



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
GRUPO DE ELETROQUÍMICA E CORROSÃO

RAYANE NUNES GOMES

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALÍTICA PARA
DETERMINAÇÃO DE DAPIRONA EM AMOSTRAS DE MEDICAMENTOS, ÁGUAS
NATURAIS E URINA HUMANA**

FORTALEZA

2017

RAYANE NUNES GOMES

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALÍTICA PARA
DETERMINAÇÃO DE DAPIRONA EM AMOSTRAS DE MEDICAMENTOS, ÁGUAS
NATURAIS E URINA HUMANA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Nunes Correia

Coorientadora: Dra. Camila Pinheiro Sousa

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- G617d Gomes, Rayane Nunes.
Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação de dipirona em amostras de medicamentos, águas naturais e urina humana / Rayane Nunes Gomes. – 2017.
78 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2017.
Orientação: Profa. Dra. Adriana Nunes Correia.
Coorientação: Profa. Dra. Camila Pinheiro Sousa.
1. Dipirona. 2. Eletrodo de diamante dopado com boro. 3. Águas naturais. 4. Formulações farmacêuticas.
I. Título.

CDD 540

Esta dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química Analítica, outorgada pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

Rayane Nunes Gomes
Rayane Nunes Gomes

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 26/01/2017

EXAMINADORES:

Adriana Nunes Correia

Prof. Dra. Adriana Nunes Correia
Universidade Federal do Ceará – UFC

Pedro de Lima Neto

Prof. Dr. Pedro de Lima Neto
Universidade Federal do Ceará – UFC

Francisco Wirley Paulino Ribeiro

Prof. Dr. Francisco Wirley Paulino Ribeiro
Universidade Federal do Cariri – UFCA

Camila Pinheiro Sousa

Dra. Camila Pinheiro Sousa
Universidade Federal do Ceará – UFC

A minha mãe e a minha vó, Maria José, razões dos meus esforços e da minha vontade de vencer.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Virgem Maria, pela força e sabedoria a mim concedida para superar as dificuldades.

À Maria José, minha querida vó, por ensinar-me que com fé eu posso chegar aonde eu quiser.

A minha amada mãe, Maria do Socorro, pelo amor incondicional, por ser a minha maior incentivadora e por fazer sempre da minha felicidade a sua.

À Maria da Conceição (minha Dinda), por ser além de madrinha e tia, por todo apoio e incentivo.

As minhas amadas irmãs, Lorena, Luana e Daniela, por acreditarem, mais do que eu, na minha capacidade de galgar esse grau acadêmico que é o mestrado.

A todos os meus familiares e amigos, que de alguma forma me apoiaram.

À professora Dra. Adriana Nunes Correia e a Dra Camila Pinheiro Sousa, pelas preciosas orientações acadêmicas, os conselhos sinceros, por estarem ao meu lado nos momentos difíceis e nos momentos agradáveis que essa jornada nos proporcionou e por terem me estimulado crescer como profissional e como pessoa. A vocês, meu muito obrigada!

Ao professor Dr. Pedro de Lima Neto, ao professor Dr. Paulo Naftali da Silva Casciano e a professora Helena Becker, pelos ensinamentos acadêmicos.

A todos os meus colegas do GELCORR, pela amizade e pelo companheirismo.

Ao Programa de Pós-graduação em Química da UFC pelos esforços dedicados à formação acadêmica de seus estudantes.

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

“A felicidade está em levar a vida com a
leveza que as crianças a levam.”



Fonte: Sâmya Beatriz Nunes Rocha



Fonte: Maria Clara Nunes Matos

Nada é igual ao Seu redor
Tudo se faz no Seu olhar
Todo o universo se formou no Seu falar
Teologia pra explicar ou big bang pra disfarçar
Pode alguém até duvidar sei que há um Deus a
me guardar

E eu tão pequeno e frágil querendo Sua
atenção
No silêncio encontro resposta certa então
Dono de toda ciência, sabedoria e poder
Oh dá-me de beber da água da fonte da vida
Antes que o ar já houvesse
Ele já era Deus
Se revelou aos seus
Do crente ao ateu

Ninguém explica Deus
Ninguém explica

(Clóvis Pinho)

“Tantas coisas aconteceram, fatos inexplicáveis! Este trabalho é a prova concreta que conseguimos superar as dificuldades impostas nesta jornada, explicação para tal feito eu não tenho, pois como sugere a canção, ninguém explica Deus. Ninguém explica Deus em sua infinita grandeza!”

RESUMO

O presente trabalho descreve o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica utilizando eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB) associado à técnica de voltametria de onda quadrada (VOQ) para determinação de dipirona (DIP) em formulações comerciais, águas do açude Gavião, águas do açude Acarape do Meio e em urina humana. Por meio dos estudos utilizando a técnica de voltametria cíclica (VC), foi verificado que a oxidação da DIP na superfície do EDDB apresenta comportamento irreversível, controle difusional, assim como, mecanismo reacional com a participação de prótons. Tanto por VC quanto por VOQ foi calculado, respectivamente, 0,19 e 0,11 como valores para o coeficiente de transferência de carga. Depois de estabelecidas as condições experimentais otimizadas, que foram tampão BR pH 7,0 como eletrólito de suporte e os parâmetros $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, construiu-se curvas analíticas obtendo região linear de $1,0 \times 10^{-6}$ a $6,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e os valores dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram respectivamente iguais a $2,64 \times 10^{-7}$ e $8,80 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Quanto aos ensaios de repetibilidade e reprodutibilidade, os resultados em termos de desvio padrão relativo (DPR) apresentaram-se abaixo de 2,5 %. Visando avaliar a aplicabilidade da metodologia proposta foram realizados estudos de recuperação de DIP presente no medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0, assim como foram realizados em meio deste eletrólito preparado com águas do açude Gavião e do Açude Acarape do Meio e em eletrólito contendo urina humana. A taxa média de recuperação, seguido do seu respectivo valor de DPR, obtido para os estudos de recuperação envolvendo solução oral DIP em meio de tampão BR pH 7,0, águas dos açudes Gavião, águas do açude Acarape do Meio e urina humana foram, respectivamente, 108,33 % (DPR 2,67 %); 117,33 % (DPR 2,15 %); 91,00 % (DPR 1,98 %) e 104,00 (DPR 1,92 %). Os resultados dos ensaios de recuperação utilizando titulação iodométrica por meio da metodologia proposta pela Farmacopeia Brasileira, com algumas adaptações, sendo analisada solução oral DIP, águas dos açudes Gavião, águas do açude Acarape do Meio e urina humana foram, respectivamente, 100,10 % (DPR 2,86 %); 106,86 % (DPR 2,41 %); 93,34 % (DPR 1,77 %) e 104,57 % (DPR 0,76 %). Esses resultados, quando comparados estatisticamente com os resultados alcançados utilizando a técnica de VOQ, indicaram, segundo o teste *t* de Student, que não existia diferença significativa entre as taxas médias de recuperação confrontadas, o que comprovava a eficiência da metodologia eletroanalítica desenvolvida neste trabalho para a determinação de DIP nas matrizes testadas.

Palavras chaves. Dipirona. Eletrodo de diamante dopado com boro. Águas naturais. Formulações farmacêuticas.

ABSTRACT

The present work describes the development of an electroanalytical methodology using boron doped diamond electrode (BDDE) associated to the square wave voltammetry (SWV) technique for the determination of dipyrone (DIP) in commercial formulations, waters of the Gavião dam, Acarape of the Meio and in human urine. By means of the cyclic voltammetric (CV) technique, it was verified that the oxidation of the DIP on the surface of the BDDE presents irreversible behavior, diffusional control, as well as a reaction mechanism with the participation of protons. Both CV and SWV were calculated, respectively, 0.19 and 0.11 as values for the load transfer coefficient. Once the optimized reaction conditions were established, which were BR buffer pH 7.0 as support electrolyte and the parameters $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ and $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, analytical curves were constructed, determined as region linear regression analysis of 1.0×10^{-6} to $6.5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ and the limits of detection (LD) and quantification (LQ) values were respectively 2.64×10^{-7} and $8.80 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Regarding the repeatability and reproducibility tests, the results in terms of relative standard deviations (RSD) were below 2.5%. Aiming to evaluate the applicability of the proposed methodology, studies of recovery of DIP present in the drug in the form of an oral solution in a buffer of BR pH 7.0 were carried out, as well as were carried out in this electrolyte prepared with waters of the Gavião dam, Acarape of the Meio and in electrolyte containing human urine. The mean recovery percentage, followed by the respective DPR value obtained for the recovery studies involving DIP oral solution in buffer pH 7.0, waters of the Gavião dam, Acarape of the Meio and human urine were, Respectively, 108.33 % (DPR 2.67 %); 117.33 % (DPR 2.15 %); 91.00 % (DPR 1.98 %) and 104.00 (DPR 1.92 %). The results of the recovery trials using iodometric titration by means of the methodology proposed by the brazilian pharmacopoeia, with some adaptations, being analyzed DIP oral solution, waters of the Gavião dam, Acarape of the Meio and human urine were, respectively, 100.10 % (DPR 2.86 %); 106.86 % (DPR 2.41 %); 93.34 % (DPR 1.77%) and 104.57 % (DPR 0.76 %). These results, when compared statistically with the results obtained using the VOQ technique, indicated, according to Student's *t* test, that there was no significant difference between the mean recovery percentage faced, which proved the efficiency of the electroanalytical methodology developed in this work for The determination of DIP in the matrices tested.

Keywords. Dipyrone. Boron doped diamond electrode. Natural waters. Pharmaceutical formulations.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da dipirona.....	16
Figura 2 – Representação esquemática da metabolização da dipirona no corpo humano por administração via oral.....	18
Figura 3 – Reações envolvidas na titulação da dipirona com iodo em ácido	35
Figura 4 – Voltamogramas cíclicos do $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em meio de KCl $1,0 \times 10^{-1}$ mol L^{-1} sobre EDDB em diferentes velocidades de varredura de potencial (v), 10, 25, 50, 100, 150 e 200 mV s^{-1}	37
Figura 5 – Dependência entre corrente de pico catódico (I_{pc}) e raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ($v^{1/2}$) obtida a partir dos voltamogramas cíclicos do $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em meio de KCl $1,0 \times 10^{-1}$ mol L^{-1} sobre EDDB em diferentes velocidades de varredura de potencial	38
Figura 6 – Voltamogramas cíclicos obtidos com velocidade de varredura de potencial de 100 mV s^{-1} na ausência (linha tracejada) e na presença (linha sólida) de $9,09 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} de DIP em tampão BR pH 7,0.....	40
Figura 7 – Voltamogramas de onda quadrada para DIP ($9,9 \times 10^{-6}$ mol L^{-1}) sobre EDDB em meio de tampão BR com diferentes valores de pH, 3,0; 5,0; 7,0; 9,0 e 11,0, utilizando os parâmetros voltamétricos $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	41
Figura 8 – Variação dos valores do potencial de pico (eixo da ordenada à direita) e da corrente de pico (eixo da ordenada à esquerda) com o pH. Estes dados foram retirados dos voltamogramas de onda quadrada para DIP ($9,9 \times 10^{-6}$ mol L^{-1}) sobre EDDB em tampão BR com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	42
Figura 9 – Estudo da influência do tampão fosfato (TF), tampão BR e tampão McIlvaine, pH 7,0, na reação de oxidação de DIP $9,9 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} sobre EDDB em $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	43
Figura 10 – Voltamogramas cíclicos para $9,09 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} DIP sobre EDDB em meio de tampão BR pH 7,0 obtidos com (A) v iguais a 5, 10, 25, 50, 100 e 200 mVs^{-1} , e (B) com valores de v de 300 a 1000 mVs^{-1}	44
Figura 11 – (A) Dependência entre corrente de pico anódico (I_{pa}) e a velocidade de varredura de potencial (v); (B) Dependência entre corrente de pico anódico (I_{pa}) e (v) ^{1/2} para reação de oxidação de DIP $9,9 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} sobre EDDB em tampão BR pH 7,0.....	44
Figura 12 – Equação química proposta para reação redox de DIP	45

Figura 13 – Voltamogramas de onda quadrada para DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0; $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ com as respectivas componentes de corrente resultante (preto), direta (azul) e reversa (rosa).....	46
Figura 14 – Voltamogramas de onda quadrada da DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0, variando os valores de frequência de aplicação dos pulsos de potencial de 10 a 100 s^{-1} , $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	48
Figura 15 – Relação entre corrente de pico (I_p) e frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f), grafada com ponto médio, barras de erro e medidas em triplicata, para DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR, pH 7,0, variando valores de f de 10 a 100 s^{-1} , $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	48
Figura 16 – Voltamogramas de onda quadrada para DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0, variando os valores de amplitude de aplicação dos pulsos de potencial de 10 a 80 mV , $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	49
Figura 17 – Relação entre corrente de pico (I_p) e amplitude de aplicação dos pulsos de potencial (a), grafada com ponto médio, barras de erro e medidas em triplicata, para DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0, variando os valores para o parâmetro a de 10 a 80 mV , $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	51
Figura 18 – Voltamogramas de onda quadrada para DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0, variando os valores de incremento de potencial de 1 a 5 mV , $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $a = 50 \text{ mV}$	52
Figura 19 – Relação entre corrente de pico anódico (I_p) e incremento de potencial (ΔE_s), grafada com ponto médio, barras de erro e medidas em triplicata, para DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0, variando valores de incremento de 1 a 5 mV , $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $a = 50 \text{ mV}$	52
Figura 20 – Voltamogramas de onda quadrada para DIP, concentrações variando de $1,0 \times 10^{-6}$ a $6,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão BR pH 7,0 sobre EDDB, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	53
Figura 21 – Curva analítica grafada com ponto médio, barras de erro e medidas em triplicata construída para DIP com concentrações variando de $1,0 \times 10^{-6}$ a $6,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão BR pH 7,0 sobre EDDB, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	54
Figura 22 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes concentrações de DIP para o estudo de recuperação em tampão BR pH 7,0 sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	57

Figura 23 – Relação entre corrente de pico (I_p) e concentração de DIP da curva de recuperação média, obtida a partir das três curvas de recuperação, em meio de tampão BR pH 7,0 sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	57
Figura 24 – Voltamogramas de onda quadrada da DIP obtidos no estudo de recuperação utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	59
Figura 25 – Relação entre corrente de pico (I_p) e concentração de DIP da curva de recuperação média, obtida a partir das três curvas de recuperação, utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 sobre EDDB, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	59
Figura 26 – Voltamogramas de onda quadrada da DIP obtidos no estudo de recuperação utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 preparado com água do açude Gavião sobre EDDB, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	62
Figura 27 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes concentrações de DIP a partir das curvas de recuperação utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 preparado com água do açude Acarape do Meio sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	63
Figura 28 – Relação entre corrente de pico (I_p) e concentração de DIP da curva de recuperação média, obtida a partir das três curvas de recuperação, utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 preparado com água do açude Gavião sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	63
Figura 29 – Relação entre corrente de pico (I_p) e concentração de DIP da curva de recuperação média, obtida a partir das três curvas de recuperação, utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 preparado com água do açude Acarape do Meio sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	64
Figura 30 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos a partir das curvas de recuperação utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 conteúdo urina humana sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	68
Figura 31 – Relação entre corrente de pico (I_p) e concentração de DIP da curva de recuperação média utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 conteúdo urina humana sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Lista de reagentes descritos com sua procedência, fórmulas químicas e pureza...	26
Tabela 2 – Relações matemáticas estabelecidas entre os parâmetros voltamétricos obtidos nos experimentos do $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em diferentes velocidades de varredura de potencial	38
Tabela 3 – Valores de lagura de meia altura ($\Delta E_{p/2}$) dos voltamogramas obtidos nos experimentos de otimização da amplitude dos pulsos de potencial	50
Tabela 4 – Parâmetros obtidos para determinação de DIP empregando VOQ.....	55
Tabela 5 – Resultados obtidos neste trabalho e em artigos publicados que descrevem metodologias eletroanalíticas para detecção e quantificação de DIP com suas respectivas referências.....	56
Tabela 6 – Resultados do estudo de recuperação, realizado em triplicata, para DIP sobre EDDB em tampão BR pH 7,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$	58
Tabela 7 – Resultados de recuperação para o medicamento na forma de solução oral de DIP sobre EDDB em tampão BR pH 7,0 utilizando voltametria de onda quadrada com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, e utilizando titulação iodométrica.....	60
Tabela 8 – Parâmetros físico-químicos para águas do açude Gavião e as águas do açude Acarape do Meio	65
Tabela 9 – Resultados de recuperação para o medicamento na forma de solução oral de DIP sobre EDDB em tampão BR pH 7,0 preparado com água do açude Gavião utilizando voltametria de onda quadrada com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e utilizando titulação iodométrica	66
Tabela 10 – Resultados de recuperação para o medicamento na forma de solução oral de DIP sobre EDDB em tampão BR pH 7,0 preparado com água do açude Acarape do Meio utilizando voltametria de onda quadrada com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e utilizando titulação iodométrica	67
Tabela 11 – Resultados de recuperação para o medicamento na forma de solução oral de DIP sobre EDDB em tampão BR pH 7,0 contendo urina humana utilizando voltametria de onda quadrada com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e utilizando titulação iodométrica.....	69

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Contaminantes emergentes: visão geral	14
1.2	Dipirona	16
1.3	Determinação analítica de dipirona	19
1.4	Estado da arte	21
1.4.1	<i>Determinação eletroanalítica de dipirona</i>	21
2	OBJETIVOS	25
2.1	Objetivo geral	25
2.2	Objetivos específicos	25
3	PARTE EXPERIMENTAL	26
3.1	Reagentes, soluções e matrizes analisadas	26
3.1.1	<i>Reagentes</i>	26
3.1.2	<i>Soluções</i>	27
3.1.2.1	<i>Soluções de $[Ru(NH_3)_6]Cl_3$ em meio de KCl</i>	27
3.1.2.2	<i>Solução tampão fosfato</i>	27
3.1.2.3	<i>Solução tampão Britton-Robinson</i>	27
3.1.2.4	<i>Solução tampão McIlvaine</i>	27
3.1.2.5	<i>Solução estoque de dipirona</i>	27
3.1.2.6	<i>Soluções à base de ácido sulfúrico</i>	28
3.1.2.7	<i>Solução de iodo</i>	28
3.1.2.8	<i>Solução de amido</i>	28
3.1.3	<i>Matrizes analisadas</i>	28
3.2	Instrumentação	29
3.3	Metodologia	30
3.3.1	<i>Cronoamperometria</i>	30
3.3.2	<i>Voltametria cíclica</i>	30
3.3.3	<i>Voltametria de onda quadrada</i>	31
3.3.4	<i>Titulação iodométrica</i>	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1	Determinação da área eletroativa do EDDB	36
4.2	Comportamento eletroquímico	39

4.3	Estudo da influência do pH e do eletrólito de suporte nas respostas eletroquímicas de dipirona	40
4.4	Estudos por voltametria cíclica para dipirona.....	43
4.5	Estudos por voltametria de onda quadrada para dipirona	46
4.5.1	<i>Componentes de corrente</i>	46
4.5.2	<i>Estudos dos parâmetros da voltametria de onda quadrada.....</i>	47
4.5.2.1	<i>Frequência de aplicação dos pulsos de potencial.....</i>	47
4.5.2.2	<i>Amplitude dos pulsos de potencial</i>	49
4.5.2.3	<i>Incremento de potencial</i>	51
4.6	Curvas analíticas e figuras de mérito.....	53
4.7	Ensaio de recuperação	56
5	CONCLUSÕES.....	71
	REFERÊNCIAS.....	72

1 INTRODUÇÃO

1.1 Contaminantes emergentes: visão geral

Segundo a Agência de Pesquisa Geológica dos Estados Unidos (USGS, do inglês *United States Geological Survey*), um dos institutos de pesquisa que investigam a ocorrência de contaminantes no mundo, contaminante emergente pode ser definido, em termos gerais, como uma substância química, de ocorrência natural ou antrópica, ou qualquer microrganismo que tem potencial para causar efeitos negativos no meio ambiente e (ou) sobre a saúde humana, sendo estes efeitos conhecidos ou suspeitos.

