRP, o par de ondas atribuído ao processo Ni^{III}/Ni^{II} foi observado

(Figura 47B). No entanto, as intensidades das correntes de pico apresentaram-se muito baixas.

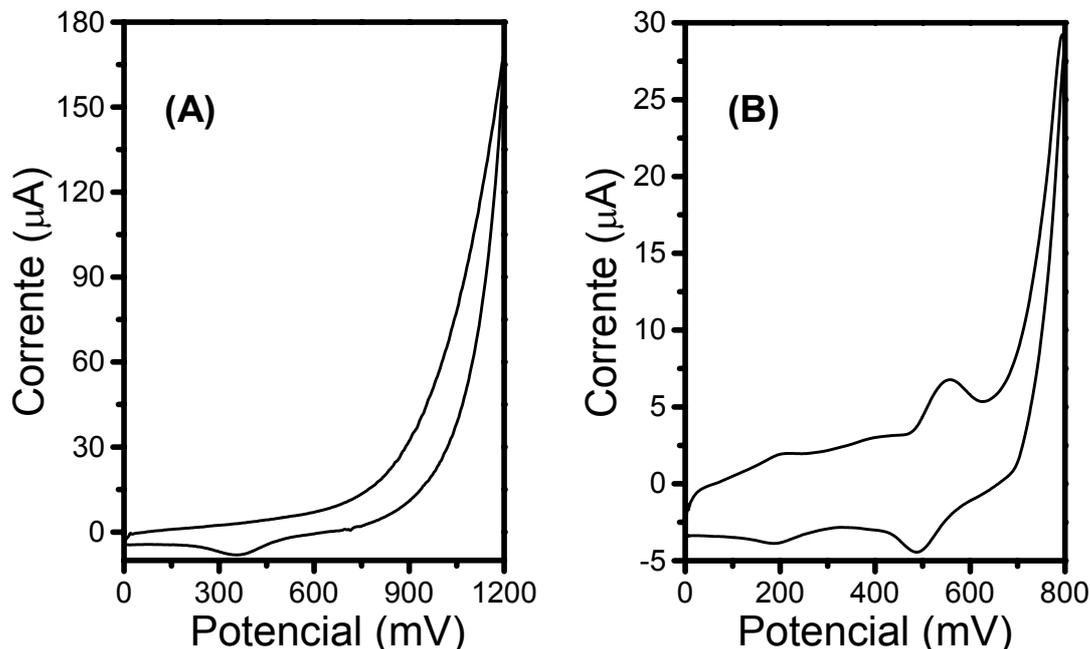


Figura 47. Voltamogramas cíclicos de um eletrodo de carbono vítreo em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (A) e em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + NiTRP $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (B). O voltamograma em (B) foi obtido após submeter o eletrodo ao tratamento em (A). v : 100 mV s^{-1} ; 40 ciclos; A: $0,07 \text{ cm}^2$.

Tal fato leva a sugerir que a oxidação de OH^- é realmente um pré-requisito necessário para a polimerização eletroquímica do complexo porfirínico. Por outro lado, para que o processo ocorra em uma extensão notável, é preciso que as espécies radicalares sejam produzidas em grande quantidade. Isso parece acontecer quando a porfirina está presente, uma vez que, em tal condição, a corrente anódica (em potenciais acima de 800 mV) é alta, evoluindo a cada varredura (Figura 45). Talvez a porfirina atue como um catalisador da oxidação eletroquímica de íons OH^- , gerando radicais livres. Buscando confirmar a suspeita de formação de espécies radicalares, alguns experimentos foram realizados. A Figura 48a apresenta um voltamograma do eletrodo de carbono vítreo em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo NiTRP $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, registrado após 80 ciclos. Após obtenção desse voltamograma, o eletrodo foi polido e posteriormente submetido a 80 varreduras cíclicas consecutivas, dessa vez imerso em uma solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + NiTRP $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ + dimetilssulfóxido (DMSO) $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. O resultado deste procedimento, representado pelo voltamograma da Figura 48b, mostrou que as correntes de pico anódica e catódica foram praticamente suprimidas, enquanto as correntes observadas em potenciais acima de

700-800 mV mantiveram-se altas. Sendo o dimetilssulfóxido um eficiente captador de radicais livres, é possível que ele interaja com as espécies radicalares geradas a partir da oxidação de OH^- e que, provavelmente, tomam parte no processo de eletropolimerização. Como se pode observar na Figura 48b, as correntes anódicas acima de 700-800 mV não foram alteradas, indicando que o eletrodo não sofre perda de atividade devido à presença de DMSO. Além disso, a permanência das referidas correntes em valores altos sugere que o processo de oxidação de OH^- na presença de NiTRP não é prejudicado pelo dimetilssulfóxido. Adicionalmente, conclui-se que essas correntes não são devidas à oxidação de DMSO, uma vez que nenhum processo faradaico foi observado para o eletrodo em solução alcalina de dimetilssulfóxido, dentro do mesmo intervalo de potenciais empregado (Figura 48c).

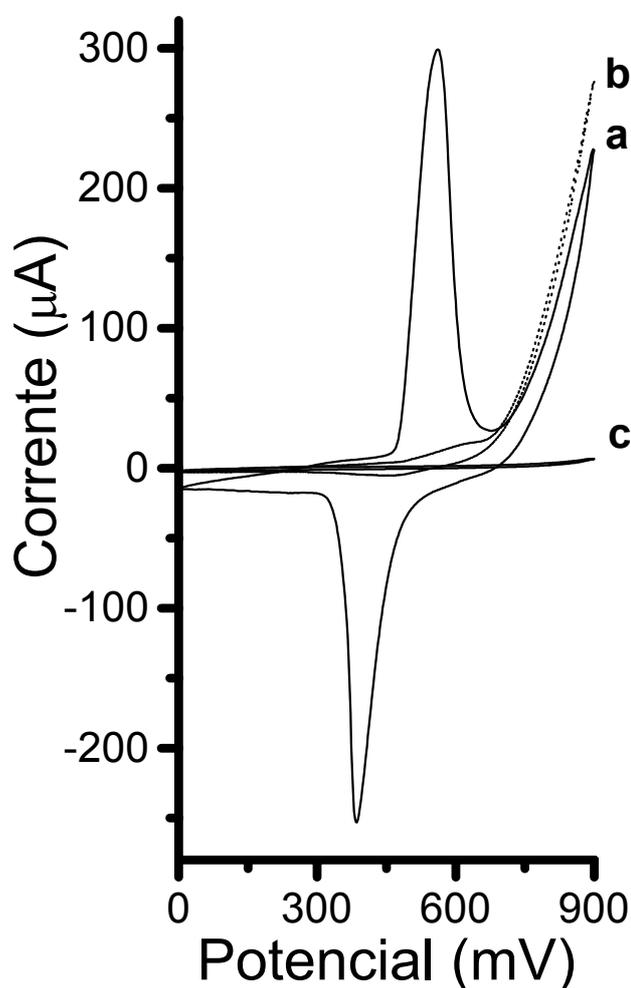


Figura 48. Voltamogramas cíclicos registrados para um eletrodo de carbono vítreo em $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo: $\text{NiTRP } 5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (a) ou $\text{NiTRP } 5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} + \text{dimetilssulfóxido } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (b) ou $\text{dimetilssulfóxido } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (c). $v: 100 \text{ mV s}^{-1}$; 80 ciclos; $A: 0,07 \text{ cm}^2$.

Pode-se sugerir que a incorporação do complexo à superfície (S) do eletrodo acontece mediante ligações $\text{S} - \text{O} - \text{Ni}^{\text{II}}$, de acordo com o mecanismo proposto por Roslonek e Taraszewska [240]. Inicialmente, o complexo é adsorvido sobre a superfície do eletrodo. No presente caso, pode-se admitir que o processo de adsorção

é acompanhado pela troca de Cl^- por grupos OH. Durante a varredura subsequente, o complexo de níquel(II) ligado à superfície do eletrodo sofre oxidação a níquel(III) e se liga, provavelmente *via* formação de pontes -oxo com perda simultânea de uma molécula de água, às espécies de níquel fornecidas à superfície do eletrodo por difusão. A espessura do filme aumenta gradualmente à medida que mais complexo difunde para a superfície do eletrodo.

A partir dos resultados apresentados no presente trabalho e também de dados relatados na literatura [240-244], acredita-se que o processo redox observado em meio alcalino, para filmes baseados em NiTRP, é semelhante ao de eletrodos de hidróxido de níquel, $\text{Ni}(\text{OH})_2$, formado eletroquimicamente [252,253].

Surge uma questão a respeito da possibilidade do complexo NiTRP sofrer decomposição em meio fortemente alcalino e, durante o procedimento de modificação, hidróxido de níquel depositar-se sobre a superfície do eletrodo, em vez do complexo sofrer eletropolimerização. Um argumento que pode descartar essa possibilidade se baseia no resultado ilustrado pela Figura 49. Após transferência para meio ácido contendo perclorato de sódio, o eletrodo previamente modificado por poli-NiTRP em meio alcalino apresentou os sinais de corrente típicos atribuídos ao par redox $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$, (Figura 49). Nessas condições, o par de ondas do processo $\text{Ni}^{\text{III}}/\text{Ni}^{\text{II}}$ não pôde mais ser observado. A ausência do par redox $\text{Ni}^{\text{III}}/\text{Ni}^{\text{II}}$ em meio ácido também foi verificada para outros sistemas envolvendo eletrodos modificados por eletropolimerização de complexos de níquel em meio básico [240]. Ao transferir novamente o eletrodo para meio alcalino, os sinais do par $\text{Ni}^{\text{III}}/\text{Ni}^{\text{II}}$ são novamente observados, embora menos intensos. Vale ressaltar que o filme polimérico é capaz de fornecer dois sensores distintos, um atuando em meio ácido ($\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$) e outro, em meio alcalino ($\text{Ni}^{\text{III}}/\text{Ni}^{\text{II}}$).

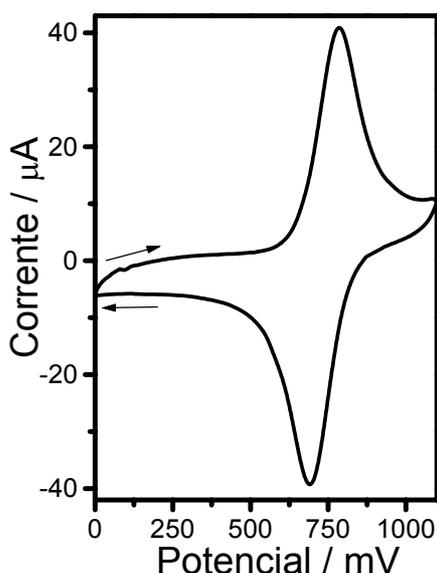


Figura 49. Voltamograma cíclico de um eletrodo de carbono vítreo (previamente modificado por eletropolimerização de NiTRP em meio alcalino) em solução tampão Ac^-/HAc $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,7) + NaClO_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. v : 100 mV s^{-1} ; A : $0,07 \text{ cm}^2$.

Espectroscopia por reflectância (UV-Vis.)

A presença da porfirina sobre a superfície do eletrodo pode ser confirmada por espectroscopia UV-Vis. A Figura 50 mostra espectros obtidos para filmes de poli-NiTRP construídos, em três diferentes espessuras, sobre superfícies de CDs graváveis de ouro. O filme obtido após 40 varreduras cíclicas de potencial exibiu uma banda B (Soret) larga, na região de 460 nm, e duas bandas Q, em 594 e 657 nm (Figura 50A). Esse espectro é muito semelhante ao observado para filmes adsorvidos de NiTRP [86]. A banda MLCT (transferência de carga metal-ligante) esperada na região de 500 nm, que é característica dos grupos periféricos $[\text{Ru}(\text{bipy})_2\text{Cl}(\text{PyP})]^+$, parece estar sobreposta às bandas da porfirina, provavelmente devido a um certo grau de agregação e empilhamento da porfirina sobre a superfície do eletrodo. Para os filmes obtidos após 60 e 80 varreduras cíclicas (Figuras 50B e 50C, respectivamente), as bandas Q mostraram-se mais largas e a intensidade relativa entre as bandas Soret e Q tornou-se maior. O aspecto mais largo das bandas Q pode ser o resultado de interações muito próximas entre os anéis porfirínicos. Isso sugere que, aumentando o número de varreduras cíclicas, o grau de polimerização também aumenta.

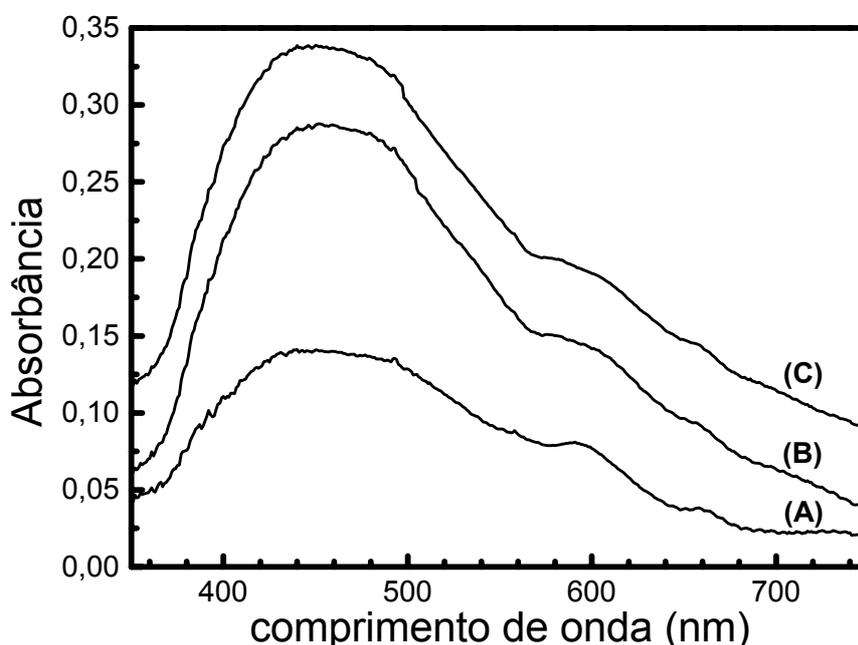


Figura 50. Espectros UV-Vis. obtidos por reflectância para eletrodos de CDs graváveis de ouro modificados por filmes de poli-NiTRP, os quais foram construídos submetendo os eletrodos a 40 (A), 60 (B) e 80 (C) varreduras cíclicas consecutivas de potencial dentro do intervalo de 0 a 900 mV, a 100 mV s^{-1} , em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + NiTRP $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Espectroscopia de impedância eletroquímica

Estudos adicionais foram realizados empregando espectroscopia de impedância eletroquímica, cujos resultados são ilustrados na Figura 51. O diagrama de Nyquist, obtido para uma solução alcalina de NiTRP em 600 mV (detalhe da figura), apresentou um semi-círculo com uma componente que tende a uma reta a 45°, característica de uma região controlada por difusão. Isso significa que no potencial aplicado, suficiente para oxidar as espécies Ni^{II} a Ni^{III} , nenhum processo de adsorção ocorreu. Em potenciais iguais a, e maiores que, 720 mV, os diagramas de Nyquist assumiram aspectos totalmente diferentes, conforme mostrado na Figura 51. Em tais casos, em baixas frequências, a região controlada por difusão deu lugar a um componente de indutância (forma de loop). O componente de indutância está relacionado ao processo de adsorção [254,255]. Em potenciais mais altos, ocorreu um decréscimo no raio do semi-círculo, sugerindo que a resistência à transferência de carga diminuiu. Esses resultados são consistentes com os dados voltamétricos.