Definição semelhante é fornecida pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*). Segundo a EPA, contaminantes emergentes são compostos que não estão incluídos em programas de monitoramento e que não são conhecidos, em totalidade, seus efeitos negativos frente à saúde humana e (ou) ao meio ambiente, podendo se tornar candidatos para legislações futuras dependendo de pesquisas sobre ecotoxicidade e efeitos danosos à saúde (EPA, 2008).

Os contaminantes emergentes são divididos em classes, dentre as quais se podem destacar a classe dos fármacos, hormônios, produtos de higiene pessoal e pesticidas (GEISSEN et al., 2015). Na literatura científica são citados com frequência os fármacos com ação analgésica e(ou) anti-inflamatória, tais como diclofenaco (JIANG; ZHOU; SHARMA, 2013), paracetamol (GHICA; FERREIRA; BRETT, 2015), ácido acetilsalicílico (GOPU et al., 2011), dipirona (BOIX et al., 2016; CARVALHO et al., 2011; IBÁÑEZ; SANCHO; HERNÁNDEZ, 2012) e dentre outros que merecem destaque neste contexto, pois são compostos intensamente consumidos em virtude da facilidade do acesso que é evidenciada para alguns medicamentos e das suas propriedades terapêuticas. Quanto aos contaminantes que são liberados no meio ambiente pelo uso de produtos de higiene pessoal, é importante mencionar o triclosan que é um agente antibacteriano, usado como antisséptico e também como conservante em cosméticos. Devido fazer parte da grande maioria dos produtos de higiene pessoal, este composto vem sendo detectado em efluentes de estações de tratamento de esgoto (HELVER et al., 2007). Nesse contexto, é válido ressaltar também que, recentemente, segundo relatório divulgado pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) sobre monitoramento de resíduos de agrotóxicos pelo Programa de Análises de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), dentre as 744 amostras de laranjas analisadas, que contemplavam todas as capitais brasileiras, 11,0 % apresentaram potencial risco agudo relativo ao

carbofurano (ANVISA, 2016), pesticida que está proibido sua utilização nos Estados Unidos devido sua toxicidade (EPA, 2009). O pesticida carbendazim é outro que foi destacado por risco agudo em 5 % das amostras de abacaxi analisadas (ANVISA, 2016). De um modo geral, o monitoramento dessa classe de compostos é de muito valia, pois denuncia frutas, verduras, legumes e outros alimentos que trazem em sua composição teores acima dos permitidos, ou seja, sinalizam aos órgãos públicos responsáveis, para que estes possam traçar estratégias visando controlar esses agentes contaminantes e, conseqüentemente, minimizar a ocorrência da contaminação de solos, lençóis freáticos e águas superficiais, tais como, águas de rios, açudes, barragens e outros.

As vias de contaminação das águas superficiais pelos contaminantes emergentes têm sua origem em mecanismos de descarte, higienização e excreções fisiológicas de substâncias associados à ineficiência dos processos empregados nas estações de tratamento de águas e esgotos para a completa remoção desses contaminantes. Como resultado, esses compostos são encontrados em efluentes dessas estações (FARRE et al., 2008; ROSADO, 2014) e em águas superficiais (ABUIN et al., 2006; CALZA et al., 2010; LIN; PANCHANGAM; CHEN, 2010; OLIVEIRA et al., 2013; RIBEIRO et al., 2013; YU et al., 2011).

Calza e colaboradores (2010) relataram a presença do antibiótico espiramicina no Rio Pó localizado na região Norte da Itália. Enquanto que outros antibióticos como a azitromicina, eritromicina, claritromicina, roxitromicina e josamicina foram detectados no rio Ter em Catalunha na Espanha (ABUIN et al., 2006). Lin, Panchangam e Chen (2010), em seus estudos com as águas do rio Sindian localizado em Taiwan, documentaram a existência de esteroides (estrona, 17- α -etenilestradiol e 17- β -estradiol) e destacaram os impactos que podem causar no funcionamento dos organismos aquáticos. Em concordância com o que foi descrito, estudos evidenciaram a influência dos esteroides chamados estrogênios naturais sob o funcionamento do sistema reprodutor de peixes, bem como a feminização de peixes machos (FLORES; HILL, 2008; ROSENFELDT et al., 2007). Quanto à detecção de pesticidas em águas naturais e amostras alimentícias podem-se citar alguns trabalhos brasileiros como: Ribeiro e colaboradores (2013) na detecção do endossulfam em águas do açude Pacajus, localizado na cidade de Pacajus no estado do Ceará, Oliveira e colaboradores (2013) na determinação do fungicida dimetamorfe em três açudes, São Mateus, Acarape do Meio e Gavião, localizados respectivamente nas cidades cearenses Canindé, Redenção e Pacatuba, e o trabalho de Melo e colaboradores (2010), na determinação do herbicida diquat em amostras

de batata, cana-de-açúcar e sucos de limão, laranja, tangerina e abacaxi, adquiridos em supermercados da Cidade de Fortaleza, Ceará.

As concentrações de muitos contaminantes emergentes em ambientes aquáticos naturais apresentam-se em valores da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} . Tendo-se em vista esses níveis de concentração, é possível perceber a necessidade do desenvolvimento de metodologias analíticas bastante específicas e que proporcionem a obtenção de limites de detecção baixos o suficiente para detectar a presença desses contaminantes.

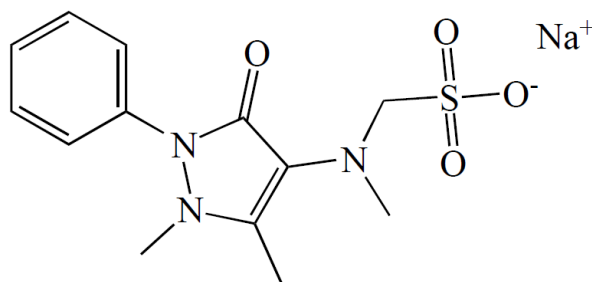
Por fim, em virtude da problemática que envolve os contaminantes emergentes, esse tema tem sido alvo de investigação no Brasil e no mundo com o objetivo de estabelecer metodologias analíticas para a detecção desses contaminantes em matrizes ambientais e biológicas, assim como, compreender a dinâmica destes compostos no meio ambiente e, com isso, traçar metas de controle das fontes poluidoras e manejo dos recursos naturais.

1.2 Dipirona

Dentre os fármacos considerados contaminantes emergentes, a dipirona tem sido abordada por alguns autores na literatura (BOIX et al., 2016; CARVALHO et al., 2011; IBÁÑEZ; SANCHO; HERNÁNDEZ, 2012), devido à inobservância de estudos bem estabelecidos quanto à ecotoxicidade e os totais efeitos desse fármaco sobre a saúde humana.

Dipirona (DIP) é o nome genérico do ácido [(2,3-dihidro-1,5-dimetil-3-oxo-2-fenil-1H-pirazol-4-il)metilamino]metanossulfônico, também chamado de 1-fenil-2,3-dimetil-5-pirazolona-4-metilaminometanossulfonato de sódio (ou de magnésio), e ainda denominado de metamizol, um segundo nome genérico muito encontrado na literatura farmacológica norte-americana e europeia (BINDEWALD; BERGAMINI; MARCOLINO JR., 2013; PAULIUKAITE et al., 2010). Sua estrutura química se encontra representada na Figura 1.

Figura 1 – Estrutura química da dipirona



Fonte: (PAULIUKAITE et al., 2010)

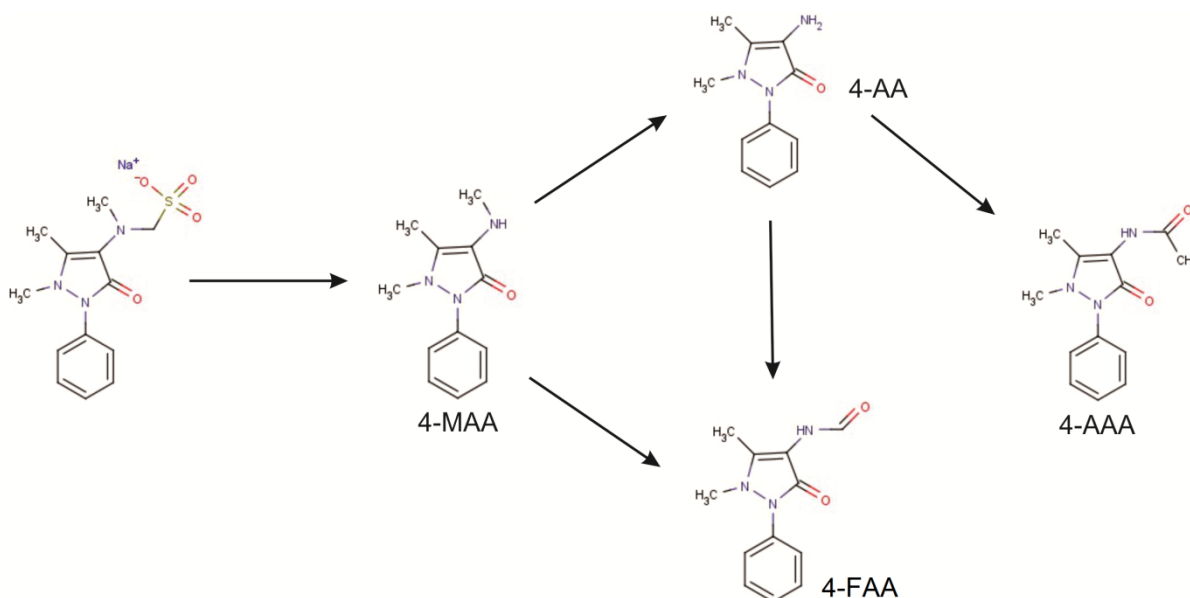
Como ilustrado na Figura 1, DIP apresenta em sua estrutura um grupo metanosulfonato que geralmente encontra-se associado ao íon sódio ou magnésio, porém é comercializada principalmente na forma sódica em diferentes formulações farmacêuticas como, solução oral, injetável e na forma de comprimidos. A administração via oral deve obedecer um mínimo de 875 mg e um máximo diário de 3500 mg de DIP, sendo a absorção gastrointestinal, rápida, uniforme e quase completa (CRF-SP, 2009). Os medicamentos devem ser armazenados em locais protegidos da luz, da umidade, do calor, da radiação e não se deve deixar frascos abertos no intuito de evitar contaminação microbiológica ou degradação química, pois DIP tem certo grau de fotossensibilidade, o que afeta a sua estabilidade química (FERREIRA et al., 2014).

DIP foi introduzida na terapêutica em 1922, sendo classificada farmacologicamente como um analgésico não-opiídeo derivado da pirazolona, que apresenta propriedades analgésicas, antitérmicas e anti-inflamatórias (DADAMOS et al., 2012; SMAJDOR; PACZOSA-BATOR; PIECH, 2016). Na década de 1940, seu uso se tornou controverso devido a relatos de sua toxicidade e efeitos de agranulocitose. Por estes motivos, atualmente, seu uso não é recomendado nos Estados Unidos da América nem no Reino Unido. No entanto, no Brasil, a utilização de DIP ainda é ampla não só em prática hospitalar, mas também como um analgésico em muitos lares, sem a obrigatoriedade de prescrição médica (PAULIUKAITE et al., 2010; SMAJDOR; PACZOSA-BATOR; PIECH, 2016). O consumo é tão intenso que segundo o Conselho Regional de Farmácia da Paraíba (2016), DIP está na composição de dois dos dez medicamentos mais consumidos no Brasil que são Dorflex[®] e Neosaldina[®].

De acordo com Dezotti e Bila (2003), dependendo do fármaco, 50 % a 90 % de uma dosagem podem ser excretada na forma inalterada ou na forma de metabólitos secundários. Para DIP, ocorre a excreção de 60 % do fármaco ingerido por meio da urina na forma hidrolisada (4-metilaminoantipirina – 4MAA) e em formas metabolizadas (4-aminoantipirina – 4AA; 4-acetilaminoantipirina – 4AAA) e 4-formilaminoantipirina – 4FAA) (IWAHARA; TANABE; MAEKAWA, 2006). A metabolização da DIP começa logo após a ingestão via oral, sendo hidrolisada espontaneamente ao seu metabólito majoritário 4-MAA. No fígado, o 4-MAA é absorvido e sofre desmetilação gerando o 4-AA, este, por sua vez, é acetilado gerando o 4-AAA. Outro metabólito é o 4-FAA gerado pela oxidação do grupamento N-metila dos metabólitos 4-MAA e 4-AA (GYENGE-SZABÓ et al., 2014; VOLZ; KELLNER, 1980). A representação química de tal metabolização está ilustrada pela Figura 2.

A excreção de DIP via urina associada à ineficiência dos processos de tratamentos de esgotos quanto a remoção desse fármaco, assim como de outros compostos, juntamente com as práticas de descarte indevido de medicamentos no meio ambiente promovem a contaminação das águas naturais, sejam estas subterrâneas e(ou) superficiais (JONGH et al., 2012; TERNES; BONERZ; SCHMIDT, 2001). No entanto, perante regulamentações brasileiras quanto à potabilidade de águas, a presença de DIP em águas para consumo não caracteriza uma desconformidade quanto à potabilidade, em concordância com o disposto pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) por meio da resolução n° 357, de 17 de março de 2005, alterada pelas resoluções 410/2009 e 430/2011.

Figura 2 – Representação esquemática da metabolização da dipirona no corpo humano por administração via oral



Fonte: (GYENGE-SZABÓ et al., 2014)

A presença de DIP em efluentes de estações de tratamento de esgotos, bem como, em efluentes de estações de tratamento de água e em águas superficiais é descrita em alguns trabalhos na literatura (BUENO et al., 2007; FELDMANN; ZUEHLKE; HEBERER, 2008; GÓMEZ et al., 2007; JONGH et al., 2012; TERNES; BONERZ; SCHMIDT, 2001). Ternes e colaboradores (2001), bem como, Bueno e colaboradores (2007) quantificaram DIP em efluentes de estações de tratamento de esgoto, localizadas em Frankfurt na Alemanha e nas cidades de Cantabria, Barcelona, Madrid e Almería na Espanha, com concentrações máximas equivalentes a 0,36 e 9,25 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. Feldmann e colaboradores (2008)

reportam a presença dos metabólitos secundários de DIP em efluentes de uma estação de tratamento de águas residuárias, em Berlin na Alemanha, com concentrações médias de $7 \mu\text{g L}^{-1}$. Enquanto que Jongh e colaboradores (2012) propuseram uma metodologia para detectar vários produtos de biotransformações de fármacos em águas superficiais coletadas em quatorze pontos que compõem as bacias hidrográficas da parte holandesa do rio Reno e do rio Meuse, sendo os compostos 4-formil-aminoantipirina e o 4-acetilaminoantipirina detectados com concentração média de 49 e 76 ng L^{-1} , indicados pelos autores como produtos da biotransformação do analgésico dimetilaminofenazona e DIP.

Diante de tudo que foi colocado em linhas anteriores, a delimitação de um problema ambiental e de saúde pública pode ser vislumbrado. Conseqüentemente, baseado no Princípio da Precaução, que trata das ações para proteger a saúde das pessoas e dos ecossistemas frente ameaças de riscos sérios ou irreversíveis, não sendo utilizada a falta de certeza científica como razão para o adiamento de medidas eficazes para evitar a degradação ambiental (MMA, 2016), se faz necessário o desenvolvimento de metodologias analíticas para a detecção de DIP, assim como, estudos aprofundados a respeito dos efeitos desse fármaco sobre a vida aquática e os seres humanos.

1.3 Determinação analítica de dipirona

Determinações analíticas em matrizes biológicas, águas naturais ou residuárias e formulações farmacêuticas, geralmente, requerem etapas complexas de preparo de amostras visando eliminação de interferentes para obtenção de limites de detecção e de quantificação relativamente baixos, pois apresentam em sua composição variedade de espécies químicas que podem agir como interferentes, ou seja, podem interferir na quantificação do analito (BARANOWSKA; MARKOWSKI; BARANOWSKI, 2009; GÓMEZ et al., 2007; SANCHES et al., 2012). No caso das formulações farmacêuticas, geralmente, há diferentes princípios ativos além de dezenas de excipientes, como é o caso da DIP que pode ser associada com cafeína, por exemplo. Com relação às águas naturais, sua composição química é complexa, pois, em virtude do contato direto com o meio ambiente, estão susceptíveis às influências dos seres vivos que habitam essas águas, a fenômenos naturais como a chuva e à ação humana.