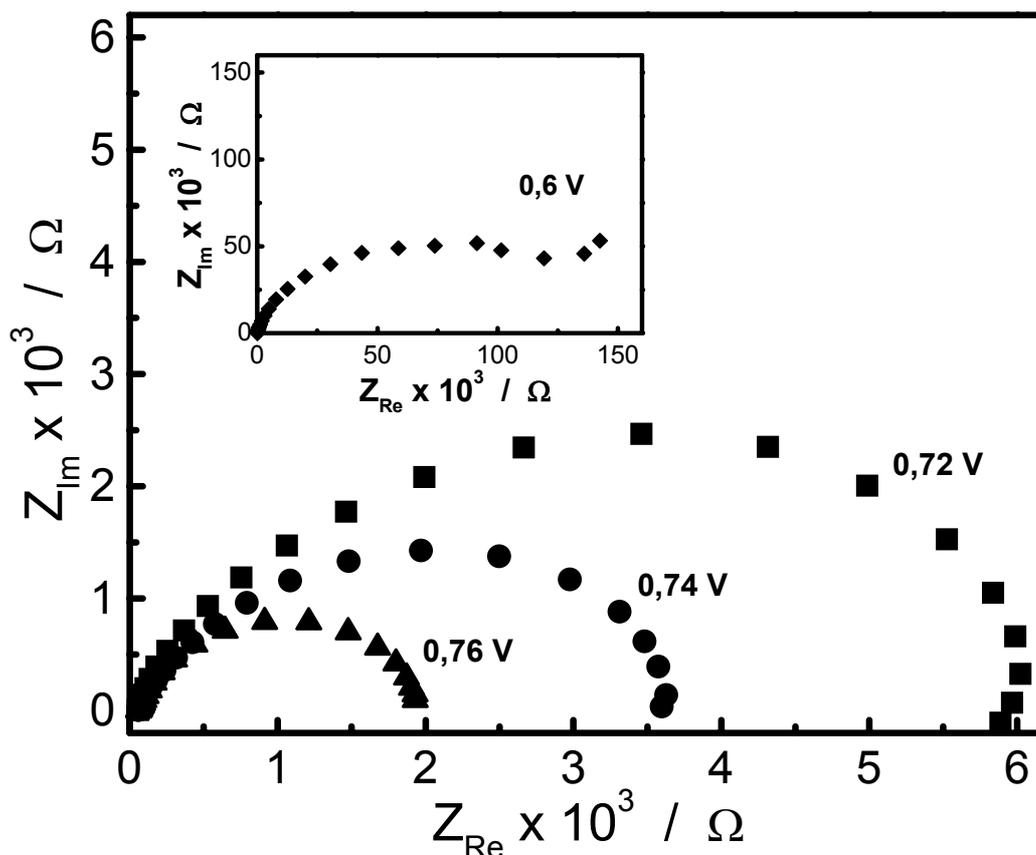


Figura 51. Diagrama de Nyquist obtido para um eletrodo de platina em NiTRP $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ + NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os potenciais aplicados são indicados no gráfico. O detalhe da figura ilustra o diagrama de Nyquist em 600 mV.

Microscopia de varredura por sonda mecânica (SPM)

Os filmes de poli-NiTRP construídos sobre superfícies de CDs graváveis de ouro foram caracterizados utilizando um microscópio de força atômica (AFM - atomic force microscopy). As imagens em duas e três dimensões, obtidas para os filmes preparados empregando diferentes intervalos de potencial (ver voltamogramas cíclicos na Figura 52A), são mostradas nas Figuras 52B e 52C, respectivamente.

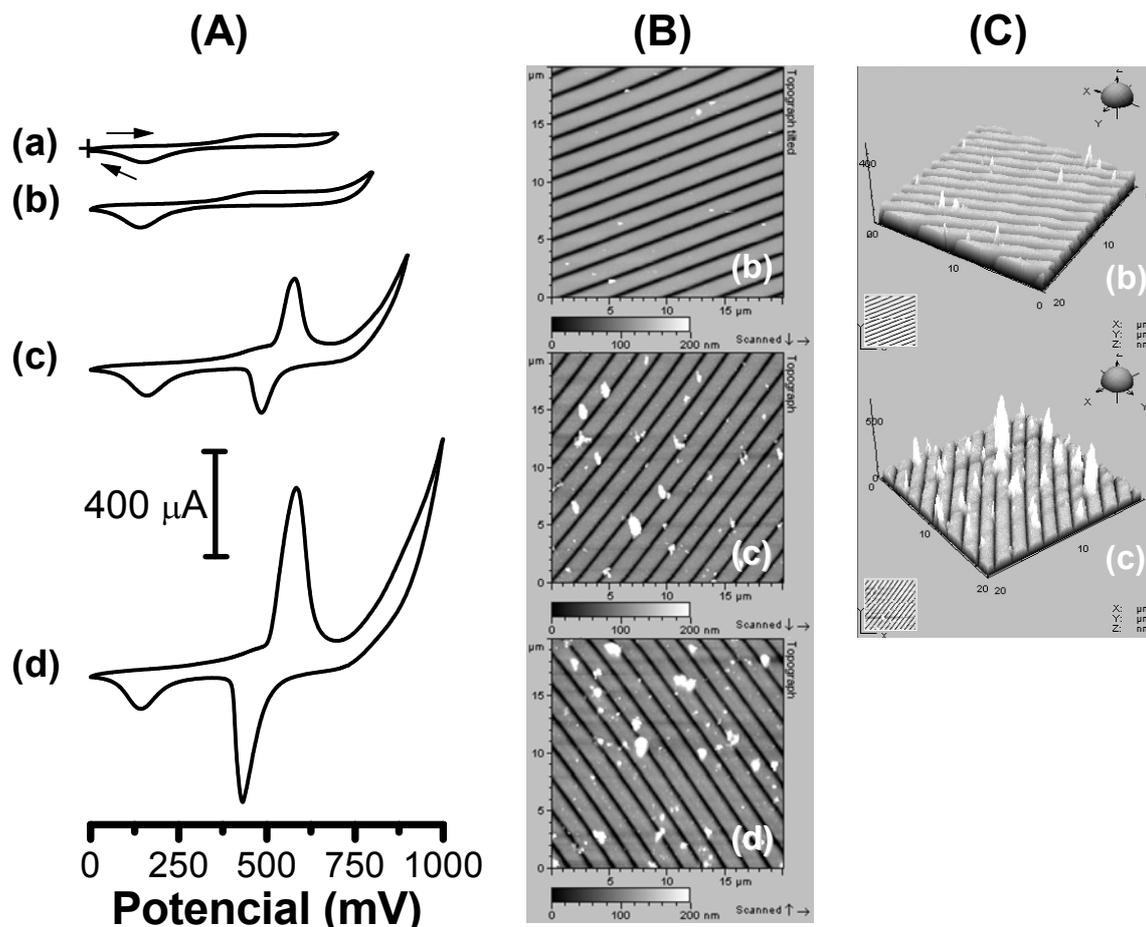


Figura 52. (A) Voltamogramas registrados após o 40º ciclo utilizando eletrodos de CDs graváveis de ouro em NaOH 0,1 mol L⁻¹ + NiTRP 5,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹. Intervalos de potencial: (a) 0 a 700 mV; (b) 0 a 800 mV; (c) 0 a 900 mV e (d) 0 a 1000 mV. v: 100 mV s⁻¹; A: 0,20 cm². Imagens de AFM em duas (B) e três (C) dimensões dos filmes depositados por eletropolimerização empregando os intervalos de potencial de 0 a 800 mV (b), 0 a 900 mV (c) e 0 a 1000 mV (d).

Comparando as imagens assinaladas por (c) e (d) na Figura 52B, verifica-se que a quantidade de material depositado é maior quando um intervalo mais amplo de potencial é utilizado (de 0 a 1000 mV). A imagem em três dimensões na Figura 52C(c)

mostra que o depósito tem forma de picos, sugerindo que o filme cresce sobre o substrato metálico formando pilhas. Na Figura 52B(b), algum material é observado sobre a superfície do eletrodo, apesar da ausência de picos de corrente anódica ou catódica (atribuídos ao par $\text{Ni}^{\text{III}}/\text{Ni}^{\text{II}}$) no voltamograma correspondente a essa amostra (Figura 52A(b)). No entanto, no referido voltamograma, alguma corrente anódica já pode ser observada para potenciais acima de 700 mV. É possível que nessas condições o processo ocorra, embora em uma extensão que não pode ser detectada por experimentos envolvendo a voltametria cíclica. Por outro lado, os resultados obtidos com o uso da espectroscopia de impedância eletroquímica podem reforçar essa hipótese.

4.4.2. Comportamento voltamétrico do filme de poli-NiTRP em meio alcalino

O voltamograma do eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes baseados em poli-NiTRP apresentou máximos de corrente ($I_{p,a}$ e $I_{p,c}$) em potenciais menos positivos do que em $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, quando transferido para soluções mais concentradas ($\text{NaOH } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$). Verificou-se que os potenciais de pico, principalmente o anódico ($E_{p,a}$), são sensíveis a variações na velocidade de varredura de potencial (v), sofrendo deslocamento para valores menos positivos quando v mais baixas são empregadas. Na Figura 53, o voltamograma cíclico foi obtido utilizando uma velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} .

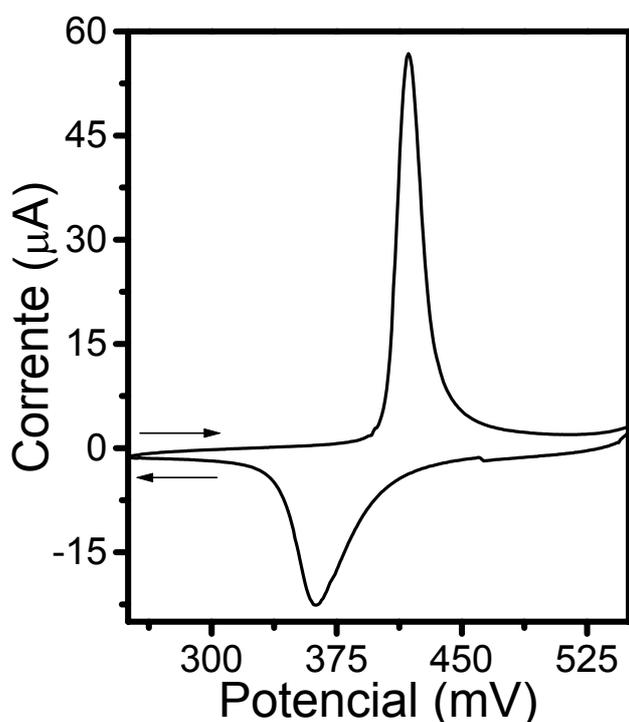


Figura 53. Voltamograma cíclico registrado para um eletrodo de carbono vítreo (modificado por um filme de poli-NiTRP) em $\text{NaOH } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$. v : 10 mV s^{-1} ; A : $0,07 \text{ cm}^2$.

O filme exibiu boa estabilidade, mesmo após centenas de varreduras cíclicas, podendo, inclusive, ser armazenado em ambiente seco. Somente pequenas alterações foram observadas após varreduras continuadas, tais como um discreto deslocamento do potencial de pico anódico para valores mais positivos ou, ainda, um suave aumento da corrente anódica em potenciais próximos ao limite mais positivo do intervalo de potenciais.

O sensor baseado em filmes de poli-NiTRP apresentou atividade electrocatalítica para a oxidação de vários compostos orgânicos, tais como frutose, sacarose, galactose, lactose, manitol e glicose. A Figura 54 mostra as respostas voltamétricas para a oxidação catalítica dessas substâncias, utilizando filmes com diferentes espessuras. Os analitos foram adicionados à célula electroquímica, contendo NaOH 1,0 mol L⁻¹, até atingir concentrações finais de $1,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ a $6,9 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, para frutose (Figura 54A), e de $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ a $9,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, para os demais compostos (Figura 54B-F).