Na literatura, existem várias metodologias analíticas para detecção e quantificação de DIP em diversas matrizes, dentre as quais se podem destacar águas naturais, águas residuárias, formulações farmacêuticas e urina humana, sendo as seguintes técnicas utilizadas:

cromatografia líquida de alta eficiência ou cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa (BARANOWSKA; MARKOWSKI; BARANOWSKI, 2009; GÓMEZ et al., 2007), quimioluminescência (PÉREZ et al., 2012), espectrometria (SANCHES et al., 2012) e titulação iodométrica, que é indicado pela Farmacopeia Brasileira, e técnicas eletroquímicas (BINDEWALD; BERGAMINI; MARCOLINO JR., 2013; SMAJDOR; PACZOSA-BATOR; PIECH, 2016).

Gómez e colaboradores (2007) empregaram cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa na determinação de DIP e outros fármacos em afluentes e efluentes de uma estação de tratamento de esgoto. Para os afluentes e efluentes, respectivamente, foram obtidas concentrações médias de 14 e 4,9 $\mu\text{g L}^{-1}$, o que representa a remoção de apenas 65% desse fármaco na matriz tratada. O desempenho analítico do método foi avaliado em termos de taxa de recuperação e seu desvio padrão relativo (DPR), numericamente iguais a 22 e 7 %, valor médio de taxa de recuperação relativamente baixo, o que pode estar associado a um considerável efeito matriz, devido a diversidade de compostos presentes nos efluentes e afluentes que podem dificultar a determinação de DIP nas matrizes testas. O limite de detecção (LD) calculado foi de 45 ng L^{-1} e os valores para DPR obtidos nos ensaios de repetibilidade e reprodutibilidade foram , respectivamente, 11 e 8 %.

Baranowska, Markowski e Baranowski (2009) desenvolveram um método analítico utilizando cromatografia líquida de alta eficiência de fase inversa com um detector de arranjos de diodos para a separação e determinação simultânea de 23 fármacos pertencentes a diferentes grupos terapêuticos em amostras de urina humana. A separação dos fármacos foi realizada utilizando fase móvel composta de acetonitrila, metanol e 0,05% de ácido trifluoroacético em água por meio de programa de eluição de gradiente. Observaram-se boas relações lineares sobre os intervalos de concentração investigados, coeficientes de correlação maiores do que 0,9980 para todos os fármacos. Os valores de DPR obtidos para *intra-day* e *inter-day* foram inferiores a 4,26 e 5,42%, respectivamente. Para DIP foi obtido intervalo linear de concentração de 4 a 35 $\mu\text{g mL}^{-1}$, LD de 1,15 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e LQ (limite de quantificação) de 3,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Quanto às taxas de recuperação foi obtido valor médio de 99,2%.

Pérez e colaboradores (2012) desenvolveram um método quimioluminescente envolvendo análise por injeção de fluxo para a determinação de dipirona em cápsulas de Nolotil[®] e em injeções de Nolotil[®] e Normon[®]. O método baseia-se na reação quimioluminescente entre hidrazida quinolínica e peróxido de hidrogênio num meio fortemente alcalino, em que o vanádio (IV) atua como um catalisador. As principais variáveis

químicas e físicas envolvidas no sistema de fluxo-injeção foram otimizadas usando método simplex. As variações no rendimento quântico observadas, quando a dipirona estava presente no meio de reação, foram utilizadas para determinar a concentração deste composto. O método proposto quantificava de forma confiável a dipirona na faixa linear de 1-50 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os valores para LD e LQ foram, respectivamente, 2,52 e 8,40 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para os estudos de recuperação utilizando as formulações farmacêuticas foram obtidas taxas médias de recuperação iguais a 98,8; 100,1 e 195,4 %, respectivamente para injeção de Nolotil[®], injeção de Normon[®] e cápsulas de Nolotil[®].

Sanches e colaboradores (2012) propuseram um método analítico para a determinação espectrométrica próximo da região do infravermelho para DIP em ampolas fechadas (50,0 % m / v). Para tanto, são avaliados dois métodos de calibração multivariada: Quadrados Parciais Mínimos (QPM) e Regressão Linear Múltipla (RLM) com seleção de variáveis pelo Algoritmo de Projeções Sucessivas. Os modelos resultantes compreenderam quatro variáveis latentes (QPM) e cinco variáveis espectrais (RLM). Foi determinado intervalo linear de concentração de 40-60 % m / v , sendo os coeficientes de correlação para cada método de calibração de 0,9970 (QPM) e 0,9980 (RLM). Em ambos os casos obtiveram-se previsões apropriadas, com valores médios de 0,39 (QPM) e de 0,35% m / v (RLM), valores bem próximos da concentração de DIP presentes nas ampolas.

1.4 Estado da arte

1.4.1 Determinação eletroanalítica de dipirona

Diferente da maioria das metodologias analíticas descritas em trabalhos científicos, metodologias eletroanalíticas não requerem etapas complexas de pré-tratamento das amostras, pois apresentam sensibilidade e seletividade suficientes para alcançar limites de detecção e de quantificação comparáveis aos das técnicas cromatográficas, associadas à possibilidade de aplicação em campo, curtos tempos de análises, baixos custo e consumo de energia quando comparados com metodologias convencionais (THOMAS et al., 2013; WAN et al., 2009).

O desenvolvimento de sensores eletroquímicos para determinação de DIP é bastante citado em trabalhos científicos, em virtude das potencialidades das metodologias eletroanalíticas que foram listadas no parágrafo anterior (GHICA; FERREIRA; BRETT,

2015; GOPU et al., 2011, 2012; PAULIUKAITE et al., 2010; SMAJDOR; PACZOSA-BATOR; PIECH, 2016).

Pauliukaite e colaboradores (2010) desenvolveram um sensor eletroquímico com configuração de eletrodo de epóxi-grafite modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizadas (NTCPMF) imobilizados em uma matriz de quitosana por meio do 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida juntamente com N-hidroxissuccinamida. A aplicação dada ao sensor destinou-se ao desenvolvimento de uma metodologia utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial (VPD) para quantificar DIP em cápsulas do medicamento Nolotil[®] e sua versão genérica. Os experimentos utilizando VPD foram realizados com DIP em meio de tampão fosfato pH 7,0, velocidade de varredura (v) igual a 10 mVs^{-1} , sendo que os outros parâmetros voltamétricos, amplitude de aplicação dos pulsos diferenciais e o tempo de aplicação dos pulsos, não foram citados. Os voltamogramas obtidos apresentaram três processos intitulados I, II e III, tendo estes respectivamente os potenciais de pico 0,10, 0,47 e 0,90 V *versus* eletrodo de calomelano saturado. O processo considerado para o desenvolvimento da metodologia analítica foi o processo II, pois apresentava corrente de pico (I_p) aproximadamente dez vezes maior que os outros processos visualizados. Em termos de desempenho analítico, as curvas analíticas construídas apresentaram intervalo linear de concentração de 50 a 1500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LD igual a 1,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Quanto à determinação de DIP em formulações farmacêuticas, os valores médios para as taxas de recuperação foram 96 e 94% respectivamente para Nolotil[®] e Metamizol.

Gopu e colaboradores (2011) propuseram um sensor formado por eletrodo de carbono vítreo (ECV) modificado com filme de riboflavina (ECV/Rb) para determinação de DIP, paracetamol e ácido acetilsalicílico em formulações farmacêuticas e urina humana. A modificação foi realizada utilizando a técnica de voltametria cíclica (VC) nas seguintes condições: solução de riboflavina (0,1 mol L^{-1}) em meio de KCl (0,1 mol L^{-1}), v igual a 50 mVs^{-1} e intervalo de potencial de -800 a 400 mV. A espessura do filme foi controlada coulometricamente e filmes de 0,1 μm de espessura foram utilizados em todos os experimentos. O eletrólito de suporte otimizado foi solução aquosa de ácido sulfúrico pH 1,0. Nos estudos da influência da v sobre a reação redox de DIP, observou-se uma relação linear entre I_p *versus* $v^{1/2}$, o que indica o processo redox como difusional. Fazendo uso de relações matemáticas que envolvem a técnica VC, diagnosticou-se que a reação de DIP na superfície do eletrodo tem comportamento irreversível. A técnica de voltametria de onda quadrada de redissolução anódica (VOQRA) foi utilizada para determinação dos fármacos nas matrizes de interesse, sendo para DIP os parâmetros voltamétricos utilizados: potencial de acumulação

(E_a) = 550 mV; tempo de acumulação (t_a) = 10 s; potencial inicial (E_i) = -300 mV; amplitude = 50 mV; frequência = 40 s⁻¹; incremento = 4 mV; v = 50 mV; velocidade de *stripping* = 250 rpm e período de descanso = 5 s. O intervalo linear de concentração encontrado foi 0,13 – 2,64 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e o valor para LD foi 0,11 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os estudos de recuperação de DIP presentes no medicamento Novalgina[®] proporcionaram a obtenção da taxa média de recuperação de 99,6% e DPR de 2,5%. Enquanto que a concentração média de DIP presente na urina humana, coletada 8h após a ingestão do medicamento, foi de 0,27 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Gopu e colaboradores (2012) construíram um sensor eletroquímico a partir da modificação da superfície ECV pelo poli(3,4-etilenodioxitiofeno) na sua forma polimerizada. Esse sensor foi utilizado para determinação de DIP, em formulações farmacêuticas e em urina humana, por meio da técnica de voltametria de pulso diferencial de redissolução anódica (VPDRA). As condições experimentais foram: solução aquosa de ácido sulfúrico pH 1,0 como eletrólito de suporte e os parâmetros voltamétricos otimizados, E_a = 400 mV; t_a = 30 s; E_i = 0 mV; altura do pulso = 50 mV; largura do pulso = 50 ms; incremento = 6 mV; velocidade de *stripping* = 250 rpm e período de descanso = 5 s. O intervalo linear de concentração foi 0,10 – 2,60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e o LD foi 0,07 $\mu\text{mol L}^{-1}$, valores bem próximos dos obtidos nos estudos com ECV/Rb de autoria dos mesmos autores do trabalho em discussão. Visando avaliar a aplicabilidade do sensor desenvolvido, ensaios de recuperação foram realizados utilizando cápsulas do medicamento Novalgina[®], sendo a taxa média de recuperação obtida igual a 99,8% e DPR de 2,5%. A concentração média de DIP quantificada em urina humana, coletada 8h após a ingestão do medicamento, foi 0,27 $\mu\text{g mL}^{-1}$, o mesmo valor descrito por Gopu e colaboradores (2011) para as determinações realizadas nessa matriz.

Ghica, Ferreira e Brett (2015) visando à quantificação de DIP e paracetamol em amostras farmacêuticas desenvolveram uma metodologia eletroanalítica utilizando como eletrodo de trabalho um sensor com configuração de eletrodo de fibra de carbono modificado com NTCPMF e politionina. Curvas analíticas foram construídas para ambos os fármacos utilizando a técnica VPD. Para DIP o eletrólito de suporte utilizado foi tampão fosfato pH 7,0 e os seguintes parâmetros voltamétricos: v igual a 50 mV s⁻¹, amplitude de aplicação do pulso diferencial igual a 50 mV e o tempo de aplicação do pulso não foi informado. O intervalo linear de concentração foi de 250 a 2500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e o LD calculado foi de 13,40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Com relação aos estudos de recuperação envolvendo as formulações farmacêuticas, foram obtidas taxas de recuperação para DIP entre 97,0 a 102,0% nos experimentos com Metamizol CINFA e Nolotil[®].

Smajdor, Paczosa–Bator e Piech (2016) desenvolveram uma metodologia eletroanalítica para determinação de DIP em formulações farmacêuticas e urina humana a partir da utilização de um sensor amperométrico associado à técnica de voltametria de varredura linear (VVL). O sensor apresentava configuração de ECV modificado com suspensão formada por Nafion[®] (0,5%)_{v/v} em meio de poli(2,3-dihidrotiofeno-1,4-dioxano) (PEDOT)/poliestirenosulfonado (PSS) (0,5%_{v/v} PEDOT/PSS). Respostas voltamétricas por VVL foram obtidas utilizando tempo de pré-concentração de 90 s e eletrólito de suporte tampão fosfato pH 3,0 no intervalo de concentração de 0,1 a 13 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sendo esta classificada como região linear de concentração, e o valor calculado para LD foi 0,02 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Quanto à determinação de DIP nos comprimidos de Pyralgina[®], Pyralgina Sprint[®] e Scopolan[®] os valores médios de recuperação foram respectivamente iguais a 101,5; 98,5 e 102,0 %. Enquanto que o valor médio para as taxas de recuperação obtidas para DIP em urina humana foi de 99,0%.

Dentre todos os trabalhos científicos analisados, não se tem relatos a respeito do uso do eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB) na determinação de DIP. Sendo que na literatura, EDDB é destacado em análises de contaminantes ambientais, devido às suas inúmeras características, tais como: amplo intervalo de potencial em meio aquoso e não aquoso, reduzida corrente residual, robustez mecânica, estabilidade em meios ácidos e básicos, resistência à corrosão, biocompatibilidade, minimização de processos de incrustação, ou seja, redução do bloqueamento de sítios ativos gerado pelo recobrimento da superfície eletródica por espécies químicas que se adsorveram durante as reações redox, o que representa facilidade de limpeza da superfície em comparação com outras superfícies eletródicas e alta sensibilidade de respostas, características que tornam o EDDB adequado para aplicações em eletroanálises. (LUCAS et al., 2014; MACPHERSON, 2015; ROSSI et al., 2003; SALAZAR-BANDA et al., 2006).

Levando em consideração as potencialidades do EDDB, a existência de trabalhos que documentam a presença de DIP em águas residuárias e superficiais, assim como, a ciência das peculiaridades da técnica de VOQ e da importância do desenvolvimento de metodologias para determinação de DIP, foram delineados os objetivos desse trabalho.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver metodologia eletroanalítica para detecção e quantificação de dipirona utilizando EDDB, visando aplicar em amostras de formulações farmacêuticas, em urina humana e em amostras de águas naturais provenientes de rios e/ou açudes localizados no Ceará.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a superfície eletródica do EDDB;
- Realizar testes de eletroatividade de DIP sobre EDDB, bem como otimizar os parâmetros experimentais, como eletrólito de suporte e pH, e parâmetros voltamétricos, como frequência de aplicação dos pulsos de potencial, amplitude dos pulsos de potencial e incremento de potencial;
- Obter informações sobre o mecanismo eletroquímico envolvendo a molécula de DIP empregando voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada;
- Estabelecer rotinas eletroanalíticas para detecção e quantificação de DIP sobre EDDB;
- Determinar DIP em amostras de formulações farmacêuticas, urina humana e águas naturais provenientes de rios e/ou açudes localizados no Ceará.
- Comparar os resultados obtidos nos estudos de recuperação pela metodologia eletroanalítica desenvolvida com os resultados obtidos nas titulações iodométricas, procedimento indicado pela Farmacopeia Brasileira.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes, soluções e matrizes analisadas

3.1.1 Reagentes

Todos os compostos químicos utilizados apresentavam pureza analítica e encontram-se listados com suas fórmulas químicas e procedência na Tabela 1.

Tabela 1 – Lista de reagentes descritos com sua procedência, fórmulas químicas e pureza

Composto químico	Fórmula química	Procedência	Pureza
Ácido acético glacial	$C_2H_4O_2$	Vetec	99,7%
Ácido bórico	H_3BO_3	Vetec	99,5%
Ácido cítrico	$C_6H_8O_7$	Vetec	99,5%
Ácido clorídrico	HCl	Vetec	37,0%
Ácido nítrico	HNO_3	Vetec	65,0%
Ácido fosfórico	H_3PO_4	Vetec	85,0%
Ácido sulfúrico	H_2SO_4	Vetec	95,0%
Amido	$(C_6H_{12}O_6)_n$	Dinâmica	99,6%
Cloreto de hexaminrutênio III	$[Ru(NH_3)_6]Cl_3$	Sigma-Aldrich	98,0%
Cloreto de potássio	KCl	Vetec	99,0%
Dihidrogenofosfato de sódio	NaH_2PO_4	Vetec	99,0%
Dipirona	$C_{13}H_{16}N_3NaO_4S$	USP*	99,0%
Hidrogenofosfato de sódio	Na_2HPO_4	Vetec	98,0%
Hidróxido de sódio	NaOH	Vetec	98,0%
Iodato de potássio	KIO_3	Vetec	99,0%
Iodeto de potássio	KI	Vetec	99,8%
Iodo ressublimado	I_2	Dinâmica	99,8%
Tiosulfato de sódio	$Na_2S_2O_3$	Vetec	99,5%

* *United States Pharmacopeia*

Fonte: Elaborado pela autora

3.1.2 Soluções

3.1.2.1 Soluções de $[Ru(NH_3)_6]Cl_3$ em meio de KCl

Quantidades calculadas de $[Ru(NH_3)_6]Cl_3$ e de KCl foram solubilizadas em água purificada utilizando balão volumétrico de modo a obter concentrações finais respectivamente equivalentes a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. A solução foi mantida ao abrigo da luz e sob refrigeração para posterior utilização nos experimentos de voltametria cíclica.

3.1.2.2 Solução tampão fosfato

A solução tampão foi preparada pela adição gradativa de alíquotas de solução de Na_2HPO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) na solução de NaH_2PO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e, com o auxílio do pHmetro, o pH da mistura era medido a cada adição dessas alíquotas. As adições foram realizadas até que a mistura atingisse pH igual a 7,0.

3.1.2.3 Solução tampão Britton-Robinson

A solução tampão foi preparada a partir da adição gradativa de alíquotas de NaOH ($2,0 \text{ mol L}^{-1}$) na solução equimolar de ácido acético ($C_2H_4O_2$), H_3BO_3 e H_3PO_4 ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$), sendo o pH da mistura resultante medido, com o auxílio do pHmetro, a cada adição dessas alíquotas. As adições foram realizadas até que a mistura atingisse pH igual a 7,0.

3.1.2.4 Solução tampão McIlvaine

A solução tampão foi preparada pela adição gradativa de alíquotas de solução de Na_2HPO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) na solução de ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), com o auxílio do pHmetro, o pH da mistura era medido a cada adição dessas alíquotas. As adições foram realizadas até que a mistura atingisse pH igual a 7,0.

3.1.2.5 Solução estoque de dipirona

A solução estoque de DIP foi preparada pesando-se a quantidade adequada do composto e solubilizando-a em água purificada de modo a obter concentração final

equivalente a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. A solução foi mantida ao abrigo da luz e sob refrigeração para posterior utilização na construção das curvas analíticas.

3.1.2.6 Soluções à base de ácido sulfúrico

Solução sulfonítrica ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$ 1/1_{v/v}) foi utilizada para limpeza de vidrarias e outros utensílios.