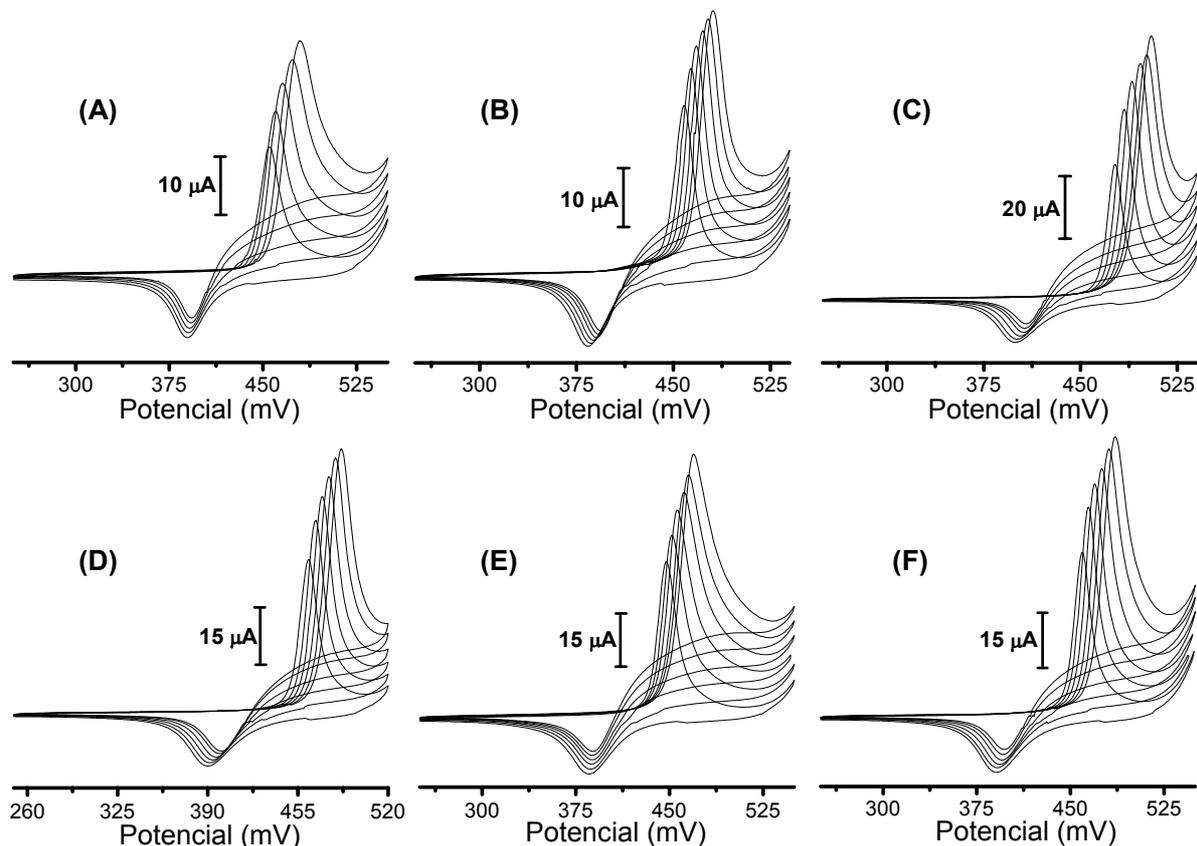


Figura 54. Voltamogramas cíclicos obtidos para um eletrodo de carbono vítreo (modificado por um filme de poli-NiTRP) em solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹ contendo frutose (A), sacarose (B), galactose (C), lactose (D), manitol (E) e glicose (F) em diferentes concentrações: (A) 0 a $6,9 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e (B-F) 0 a $9,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. v: 10 mV s⁻¹; A: 0,07 cm².

A altura do pico de oxidação foi estável e reprodutível após ciclos repetitivos, em cada concentração de analito empregada. No entanto, como pode ser visualizado na Figura 54, o potencial de pico anódico tornou-se suavemente mais positivo a cada adição das substâncias. Nas seções seguintes, serão descritos estudos envolvendo a oxidação electrocatalítica da glicose e a aplicação do eletrodo modificado por filmes de poli-NiTRP para a quantificação deste analito em uma amostra farmacêutica comercial de solução de glicose.

4.4.3. Oxidação electrocatalítica de glicose

A electrocatálise da oxidação de glicose é evidente quando os resultados são comparados com os correspondentes obtidos com o eletrodo livre do agente modificador (Figura 55). A Figura 55 revela que é necessário atingir potenciais muito positivos para que a oxidação da glicose ocorra sobre um eletrodo de carbono vítreo não modificado. Além disso, as correntes anódicas mal definidas indicam que a cinética de reação é muito lenta para esse sistema. Está claro nessa figura que o filme de poli-NiTRP apresenta alta capacidade de electrocatalisar a oxidação do analito, uma vez que um aumento apreciável da corrente anódica, na mesma região de potencial em que Ni^{II} é oxidado a Ni^{III} , é observado.

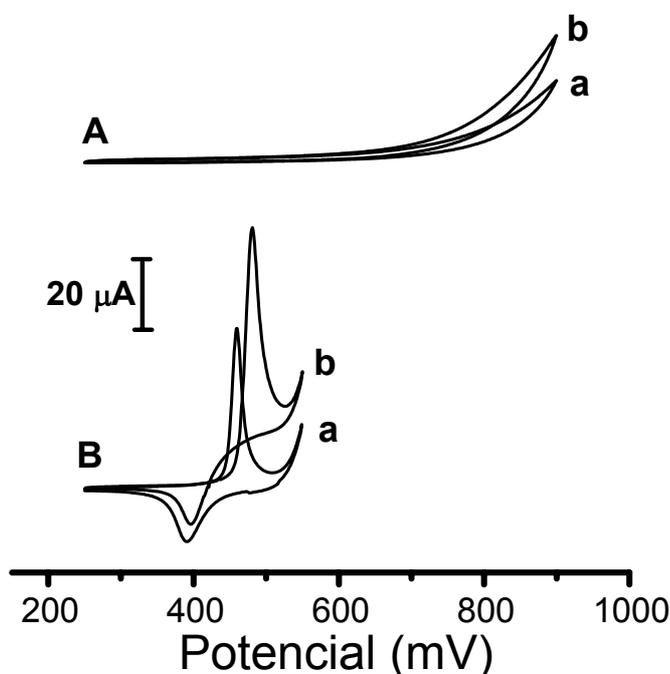


Figura 55. Voltamogramas cíclicos obtidos para um eletrodo de carbono vítreo livre de agente modificador (A) ou modificado por um filme de poli-NiTRP (B), em NaOH 1,0 mol L⁻¹ antes (a) e após (b) adição de glicose 9,5 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ (concentração final) v: 10 mV s⁻¹; A: 0,07 cm².

A espécie Ni^{III} formada eletroquimicamente sobre a superfície do eletrodo é reduzida pela glicose. Dessa forma, Ni^{II} é regenerado durante a varredura e um aumento resultante na corrente anódica é observado. No entanto, a oxidação catalítica não parece ocorrer muito facilmente, uma vez que a presença do pico catódico ainda é registrada (Figura 55B). Além disso, durante a varredura reversa, uma corrente anódica intensa persiste por um longo intervalo de potencial (entre 550 mV e 420 mV, aproximadamente) antes de decair a valores próximos de zero. Comportamento diferente é observado quando se empregam velocidades de varredura mais baixas (por exemplo, 1 mV s^{-1}): o primeiro efeito é atenuado enquanto o último é intensificado (Figura 56).

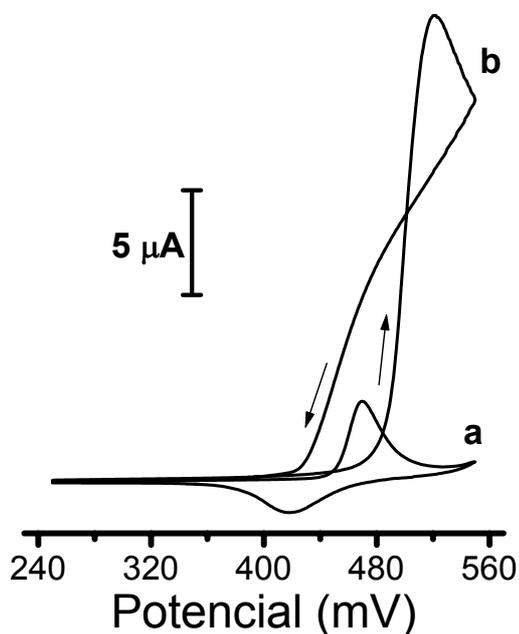
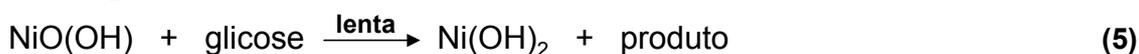
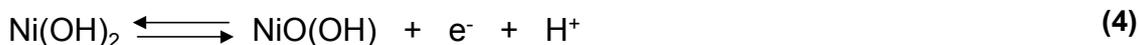


Figura 56. Voltamogramas cíclicos de um eletrodo de carbono vítreo (modificado por um filme de poli-NiTRP) em $\text{NaOH } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$ na ausência (a) e na presença (b) de glicose $9,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. v : 1 mV s^{-1} ; A : $0,07 \text{ cm}^2$.

Esse resultado pode ser esperado se a reação é controlada por um fator cinético. Considerando que a velocidade de oxidação química entre Ni^{III} e o analito é suficientemente lenta, a espécie Ni^{III} permanece sem ser reduzida durante a varredura reversa. Em tempos mais longos ($v = 1 \text{ mV s}^{-1}$), a reação entre Ni^{III} e glicose poderia ocorrer de forma apreciável e o pico catódico não seria observado, principalmente se glicose estivesse presente em concentrações relativamente altas. Dessa forma, A espécie Ni^{II} produzida nesse caminho, e que permaneceu sem sofrer oxidação durante a varredura positiva de potenciais, poderia ser oxidada durante a varredura reversa. Considerando o processo descrito, o esquema abaixo pode ser sugerido para as reações envolvidas [256]:



4.4.4. Quantificação de glicose utilizando voltametria cíclica

Como tem sido demonstrado no presente estudo, os perfis voltamétricos apresentaram uma melhor definição dos sinais de corrente quando uma velocidade de varredura de 1 mV s^{-1} foi empregada. Dessa forma, é possível obter sinais electrocatalíticos da oxidação de glicose, mesmo em concentrações baixas, sob tais condições experimentais. Portanto, uma série de experimentos foi realizada adicionando soluções de glicose à célula electroquímica, de maneira a atingir valores finais de concentração desejados. Após cada adição, uma varredura de potencial a 1 mV s^{-1} era realizada. Esse procedimento levou à obtenção de uma curva analítica com intervalo linear situado entre $1,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 57). Para concentrações mais altas, a linearidade do gráfico é comprometida. O limite de detecção foi estimado em $6,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (três vezes o desvio padrão do branco [231]).

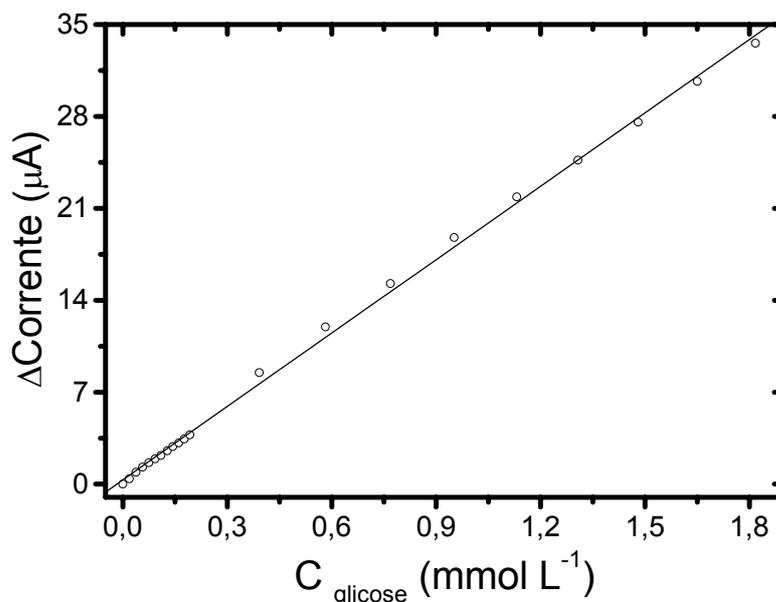


Figura 57. Curva de calibração construída a partir dos resultados obtidos por voltametria cíclica após adições de soluções de glicose à célula electroquímica até atingir concentrações finais variando entre $1,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Após estudos de repetibilidade realizados para o sistema, um desvio padrão relativo de 1,5 % foi calculado para doze medidas. A Figura 58 ilustra os resultados atingidos para seis ensaios, em que uma solução de glicose $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foi empregada. O resultado obtido para o branco também é mostrado na figura. Uma vez que os experimentos foram conduzidos a velocidades de varredura de potencial muito baixas (1 mV s^{-1}), uma frequência analítica alta não pode ser esperada. Cada

voltamograma foi registrado em até 10 minutos e isso equivale a uma frequência de 6 determinações por hora.

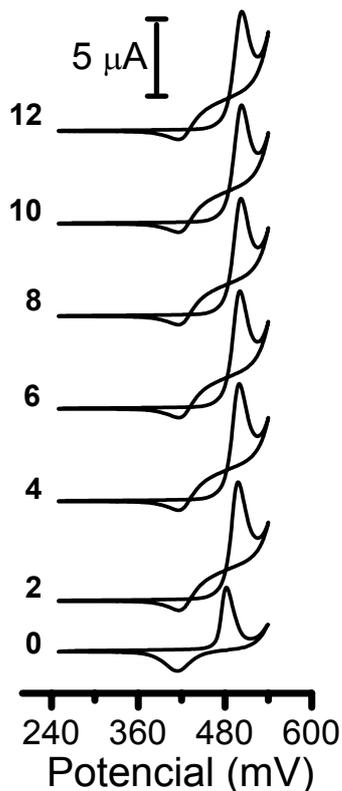


Figura 58. Resultado do estudo de repetibilidade por voltametria cíclica, utilizando um eletrodo de carbono vítreo (modificado por um filme de poli-NiTRP) em NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, antes (0) e após (2-12) adição de glicose $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (concentração final). $v: 1 \text{ mV s}^{-1}$; $A: 0,07 \text{ cm}^2$.

Os resultados da quantificação do analito em uma solução farmacêutica comercial de glicose são exibidos na Figura 59. A média dos resultados foi comparada com aquela obtida por espectrofotometria e será mencionada mais adiante.

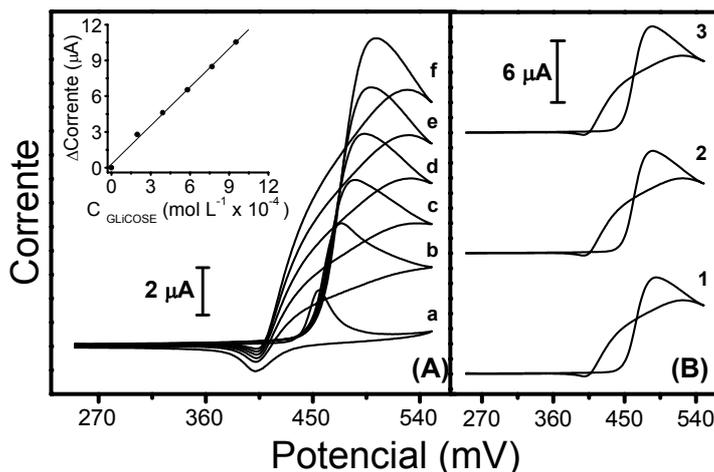


Figura 59. Voltamogramas cíclicos de um eletrodo de carbono (modificado por um filme de poli-NiTRP) em NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, registrados: (A) antes (a) e após (b-f) adições de glicose atingindo concentrações finais entre $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; (B) para a amostra farmacêutica contendo glicose (três determinações). Detalhe da figura: curva de calibração correspondente. $v: 1 \text{ mV s}^{-1}$; $A: 0,07 \text{ cm}^2$.

4.4.5. Quantificação de glicose por batch injection analysis (BIA)

Antes da quantificação de glicose por BIA, estudos prévios foram realizados a fim de definir as características do método para o sistema envolvido. Um intervalo linear de trabalho mais amplo ($2,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) foi estabelecido em comparação com os resultados obtidos por voltametria cíclica. A curva de calibração correspondente é apresentada na Figura 60. Do mesmo modo, um limite de detecção mais baixo, de $3,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (três vezes o desvio padrão do branco [231]), foi calculado. Sendo BIA uma técnica de injeção com alta velocidade, uma frequência superior, de 60 determinações por hora, pôde ser atingida.

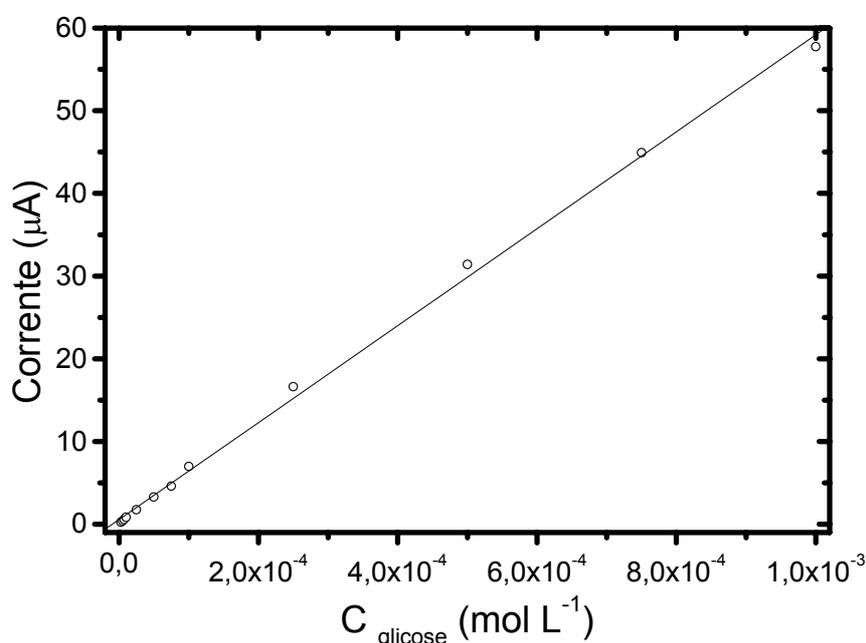


Figura 60. Curva analítica construída a partir dos resultados obtidos por BIA/amperometria, após injeções de soluções de glicose em concentrações variando entre $2,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

A boa repetibilidade dos sinais após 25 injeções de uma solução de glicose $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 61A) foi confirmada por um desvio padrão de 1,1%. Na Figura 61B, são ilustrados os sinais BIA obtidos para injeções em triplicata de soluções padrão de glicose em concentrações crescentes ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e de uma solução diluída da amostra farmacêutica contendo glicose. A curva de calibração mostrada no detalhe da figura confirma a relação linear entre a corrente e a concentração das soluções padrão.

A curva analítica da Figura 61B exibe sinais com valores de corrente mais baixos em relação aqueles apresentados na Figura 60, considerando o mesmo

intervalo de concentração utilizado. Os dois gráficos foram obtidos utilizando filmes de espessuras diferentes. Para filmes mais espessos, a corrente catalítica apresenta-se maior. Isso parece lógico, considerando que a eficiência eletrocatalítica do filme deve aumentar com a quantidade de centros ativos de níquel. No entanto, tal comportamento deve ser limitado para filmes muito espessos, uma vez que a atividade eletrocatalítica também depende da disponibilidade dos sítios eletroativos concentrados na superfície do sensor. Um estudo sistemático da relação entre o sinal catalítico e a espessura do filme deve ser considerado para trabalhos futuros.

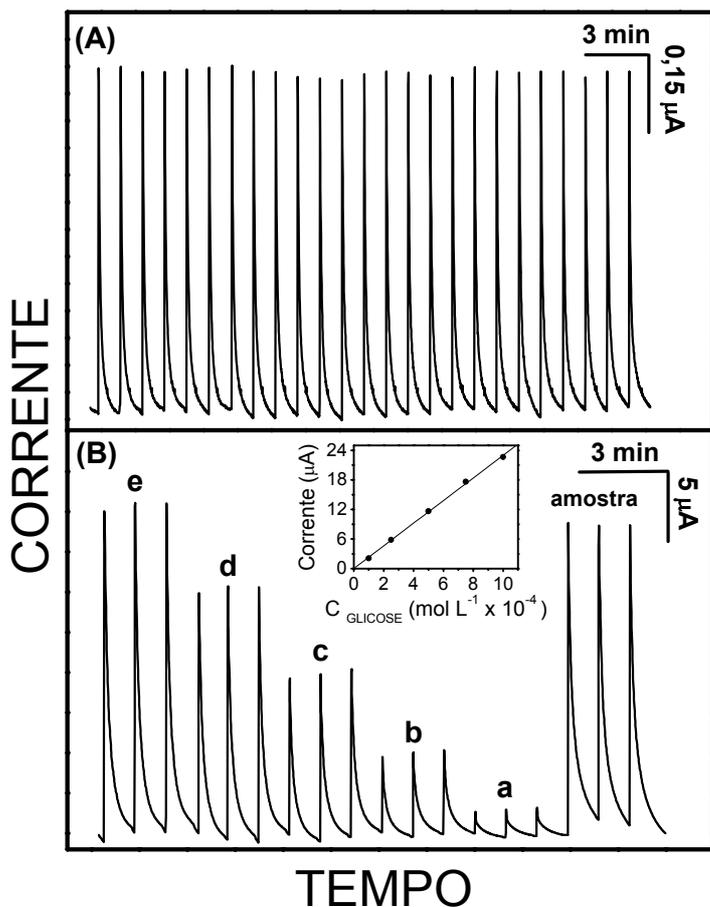


Figura 61. Resultados BIA obtidos com um eletrodo de carbono vítreo (modificado por um filme de poli-NiTRP) em NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ após injeções de uma solução de glicose $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (A) e de soluções padrão de glicose (a) $1,0$, (b) $2,5$, (c) $5,0$, (d) $7,5$, (e) $10,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e de uma amostra farmacêutica diluída (B). O detalhe mostra a curva de calibração. V_{inj} : $100 \mu\text{L}$; v_f : $75,3 \mu\text{L s}^{-1}$; E : 470 mV ; A : $0,07 \text{ cm}^2$.

Os resultados comparativos das características dos dois métodos utilizados (voltametria cíclica e BIA/amperometria) estão reunidos na Tabela 7. É bastante evidente que a técnica BIA, associada a amperometria, apresenta vantagens para a determinação de glicose utilizando o sensor baseado em filmes construídos por eletropolimerização de NiTRP. Isso se confirma por análise da Tabela 8, em que BIA demonstra ser mais apropriada para a quantificação de glicose na amostra comercial. Nessa tabela, as diferenças relativas entre os resultados atingidos por amperometria e espectrofotometria são menores do que aquelas entre voltametria e espectrofotometria.

Além disso, a tabela mostra a relação entre o valor nominal indicado pelo fabricante e os resultados obtidos utilizando as diferentes técnicas.

Tabela 7. Resultados comparativos das características de BIA/amperometria e voltametria cíclica. Ambos os métodos foram empregados na determinação de glicose utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado por um filme de poli-NiTRP.

Características do método				
	Intervalo linear de trabalho	Limite de detecção	Repetibilidade	Frequência analítica
BIA^a	$(2,5 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-3}) \text{ mol L}^{-1}$	$3,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$	DPR ^c : 1,1% (n = 25)	60 determinações h ⁻¹
VC^b	$(1,9 \times 10^{-5} - 1,8 \times 10^{-3}) \text{ mol L}^{-1}$	$6,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	DPR ^c : 1,5% (n= 12)	6 determinações h ⁻¹

^a BIA (batch injection analysis); ^b VC (voltametria cíclica); ^c DPR (desvio padrão relativo).

Tabela 8. Resultados obtidos após análise de glicose em uma amostra farmacêutica.

Amostra	VC ± DP (%) ^a	BIA ± DP (%) ^a	Espectrofotometria ± DP (%) ^a	Δ_1 (%) ^b	Δ_2 (%) ^c	Δ_3 (%) ^d	Δ_4 (%) ^e	Δ_5 (%) ^f
Glicose 5%	5,21 ± 0,35	5,03 ± 0,06	4,89 ± 0,04	(+) 4,2	(+) 0,6	(-) 2,2	(+) 6,1	(+) 2,8

^a Média ± desvio padrão de três determinações.

Diferenças relativas entre: ^b voltametria cíclica (VC) e valor nominal; ^c batch injection analysis/amperometria (BIA) e valor nominal; ^d espectrofotometria e valor nominal; ^e VC e espectrofotometria; ^f BIA e espectrofotometria.

4.4.6. Considerações finais

Como pode ser observado nos resultados acima apresentados, o potencial de pico anódico ($E_{p,a}$) sofre deslocamento para valores mais positivos quando glicose está presente no meio. O mesmo comportamento foi verificado para o filme, na ausência do analito, se a velocidade de varredura de potenciais era variada (Figura 62). Nas mesmas condições, a mudança do potencial de pico catódico ($E_{p,c}$) para valores menos positivo foi mais branda. Em consequência de tais deslocamentos, um ΔE_p crescente foi observado, indicando alguma lentidão no processo de transferência de elétrons [5]. A escolha de soluções mais concentradas de NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ é justificada pelas seguintes razões: o perfil voltamétrico apresentou melhor definição e houve antecipação dos processos anódico e catódico. Sendo assim, o emprego de velocidades de varredura de potencial suficientemente baixas e de soluções de NaOH

$1,0 \text{ mol L}^{-1}$ é apropriado, uma vez que, em tais condições, um melhor desempenho eletroquímico para a oxidação de glicose é obtido.

Também foi demonstrado que o sensor amperométrico, baseado em filmes de poli-NiTRP, pode ser facilmente adaptado a BIA para a quantificação direta de glicose. Este método permite executar análise rápida e sensível, em comparação com a voltametria cíclica. Estudos adicionais da otimização das condições experimentais, objetivando obter uma melhora da eficiência eletrocatalítica do filme, deverão ser realizados em futuro próximo. Isso inclui a investigação da aplicabilidade a outros analitos. Adicionalmente, a elucidação dos processos eletroquímicos envolvidos também deve receber atenção.

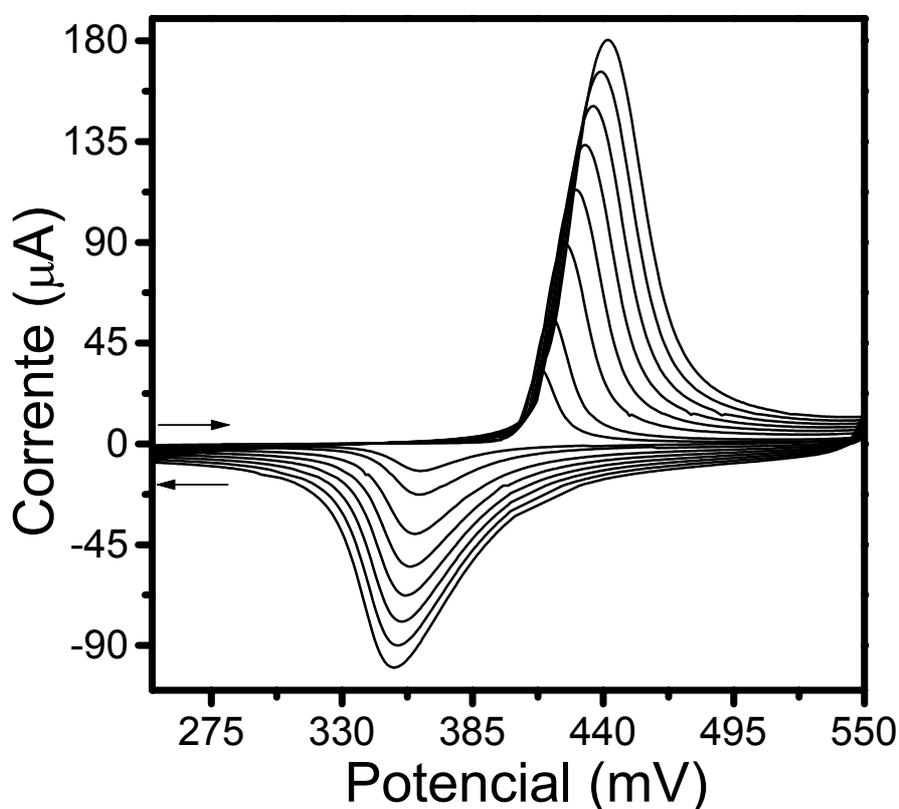


Figura 62. Voltamogramas cíclicos de um eletrodo de carbono vítreo (modificado por um filme de poli-NiTRP) em NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, obtidos a diferentes velocidades de varredura de potencial: 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70 mV s^{-1} . A: $0,07 \text{ cm}^2$.

5. CONCLUSÕES

Durante o desenvolvimento do presente trabalho de pesquisa, foram feitos estudos envolvendo a utilização de diferentes materiais na construção de sensores eletroquímicos, para adaptação a sistema BIA, visando aplicações analíticas. Para tanto, foram construídos sistemas baseados em superfícies metálicas livres de agentes modificadores, bem como modificadas por complexos de metaloporfirinas (adsorvidos ou eletropolimerizados). Os sensores desenvolvidos foram empregados na quantificação de diversas substâncias orgânicas (ácido acetilsalicílico, salbutamol, acetaminofen e glicose) em amostras de produtos farmacêuticos comerciais. Dos resultados obtidos, as seguintes conclusões podem ser feitas:

5.1. COBRE / NaOH 0,1 MOL L⁻¹ / ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

- o eletrodo de cobre (99,7% de pureza) apresentou perfis voltamétricos perfeitamente comparáveis com os correspondentes descritos na literatura para eletrodos comerciais de cobre;
- o sensor demonstrou eletrocatalise superior para a oxidação de ácido acetilsalicílico (AAS), em comparação com outros materiais de eletrodo, tais como platina, ouro e carbono vítreo, em meio alcalino de NaOH 0,1 mol L⁻¹.
- o aspecto da curva corrente-potencial obtida para a eletrooxidação de AAS em intervalos amplos de potencial (-900 a 800 mV) é semelhante ao descrito para a glicose em condições experimentais similares. No presente trabalho, sugere-se o envolvimento de Cu(III) como mediador nas reações de transferência de elétrons entre o analito e o substrato. Todavia, o mecanismo pelo qual a eletrocatalise ocorre não foi elucidado;
- a quantificação de AAS (como salicilato) em sete diferentes produtos farmacêuticos utilizando o eletrodo de cobre, associado ao sistema BIA, apresentou resultados concordantes com aqueles obtidos pelo método espectrofotométrico, com diferenças relativas variando entre 0,4% e 1,6%;
- vantagens adicionais do sensor desenvolvido podem ser citadas, tais como baixo custo e disponibilidade comercial.