Solução aquosa de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foi utilizada para limpeza e condicionamento da superfície do EDDB.

3.1.2.7 Solução de iodo

A solução de iodo foi preparada a partir da dissolução de 6,50 g de iodo ressublimado em 50 mL de solução de iodeto de potássio (20%)_{m/v} seguido da adição de três gotas de ácido clorídrico e diluição para 500 mL de água deionizada. A solução final foi padronizada empregando solução de tiosulfato de sódio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), sendo esta padronizada contra iodato de potássio.

3.1.2.8 Solução de amido

O preparo da solução de amido foi realizado a partir da dissolução de 1,0 g de amido solúvel em 50 mL de água deionizada fervida.

3.1.3 Matrizes analisadas

O medicamento, utilizado nos ensaios de recuperação, na forma de solução oral de DIP, com especificação Medley-Brasil, 500 mg mL^{-1} , foi adquirido em farmácia na Cidade de Fortaleza, Ceará. As amostras das águas utilizadas neste trabalho dos açudes Gavião e Acarape do Meio, localizados respectivamente nas cidades cearenses de Redenção e Pacatuba, foram fornecidas pelo Laboratório de Química Ambiental do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará. O referido laboratório realiza periodicamente análises de nutrientes em águas de açudes do Estado do Ceará que são gerenciadas pela Companhia de Gestão dos Recursos Hídricos do Ceará (COGERH). As amostras de urinas utilizadas nas análises correspondem à segunda urina do dia, cedidas

voluntariamente por um indivíduo do sexo feminino, 25 anos de idade e de massa corporal equivalente a 45 kg.

3.2 Instrumentação

Os experimentos voltamétricos foram realizados utilizando-se célula eletroquímica convencional de vidro, com tampa em Teflon[®] dotada de orifícios para adição de alíquotas da solução do analito e para posicionamento dos três eletrodos, ambos conectados a potenciostato/galvanostato, modelo PGSTAT 101 (Autolab, Eco Chemie) e PGSTAT 128N (Autolab, Eco Chemie), controlado por computador, empregando o programa NOVA versão 1.11.2.

O eletrodo de trabalho utilizado foi EDDB, fabricado pelo *Centre Suisse d'Electronique et d'Microtechnique*, Neuchâtel, Suíça, com teor de boro de 8000 ppm e área geométrica (A_{geo}) de $0,05 \text{ cm}^2$. O eletrodo auxiliar consistiu em placa de platina (99,5 %) com A_{geo} igual a $0,53 \text{ cm}^2$ (Heraeus Vectra do Brasil Ltda) fixada com resina Araldite[®] em fio de platina, que se encontrava embutido em tubo de vidro. Por último, o eletrodo de $\text{Ag}_{(s)}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-_{(aq)}$ em meio de KCl saturado foi utilizado como eletrodo de referência, obtido pelo recobrimento de fio de prata com $\text{AgCl}_{(s)}$, por processo de anodização em meio de HCl $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ a $0,4 \text{ V}$ versus o eletrodo de $\text{Ag}_{(s)}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-_{(sat)}$.

Balança analítica modelo TB-215D (Denver Instrument) com precisão analítica de $\pm 0,01 \text{ mg}$ foi utilizada para realizar as pesagens dos reagentes. No preparo das soluções tampões, as medições de pH foram realizadas com pHmetro modelo B474 (Micronal). Água purificada em sistema Milli-Q (Millipore, Inc.), apresentando resistividade $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$, foi usada no preparo de todas as soluções e lavagens das vidrarias. Pipeta automática (Kacil, modelo ASD) foi utilizada para adicionar alíquotas de soluções à célula eletroquímica.

Todos os experimentos eletroanalíticos foram realizados, pelo menos em triplicata, com temperatura de $24,3 \pm 3,2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Na realização das titulações iodométricas utilizou-se erlenmeyer de 200 mL e bureta de 50 mL fixada por garra metálica em suporte universal. Os experimentos foram realizados em triplicata com temperatura de $10 \text{ }^\circ\text{C}$ em banho de gelo.

3.3 Metodologia

3.3.1 Cronoamperometria

O pré-tratamento eletroquímico para limpeza e condicionamento da superfície do EDDB foi realizado antes de iniciar as medidas de VC e de VOQ. Para isso, o eletrodo foi polarizado catodicamente por cronoamperometria em meio de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ aplicando potencial de $-3,0 \text{ V versus Ag}_{(s)}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-_{(\text{sat})}$ por 60 s. Em seguida, após a troca da solução e a lavagem dos eletrodos com água deionizada, o EDDB foi polarizado anodicamente aplicando-se $3,0 \text{ V versus Ag}_{(s)}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-_{(\text{sat})}$ por 30 s (FOORD; HAO; HURST, 2007; KULANDAINATHAN et al., 2007; LUCAS et al., 2014; MACPHERSON, 2015). Essa sequência foi escolhida, pois a polarização catódica gera a formação de terminações carbono-hidrogênio, que facilitam a ocorrência do processo de transferência de carga e, conseqüentemente, intensificam a condutividade elétrica do EDDB (ROSSI et al., 2003), o que é apreciável em estudos eletroquímicos; porém, essas terminações químicas tornam a superfície mais hidrofóbica. Característica que não é desejável quando se trabalha com analito bastante hidrofílico, como é o caso da DIP. Com isso, para minimizar a hidrofobia da superfície sem eliminar o ganho na condutividade pela polarização catódica, realizou-se polarização anódica por tempo equivalente à metade do tempo utilizado na polarização catódica com a finalidade de gerar na superfície do EDDB terminações carbono-oxigênio que tornam a superfície mais hidrofílica e conseqüentemente maximizam a interação eletrodo-solução (MACPHERSON, 2015).

Não foi realizado nenhum procedimento de limpeza entre as medidas de VC, onde se exploravam a reação redox do $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+3}$ na superfície do EDDB, em virtude da observância da reversibilidade do processo redox e da repetibilidade das replicatas. A limpeza da superfície eletródica entre as medidas de VOQ e VC na presença de DIP foi realizada por polarização anódica em $3,0 \text{ V}$ por 5 s.

3.3.2 Voltametria cíclica

Utilizando a técnica de VC e como sonda eletroquímica o composto $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+3}$ calculamos a área eletroativa do EDDB. Esse composto foi escolhido para realização dos ensaios voltamétricos, pois apresenta comportamento eletroquímico bem definido na literatura

(WANG; LIMON-PETERSEN; COMPTON, 2011), desde características do mecanismo da reação redox até parâmetros cinéticos como coeficiente de difusão e dentre outros parâmetros.

Por meio dos experimentos de VC, verificou-se a influência dos valores de ν na redução do $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+3}$ sobre EDDB. A partir da relação linear entre corrente de pico catódico (I_{pc}) e raiz quadrada da velocidade de varredura ($\nu^{1/2}$), fazendo uso da equação de Randles Sevcik para processos reversíveis, calculou-se a área eletroativa do eletrodo de trabalho (COMPTON; BANKS, 2007). Inicialmente, realizou-se condicionamento da superfície do EDDB por cronoamperometria em meio ácido e, posteriormente, utilizando 10 mL da solução $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, realizou-se os experimentos de VC nos seguintes valores de ν : 10, 25, 50, 100, 150 e 200 mV s^{-1} .

Com base nas relações que compõem o modelo matemático da VC, informações mecanísticas a respeito da reação redox que o analito sofre na superfície eletródica podem ser retiradas dos voltamogramas cíclicos. Com isso, objetivando obter informações acerca da reação redox de DIP na superfície do EDDB, foi estudado a influência da ν sobre as respostas eletroquímicas de DIP nos experimentos realizados em meio de eletrólito de suporte otimizado, intervalo de potencial de 0 a 0,95 V e os seguintes valores de ν : 5, 10, 25, 50 e de 100 até 1000 mV s^{-1} , sendo neste intervalo os incrementos de 100 mV s^{-1} .

3.3.3 Voltametria de onda quadrada

A técnica de VOQ foi utilizada na otimização do pH, na otimização do eletrólito de suporte, na construção das curvas analíticas, nos estudos de recuperações de DIP no eletrólito de suporte e sob a influência de diversas matrizes, tais como medicamento na forma de solução oral de DIP, águas naturais e urina humana.

Os experimentos de otimização do pH foram realizados em tampão Britton Robinson (BR), pois este apresenta ampla faixa tamponante, 2,0 a 12,0 (BRITTON; ROBINSON, 1931), o que permite avaliar a influência de meios consideravelmente ácidos, básicos e um meio neutro. Dentro desta perspectiva, foram testados em triplicata os pH 3,0; 5,0; 7,0; 9,0 e 11,0 utilizando uma concentração de DIP igual a $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em 10 mL do eletrólito de suporte e os parâmetros teóricos da VOQ frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f) = 100 s^{-1} , amplitude dos pulsos de potencial (a) = 50 mV e incremento de potencial (ΔE_s) = 2 mV (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007)

Quanto aos experimentos para otimização do eletrólito de suporte, estes foram realizados em triplicata utilizando os parâmetros padrões da VOQ e DIP numa concentração de $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ presentes em 10 mL de solução tampão, sendo que foram testados tampão fosfato, tampão BR e tampão McIlvaine.

A otimização dos parâmetros da VOQ foi realizada, tendo como objetivo estabelecer condições experimentais que proporcionassem maior sensibilidade, ou seja, maiores valores de corrente de pico. A sequência experimental consistiu nas seguintes etapas: após condicionamento da superfície do EDDB em meio ácido, a otimização destes parâmetros foi realizada em DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ na presença da solução tampão otimizada, avaliando-se a intensidade da corrente de pico obtida em função da variação de cada parâmetro separadamente, ou seja, variavam-se os valores de f de 10 a 100 s^{-1} mantendo os valores de a e de ΔE_s constantes, sendo estes respectivamente iguais a 50 mV e 2 mV. Em seguida, variavam-se os valores de a de 10 a 80 mV, mantendo os valores de $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. Na otimização de ΔE_s , realizou-se medidas de 1 a 5 mV, com $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $a = 50 \text{ mV}$.

Após a obtenção das condições experimentais otimizadas, três curvas analíticas no eletrólito de suporte otimizado foram construídas pela adição de alíquotas da solução padrão de DIP na célula eletroquímica. Obtendo uma curva analítica média, composta pelas curvas analíticas construídas, expressa com ponto médio e barras de erros. Seguido da adição de cada alíquota, um voltamograma de onda quadrada era obtido. Foi estabelecida a região de linearidade entre a concentração de DIP e a corrente de pico e calcularam-se os valores de LD e LQ.

Por definição, LD: é a menor concentração do analito em análise que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, empregando determinado procedimento experimental. LQ é definido como a menor concentração do analito que pode ser quantitativamente determinada (ANVISA, 2003; BRITO et al., 2003). As relações matemáticas empregadas para cálculo de LD e de LQ foram (ANVISA, 2003; ICH-Q2(R1), 2005; SHABIR, 2003):

$$LD = 3 \times \frac{DP_a}{b} \dots\dots\dots(1)$$

$$LQ = 10 \times \frac{DP_a}{b} \dots\dots\dots(2)$$

em que (DP_a) representa o desvio padrão do intercepto (DP_a) e (b) a inclinação da curva analítica média

Para avaliar a precisão da metodologia analítica realizaram-se estudos de repetibilidade e reprodutibilidade. Os ensaios de repetibilidade foram realizados utilizando os parâmetros otimizados para VOQ e DIP ($1,19 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em meio do eletrólito de suporte otimizado. Fez-se o condicionamento da superfície do EDDB seguindo do registro de sete medidas eletroquímicas, sendo realizada a limpeza da superfície eletródica por cronoamperometria, como já foi descrito na seção 3.3.1. Quanto à reprodutibilidade, foram realizadas cinco medidas eletroquímicas nas mesmas condições descritas anteriormente, porém, antes de cada medida era realizado o condicionamento da superfície eletródica. Os resultados para ambos os ensaios foram expressos em termos de desvio padrão relativo (DPR), calculados de acordo com a equação 3 (MILLER; MILLER, 2010):

$$\%DPR = \frac{DP_{I_p}}{\bar{I}_p} \dots\dots\dots(3)$$

em que DP_{I_p} representa o desvio padrão das correntes de pico e \bar{I}_p a média aritmética das correntes de pico.

O método de adição de padrão foi utilizado em todos os ensaios de recuperação envolvendo a técnica de VOQ. Sendo estes: recuperação no eletrólito de suporte, recuperação do medicamento na forma de solução oral de DIP em meio de eletrólito de suporte, em meio de eletrólito contendo urina humana e em meio de eletrólito preparado com águas dos açudes Gavião e Acarape do Meio. As águas naturais foram filtradas em microfiltro de fibra de vidro com porosidade de $1,2 \mu\text{m}$ e utilizadas como solvente no preparo do eletrólito de suporte otimizado e as análises com urina humana foram desenvolvidas utilizando eletrólito de suporte otimizado contendo a segunda urina matinal ($0,04\% \text{ v/v}$), sem nenhum tipo de pré-tratamento (ŠVORC et al., 2014).

A sequência experimental dos ensaios de recuperação consistiu no seguinte, no interior da célula eletroquímica contendo eletrólito de suporte, foram adicionadas alíquotas de DIP ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Sendo que as concentrações de DIP testadas encontravam-se no intervalo $1,0 \times 10^{-6}$ a $6,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e contemplavam baixas, médias e altas concentrações em relação a região de linearidade evidenciada nas curvas analíticas. Após cada adição de padrão, registrou-se um voltamograma de onda quadrada. A partir dos dados obtidos, construiu-se um gráfico corrente de pico *versus* a concentração de DIP, em que a

primeira adição foi considerada como concentração igual a zero e as adições seguintes desconsideraram a contribuição da primeira adição na hora de construir o gráfico. A determinação da concentração da primeira adição foi obtida por meio da extrapolação da curva de recuperação até o eixo x (concentração), obtendo o valor em módulo.

Os resultados dos ensaios de recuperação foram expressos na forma de taxa de recuperação (%R), que se encontra definida na equação a seguir (MILLER; MILLER, 2010):

$$\%R = \frac{[DIP]_{quantificada}}{[DIP]_{adicionada}} \times 100 \dots\dots\dots(4)$$

em que $[DIP]_{quantificada}$ foi a concentração de DIP quantificada utilizando a metodologia proposta neste trabalho; $[DIP]_{adicionada}$ foi a concentração de DIP adicionada ao sistema eletroquímico em estudo, representando a quantidade real de analito.

Outra forma pela qual se expressou os resultados de recuperação foi por meio do parâmetro %BIAS, calculado pela seguinte equação (PRICHARD, 2007):

$$\%BIAS = \frac{(\bar{x} - x_0)}{x_0} \times 100 \dots\dots\dots(5)$$

em que \bar{x} é o valor médio das concentrações de DIP recuperadas e x_0 é o valor de concentração de DIP adicionada.

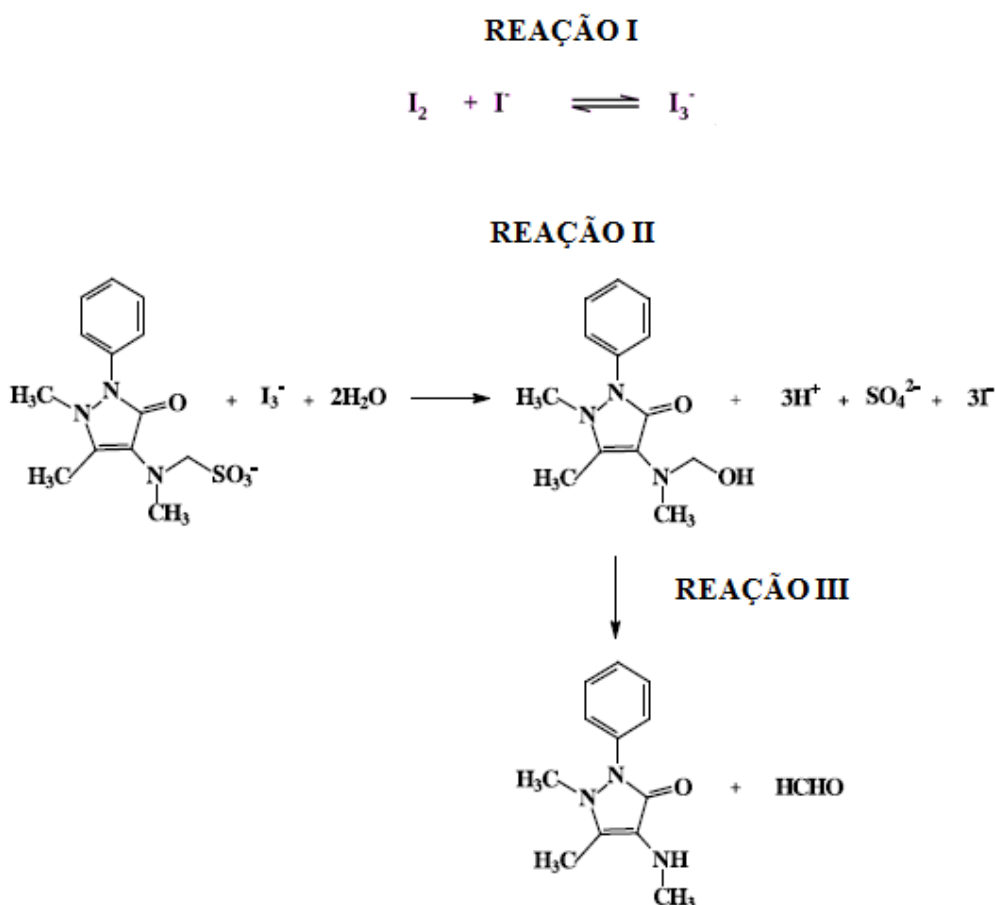
3.3.4 Titulação iodométrica

A fim de certificar a eficiência da metodologia eletroanalítica desenvolvida neste trabalho, a determinação de DIP em medicamento, águas naturais e em urina humana também foram realizadas utilizando a metodologia proposta pela Farmacopeia Brasileira com algumas adaptações, que utiliza como técnica a titulação iodométrica.

Nos estudos de recuperações de DIP utilizando medicamento na forma de solução oral procedeu-se da seguinte forma: foi transferido, para um erlenmeyer, 700 µL da solução oral de DIP com especificação Medley-Brasil, 500 mg mL⁻¹, o que é equivalente a 0,35 g de dipirona sódica monohidratada. Seguidamente, adicionou-se 25 mL de água desionizada e 5 mL de ácido acético glacial. Titulou-se com iodo 0,05 mol L⁻¹, em temperatura de 10 °C, utilizando 1 mL de solução aquosa de amido, como indicador.