5.2. CARBONO VÍTREO / NaOH 3,0 MOL L⁻¹ / SULFATO DE SALBUTAMOL

- a determinação eletroquímica de salbutamol em meio ácido parece apresentar limitações devido a dois fatores principais: (i) a adsorção de produtos da oxidação eletroquímica do analito pode levar ao envenenamento da superfície do eletrodo e (ii) problemas associados à interferência de espécies eletroativas presentes em amostras complexas de xarope podem prejudicar as análises;
- com base nos argumentos acima, a proposta de utilizar eletrodos de carbono vítreo em meio fortemente alcalino (NaOH 3,0 mol L⁻¹) para a determinação de sulfato de salbutamol em amostras de xarope apresenta-se bastante atraente;
- a solução de NaOH 3,0 mol L⁻¹ foi eleita para uso como eletrólito suporte devido a duas razões principais: sob tais condições, os problemas relacionados ao envenenamento do eletrodo de carbono vítreo são eliminados e, ainda, a oxidação do salbutamol em meio alcalino ocorre em regiões de potenciais menos positivos, minimizando os problemas que envolvem a presença de interferentes;
- a utilização de concentrações relativamente altas de NaOH parece não afetar as propriedades da molécula de salbutamol, em comparação com o uso de soluções de hidróxido mais diluídas (0,01 ou 0,1 mol L⁻¹), como evidenciado pelos resultados espectrofotométricos;
- a comparação dos resultados de estudos preliminares empregando diferentes materiais (platina, ouro, cobre e carbono vítreo) indicou os eletrodos de cobre e carbono vítreo como os mais favoráveis para a tarefa. No entanto, em soluções de NaOH 3,0 mol L⁻¹, necessária na obtenção dos melhores resultados, o eletrodo de carbono vítreo mostrou-se mais adequado, com respostas BIA apresentando melhor repetibilidade e linha de base mais estável;
- a análise rápida de salbutamol por amperometria (associada a BIA) mostrou-se possível, eliminando a necessidade de realizar pré-tratamentos eletroquímicos ao eletrodo para a renovação freqüente de sua superfície;
- o método BIA/amperométrico desenvolvido para quantificação do analito foi testado em formulações farmacêuticas e apresentou bons resultados. Devido à falta de métodos oficiais descritos para a análise de sulfato de salbutamol em xaropes, os resultados foram comparados somente com os valores nominais fornecidos pelos fabricantes (erros relativos variando entre 2,5% e 4,0%).

5.3. CoTRP / NaClO₄ 0,2 MOL L⁻¹ (pH 4,7) / ACETAMINOFEN

- a modificação da superfície de eletrodos de carbono vítreo por complexos de CoTRP, *via* adsorção, é um procedimento rápido e simples, podendo ser realizado diariamente;
- o eletrodo modificado por CoTRP apresentou perfis voltamétricos com um par de ondas redox atribuído às espécies Ru^{III}/Ru^{II} periféricos. Na presença de acetaminofen, o filme comportou-se como um condutor redox, facilitando a reação de transferência de elétrons entre o analito e o substrato. O uso do filme também mostrou indícios relacionados à proteção da superfície contra o envenenamento. Dessa forma, o eletrodo modificado exibiu vantagens em relação ao mesmo sensor desprovido de filme de CoTRP, garantindo resultados mais confiáveis no que diz respeito à análise da espécie química em estudo.
- o filme composto pela porfirina adsorvida apresentou estabilidade satisfatória, mesmo quando o eletrodo foi submetido às condições de análise por BIA;
- produtos farmacêuticos contendo acetaminofen como princípio ativo foram submetidos à análise, empregando BIA com detecção amperométrica. Os resultados, comparados com os correspondentes obtidos pelo método espectrofotométrico, mostraram-se bastante satisfatórios de acordo com o gráfico construído para o teor de acetaminofen. Para este gráfico, a regressão linear apresentou uma inclinação próxima da unidade, enquanto a intersecção aproximou-se de zero.

5.4. NiTRP / NaOH 1,0 MOL L⁻¹ / GLICOSE

- o complexo de porfirina tetrarrutenada de níquel sofreu eletropolimerização em NaOH 0,1 mol L⁻¹, possibilitando a formação e o crescimento de filmes poliméricos sobre superfícies metálicas;
- o perfil da curva corrente-potencial obtido durante o processo mostrou-se semelhante ao descrito para eletropolimerização de complexos macrocíclicos de níquel, sendo o par de ondas resultante atribuído ao processo Ni^{III}/Ni^{II};
- o sensor manteve as características da porfirina tetrarrutenada, apresentando as correntes de pico típicas do par redox Ru^{III}/Ru^{II}, quando transferido para meio ácido. Resultados obtidos por espectroscopia UV-Vis. reforçaram essa hipótese;

- os filmes de poli-NiTRP foram formados somente acima de potenciais suficientemente positivos, sugerindo a participação de produtos gerados (radicais livres) a partir da oxidação de OH^- no processo de polimerização;
- a caracterização dos eletrodos modificados, *via* microscopia de força atômica, revelou que o depósito tem forma de picos, sugerindo que o filme cresce sobre o substrato metálico formando pilhas. Além disso, os resultados obtidos por AFM confirmaram a hipótese de que quantidades maiores do material são depositadas quando intervalos mais amplos de potencial são empregados durante o processo de eletropolimerização;
- quando transferido para soluções de NaOH mais concentradas ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$), o eletrodo modificado manteve os sinais atribuídos ao par $\text{Ni}^{\text{III}}/\text{Ni}^{\text{II}}$, com potenciais de pico anódico e catódico deslocados para valores menos positivos; os sinais apresentaram-se estáveis mesmo após centenas de varreduras de potenciais;
- a atividade eletrocatalítica do filme de poli-NiTRP foi evidente para oxidação de sacarose, galactose, frutose, lactose, manitol e glicose;
- a quantificação de glicose foi realizada utilizando voltametria cíclica e BIA/amperometria. Devido a um fator cinético envolvido no processo, a análise por voltametria cíclica foi realizada a 1 mV s^{-1} . Nessa condição experimental, o analito sofre oxidação na mesma região em que espécies Ni^{II} são oxidadas a Ni^{III} , com um suave deslocamento do potencial de pico anódico para valores mais positivos;
- a técnica BIA/amperometria mostrou-se mais eficiente do que a voltametria cíclica, fornecendo limite de detecção mais baixo, intervalo linear de trabalho mais amplo, melhor repetibilidade e frequência analítica mais alta. Além disso, os resultados BIA para a amostra farmacêutica comercial contendo glicose mostraram uma correlação melhor com os resultados espectrofotométricos.

5.5. BATCH INJECTION ANALYSIS (BIA)

- foi possível demonstrar a adequação dos sistemas estudados à operação BIA para a análise de amostras comerciais. Os resultados bastante satisfatórios certificaram a utilidade da técnica;
- a associação dos sensores amperométricos a BIA levaram à obtenção de picos de corrente bem definidos, alta dispersão e boa estabilidade da resposta para a quantificação dos analitos estudados;

- a combinação BIA/amperometria reúne sensibilidade e simplicidade, e evita o consumo de tempo em operações como separação, filtração e extração, viabilizando a sua aplicação em controle de qualidade;
- a tabela 9 exibe um resumo das características do método obtidas para cada sistema estudado. Vantagens como amplo intervalo linear de trabalho, baixo limite de detecção, boa repetibilidade e alta frequência analítica podem ser confirmadas.

Tabela 9. Características do método BIA/amperometria para os sistemas eletroquímicos estudados.

Sistema	Intervalo linear de trabalho	Limite de detecção	Repetibilidade	Frequência analítica
<u>cobre/NaOH 0,1 mol L⁻¹/ácido acetilsalicílico</u>	(1,0 x 10 ⁻⁶ –1,0 x 10 ⁻³) mol L ⁻¹	4,8 x 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	DPR ^b : 0,37% (n = 30)	60 det. h ⁻¹
<u>CV^a/NaOH 3,0 mol L⁻¹/sulfato de salbutamol</u>	(8,0 x 10 ⁻⁷ –2,0 x 10 ⁻⁴) mol L ⁻¹	2,5 x 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	DPR ^b : 0,92% (n = 50)	60 det. h ⁻¹
<u>CoTRP/NaClO₄ 0,2 mol L⁻¹/acetaminofen</u>	(1,0 x 10 ⁻⁶ –1,0 x 10 ⁻⁴) mol L ⁻¹	1,1 x 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	DPR ^b : 1,76% (n = 25)	60 det. h ⁻¹
<u>NiTRP/NaOH 1,0 mol L⁻¹/glicose</u>	(2,5 x 10 ⁻⁶ –1,0 x 10 ⁻³) mol L ⁻¹	3,6 x 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	DPR ^b : 1,10% (n = 25)	60 det. h ⁻¹

^a CV: carbono vítreo; ^b DPR: desvio padrão relativo

6. EM PERSPECTIVA

Este trabalho de pesquisa abriu várias perspectivas de estudo, principalmente com relação à modificação de eletrodos por metaloporfirinas, seguindo rotas distintas. Neste sentido, diversas são as propostas para a continuação do trabalho, as quais são relacionadas a seguir:

- a) Investigar as diferentes formas de imobilização das porfirinas, verificando a necessidade de empregar materiais inorgânicos para minimizar a sua “lixiviação”.

O uso de matrizes de sílica, grafite e zeólita para a imobilização de catalisadores é de grande interesse para aplicações analíticas. Entre estes materiais, a sílica-gel apresenta algumas características particulares, tais como elevada área superficial, rigidez, porosidade controlada e superfície quimicamente reativa. Sílica pode ser modificada com óxidos de metais (por exemplo, Ti(IV), Zr(IV), V(V) e Nb(V)), resultando em materiais de suporte para a imobilização de mediadores. Quando modificada com óxidos de Ti(IV), a sílica-gel apresenta uma superfície com propriedades anfotéricas, sendo positivamente carregada em soluções com pH abaixo de 5 [257]. As espécies catiônicas sobre a superfície podem interagir com espécies aniônicas, como a $[FeTPyP\{Ru(edta)\}_4]^{4-}$, permitindo a imobilização da porfirina. O material resultante pode ser utilizado na construção de eletrodos a base de pasta de carbono. O principal objetivo desse procedimento é minimizar, ou evitar, a solubilização da porfirina no meio eletrolítico. Com a obtenção de um sensor com boa estabilidade, medidas com elevado grau de confiança podem ser adquiridas.

- b) Explorar a utilidade de filmes constituídos por uma única porfirina ou de filmes mistos compostos pela associação de duas porfirinas com características eletroquímicas distintas ou, ainda, de uma porfirina com metais nobres eletrodepositados.

Uma vez sendo confirmada a imobilização dos complexos de $[FeTPyP\{Ru(EDTA)\}_4]^{4-}$ em matrizes de sílica-gel modificada, a adição de outro composto porfirínico com características eletroquímicas diferentes pode resultar em um detector versátil, capaz de responder a dois analitos distintos, simultaneamente. A estabilidade de filmes baseados em complexos de $[CoTPyP\{Ru(bipy)_2\}_4]^{5+}$ na presença de íons perclorato já

está bem estabelecida em nossos estudos. Em meio ácido contendo perclorato, os eletrodos modificados por essas duas porfirinas apresentam pares de ondas redox em regiões de potencial bastante diferentes, e cada uma delas apresenta atividade electrocatalítica para a oxidação e/ou redução de diferentes analitos. A idéia de unir ambos os complexos para obter um único eletrodo modificado é um caminho interessante para detecções simultâneas por voltametria cíclica. Por outro lado, também existe a possibilidade de adaptar dois eletrodos, cada um modificado por uma das porfirinas, a um sistema BIA conectado a um bipotenciostato, como uma forma elegante de distinguir analitos em misturas.

Uma outra idéia que se deseja explorar é a viabilidade de obter filmes mistos contendo porfirinas e outros materiais que apresentam propriedades catalíticas para muitas reações, tais como os metais nobres do grupo da platina (Ru, Rh, Pd, Os, Ir, Pt) e seus óxidos. Neste sentido, pretende-se analisar principalmente os efeitos sinérgicos que tais filmes podem oferecer.

- c) Desenvolver e comparar diferentes metodologias de eletropolimerização das porfirinas, explorando os filmes em estudos de caracterização, bem como verificar o seu desempenho como sensores eletroanalíticos.

O processo de eletropolimerização de complexos de $[NiTPyP\{Ru(bipy)_2Cl\}_4]^{4+}$, desenvolvido ao longo do presente trabalho, leva a obtenção de um filme com comportamentos eletroquímicos diferentes, dependendo do meio no qual o eletrodo modificado está presente. Em soluções alcalinas, o perfil voltamétrico observado para o filme de poli-NiTRP apresenta um único par de picos de corrente bem definidos e que foram atribuídos ao processo Ni^{III}/Ni^{II} . Se o filme é transferido para um meio ácido (pH 4,7), observam-se apenas os picos correspondentes ao par redox Ru^{III}/Ru^{II} . Cada um desses processos eletroquímicos ocorre em regiões de potencial distintas e é responsável por reações envolvendo electrocatálise da oxidação de diferentes analitos. Sabe-se que os processos de recobrimento são dependentes das condições de polimerização. Sendo assim, a manipulação adequada de parâmetros como pH e composição das soluções eletrolíticas pode resultar em um filme polimérico com atividades catalíticas para a eletrooxidação simultânea de diferentes analitos.

Adicionalmente, a eletropolimerização de vários outros complexos, tais como $[M-TPyP\{Ru(bipy)_2Cl\}_4]$ (onde M pode ser Cu^{II} , Co^{II} , Fe^{III} ...), deverá ser investigada.

- d) Buscar o desenvolvimento de microeletrodos modificados por filmes eletropolimerizados, visando aplicações em amostras reais, com a possibilidade de realizar análises em volumes muito reduzidos (microvolumes).