Com base na estequiometria da reação redox da DIP, em meio ácido, com o íon triodeto (I_3^-), componente da solução titulante, pois todo o gás iodo (I_2) foi convertido em I_3^- , sendo tais reações descritas na Figura 3, considerou-se para a realização dos cálculos das taxas de recuperação que cada mL de iodo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ equivaleria a 17,57 mg de dipirona sódica monohidratada (Farmacopeia Brasileira, 2010).

Figura 3 – Reações envolvidas na titulação da dipirona com iodo em ácido



Fonte: (PESTANA; PRADO; CAMPOS., 2008) com adaptações

Quanto aos estudos de recuperações de DIP, presente no medicamento na forma de solução oral, em meio conteúdo urina humana e em águas naturais, os procedimentos utilizados foram praticamente iguais ao que foi descrito em linhas anteriores, mas com algumas modificações. Sendo estas, para os ensaios com águas naturais, ao invés de se utilizar 25 mL de água deionizada na diluição da solução oral, utilizou-se as águas naturais à temperatura ambiente. Enquanto que nos ensaios com urina humana ao invés de se utilizar o volume de água deionizada, descrito na Farmacopeia Brasileira, para diluição da solução oral, utilizou-se água deionizada conteúdo a segunda urina matinal ($0,04\%_{v/v}$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação da área eletroativa do EDDB

A técnica de VC é bastante utilizada na obtenção de informações a respeito do mecanismo redox de espécies químicas de interesse (exemplo: reversibilidade e cálculo do número de elétrons envolvidos na reação redox). Outra aplicação é a caracterização da superfície de eletrodos por meio do cálculo da área eletroativa.

Por definição, área eletroativa é equivalente à região superficial que efetivamente tem a capacidade de promover reação eletroquímica (CHAPARRO et al., 2009). Em termos experimentais, valores de áreas eletroativas podem ser utilizados para avaliar a influência de diferentes superfícies eletródicas, de mesma área geométrica, frente à determinada reação química, pois quanto maior o valor da área eletroativa calculada para dado eletrodo, é esperado que maior seja o sinal eletroanalítico obtido para esse eletrodo nas condições experimentais testadas e condições similares. Outra aplicação é utilizar a área eletroativa para expressar resultados de corrente na forma de densidade de corrente, o que permite realizar um determinado estudo eletroquímico com mais de um eletrodo, sendo estes de áreas geométricas diferentes, mas de mesma natureza.

Neste trabalho, a área eletroativa do EDDB foi calculada por meio do estudo da reação redox do par $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+3}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+2}$ na superfície eletródica, utilizando a técnica de VC e relações entre parâmetros voltamétricos que compõem o modelo teórico dessa técnica. Na Figura 4 encontram-se os voltamogramas cíclicos obtidos para diferentes valores de v .

Para caracterizar quanto à reversibilidade, a reação redox do par $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+3}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+2}$ sobre EDDB a partir da análise dos perfis voltamétricos obtidos nos experimentos por meio da técnica de VC, foram utilizados os seguintes critérios de diagnóstico descritos por Compton (COMPTON; BANKS, 2007; GOSSER, 1993):

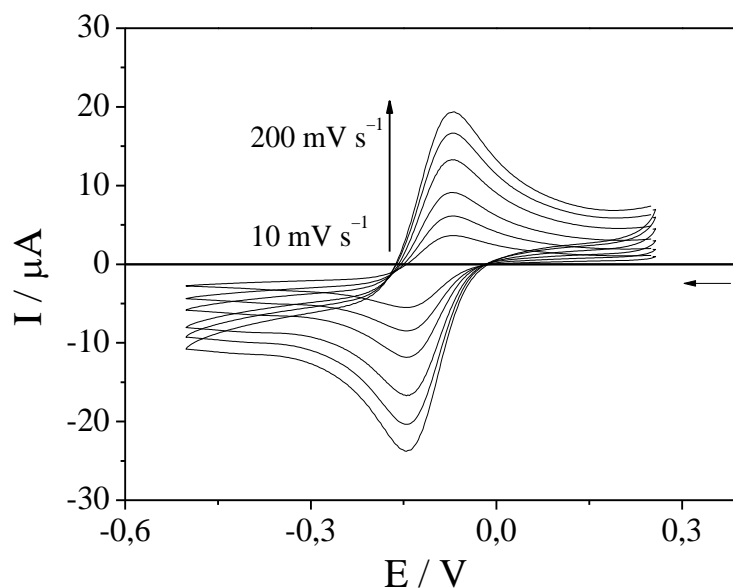
Critério 1 – A separação dos potenciais de picos (ΔE_p), ou seja, a diferença do potencial de pico catódico (E_{pc}) e o potencial de pico anódico (E_{pa}) devem ser no máximo 70 mV.

Critério 2 – O módulo da relação entre os valores de corrente de pico catódico (I_{pc}) e corrente de pico anódico (I_{pa}) deve ser próximo do valor 1.

Critério 3 – O módulo da diferença entre o potencial de pico catódico e o potencial de meia altura ($E_{pc/2}$) deve ser próximo a $2,218 RT/F$, em que R é a constante universal dos gases perfeitos ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}$); T é a temperatura absoluta que foi realizada os experimentos (para

esses experimentos foi 298 K) e F é a constante de Faraday (96485 C mol^{-1}), o valor deste termo, nas condições experimentais deste trabalho, foi 0,06.

Figura 4 – Voltamogramas cíclicos do $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em diferentes velocidades de varredura de potencial (ν), 10, 25, 50, 100, 150 e 200 mV s^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora

Na Tabela 2 encontram-se as análises dos resultados da aplicação de cada critério de diagnóstico descrito anteriormente utilizando os dados obtidos para reação redox do par $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+3}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+2}$ sobre EDDB por VC. Por esta tabela, pode-se diagnosticar que o sistema redox em questão apresenta comportamento reversível, pois $|\Delta E_p|$ foi menor que 70 mV; $|I_{pc} / I_{pa}|$ foi aproximadamente igual a 1 e $|E_{pc} - E_{pc/2}|$ é equivalente a 0,06 mV. Com isso, utilizou-se a equação de Randles-Sevcik destinada a este tipo de sistema, intitulada equação 6, para realização do cálculo da área eletroativa do EDDB (COMPTON; BANKS, 2007; GOSSER, 1993).

$$I_p = 2,69 \times 10^5 n^{3/2} A C D^{1/2} \nu^{1/2} \dots\dots\dots(6)$$

em que I_p é corrente de pico; n é número de elétrons envolvidos no processo redox em estudo; A é a área eletroativa; C é concentração do reagente; D é o coeficiente de difusão e ν é a velocidade de varredura de potencial.

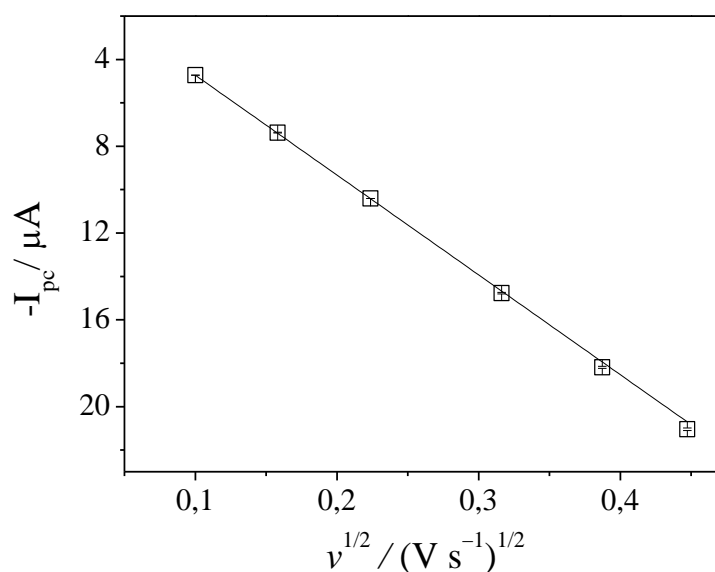
Tabela 2 – Relações matemáticas estabelecidas entre os parâmetros voltamétricos obtidos nos experimentos do $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em diferentes velocidades de varredura de potencial

ν (mV s^{-1})	$ I_{\text{pc}} / I_{\text{pa}} $	$ \Delta E_p $ (mV)	$ E_{\text{pc}} - E_{\text{pc}2} $ (V)
10	1,04	65,9	0,05
25	1,02	68,4	0,05
50	1,02	65,9	0,05
100	1,02	65,9	0,05
150	1,03	70,0	0,05
200	1,04	68,4	0,06
Valores médios	1,03	67,4	0,05

Fonte: Elaborado pela autora

Em sistemas reversíveis existe uma relação linear entre os valores I_p e $\nu^{1/2}$ (COMPTON; BANKS, 2007), o que está em concordância com o observado na Figura 5.

Figura 5 – Dependência entre corrente de pico catódico (I_{pc}) e raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ($\nu^{1/2}$) obtida a partir dos voltamogramas cíclicos do $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em diferentes velocidades de varredura de potencial



Fonte: Elaborado pela autora

A relação entre I_{pc} e $v^{1/2}$ ilustrou uma considerável relação linear, coeficiente de correlação equivalente a 0,9998 e inclinação de $-4,60 \times 10^{-5} \text{ A V}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$. Igualou-se este valor aos termos equivalentes ao coeficiente angular da equação 6, considerando: $n = 1$ elétron; $C = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e $D = 8,43 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ (WANG; LIMON-PETERSEN; COMPTON, 2011). Com essas considerações, calculou-se $A = 0,02 \text{ cm}^2$.

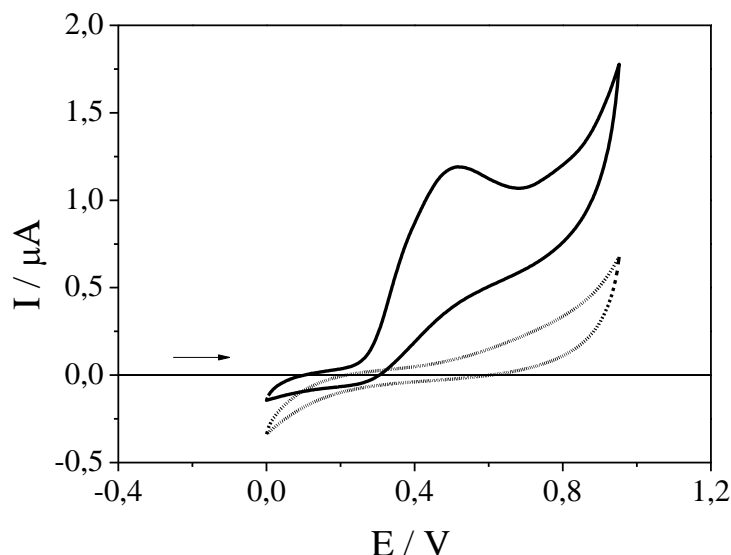
Como consequência do processo de condicionamento, a superfície do EDDB utilizado nos experimentos apresentava terminações carbono-hidrogênio e carbono-oxigênio, sendo que as primeiras citadas tendem a facilitar a transferência de elétrons entre a superfície eletródica e o analito $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+3}$, assim como intensificam a reversibilidade do processo redox, enquanto que as terminações carbono-oxigênio aumentam a hidrofiliabilidade do EDDB, o que intensifica o contato entre o eletrodo e a solução de $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+3}$, porém a presença dessas terminações dificultam a transferência de elétrons, o que gera diminuição na intensidade do sinal eletroanalítico, em termos de corrente de pico, e é evidenciado pela relativa baixa na área eletroativa (MACPHERSON, 2015).

Geralmente, a área eletroativa é superior à área geométrica, comportamento que pode estar associado à presença de agentes modificadores da superfície eletródica, dotados de propriedades responsáveis por facilitar a transferência eletrônica, e a porosidade, que é responsável por aumentar a superfície de contato entre o analito e a superfície do eletrodo. Porém, os resultados obtidos mostraram que área eletroativa calculada frente à sonda eletroquímica utilizada foi menor que a área geométrica do eletrodo, fato que está associado à natureza das terminações geradas na superfície do EDDB pelos processos de condicionamento (MACPHERSON, 2015).

4.2 Comportamento eletroquímico

Visando avaliar a eletroatividade de um composto, geralmente, a técnica de VC é inicialmente empregada para determinar se alguma espécie, na solução de interesse, pode ser oxidada ou reduzida na superfície de um eletrodo (BRETT; BRETT, 1996). Assim, o comportamento eletroquímico da DIP sobre EDDB foi avaliado primariamente por meio dos experimentos de VC no intervalo de potencial de 0 a 0,95 V *versus* $\text{Ag}_{(s)}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-_{(aq)}$ (KCl saturado) com v igual a 100 mV s^{-1} e com a realização de cinco ciclos, sendo os voltamogramas referentes ao terceiro ciclo na ausência e na presença de DIP em meio tampão BR pH 7,0 ilustrados na Figura 6.

Figura 6 – Voltamogramas cíclicos obtidos com velocidade de varredura de potencial de 100 mV s^{-1} na ausência (linha tracejada) e na presença (linha sólida) de $9,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de DIP em tampão BR pH 7,0



Fonte: Elaborado pela autora

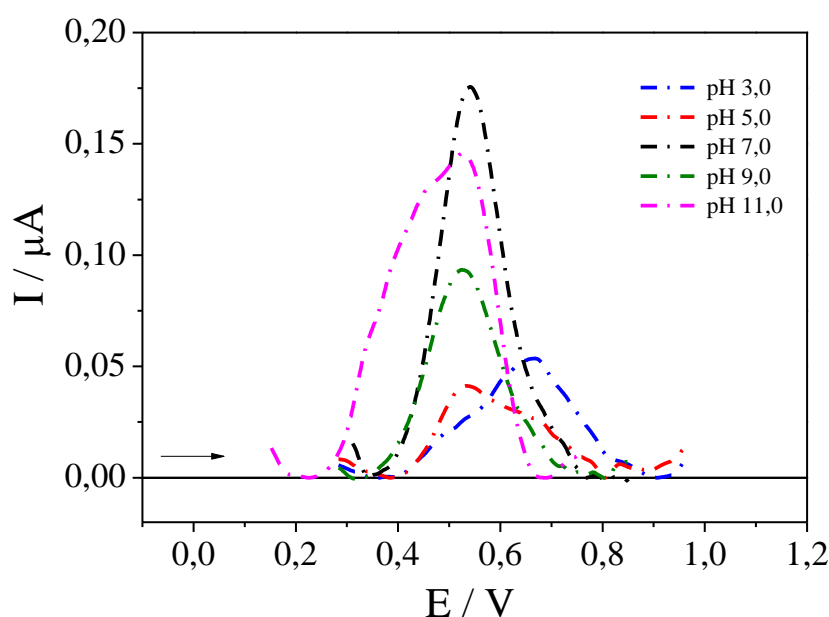
Analisando os voltamogramas da figura descrita anteriormente, foi possível observar um processo de oxidação bem definido, com potencial de pico anódico (E_{pa}) igual a $0,49 \text{ V versus Ag/AgCl/Cl}^-$ (KCl saturado), também observado em alguns trabalhos na literatura científica (BASAEZ et al., 2008; GOPU et al., 2011), e a não definição de processos de redução da DIP nos voltamogramas. Com isso, sugeriu-se a partir dos critérios de diagnóstico descritos na seção 4.1 deste trabalho, assim como, a partir dos perfis voltamétricos gerados, nas condições experimentais testadas, que o processo redox da DIP apresentava características típicas de processos irreversíveis.

4.3 Estudo da influência do pH e do eletrólito de suporte nas respostas eletroquímicas de dipirona

A técnica de VOQ foi usada para investigar a influência do pH em relação ao processo eletroquímico da DIP sobre EDDB. Os voltamogramas obtidos neste estudo encontram-se ilustrados pela Figura 7. Analisando essa figura ficou notório que o pH 7,0 proporcionou a obtenção dos maiores valores de I_p , assim como, seus voltamogramas apresentaram menor largura de meia altura, o que implica em maior seletividade nas medidas

eletroquímicas (DEA; RIBES; OSTERYOUNG, 1993), com isso, pH 7,0 foi considerado como otimizado.

Figura 7 – Voltamogramas de onda quadrada para DIP ($9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) sobre EDDB em meio de tampão BR com diferentes valores de pH, 3,0; 5,0; 7,0; 9,0 e 11,0, utilizando os parâmetros voltamétricos $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$

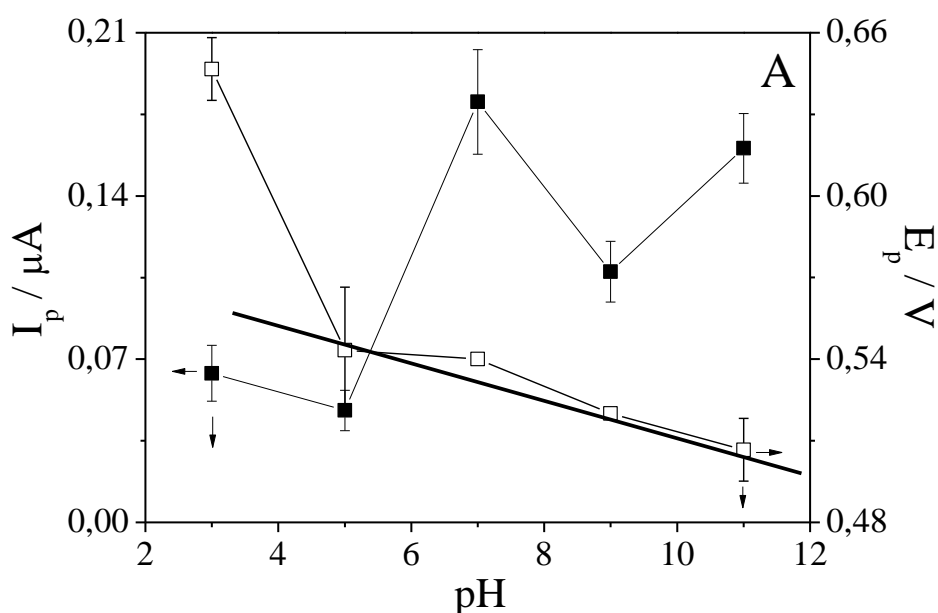


Fonte: Elaborado pela autora

As respostas voltamétricas obtidas a partir dos voltamogramas de onda quadrada em termos de potencial de pico (E_p) e corrente de pico (I_p) em função da variação do pH encontram-se ilustradas na Figura 8. Analisando essa figura, foi possível observar que E_p sofreu deslocamento para valores menos positivos com o aumento do pH e que existe uma relação linear bem definida no intervalo de pH entre 5 e 11, que foi representada pela equação: $E_p = 0,580 - 0,007 \text{ pH}$ ($R = 0,9133$). A influência do pH sobre o E_p de processos redox é descrita pela equação de Nernst modificada, sendo esta: $E_p = E_0 - 0,059 \text{ pH}$, em que E_0 é o valor do E_p a pH igual a zero e a inclinação de $0,059 \text{ mV pH}^{-1}$ indica que número de elétrons envolvidos no processo redox em investigação é igual ao número de prótons. O valor de inclinação obtido experimentalmente indica um deslocamento de $0,007 \text{ mV}$ por unidade de pH, valor bem distante do teórico que é $0,059 \text{ mV}$ por unidade de pH, sugerindo que o número de elétrons envolvidos no processo redox da DIP é diferente do número de prótons, o que está em concordância com o observado nos experimentos de Muralidharan e

colaboradores (2009) utilizando um sensor formado por eletrodo de carbono vítreo modificado com polipirrol, associado a técnica de VC e solução aquosa de ácido sulfúrico pH 1,0 como eletrólito de suporte, assim como, Teixeira e colaboradores (2009) utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado com hexacianoferrato de cobre II, em meio de solução tampão acetato pH 7,4.

Figura 8 – Variação dos valores do potencial de pico (eixo da ordenada à direita) e da corrente de pico (eixo da ordenada à esquerda) com o pH. Estes dados foram retirados dos voltamogramas de onda quadrada para DIP ($9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) sobre EDDB em tampão BR com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$

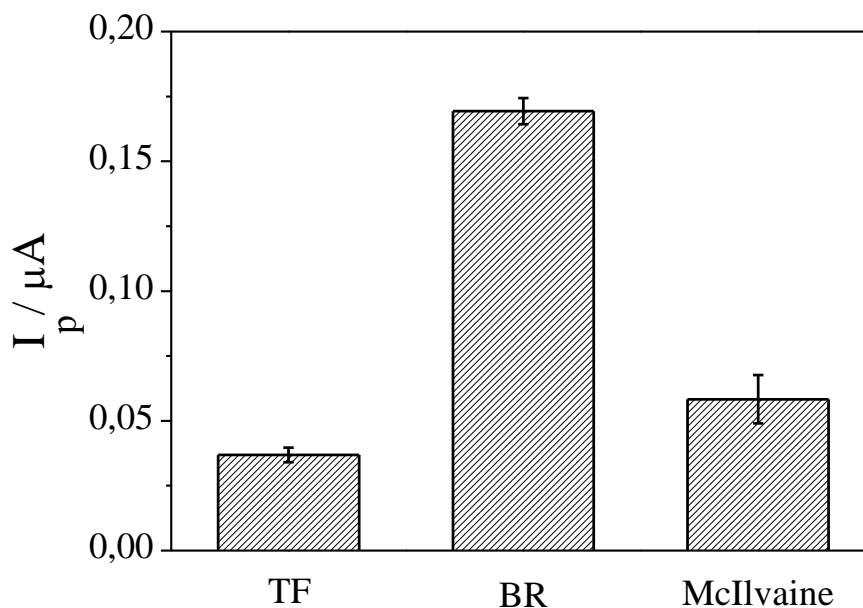


Fonte: Elaborado pela autora

Visando buscar condições que intensificassem os sinais eletroanalíticos obtidos a partir da reação redox da DIP sobre EDDB, foi realizado a otimização do eletrólito de suporte utilizando a técnica de VOQ e os parâmetros voltamétricos $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. Testou-se mais dois eletrólitos de suporte, tampão McIlvaine e tampão fosfato ambos ajustados para pH 7,0. Os valores de I_p obtidos na utilização de cada tampão foram comparados entre si. Como ilustra a Figura 9, o tampão BR pH 7 proporcionou a obtenção de sinais eletroanalíticos cerca de três vezes maiores que os obtidos para os outros tampões testados, com isso, o tampão BR pH 7,0 foi considerado como o eletrólito de suporte

otimizado, pois quanto mais intensos os sinais eletroanalíticos obtidos implicará em maior sensibilidade da metodologia eletroanalítica em desenvolvimento.

Figura 9 – Estudo da influência do tampão fosfato (TF), tampão BR e tampão McIlvaine, pH 7,0, na reação de oxidação de DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborado pela autora

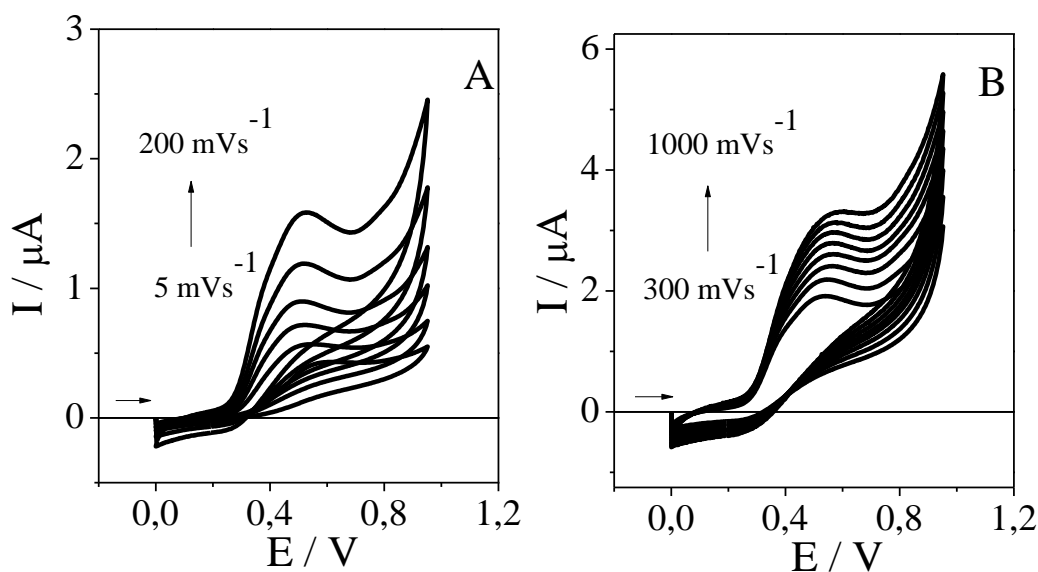
4.4 Estudos por voltametria cíclica para dipirona

Neste trabalho exploramos a técnica de VC com o objetivo de obter informações mecanísticas quanto à reversibilidade da reação, números de elétrons envolvidos no processo redox e parâmetros cinéticos, como coeficiente de transferência de carga.

Os voltamogramas cíclicos obtidos no estudo da influência da v frente às respostas eletroquímicas de DIP sobre o EDDB encontram-se descritos na Figura 10. A partir desses voltamogramas cíclicos foram construídos dois gráficos que relacionam I_p versus v e I_p versus $v^{1/2}$, que se encontram descritos na Figura 10. Analisando a Figura 11A, observou-se que os valores de corrente de pico anódico (I_{pa}) aumentavam com o acréscimo nos valores de v , o que é um comportamento esperado já descrito na literatura (BRETT; BRETT, 1996; COMPTON; BANKS, 2007; GOSSER, 1993). Porém, os valores de I_p versus v não guardavam uma boa relação linear no intervalo de 5 a 1000 mV s^{-1} , R igual a 0,7801, como a

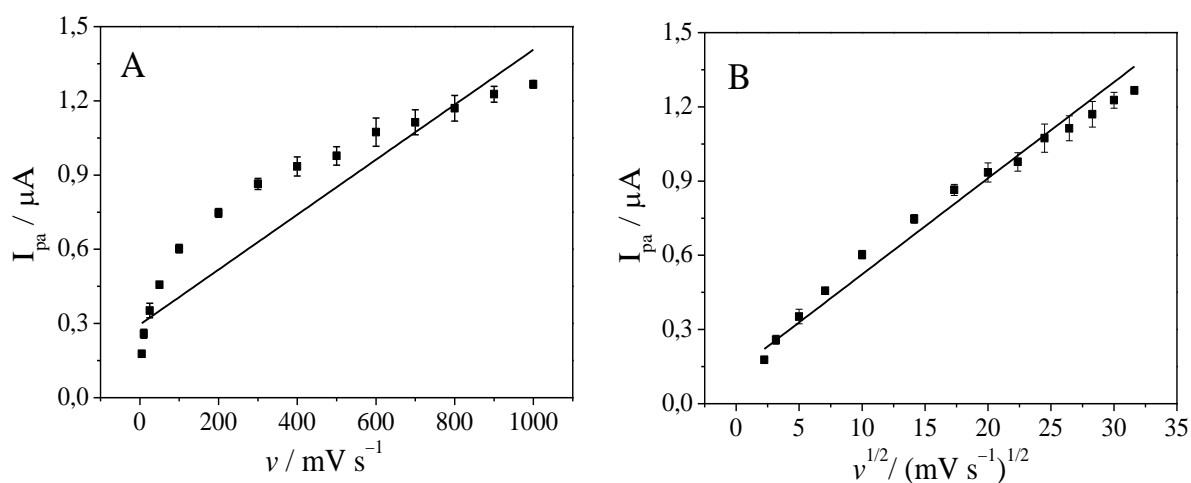
observada para os valores de I_{pa} versus a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$), R igual a 0,9652, ilustrados na Figura 11B.

Figura 10 – Voltamogramas cíclicos para $9,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DIP sobre EDDB em meio de tampão BR pH 7,0 obtidos com (A) v iguais a 5, 10, 25, 50, 100 e 200 mVs^{-1} , e (B) com valores de v de 300 a 1000 mVs^{-1}



Fonte: Elaborada pela autora

Figura 11 – (A) Dependência entre corrente de pico anódico (I_{pa}) e a velocidade de varredura de potencial (v); (B) Dependência entre corrente de pico anódico (I_{pa}) e $(v)^{1/2}$ para reação de oxidação de DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0

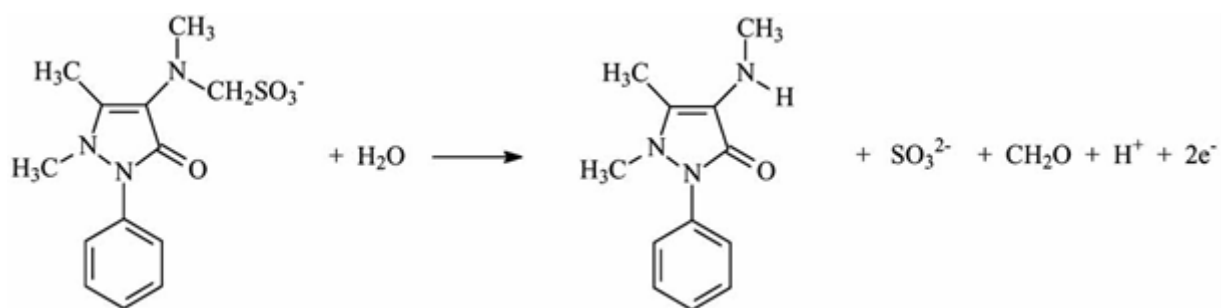


Fonte: Elaborada pela autora

A linearidade estabelecida entre I_p versus $v^{1/2}$ indica que a reação é controlada por difusão (BRETT; BRETT, 1996; COMPTON; BANKS, 2007; GOSSER, 1993), bem como os perfis voltamétricos obtidos confirmam as características de irreversibilidade da reação de oxidação da DIP na superfície do EDDB nas condições testadas (BRETT; BRETT, 1996; COMPTON; BANKS, 2007; GOSSER, 1993).

A irreversibilidade, o controle difusional e a participação de dois elétrons no processo redox da DIP são evidenciados por trabalhos na literatura, sendo a equação química proposta para tal processo ilustrada pela Figura 12 (GOPU et al., 2011, 2012; MURALIDHARAN et al., 2009; PAULIUKAITE et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2009).

Figura 12 – Equação química proposta para reação redox de DIP



Fonte: TEIXEIRA et al., 2009

Segundo o modelo matemático da técnica de VC, o parâmetro cinético αn pode ser determinado pela equação a seguir (BARD; FAULKNER, 2001; BRETT; BRETT, 1996):

$$\left| E_p - E_{p/2} \right| = \frac{47,7mV}{\alpha n} \text{ (a 298K) } \dots\dots\dots(7)$$

em que $|E_p - E_{p/2}|$ é o valor médio para o módulo da diferença entre o potencial de pico e potencial equivalente a metade da corrente pico; α é o coeficiente de transferência de carga e n é o número de elétrons envolvidos na reação redox.

O valor médio para $|E_p - E_{p/2}|$ foi 130 ± 10 mV, conseqüentemente, utilizando a equação 7, calculou-se para αn um de valor 0,37. Como proposto na literatura, o mecanismo de oxidação da DIP ocorre com a participação de dois elétrons (GOPU et al., 2011; MURALIDHARAN et al., 2009; PAULIUKAITE et al., 2010b; TEIXEIRA, M. F. S., MARCOLINO-JÚNIOR, M. H., FATIBELLO-FILHO, O., MORAES; NUNES, 2009),

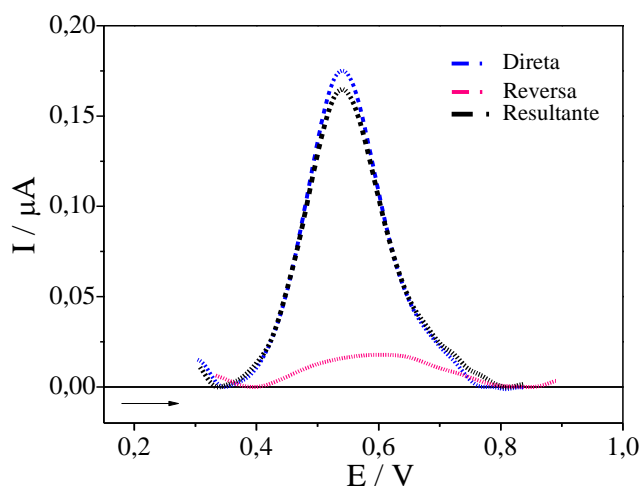
consequentemente, conclui-se que α é numericamente igual a 0,19, valor que está em concordância com a irreversibilidade da reação de DIP sobre a superfície do EDDB nas condições testadas, pois valores próximos de 0,5 para α , sugerem a reversibilidade da reação redox, ou seja, em termos energéticos, a facilidade de ocorrência da reação de oxidação é a mesma da reação de redução, sendo este comportamento não observado nos experimentos realizados. É válido ressaltar que os valores de α descritos na literatura para reação redox de DIP são diversos, variando de 0,33 a 0,49 (GOPU et al., 2011, 2012; SMAJDOR; PACZOSA-BATOR; PIECH, 2016).

4.5 Estudos por voltametria de onda quadrada para dipirona

4.5.1 Componentes de corrente

O diagnóstico de um sistema classificado como reversível ou irreversível pode ser determinado a partir das componentes de corrente da VOQ. Isto porque a corrente resultante é obtida pela diferença entre as componentes de corrente nas varreduras direta e reversa, ou seja, as correntes correspondentes aos processos de oxidação e redução das espécies eletroativas (BRETT; BRETT, 1996). Para avaliar a reversibilidade do sistema, foram analisadas as componentes de corrente para reação redox da DIP, ilustradas na figura 13.

Figura 33 – Voltamogramas de onda quadrada para DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0; $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ com as respectivas componentes de corrente resultante (preto), direta (azul) e reversa (rosa)



Fonte: Elaborada pela autora

Observando a Figura 13 concluiu-se que a intensidade da corrente resultante é relativamente próxima à intensidade da corrente da componente direta, indicando que a contribuição da corrente reversa gerou a diminuição do valor da corrente resultante. Mesmo com a aplicação do pulso reverso não foi evidenciada nos voltamogramas um processo referente à redução das espécies produzidas pela reação de oxidação, o que se verificou foi novamente à oxidação de espécies eletroativas na superfície do eletrodo, comportamento que caracteriza a reação de oxidação da molécula de DIP sobre EDDB nas condições testadas como irreversível (ZACHOWSKI; OSTERYOUNG; WOJCIECHOWSKI, 1986).

Como a corrente resultante teve sinal eletroanalítico equivalente a 91,0 % da corrente direta, esta primeira citada foi escolhida para o desenvolvimento da metodologia analítica para detecção e quantificação de dipirona utilizando EDDB.

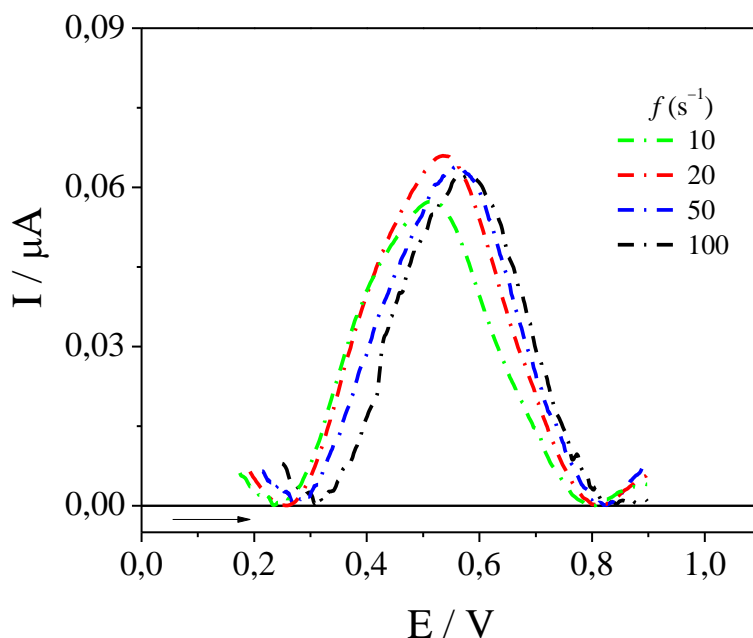
4.5.2 Estudos dos parâmetros da voltametria de onda quadrada

4.5.2.1 Frequência de aplicação dos pulsos de potencial

Os voltamogramas de onda quadrada obtidos para DIP utilizando diferentes valores de frequência encontram ilustrados na Figura 14. Nesta figura pode-se observar que o aumento dos valores de frequência proporcionou o deslocamento do E_p para valores mais positivos. A variação dos valores de f foi um artifício utilizado para analisar a influência deste parâmetro voltamétrico sobre os valores de I_p obtida nos experimentos, pois se todas as outras variáveis eram constantes, acreditava-se que a sensibilidade das medidas, ou seja, a variação dos valores de I_p seria dada em função apenas de f . Analisando a Figura 15, observou-se que os diferentes valores de f testados não afetaram significativamente as respostas eletroquímicas da DIP, pois os valores de I_p permaneceram praticamente constantes. Consequentemente, como um dos quesitos para se alcançar uma metodologia eficiente é a rapidez das análises, optou-se por trabalhar com $f = 100 \text{ s}^{-1}$.