Uma vez dominados os processos de eletropolimerização das metaloporfirinas, diversas aplicações podem ser exploradas. Dentre elas, destaca-se o emprego de microeletrodos modificados. Às propriedades electrocatalíticas e seletivas dos filmes poliméricos obtidos, somam-se as vantagens já bem conhecidas dos microeletrodos (densidade de corrente aumentada, possibilidade de uso em meios com resistência alta, medições em volumes muito pequenos, etc). O desenvolvimento de microeletrodos recobertos com os filmes poliméricos visa a realização de várias aplicações, principalmente a análise em volumes reduzidos.

- e) Explorar a utilização de microeletrodos múltiplos, modificados por polimerização electroquímica das porfirinas, para análise multicomponente.

A análise multicomponente é tradicionalmente realizada utilizando um reagente específico para cada analito, ou separando o analito de seus interferentes. Todavia, nem sempre se dispõe de um reagente específico para cada analito, e a separação de elementos interferentes presentes na amostra é, em geral, trabalhosa. A possibilidade de associar os eletrodos modificados por porfirinas eletropolimerizáveis e detecção amperométrica com métodos de calibração multivariada surge como um caminho bastante atraente para a determinação simultânea de vários analitos, contornando os problemas da interferência mútua entre diferentes compostos da solução. Neste contexto, o grupo tem desenvolvido instrumentação, arranjos de microeletrodos e formas de sua modificação por eletrodeposição [258,259].

- f) Associar os processos de eletropolimerização com sistemas de microcanais, para análises em volumes reduzidos.

Tem-se desenvolvido em nosso grupo de pesquisa métodos de construção de microcanais [260] utilizando apenas materiais de escritório (computador, toner e transparências). Tais métodos oferecem vantagens em relação aos tradicionais porque requerem pouco tempo para a sua construção e são de baixo custo. A criação dos microcanais começa no computador, com o traçado do percurso feito com o auxílio de programas apropriados. Em seguida, faz-se a impressão em uma folha de plástico transparente. Essa folha é colada à outra em uma laminadora, formando uma espécie de sanduíche de polímero. A espessura da camada de toner, com poucos micrômetros, determina a altura do canal, enquanto a resolução do processo de impressão e a granulometria do toner respondem pela sua largura. Microestruturas usando microcanais podem também ser obtidas em superfícies de ouro, utilizando CDs graváveis. Neste sentido, propõe-se empregar este tipo de dispositivo, com a superfície de ouro modificada pela eletropolimerização de porfirinas, em análises que

utilizam volumes reduzidos. Além disso, há os microcanais construídos com placas de cobre, sendo o eletrodo a parede da placa (13 a 40 μm). A superfície de cobre pode receber depósitos de ouro, paládio e platina, entre outros metais. Esses depósitos podem ser modificados por filmes poliméricos de porfirinas.

- g)** Associar os eletrodos modificados a sistemas de análise com alta velocidade e boa precisão, tais como FIA e BIA, visando realizar aplicações com amostras reais.

O grupo de pesquisa domina de forma bastante satisfatória as técnicas de injeção em fluxo. Nosso laboratório destaca-se pela facilidade para criar e desenvolver novos sensores, construir protótipos de células e explorar novos esquemas de análise. Tais conhecimentos e habilidades vêm sendo aplicados nos diversos estudos em andamento no grupo [261-263] e podem ser de grande utilidade para os estudos propostos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] J. Janata, "Principles of Chemical Sensors", Plenum, New York, 1990.
- [2] A.M.O. Brett e C.M.A. Brett, "Electroquímica. Princípios, Métodos e Aplicações", Almedina, Coimbra, 1996.
- [3] P.R. Moses, P. Wier e R.W. Murray, *Anal. Chem.*, **47** (1975) 1882.
- [4] M.F.B. Souza, *Quim. Nova*, **20** (1997) 191.
- [5] H.D. Abruña, *Coord. Chem. Rev.*, **86** (1988) 135.
- [6] A.C. Pereira, A.S. Santos e L.T. Kubota, *Quim. Nova*, **25** (2002) 1012.
- [7] A. Ciszewski e G. Milczarek, *J. Electroanal. Chem.*, **413** (1996) 137.
- [8] K. Araki, L. Angnes, C.M.N. Azevedo e H.E. Toma, *J. Electroanal. Chem.*, **397** (1995) 205.
- [9] M. Biesaga, K. Pyrznska e M. Trojanowicz, *Talanta*, **51** (2000) 209.
- [10] C.M.N. Azevedo, K. Araki, L. Angnes e H.E. Toma, *Electroanalysis*, **10** (1998) 467.
- [11] K. Araki e H.E. Toma, *Quim. Nova*, **25** (2002) 962.
- [12] L. Angnes, C.M.N. Azevedo, K. Araki e H.E. Toma, *Anal. Chim. Acta*, **329** (1996) 91.
- [13] C.M.N. Azevedo, K. Araki, H.E. Toma e L. Angnes, *Anal. Chim. Acta*, **387** (1999) 175.
- [14] J.R.C. Rocha, L. Angnes, M. Bertotti, K. Araki e H.E. Toma, *Anal. Chim. Acta*, **452** (2002) 23.
- [15] M.S.M. Quintino, K. Araki, H.E. Toma e L. Angnes, *Electroanalysis*, **14** (2002) 1629.
- [16] K. Stulik e V. Pacakova, "Electroanalytical Measurements in Flowing Liquids", Ellis Horwood, Chichester, 1987.
- [17] H. Gunasingham e B. Fleet, "Electroanalytical Chemistry", ed. A.J. Bard, Dekker, New York, Vol. 16, 1989.
- [18] C.M.A. Brett e A.M.C.F. Oliveira Brett, *Port. Electrochim. Acta*, **7** (1989) 657.
- [19] J. Ruzicka e E.H. Hansen, "Flow Injection Analysis", Wiley, New York, 1981.
- [20] J. Wang e Z. Taha, *Anal. Chem.*, **63** (1991) 1053.
- [21] L. Chen, J. Wang e L. Angnes, *Electroanalysis*, **3** (1991) 773.
- [22] J. Wang e L. Angnes, *Anal. Lett.*, **26** (1993) 2329.
- [23] A. Donato, J.J. Pedrotti e I.G.R. Gutz, *Electroanalysis*, **11** (1999) 1124.
- [24] J. Wang e Z. Taha, *Anal. Chim. Acta*, **252** (1991) 215.
- [25] C.M.A. Brett, A.M.O. Brett e L. Tugulea, *Anal. Chim. Acta*, **322** (1996) 151.

- [26] M.S.M. Quintino e L. Angnes, *Electroanalysis*, **no prelo**.
- [27] M.S.M. Quintino, D. Corbo, M. Bertotti e L. Angnes, *Talanta*, **58** (2002) 943.
- [28] M.S.M. Quintino e L. Angnes, *Talanta*, **62** (2004) 231.
- [29] S. Udomsopagit, M. Suphantharika, W. Kunnecke, U. Bilitewski e A. Bhumiratana, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **14** (1998) 543.
- [30] E. Katz, T. Lotzbeyer, D.D. Schlereth, W. Schuhmann e H-L. Schmidt, *J. Electroanal. Chem.*, **373** (1994) 189.
- [31] E. Wilkins e P. Atanasov, *Med. Eng. Phys.*, **18** (1996) 273.
- [32] O. Siggaard-Anderser, I.H. Gothgen e N. Fogh-Anderser, *Acta Anaesth. Scand.*, **39** (1995) 7.
- [33] A.P.F. Turner, *Acta Anaesth. Scand.*, **39** (1995) 15.
- [34] G.A. Mabott, *J. Chem. Educ.*, **60** (1983) 697.
- [35] P.T. Kissinger e W.R. Heineman, *J. Chem. Educ.*, **60** (1983) 702.
- [36] J.J. Van Benschoten, J.Y. Lewis, W.R. Heineman, D.A. Roston e P.T. Kissinger, *J. Chem. Educ.*, **60** (1983) 772.
- [37] D.K. Gosser Jr., "Cyclic Voltammetry. Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms", VCH Publishers, Inc., New York, 1993.
- [38] L.R. Skeggs, *Anal. J. Pathol.*, **28** (1957) 311.
- [39] J. Ruzicka, *J. Anal. Chem.*, **55** (1983) 1040A.
- [40] H.A. Motola, *Anal. Chem.*, **53** (1981) 1312A.
- [41] J. Wang, *Microchem. J.*, **45** (1992) 219.
- [42] J. Wang e L. Chen, *Analyst*, **119** (1994) 1345.
- [43] H. Gunasinghan, *Anal. Chim. Acta*, **159** (1984) 139.
- [44] H. Gunasinghan, B.T. Tay e K.P. Ang, *Anal. Chem.*, **56** (1984) 2422.
- [45] A. Amine, J. M. Kauffmann e G. Palleschi, *Anal. Chim. Acta*, **273** (1993) 213.
- [46] Y.I. Tur'yan, E.M. Strochkova, I. Kuselman e A. Shenhar, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **354** (1996) 410.
- [47] C.M.A. Brett, A.M.O. Brett e L.C. Mitoseriu, *Electroanalysis*, **7** (1995) 225.
- [48] J. Yamada e H. Matsuda, *J. Electroanal. Chem.*, **44** (1973) 189.
- [49] C.M.A. Brett e A.M.O. Brett, "Comprehensive Chemical Kinetics", eds. C.H. Bamford e R.G. Compton, Elsevier, Amsterdam, Vol. 26, Capítulo 5, 1986.
- [50] C.M.A. Brett, A.M.O. Brett e L.C. Mitoseriu, *Anal. Chem.*, **66** (1994) 3145.
- [51] C.M.A. Brett, *Pure Appl. Chem.*, **73** (2001) 1969.
- [52] S. Hughes e D.C. Johnson, *J. Agric. Food Chem.*, **30** (1982) 712.
- [53] J.A. Polta e D.C. Johnson, *J. Liq. Chromatogr.*, **6** (1983) 1727.
- [54] D.S. Austin, J.A. Polta, T.Z. Polta, A.P. C. Tang, T.D. Kabelka e D.C. Johnson,

- J. Electroanal. Chem.*, **168** (1984) 227.
- [55] D.C. Johnson e W.R. LaCourse, *Anal. Chem.*, **62** (1990) 589A.
- [56] R.D. Rocklin e C.A. Pohl, *J. Liq. Chromatogr.*, **6** (1983) 1577.
- [57] G.G. Neuberger e D.C. Johnson, *Anal. Chem.*, **59** (1987) 150.
- [58] G.G. Neuberger e D.C. Johnson, *Anal. Chem.*, **59** (1987) 203.
- [59] L.E. Welch, W.R. LaCourse, D.A. Mead Jr., D.C. Johnson e T. Hu, *Anal. Chem.*, **61** (1989) 555.
- [60] W.R. LaCourse, W.A. Jackson e D.C. Johnson, *Anal. Chem.*, **61** (1989) 2466.
- [61] J.E. Vitt, L.A. Larew e D.C. Johnson, *Electroanalysis*, **2** (1990) 21.
- [62] K.G. Schick, V.G. Magearu e C.O. Huber, *Clin. Chem.*, **24** (1978) 448.
- [63] T.N. Morrinson, K.G. Schick e C.O. Huber, *Anal. Chim. Acta*, **120** (1980) 75.
- [64] B.S. Hui e C.O. Huber, *Anal. Chim. Acta*, **134** (1982) 211.
- [65] W. Buchberger, K. Winsauer e Ch. Breitwieser, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **315** (1983) 518.
- [66] C.J. Yuan e C.O. Huber, *Anal. Chem.*, **57** (1985) 180.
- [67] J.B. Kafil e C.O. Huber, *Anal. Chim. Acta*, **176** (1985) 275.
- [68] R.E. Reim e R.M. Van Effen, *Anal. Chem.*, **58** (1986) 3203.
- [69] T.Th. Kok, U.A.Th. Brinkman e R.W. Frei, *J. Chromatogr.*, **256** (1983) 17.
- [70] K. Stulik, V. Pacakova, K. Le e B. Hennissen, *Talanta*, **35** (1988) 455.
- [71] S.V. Phrabu e R.P. Baldwin, *Anal. Chem.*, **61** (1989) 852.
- [72] S.V. Phrabu e R.P. Baldwin, *Anal. Chem.*, **61** (1989) 2258.
- [73] P. Luo, S.V. Phrabu e R.P. Baldwin, *Anal. Chem.*, **62** (1990) 752.
- [74] S.V. Phrabu e R.P. Baldwin, *J. Chromatogr.*, **503** (1990) 227.
- [75] D. Corbo e M. Bertotti, *Anal. Bioanal. Chem.*, **374** (2002) 416.
- [76] T.R.L.C. Paixão, D. Corbo e M. Bertotti, *Anal. Chim. Acta*, **472** (2002) 123.
- [77] N.A. Hampson, J.B. Lee, J.R. Morley e B. Scanlon, *Can. J. Chem.*, **47** (1989) 3729.
- [78] R.M. Van Effen e D.H. Evans, *J. Electroanal. Chem.*, **103** (1979) 383.
- [79] D. Pletcher, M. Fleischmann e K. Korinek, *J. Electroanal. Chem.*, **33** (1971) 478.
- [80] R.F. Lane e A.T. Hubbard, *J. Phys. Chem.*, **77** (1973) 1401.
- [81] R.F. Lane e A.T. Hubbard, *J. Phys. Chem.*, **77** (1973) 1411.
- [82] J.E. Falk, "Porphyrins and Metalloporphyrins", Elsevier, New York, 1975.
- [83] K. Araki e H.E. Toma, *J. Chem. Res. (M)*, (1994) 1501.
- [84] K. Araki e H.E. Toma, *J. Coord. Chem.*, **30** (1993) 9.
- [85] K. Araki e H.E. Toma, *J. Photochem. Photobiol. A*, **83** (1994) 245.
- [86] K. Araki, L. Angnes e H.E. Toma, *Adv. Mater.*, **7** (1995) 554.
- [87] K. Araki, M.J. Wagner e M.S. Wrighton, *Langmuir*, **12** (1996) 5393.