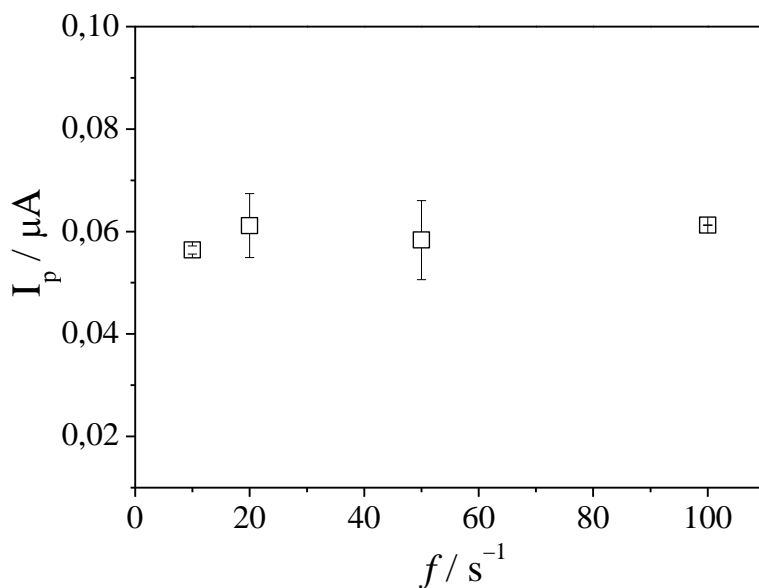
É importante ressaltar também que por meio do estudo de otimização da f é possível obter algumas informações qualitativas a respeito da cinética química das reações redox em estudo, por exemplo, quando se obtém sinais analíticos mais intensos utilizando valores de frequência relativamente baixos, pode-se estimar que a reação redox em questão apresenta cinética relativamente lenta (BARD; FAULKNER, 2001).

Figura 44 – Voltamogramas de onda quadrada da DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0, variando os valores de frequência de aplicação dos pulsos de potencial de 10 a 100 s^{-1} , $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 55 – Relação entre corrente de pico (I_p) e frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f), grafada com ponto médio, barras de erro e medidas em triplicata, para DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR, pH 7,0, variando valores de f de 10 a 100 s^{-1} , $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$

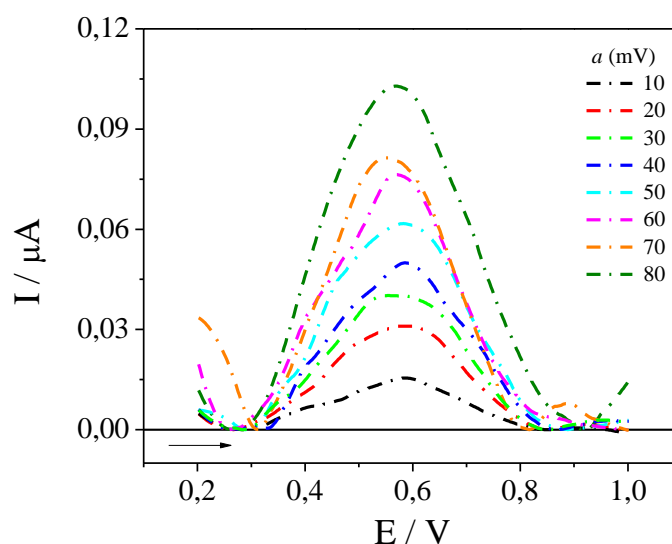


Fonte: Elaborada pela autora

4.5.2.2 Amplitude dos pulsos de potencial

Os voltamogramas de onda quadrada, obtidos no estudo da influência do parâmetro amplitude de aplicação dos pulsos de potencial sobre as respostas eletroquímicas da DIP, encontram-se representados na Figura 16.

Figura 16 – Voltamogramas de onda quadrada para DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0, variando os valores de amplitude de aplicação dos pulsos de potencial de 10 a 80 mV, $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborada pela autora

O estudo do parâmetro amplitude de aplicação dos pulsos de potencial foi de muito valia, pois este pode afetar tanto na sensibilidade da metodologia, que é evidenciada em termos dos valores de I_p , quanto na seletividade, que é avaliada a partir dos valores de largura de meia altura ($\Delta E_{p/2}$) dos processos registrados nos voltamogramas obtidos. Segundo Souza (2003), em processos irreversíveis, o aumento dos valores de a praticamente não variou os valores de $\Delta E_{p/2}$. Este comportamento foi observado no estudo de otimização de a como ilustra a Tabela 3, o que é mais um indício da irreversibilidade do mecanismo de oxidação da DIP sobre EDDB nas condições experimentais testadas.

De acordo com a teoria da VOQ para sistemas irreversíveis, o valor do produto entre o coeficiente transferência de carga (α) e o número de elétrons envolvidos no processo redox em estudo (n) pode ser calculado pela equação a seguir (DEA; RIBES; OSTERYOUNG, 1993; LOVRIC, M., KOMORSKY-LOVRIC, S., MURRAY, 1988):

$$\Delta E_{p/2} = \frac{63,5}{\alpha n} \dots\dots\dots(8)$$

Sendo o valor médio para $\Delta E_{p/2}$ igual a 290 ± 20 mV, obtido a partir dos experimentos com diferentes valores de amplitude, e usando a equação 8 calculou-se para αn o valor de 0,22, como já citado anteriormente a oxidação do DIP ocorre com a participação de dois elétrons (GOPU et al., 2011; MURALIDHARAN et al., 2009; PAULIUKAITE et al., 2010b; TEIXEIRA, M. F. S., MARCOLINO-JÚNIOR, M. H., FATIBELLO-FILHO, O., MORAES; NUNES, 2009), com isso, α é igual 0,11, valor relativamente próximo do calculado utilizando a técnica de VC.

Tabela 3 – Valores de lagura de meia altura ($\Delta E_{p/2}$) dos voltamogramas obtidos nos experimentos de otimização da amplitude dos pulsos de potencial

<i>a</i> (mV)	$\Delta E_{p/2}$ (V)	<i>a</i> (mV)	$\Delta E_{p/2}$ (V)
10	0,28	50	0,28
20	0,28	60	0,31
25	0,28	70	0,26
30	0,29	80	0,31
40	0,29		

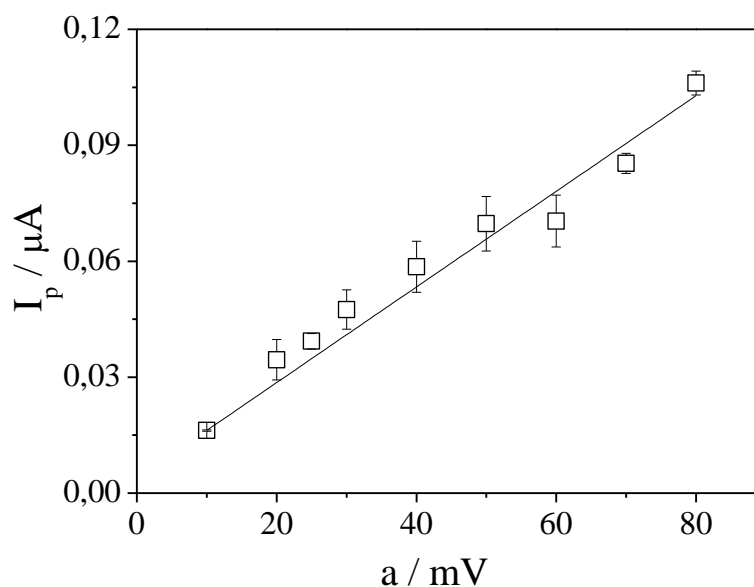
Fonte: Elaborada pela autora

Analisando a relação entre I_p e a ilustrada na Figura 17, pode-se observar que na medida em que se aumentavam os valores de amplitude os valores de I_p também aumentavam, ou seja, não foi observada perda de linearidade. Com isso, adotou-se $a = 25$ mV como valor otimizado, pois de acordo com teoria da VOQ, é considerado ideal, para desenvolvimento dos experimentos, o valor de amplitude que foi dado pela equação 9 (BARD; FAULKNER, 2001):

$$a = \frac{50}{n} \dots\dots\dots(9)$$

em que n é o número de elétrons envolvidos no processo redox em estudo, no caso da DIP, dois elétrons (PAULIUKAITE et al., 2010b; TEIXEIRA, M. F. S., MARCOLINO-JÚNIOR, M. H., FATIBELLO-FILHO, O., MORAES; NUNES, 2009)

Figura 17 – Relação entre corrente de pico (I_p) e amplitude de aplicação dos pulsos de potencial (a), grafada com ponto médio, barras de erro e medidas em triplicata, para DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0, variando os valores para o parâmetro a de 10 a 80 mV, $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



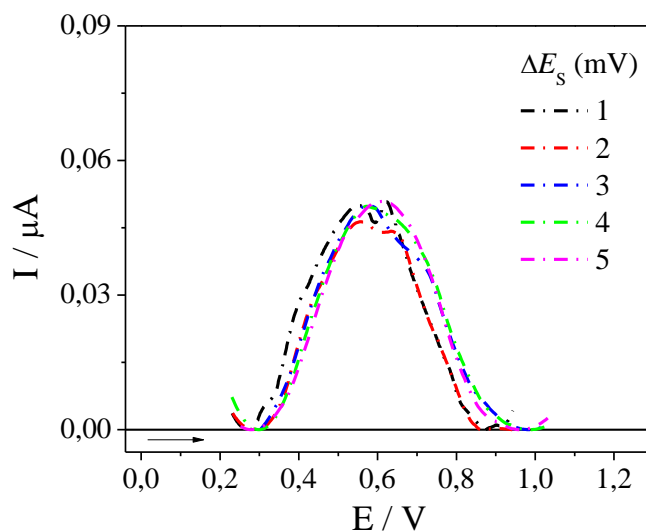
Fonte: Elaborada pela autora

4.5.2.3 Incremento de potencial

A Figura 18 ilustra os voltamogramas de onda quadrada obtidos nos estudos de otimização do parâmetro incremento de potencial, enquanto que a Figura 19 traz a gráfico que relaciona I_p com os diferentes valores de ΔE_s testados. Analisando esta última, estimou-se variação máxima de $\pm 0,02 \mu\text{A}$ dentre os valores de I_p obtidos nas replicatas para cada incremento avaliado, o que indicou considerável confiabilidade entre as medidas. Observou-se também que os diferentes incrementos testados geraram praticamente os mesmos valores de I_p , o que está associado ao comportamento irreversível da reação de oxidação da DIP sobre o EDDB nas condições experimentais testadas (ZACHOWSKI; OSTERYOUNG; WOJCIECHOWSKI, 1986). Com isso, pode-se afirmar que ΔE_s não influenciou na intensificação ou diminuição significativa da sensibilidade nas medidas voltamétricas obtidas; conseqüentemente, considerou-se $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ como o parâmetro otimizado, pois este

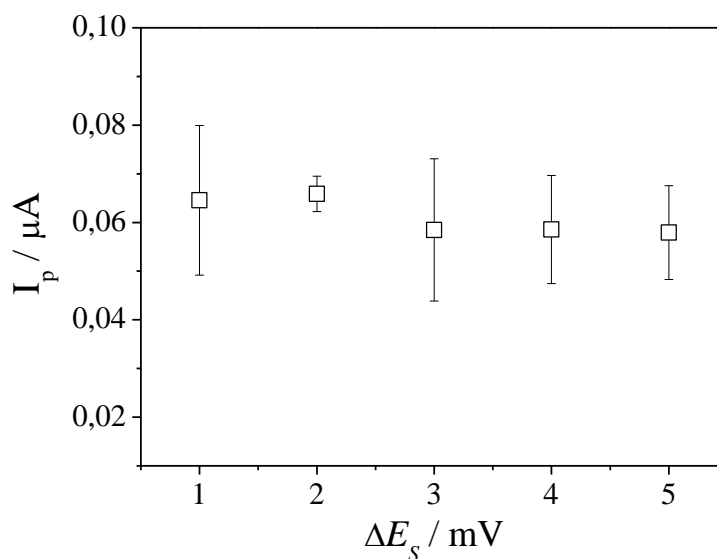
demonstrou maior repetibilidade entre as medidas, fato ilustrado pelas menores barras de erro descritas na Figura 17.

Figura 68 – Voltamogramas de onda quadrada para DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0, variando os valores de incremento de potencial de 1 a 5 mV, $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $a = 50 \text{ mV}$



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 79 – Relação entre corrente de pico anódico (I_p) e incremento de potencial (ΔE_s), grafada com ponto médio, barras de erro e medidas em triplicata, para DIP $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sobre EDDB em tampão BR pH 7,0, variando valores de incremento de 1 a 5 mV, $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $a = 50 \text{ mV}$

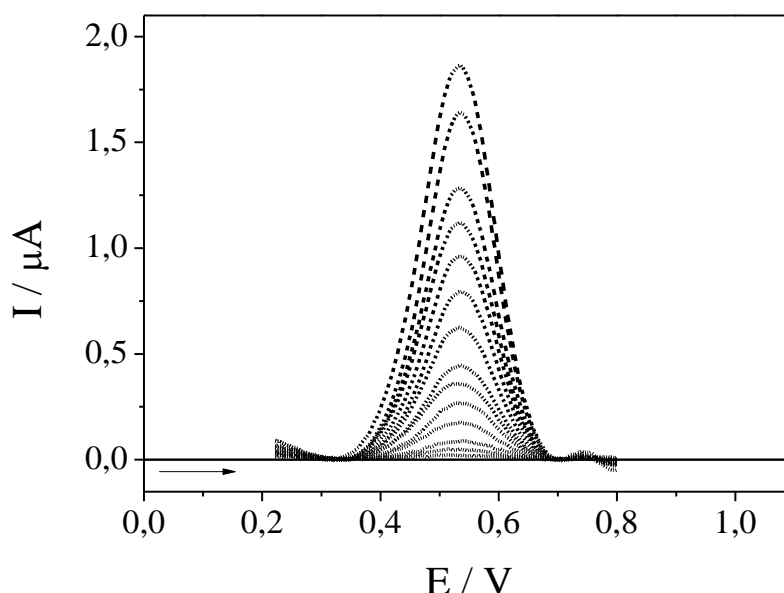


Fonte: Elaborado pela autora

4.6 Curvas analíticas e figuras de mérito

A Figura 20 ilustra os voltamogramas obtidos para DIP nas concentrações de $1,0 \times 10^{-6}$ a $6,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, este intervalo de concentração é a região onde a intensidade de I_p apresenta relação linear com a concentração de DIP, como visto na Figura 21, que representa a curva analítica média da metodologia eletroanalítica.

Figura 20 – Voltamogramas de onda quadrada para DIP, concentrações variando de $1,0 \times 10^{-6}$ a $6,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão BR pH 7,0 sobre EDDDB, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$

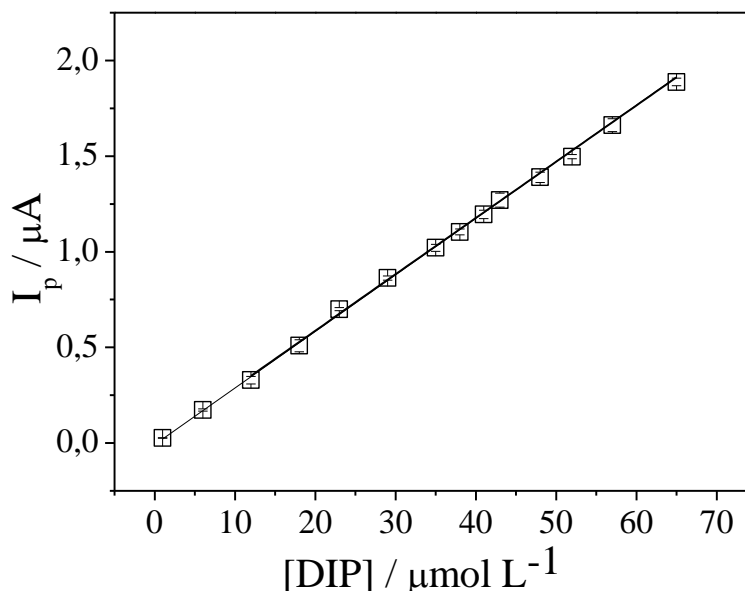


Fonte: Elaborado pela autora

A equação da reta para a curva analítica foi: $I_p = -1,33 \times 10^{-9} (\pm 2,64 \times 10^{-9}) + 0,03 (\pm 0,0001) [\text{DIP}]$ com coeficiente de correlação $R = 0,9994$. Os valores de LD e LQ foram respectivamente iguais a $2,64 \times 10^{-7}$ e $8,80 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, calculados conforme descrito na seção 3.3.3.

Quanto aos ensaios de repetibilidade (repê) e reprodutibilidade (reprô), os resultados obtidos em termos dos DPR foram 2,3% e 2,1%, respectivamente. Valores relativamente baixos que ilustram a precisão da metodologia desenvolvida nas condições experimentais testadas.

Figura 28 – Curva analítica grafada com ponto médio, barras de erro e medidas em triplicata construída para DIP com concentrações variando de $1,0 \times 10^{-6}$ a $6,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em meio de tampão BR pH 7,0 sobre EDDB, $f = 100$ s⁻¹, $a = 25$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV



Fonte: Elaborado pela autora

A Tabela 4 apresenta as figuras de mérito calculadas, composta pela região linear; a equação da curva analítica média, coeficiente de correlação, intervalo de confiança do intercepto (IC_a), intervalo de confiança da inclinação (IC_b), desvio padrão do intercepto (DP_a), desvio padrão da inclinação (DP_b), LD, LQ, repê e reprô. Analisando essa tabela, pode-se observar que a equação da curva apresenta valor de intercepto negativo. Para determinar se existe diferença significativa entre o intercepto obtido e valor teórico que é zero realizou-se teste de significância. O teste realizado foi o teste t que está matematicamente descrito pela equação 10 (MILLER; MILLER, 2010):

$$t = \frac{(\bar{x} - \mu)\sqrt{n}}{s} \dots\dots\dots(10)$$

em que \bar{x} corresponde à média dos valores de intercepto, μ é o valor teórico do intercepto e n é o número de determinações.