- [88] E. Bekker, E. Malinowska, R.D. Schiller e M.E. Meyerhoff, *Talanta*, **41** (1994) 881.
- [89] D. Gao, J.Z. Li e R.Q. Yu, *Anal. Chem.*, **66** (1994) 2245.
- [90] E.D. Steinle, U. Schaller e M.E. Meyerhoff, *Anal. Sci.*, **14** (1998) 79.
- [91] N.A. Chaniotakis, S.B. Park e M.E. Meyerhoff, *Anal. Chem.*, **61** (1989) 566.
- [92] V.K. Gupta, A.K. Jain, L.P. Singh e U. Khurana, *Anal. Chim. Acta*, **355** (1997) 33.
- [93] A.K. Jain, V.K. Gupta, L.P. Singh e U. Khurana, *Analyst*, **122** (1997) 583.
- [94] M.M.G. Antonisse, B.H.M. Smellink-Rubel, J.F.J. Engbersen e D.N. Reinhoudt, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **2** (1998) 773.
- [95] D.M. Kliza e M.E. Meyerhoff, *Electroanalysis*, **4** (1992) 841.
- [96] C. Sun, J. Zhao, H. Xu, Y. Sun, X. Zhang e J. Shen, *Talanta*, **46** (1998) 15.
- [97] S. Mesaros, S. Grunfeld, A. Mesarova, D. Bustin e T. Malinski, *Anal. Chim. Acta*, **339** (1997) 265.
- [98] T. Malinski e Z. Taha, *Nature*, **358** (1992) 676.
- [99] T. Malinski, Z. Taha, S. Grunfeld, A. Burewicz, P. Tomboulion e F. Kiechle, *Anal. Chim. Acta*, **279** (1993) 135.
- [100] T. Malinski, A. Cizewski, J.-R. Fish e L. Czuchajowski, *Anal. Chem.*, **62** (1990) 909.
- [101] F. Bailey, T. Malinski e F. Kiechle, *Anal. Chem.*, **63** (1991) 395.
- [102] T. Malinski, F. Bailey, J.R. Fish e F. Kiechle, *Anal. Chim. Acta*, **249** (1991) 35.
- [103] H.H. Frey, C.J. McNeil, R.W. Keay e J.V. Bannister, *Electroanalysis*, **10** (1998) 480.
- [104] B. Duong, R. Arechabatela e J. Tao, *J. Electroanal. Chem.*, **447** (1998) 63.
- [105] V.C. Dall'Orto, C. Danilowicz, J. Hurst, A.L. Balbo e I. Rezzano, *Electroanalysis*, **10** (1998) 127.
- [106] F. Qu, N. Q. Li e Y.Y. Jiang, *Anal. Chim. Acta*, **344** (1997) 97.
- [107] F. Qu, N. Q. Li e Y.Y. Jiang, *Microchem. J.*, **58** (1998) 39.
- [108] F. Qu, N. Q. Li e Y.Y. Jiang, *Talanta*, **45** (1998) 787.
- [109] Q. Deng e S. Dong, *Analyst*, **121** (1996) 1123.
- [110] S. Dong e T. Kuwanawa, *Electroanalysis*, **3** (1991) 485.
- [111] A.M.O. Brett, F.M. Matysik e M.T. Vieira, *Electroanalysis*, **9** (1997) 209.
- [112] M.H. Gil, J.P. Sardinha, M.T. Vieira, M. Vivian, D. Costa, C. Rodrigues, F.M. Matysik e A.M.O. Brett, *Biotech. Tech.*, **13** (1999) 595.
- [113] H. Mohammadi, M. El Rhazi, A. Amine, A.M.O. Brett e C.M.A. Brett, *Analyst*, **127** (2002) 1088.
- [114] A. Walcarius, L. Lamberts e E.G. Derouane, *Electroanalysis*, **7** (1995) 120.
- [115] L. Gorton, *Electroanalysis*, **7** (1995) 23.
- [116] C.M.A. Brett, G. Inzelt e V. Kertesz, *Anal. Chim. Acta*, **385** (1999) 119.

- [117] J.J. Pedrotti, L. Angnes e I.G.R. Gutz, *Electroanalysis*, **4** (1992) 635.
- [118] C.M.A. Brett, A.M.O. Brett e L. Tugulea, *Electroanalysis*, **8** (1996) 639.
- [119] R.M. Barbosa, L.M. Rosário, C.M.A. Brett, A.M.O. Brett, *Analyst*, **121** (1996) 1789.
- [120] C.M.A. Brett, A.M.O. Brett, F.M. Matysik, S. Matysik e S. Kumbhat, *Talanta*, **43** (1996) 2015.
- [121] D.A. Fungaro e C.M.A. Brett, *Anal. Chim. Acta*, **385** (1999) 257.
- [122] C.M.A. Brett e D.A. Fungaro, *Talanta*, **50** (2000) 1233.
- [123] C.M.A. Brett, D.A. Fungaro, J.M. Morgado e M.H. Gil, *J. Eletroanal. Chem.*, **468** (1999) 26.
- [124] C.M.A. Brett e D.A. Fungaro, *J. Braz. Chem. Soc.*, **11** (2000) 298.
- [125] C.M.A. Brett e J.M. Morgado, *J. Appl. Toxicol.*, **20** (2000) 477.
- [126] C.M.A. Brett, V.A. Alves e D.A. Fungaro, *Electroanalysis*, **13** (2001) 212.
- [127] F.C. Abreu, M.O.F. Goulart e A.M.O. Brett, *Biosens. Bioelectron.*, **17** (2002) 913.
- [128] J. Lu, Q. Chen, D. Diamond e J. Wang, *Analyst*, **118** (1993) 1131.
- [129] D. Diamond, J. Lu, Q. Chen e J. Wang, *Anal. Chim. Acta*, **281** (1993) 629.
- [130] J.C.B. Fernandes, C.A.B. Garcia, L.A. Grandin, G.O. Neto e O.E.S. Godinho, *J. Braz. Chem. Soc.*, **9** (1998) 249.
- [131] Y.G. Vlasov, Y.E. Ermolenko e V.V. Kolodnikov, *Sensors Actuat. B-Chem.*, **24** (1995) 317.
- [132] P. Baitallard, *Trac-Trend. Anal. Chem.*, **12** (1993) 387.
- [133] P. Thavarungkul, P. Suppapitnarm, P. Kanatharana e B. Mattiasson, *Biosens. & Bioelectron.*, **14** (1999) 19.
- [134] J. Wang, G.D. Rayson e Z. Taha, *Applied Spectroscopy*, **46** (1992) 107.
- [135] T.J. Moore, M.J. Joseph, B.W. Allen e L.A. Coury Jr., *Anal. Chem.*, **67** (1995) 1896.
- [136] C.E. Kibbey, S.B. Park, G. DeAwyler e M.E. Meyerhoff, *J. Eletroanal. Chem.*, **335** (1992) 135.
- [137] C.A. Kelly, *J. Pharm. Sci.*, **59** (1970) 1053.
- [138] British Pharmacopoeia, Her Majesty's Stationery Office, London, 1980, p. 733.
- [139] P. Trinder, *Biochem. J.*, **57** (1954) 301.
- [140] V.J.F. Ferreira, A.C.V. Cavalheiro, E. Fagnani, M. de Moraes, L. Pezza, H.R. Pezza e C.B. Melios, *Anal. Sci.*, **15** (1999) 249.
- [141] L.T. Kubota, J.C.B. Fernandes, L. Rover Jr. e G.O. Neto, *Talanta*, **50** (1999) 661.
- [142] L. Rover Jr., C.A.B. Garcia, G.O. Neto, L.T. Kubota e F. Galembeck, *Anal. Chim. Acta*, **366** (1998) 103.
- [143] M.M. Sena, J.C.B. Fernandes, L. Rover Jr., R.J. Poppi e L.T. Kubota, *Anal. Chim. Acta*, **409** (2000) 159.

- [144] A.R. Medina, M.L.F. Córdova, P.O. Barrales e A.M. Diaz, *Inter. J. Pharm.*, **216** (2001) 95.
- [145] A.V. Pereira, O. Fatibello-Filho e O. Aniceto, *Analyst*, **123** (1998) 1011.
- [146] L. Rover Jr., G.O. Neto, J.R. Fernandes e L.T. Kubota, *Talanta*, **51** (2000) 547.
- [147] N. Neumayr, O. Friedrich, G. Sontag e F. Pittner, *Anal. Chim. Acta*, **273** (1993) 469.
- [148] M. Ehrendorfer, G. Sontag e F. Pittner, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **356** (1996) 75.
- [149] M. Carlson e R.D. Thompson, *J. Liq. Chromatogr.*, **10** (1987) 997.
- [150] F. Kees, D. Jehnich e H. Grobecker, *J. Chromatogr. B*, **677** (1996) 172.
- [151] Y. S. Fung e S. F. Luk, *Analyst*, **114** (1989) 943.
- [152] I.G. Casella e M. Gatta, *J. Chromatogr. A*, **912** (2001) 223.
- [153] Z. L. Chen e D.B. Hibbert, *J. Chromatogr. A*, **766** (1997) 27.
- [154] S.A. Ring, A. Terry, R. Causon e W.N. Jenner, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **16** (1998) 1213.
- [155] J. Ye e R.P. Baldwin, *Anal. Chem.*, **66** (1994) 2669.
- [156] J.E.F. Reynolds, *Martindale: The Extra Pharmacopoeia*, 30ª edição, The Pharmaceutical Press, London, 1993, p.1255.
- [157] <http://www.ch.ic.ac.uk/local/projects/mohataren/>, maio de 2003.
- [158] *United States Pharmacopoeia*, 3ª edição, Mack Publishing Co., Easton, P.A., 1995.
- [159] *British Pharmacopoeia*, Vol. II, Her Majesty's Stationery Office, London, 1993, p.1090.
- [160] *British Pharmacopoeia*, Vol. II, Her Majesty's Stationery Office, London, 1988, p.1001.
- [161] R.S. Bakry, O.A. Razak, A.F.M. El Walily e S.F. Belal, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **14** (1996) 357.
- [162] N.P. Sadler e H. Jacobs, *Talanta*, **42** (1995) 1385.
- [163] D.T. Burns, N. Chimpalee, D. Chimpalee e K. Leiwongcharoen, *Anal. Chim. Acta*, **260** (1992) 65.
- [164] E.R.M. Hackmann, S.A. Benetton e M.I.R.M. Santoro, *J. Pharm. Pharmacol.*, **43** (1991) 285.
- [165] N. Geeta e T.R. Baggi, *Microchem. J.*, **39** (1989) 137.
- [166] R.T. Sane, V.G. Nayak e V.B. Malkar, *Talanta*, **32** (1985) 31.
- [167] J.R. Loss, R.F. Orzechowski e R.S. Hock, *Biomed. Chrom.*, **14** (2000) 1.
- [168] J. Huclová, D. Satinský, H. Sklenářová e R. Karlíček, *Anal. Bioanal. Chem.*, **376** (2003) 448.
- [169] N.W. Barnett, B.J. Hindson e S.W. Lewis, *Anal. Chim. Acta*, **384** (1999) 151.
- [170] J.L. Bernal, M.J. del Nozal, H. Velasco e L. Toribio, *J. Liq. Chrom. & Rel.*

- Technol.*, **19** (1996) 1579.
- [171] M.T. Ackermans, J.L. Beckers, F.M. Everaerts e I.G.J.A. Seelen, *J. Chromatogr.*, **590** (1992) 341.
- [172] R.N. Gupta, H.D. Fuller e M.B. Dalovich, *J. Chromatogr. B*, **654** (1994) 205.
- [173] F. Ramos, M.C. Castilho, M.I. Noronha de Silveria, J.A.N. Prates e J.H.R.D. Correia, *Anal. Chim. Acta*, **275** (1993) 279.
- [174] K.A. Sagar, C. Hua, M.T. Kelly e M.R. Smyth, *Electroanalysis*, **4** (1992) 481.
- [175] K.D. Altria, *J. Chromatogr.*, **634** (1993) 323.
- [176] N.T. Abdel-Ghani, M.S. Rizk e R.M. El-Nashar, *Anal. Lett.*, **35** (2002) 39.
- [177] Y.M. Issa, A.F. Shoukry e R.M. El-Nashar, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **26** (2001) 379.
- [178] N. Yilmaz, S.A. Özkan, B. Uslu, Z. Sentürk e I. Biryol, *Tr. J. Chem.*, **22** (1998) 175.
- [179] K.A. Sagar, M.R. Smyth e R. Munden, *J. Pharm. Biom. Anal.*, **11** (1993) 533.
- [180] D. Boyd, J.R.B. Rodriguez, A.J.M. Ordieres, P.T. Blanco e M.R. Smyth, *Analyst*, **119** (1994) 1979.
- [181] A. Korolkovas e J.H. Burckhalter, "Química Farmacêutica", Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1988.
- [182] S. Belal, M.A.H. Elsayed, A. Elwaliely e H. Abdine, *J. Pharm. Sci.*, **68** (1979) 750.
- [183] C. Aniceto e O. Fatibello-Filho, *Quim. Nova*, **25** (2002) 387.
- [184] J.A.M. Pulgarin e L.F.G. Bermejo, *Anal. Chim. Acta*, **333** (1996) 59.
- [185] S.T. Patil, M. Sundaresan, I.C. Bhoir e A. M. Bhagwat, *Talanta*, **47** (1998) 3.
- [186] O.W. Lau, S.F. Luk e Y.M. Cheung, *Analyst*, **114** (1989) 1047.
- [187] J.M. Zen e Y.S. Ting, *Anal. Chim. Acta*, **342** (1997) 175.
- [188] S.S. Huang, H. Tang e B.F. Li, *Mikrochim. Acta*, **128** (1998) 37.
- [189] I.C. Vieira, K.O. Lupetti e O. Fatibello-Filho, *Quim. Nova*, **26** (2003) 39.
- [190] A. Belini, E. Clemente e O. Fatibello-Filho, *Talanta*, **55** (2001) 685.
- [191] Z. Bouhsain, S. Garrigues, A. MoralesRubio e M. delaGuardia, *Anal. Chim. Acta*, **330** (1996) 59.
- [192] M.L. Ramos, J.F. Tyson e D.J. Curran, *Anal. Chim. Acta*, **364** (1998) 107.
- [193] A. Criado, S. Cardenas, M. Gallego e M. Valcarcel, *Talanta*, **53** (2000) 417.
- [194] E. Katz, I. Willner e B. Kotlyar, *J. Electroanal. Chem.*, **479** (1999) 64.
- [195] S.B. Khoo, M.G.S. Yap, Y.L. Huang e S. Guo, *Anal. Chim. Acta*, **351** (1997) 133.
- [196] W. Gorski e R.T. Kennedy, *J. Electroanal. Chem.*, **424** (1997) 43.
- [197] L.M. Santos e R.P. Baldwin, *Anal. Chem.*, **59** (1987) 1766.
- [198] L.M. Santos e R.P. Baldwin, *Anal. Chim. Acta*, **206** (1988) 85.
- [199] J.J. Fei, Y.H. Wu, X.B. Ji, J. Wang, S.S. Hu e Z.Q. Gao, *Anal. Sci.*, **19** (2003) 1259.
- [200] S.G. Wang, Q. Zhang, R.L. Wang, S.F. Yoon, J. Ahn, D.J. Yang, J.Z. Tian, J.Q.

- Li e Q. Zhou, *Electrochem. Commun.*, **5** (2003) 800.
- [201] S. Hrapovic e J.H.T. Luong, *Anal. Chem.*, **75** (2003) 3308.
- [202] P.C. Pandey, S. Upadhyay, N.K. Shukla e S. Sharma, *Biosens. & Bioelectron.*, **18** (2003) 1257.
- [203] F.M. Tian e G.Y. Zhu, *Sensors Actuat. B-Chem.*, **86** (2002) 266.
- [204] B. Piro, L.A. Dang, M.C. Pham, S. Fabiano e C. Tran-Minh, *J. Electroanal. Chem.*, **512** (2001) 101.
- [205] M.C. Rodriguez e G.A. Rivas, *Anal. Lett.*, **33** (2000) 2373.
- [206] S.P. Yang, Y.F. Fu, P. Atanassov, E. Wilkins e X.C. Long, *Talanta*, **47** (1998) 735.
- [207] J.L. Wu, J.Z. Zhu, G.X. Zhang, X.R. Li e N.Y. Cheng, *Anal. Chim. Acta*, **327** (1996) 133.
- [208] B.A.A. Dremel, B.P.H. Schafar e R.D. Schmid, *Anal. Chim. Acta*, **225** (1989) 293.
- [209] F. Cespedes, E. Martinezfabregas e S. Alegret, *Anal. Chim. Acta*, **284** (1993) 21.
- [210] O. Fatibello-Filho, *J. Braz. Chem. Soc.*, **4** (1993) 72.
- [211] E.A. Irhayem, H. Elzanowska, A.S. Jhas, B. Skrzynecka e V. Birss, *J. Electroanal. Chem.*, **538** (2002) 164.
- [212] J. Wang e L. Angnes, *Anal. Chem.*, **64** (1992) 456.
- [213] H.W. Lei, B. Wu, C.S. Cha e H. Kita, *J. Electroanal. Chem.*, **382** (1995) 103.
- [214] K. Araki e H.E. Toma, *Inorg. Chim. Acta*, **179** (1991) 293.
- [215] K. Araki e H.E. Toma, *J. Chem. Res.(S)*, (1994) 290.
- [216] K. Araki, "Propriedades Supramoleculares de Porfirinas Polinucleadas", Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo (1994).
- [217] J. Hanaee, *Pharm. Acta Helvetiae*, **72** (1997) 239.
- [218] T. Morita, "Manual de soluções, reagentes e solventes", Edgard Blücher, São Paulo, 1995.
- [219] J.M.M. Droog, C.A. Alderliesten, P.T. Alderliesten e G.A. Bootsma, *J. Electroanal. Chem.*, **111** (1980) 61.
- [220] J.M.M. Droog e B. Schlenter, *J. Electroanal. Chem.*, **112** (1980) 387.
- [221] B. Miller, *J. Electrochem. Soc.*, **116** (1969) 1675.
- [222] S. Fletcher, R.G. Barradas e J.P. Porter, *J. Electrochem. Soc.*, **125** (1978) 1960.
- [223] S.M. Abd el Haleem e B.G. Ateya, *J. Electroanal. Chem.*, **117** (1981) 309.
- [224] L.D. Burke e T.G. Ryan, *J. Electrochem Soc.*, **137** (1990) 1358.
- [225] M.P. Sanchez, M. Barrera, S. Gonzalez e R.M. Souto, *Electrochim. Acta*, **35** (1990) 1337.
- [226] A.M. Shams El Din e F.M. Abd El Wahab, *Electrochim. Acta*, **9** (1964) 113.

- [227] J.M. Marioli e T. Kuwana, *Electrochim. Acta*, **37** (1992) 1187.
- [228] M.Z. Luo e R.P. Baldwin, *J. Electroanal. Chem.*, **387** (1995) 87.
- [229] P. Luo, F. Zhang e R.P. Baldwin, *Anal. Chim. Acta*, **244** (1991) 169.
- [230] B. Wels e D.C. Johnson, *J. Electrochem. Soc.*, **137** (1990) 2785.
- [231] J.C. Miller e J.N. Miller, "Statistics for Analytical Chemistry", Harwood, Chichester, 1992.
- [232] H.Y. Aboul-Enein, A.A. Al-Badr e S.R. Ibrahim, "Analytical Profiles of Drug Substances", K. Florey (Editor), Vol. 30, Academic Press, New York, 1981.
- [233] E.G.C. Clarke, "Isolation and Identification of Drugs", The Pharmaceutical Press, London, 1975.
- [234] M.E. Evans, S.R. Walker, R.T. Brittain e J.W. Paterson, *Xanobiotica*, **3** (1973) 113.
- [235] H.E. Toma e K. Araki, *Coord. Chem. Rev.*, **196** (2000) 307.
- [236] B.P. Sullivan, D. Conrad e T.J. Meyer, *Inorg. Chem.*, **24** (1985) 3640.
- [237] J. Fajer, D.C. Borg, A. Forman, D. Dolphin e R.H. Felton, *J. Amer. Chem. Soc.*, **92** (1970) 3451.
- [238] C.M.N. Azevedo, "Desenvolvimento de Eletrodos Modificados e Métodos Analíticos", Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo (1999).
- [239] J.R.C. Rocha, G.J.F. Demets, M. Bertotti, K. Araki e H.E. Toma, *J. Electroanal. Chem.*, **526** (2002) 69.
- [240] G. Rosloneck e J. Taraszewska, *J. Electroanal. Chem.*, **325** (1992) 285.
- [241] T.R.I. Cataldi, E. Desimoni, G. Ricciardi e F. Lelj, *Electroanalysis*, **7** (1995) 435.
- [242] T.R.I. Cataldi, D. Centonze e G. Ricciardi, *Electroanalysis*, **7** (1995) 312.
- [243] S. Trevin, F. Bedioui, M.G.G. Villegas e C.B. Charreton, *J. Mater. Chem.*, **7** (1997) 923.
- [244] J. Manriquez, J.L. Bravo, S.G. Granados, S.S. Succar, C.B. -Charreton, A.A. Ordaz e F. Bedioui, *Anal. Chim. Acta*, **378** (1999) 159.
- [245] F. Bedioui, J. Devynck e C.B. Charreton, *Acc. Chem. Res.*, **28** (1995) 30.
- [246] A. Deronzier e M.J. Marques, *Electrochim. Acta*, **39** (1994) 1377.
- [247] B. Keita, Y.W. Lu e L. Nadjo, *J. Electroanal. Chem.*, **367** (1994) 285.
- [248] H. Li e T.F. Guarr, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1989) 832.
- [249] H. Li e T.F. Guarr, *J. Electroanal. Chem.*, **317** (1991) 189.
- [250] X.H. Um e F.A. Shultz, *J. Electroanal. Chem.*, **361** (1993) 49.
- [251] F. Xu, H. Li, S.J. Cross e T.F. Guarr, *J. Electroanal. Chem.*, **368** (1994) 221.
- [252] M. Vukovic, *J. Appl. Electrochem.*, **24** (1994) 878.

- [253] F. Pasquini e P. Tissot, *J. Appl. Electrochem.*, **26** (1996) 211.
- [254] I. Epelboin, M. Jousselin e R. Wiart, *J. Electroanal. Chem.*, **119** (1981) 61.
- [255] I. Epelboin, M. Jousselin e R. Wiart, *J. Electroanal. Chem.*, **101** (1979) 281.
- [256] S. Berchmans, H. Gomathi e G.P. Rao, *J. Electroanal. Chem.*, **394** (1995) 267.
- [257] E.F. Perez, L.T. Kubota, A.A. Tanaka e G. O. Neto, *Electrochim. Acta*, **43** (1998) 1665.
- [258] R.C. Matos, L. Angnes e C.L. do Lago, *Instrum. Sci. Tech.*, **26** (1998) 451.
- [259] R.C. Matos, L. Angnes, M.C.U. Araújo e T.C.B. Saldanha, *Analyst*, **125** (2000) 2011.
- [260] C.L. do Lago, H.D.T. Silva, C.A. Neves, J.G.A. Brito Neto e J.A.F. Silva, *Anal. Chem.*, **75** (2003) 3853.
- [261] E.M. Richter, M.A. Augelli, G.H. Kume, R.N. Mioshi e L. Angnes, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **366** (2000) 444.
- [262] R.C. Matos, I.G.R. Gutz, L. Angnes, R.S. Fontenele e J.J. Pedrotti, *Quim. Nova*, **24** (2001) 195.
- [263] D. Daniel e I.G.R. Gutz, *Electroanalysis*, **24** (2001) 689.

CURRICULUM VITAE

NOME: Maria do Socorro Maia Quintino

DATA DE NASCIMENTO: 16 de maio de 1968

NATURALIDADE: Iguatu-CE

EDUCAÇÃO

Colégio Nossa Senhora dos Remédios, Osasco-SP, 1986.

Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 1994
Química Industrial

Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 1999
Mestrado em Físico-Química

Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2003
Doutorado em Química Analítica

PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS EM PERIÓDICOS INTERNACIONAIS

Maria do Socorro Maia Quintino e Lúcio Angnes, "Batch injection analysis: an almost unexplored powerful tool", *Electroanalysis*, no prelo.

Maria do Socorro Maia Quintino e Lúcio Angnes, "BIA-amperometric quantification of salbutamol in pharmaceutical products", *Talanta*, 62 (2004) 231.

Biagio Fernando Giannetti, Maria do Socorro Maia Quintino e Tibor Rabóczkay, "Pitting corrosion and passivation of Zr/HCl 1.0 M electrodes: the effect of the pre-immersion in molybdate solutions", *Portugaliae Electrochimica Acta*, 21 (2003) 213.

Maria do Socorro Maia Quintino, Koiti Araki, Henrique Eisi Toma e Lúcio Angnes, "Batch injection analysis utilizing modified electrodes with tetra-ruthenated porphyrin films for acetaminophen quantification", *Electroanalysis*, 14 (2002) 1629.

Maria do Socorro Maia Quintino, Dennys Corbo, Mauro Bertotti e Lúcio Angnes, "Amperometric determination of acetylsalicylic acid in drugs by batch injection analysis at a copper electrode in alkaline solutions", *Talanta*, 58 (2002) 943.

COMUNICAÇÕES EM CONGRESSOS

Evento: 12º Encontro Nacional de Química Analítica

Título: Porfirinas tetrarrutenadas de níquel: caracterização e propriedades electrocatalíticas de filmes obtidos por polimerização electroquímica em meio alcalino

Autores: Maria do Socorro Maia Quintino, Herbert Winnischofer, Marcelo Nakamura, Koiti Araki, Henrique Eisi Toma e Lúcio Angnes

Local: São Luís – MA - Brasil

Período: 14 a 17 de outubro de 2003

Evento: 12º Encontro Nacional de Química Analítica

Título: Sensor baseado em filmes de poli-NiTRP para a análise de glicose empregando BIA/amperometria

Autores: Maria do Socorro Maia Quintino, Koiti Araki, Henrique Eisi Toma e Lúcio Angnes

Local: São Luís – MA - Brasil

Período: 14 a 17 de outubro de 2003

Evento: 54th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry

Título: Sensors for glucose and fructose based on electrodeposited films of tetra-ruthenated porphyrins in alkaline medium

Autores: Maria do Socorro Maia Quintino, Koiti Araki, Henrique Eisi Toma e Lúcio Angnes

Local: São Pedro – SP - Brasil

Período: 31 de agosto a 5 de setembro de 2003

Evento: 9th International Conference on Flow Analysis

Título: Batch injection analysis of albuterol in pharmaceutical products

Autores: Maria do Socorro Maia Quintino e Lúcio Angnes

Local: Geelong – Austrália

Período: 17 a 21 de fevereiro de 2003

Evento: XIII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica

Título: Análise de salbutamol em formulações farmacêuticas empregando batch injection analysis e amperometria

Autores: Maria do Socorro Maia Quintino e Lúcio Angnes

Local: Araraquara - SP - Brasil

Período: 1 a 5 de dezembro de 2002

Evento: XV Congresso da Sociedade Ibero-Americana de Electroquímica

Título: Passivação e corrosão por pites do eletrodo Zr/HCl 1,0 M: o efeito da pré-imersão em soluções contendo íon molibdato

Autores: Biagio Fernando Giannetti, Maria do Socorro Maia Quintino e Tibor Rabóczkay

Local: Évora - Portugal

Período: 8 a 13 de setembro de 2002

Evento: 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Título: Quantificação de acetaminofen por BIA utilizando eletrodos modificados por porfirinas

Autores: Maria do Socorro Maia Quintino, Koiti Araki, Henrique E. Toma e Lúcio Angnes

Local: Poços de Caldas - MG - Brasil

Período: 20 a 23 de maio de 2002

Evento: 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Título: Determinação de ácido acetilsalicílico utilizando eletrodos de cobre em meio alcalino

Autores: Maria do Socorro Maia Quintino, Dennys Corbo, Mauro Bertotti e Lúcio Angnes

Local: Poços de Caldas - MG - Brasil

Período: 20 a 23 de maio de 2002

Evento: 24ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Título: Oxidação eletrocatalítica do H_2O_2 em eletrodo de carbono vítreo modificado por filme misto de metaloporfirina e paládio

Autores: Maria do Socorro Maia Quintino, Koiti Araki, Henrique Toma, Mauro Bertotti e Lúcio Angnes

Local: Poços de Caldas - MG - Brasil

Período: 28 a 31 de maio de 2001

Evento: 50th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry

Título: Kinetic-modelistic approach for Zr/1.0 M HCl system employing current transients

Autores: Maria do Socorro Maia Quintino, Biagio Fernando Giannetti e Tibor Rabóczkay

Local: Pavia - Itália

Período: 1999

ATUAÇÃO COMO MONITORA

Local: Universidade de São Paulo

Disciplina: (QFL 0236) Química Analítica Qualitativa III

Curso: Farmácia (diurno)

Período: primeiro semestre de 2002

Local: Universidade Federal do Ceará

Disciplina: Química Analítica I

Curso: Agronomia (diurno)

Período: segundo semestre de 1992