O valor calculado foi equivalente a 0,87, que é menor que o $t_{\text{crítico}} = 4,30$ para 95% de confiança e $n - 1$ graus de liberdade, indicando que o valor experimental foi livre de erros aleatórios e que o valor negativo para o intercepto é estatisticamente igual a zero.

Tabela 4 – Parâmetros obtidos para determinação de DIP empregando VOQ

Parâmetros	VOQ
Região linear (mol L ⁻¹)	$1,0 \times 10^{-6}$ a $6,5 \times 10^{-5}$
Equação da curva	$I_p = -1,33 \times 10^{-9} + 0,03$ [DIP]
IC _a (A)	$\pm 6,55 \times 10^{-9}$
IC _b (A / mol L ⁻¹)	$\pm 0,0002$
R	0,9994
DP _a (A)	$2,64 \times 10^{-9}$
DP _b (A / mol L ⁻¹)	0,0001
LD (mol L ⁻¹) / (ppm)	$2,64 \times 10^{-7}$ / $8,22 \times 10^{-2}$
LQ (mol L ⁻¹) / (ppm)	$8,80 \times 10^{-7}$ / $2,74 \times 10^{-1}$
Repetibilidade (n=7) (%)	2,3
Reprodutibilidade (n=5) (%)	2,1

Fonte: Elaborado pela autora

Na Tabela 5 observa-se que a metodologia desenvolvida neste trabalho apresentou um valor para LD igual a $0,26 \mu\text{mol L}^{-1}$, valor menor que o obtido por Pauliukaite e colaboradores (2010) com LD equivalente a $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$, que desenvolveram um sensor eletroquímico com configuração de eletrodo de epóxi-grafite modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizadas (NTCPMF) imobilizados em uma matriz de quitosana, bem como, apresentou maior desempenho quando comparado com o sensor proposto por Ghica, Ferreira e Brett (2015) com configuração de eletrodo de fibra de carbono modificado com NTCPMF e politionina que alcançaram LD de $13,40 \mu\text{mol L}^{-1}$, sendo este trabalho dentre os destacados na Tabela 5 o que apresentou maior intervalo de concentração linear ($250 - 2500 \mu\text{mol L}^{-1}$). Enquanto que comparando o valor de LD obtido pela metodologia desenvolvida neste trabalho com o obtido por Gopu e colaboradores (2011) que foi $0,11 \mu\text{mol L}^{-1}$, pode-se verificar que os valores são relativamente próximos. Todavia, quando comparado com os valores de LD calculados por Smajdor, Paczosa-Bator e Piech (2016) que foi $0,02 \mu\text{mol L}^{-1}$ e Gopu e colaboradores (2012) que foi $0,07 \mu\text{mol L}^{-1}$, observou-se menor sensibilidade por parte da metodologia desenvolvida neste trabalho, porém maior intervalo linear de concentração ($1,0 - 110 \mu\text{mol L}^{-1}$). É válido ressaltar que todos os sensores, citados em linhas anteriores, apresentavam em sua rotina eletroanalítica etapas de

preparação do eletrodo, o que aumenta consideravelmente o tempo de análise, o que não é necessário para metodologia em proposição, pois esta faz uso de eletrodo liso.

Tabela 5 – Resultados obtidos neste trabalho e em artigos publicados que descrevem metodologias eletroanalíticas para detecção e quantificação de DIP com suas respectivas referências

Referência	Eletrodo	Técnica	Intervalo Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
(PAULIUKAITE, R. et al., 2010)	EEG/NTCPMF-Q	VPD	50 - 1500	1,40
(SMAJDOR, J. et al., 2016)	ECV/PEDOT-PSS-Nafion [®]	VVL	0,1 - 13	0,02
(GOPU, G. et al., 2011)	ECV/Rb	VOQRA	0,13 – 2,64	0,11
(GHICA, M, E. et al., 2015)	EFC/NTCPMF-PT	VPD	250 - 2500	13,40
(GOPU, G. et al., 2012)	ECV/PEDOT ⁷	VPDRA	0,1 – 2,6	0,07
Este trabalho	EDDB	VOQ	1,0 - 110	0,26

EEG: eletrodo de epóxi-grafite; NTCPMF: nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizadas; Q: quitosana; ECV: eletrodo de carbono vítreo; PEDOT: poli(2,3-dihidrotiofeno-1,4-dioxano); PSS: poliestirenosulfonato; Rb: nanoriboflavina; PEDOT⁷: poli(3,4-etilenodioxítiofeno); EFC: eletrodo de fibra de carbono; PT: politionina; VPD: voltametria de pulso diferencial; VVL: voltametria de varredura linear; VOQRA: voltametria de onda quadrada de redissolução anódica; VPDRA: voltametria de pulso diferencial de redissolução anódica; VOQ: voltametria de onda quadrada.

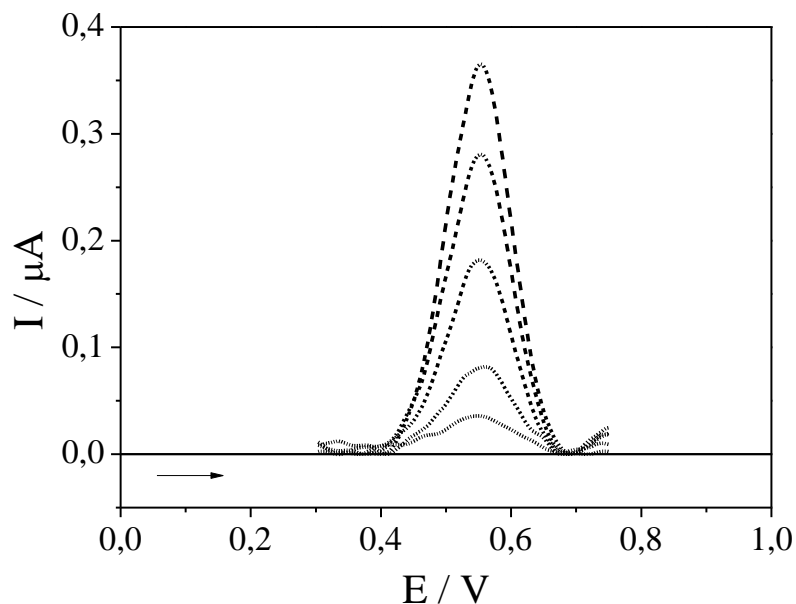
Fonte: Elaborada pela autora

4.7 Ensaios de recuperação

Para avaliação da eficiência da metodologia proposta foram realizados ensaios de recuperação, que por definição estão relacionados com a exatidão, pois refletem a quantidade de determinado analito, quantificado utilizando a metodologia de interesse, em relação à quantidade real presente na amostra (MILLER; MILLER, 2010).

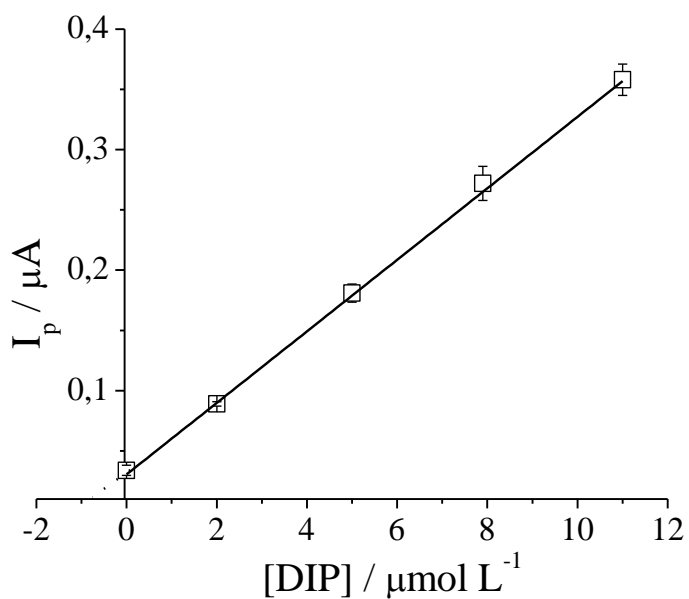
Os estudos de recuperação para DIP no eletrólito de suporte otimizado geraram voltamogramas representados pela Figura 22 e uma curva de recuperação média que se encontra ilustrada na Figura 23, dotada de equação igual $I_p = 3,00 \times 10^{-8} (\pm 1,73 \times 10^{-9}) + 0,03 (\pm 2,70 \times 10^{-4})$ [DIP] e taxas de recuperação que se encontram na Tabela 6.

Figura 92 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes concentrações de DIP para o estudo de recuperação em tampão BR pH 7,0 sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 103 – Relação entre corrente de pico (I_p) e concentração de DIP da curva de recuperação média, obtida a partir das três curvas de recuperação, em meio de tampão BR pH 7,0 sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 6 – Resultados do estudo de recuperação, realizado em triplicata, para DIP sobre EDDDB em tampão BR pH 7,0, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$

Análise	[DIP] _{adicionada} / mol L ⁻¹	[DIP] _{encontrada} / mol L ⁻¹	Recuperação (%)
1	1,00 × 10 ⁻⁶	1,04 × 10 ⁻⁶	104,00
2		1,10 × 10 ⁻⁶	110,00
3		1,06 × 10 ⁻⁶	106,00
Média		1,06 × 10 ⁻⁶ ± 0,08 × 10 ⁻⁶	106,70 ± 7,60
DPR (%)		2,89	2,86
BIAS (%)		6,00	–

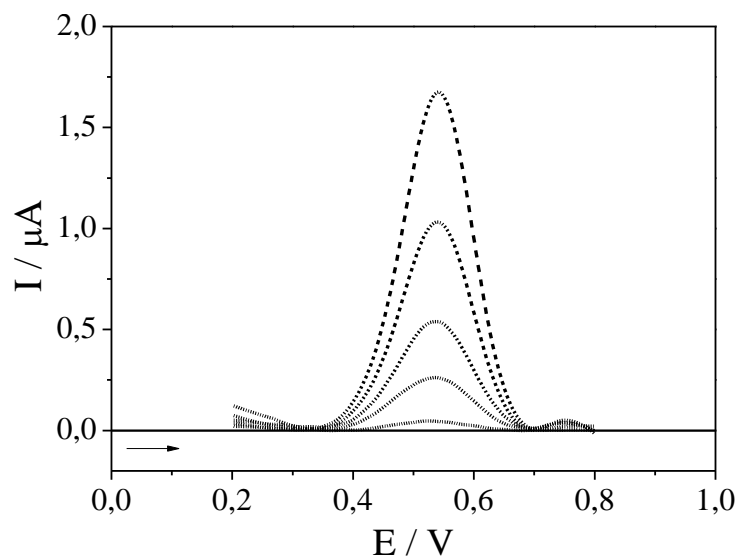
Fonte: Elaborado pela autora

De acordo com os dados tabelados, o valor médio de recuperação para DIP foi de $106,70 \pm 7,60 \%$ com DPR de $2,86 \%$ e BIAS de $6,00\%$, sendo valores aceitáveis, pois se encontram dentro dos limites estabelecidos para taxas de recuperação e coeficientes de variações, expressos em termos de DPR, que são respectivamente 75 a 120 % e 16 % para a recuperações de concentrações na ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$ (AOAC, 2002). As taxas de recuperação em torno de 100% e os seus mínimos desvios padrões são indicativos de que as espécies iônicas presentes na solução de tampão BR não interferem na exatidão e na precisão da metodologia desenvolvida neste trabalho.

Visando avaliar a aplicabilidade da metodologia proposta foram realizados estudos de recuperações de DIP presente no medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0, assim como, foram realizados em meio tampão BR pH 7,0 preparado com águas do açude Gavião e do açude Acarape do Meio nas condições experimentais descritas na seção 3.3.3. Os resultados obtidos nestes estudos, expressos em termos de taxas médias de recuperação e desvio padrão foram comparados com os resultados obtidos utilizando a metodologia proposta pela Farmacopeia Brasileira com algumas adaptações, que utiliza como técnica a titulação iodométrica (TI). Este confronto de resultados visava à certificação de que a metodologia eletroanalítica desenvolvida neste trabalho apresentava aplicabilidade equivalente, em termos de precisão e sensibilidade na determinação de DIP, quando comparada com a metodologia padrão.

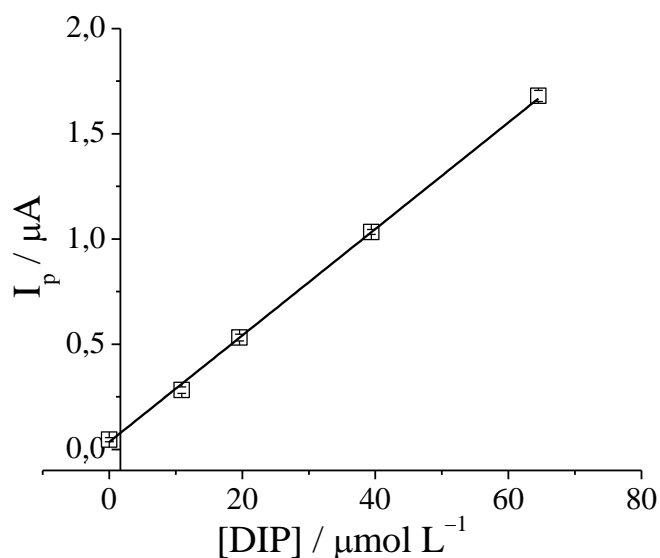
Os estudos de recuperações com medicamento na forma de solução oral geraram voltamogramas representados pela Figura 24 e uma curva de recuperação média, com equação igual a $I_p = 3,01 \times 10^{-8} (\pm 3,35 \times 10^{-10}) + 0,03 (\pm 3,51 \times 10^{-4}) [\text{DIP}]$, ilustrada na Figura 25.

Figura 114 – Voltamogramas de onda quadrada da DIP obtidos no estudo de recuperação utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 125 – Relação entre corrente de pico (I_p) e concentração de DIP, obtida a partir das três curvas de recuperação, utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 sobre EDDB, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborado pela autora

Comparando o valor de inclinação da curva representada na Figura 25 com a obtida, nas mesmas condições experimentais, pelos ensaios de recuperações de DIP no eletrólito de suporte, foi observado que ambas as equações apresentavam a mesma inclinação, o que sugere a não ocorrência de efeito matriz por parte dos excipientes que compõem o medicamento, mesmo este tendo como veículo farmacêutico uma variedade considerável de compostos: aroma de acerola, caramelo, edetato de sódio, fosfato de sódio dibásico dodecahidratado, fosfato de sódio monobásico monohidratado, glicerol, metabissulfito de sódio, metilparabeno, propilparabeno, sacarina sódica dihidratada e água deionizada (DIPIRONA, 2014).

A Tabela 7 é formada pelos resultados de recuperações para o medicamento na forma de solução oral de DIP sobre EDDB nas condições otimizadas e utilizando TI, que compõe a metodologia proposta pela Farmacopeia Brasileira.

Tabela 7 – Resultados de recuperação para o medicamento na forma de solução oral de DIP sobre EDDB em tampão BR pH 7,0 utilizando voltametria de onda quadrada com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$, e utilizando titulação iodométrica

	VOQ		TI	
	[DIP] _{adicionada} / mol L ⁻¹ 1,00 × 10 ⁻⁶		m (DIP) _{adicionada} / g 0,350	
Análise	[DIP] _{encontrada} / mol L ⁻¹	Recuperação (%)	m (DIP) _{encontrada} / g	Recuperação (%)
1	1,05 × 10 ⁻⁶	105,00	0,360	102,86
2	1,10 × 10 ⁻⁶	110,00	0,340	97,14
3	1,10 × 10 ⁻⁶	110,00	0,351	100,29
Média	1,08 × 10 ⁻⁶ ± 7,17 × 10 ⁻⁸	108,33 ± 7,17	0,350 ± 0,02	100,10 ± 7,10
DP	2,89 × 10 ⁻⁸	2,89	0,01	2,86
DPR (%)	2,67	2,67	2,86	2,86
BIAS (%)	8,00	-	0,00	-

Fonte: Elaborado pela autora

A tabela descrita anteriormente evidencia que a metodologia proposta neste trabalho apresentou uma taxa média de recuperação de DIP igual 108,33 ± 7,17 % e DPR de

2,67 %, valores que são aceitáveis segundo a *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC), pois se encontram dentro dos limites estabelecidos para taxas de recuperação e coeficientes de variações, expressos em termos de DPR, para a recuperação de concentrações na ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$. O parâmetro BIAS é um indicativo que a metodologia desenvolvida neste trabalho para determinação de DIP no medicamento apresentou um grau de exatidão considerável, pois a quantidade média de DIP recuperada apresentou um desvio de + 8,00 % em relação à quantidade de DIP real adicionada no sistema eletroquímico para a realização dos experimentos, o que está dentro do proposto pela AOAC, que regulamenta como aceitável um erro de + 20,00 % em relação à taxa para recuperação da quantidade total do analito adicionada no sistema eletroquímico, representada por uma taxa de 100 %.

Analisando ainda a Tabela 7, pode-se observar que os valores das taxas médias de recuperação, utilizando as técnicas de VOQ e TI, foram relativamente próximos entre si e próximos de 100 %. Os valores de desvio padrão (DP) foram iguais a 2,89 e 2,86, respectivamente, calculados de acordo com a metodologia proposta neste trabalho e pela Farmacopeia Brasileira. Estes desvios foram considerados estatisticamente iguais, segundo o teste F, descrito pela equação 11, pois o valor $F_{\text{calculado}}$ igual a 1,02 é inferior ao F_{tabelado} , igual a 19,00 com nível de confiança de 95 % (MILLER; MILLER, 2010).

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \dots\dots\dots(11)$$

em que s_1^2 e s_2^2 são desvios padrões ao quadrado obtidos para cada metodologia.

Para se comparar estatisticamente os valores das taxas médias de recuperação obtidas por metodologias diferentes, com valores para DP estatisticamente iguais, utilizaram-se o teste *t* de Student por meio das equações intituladas 12 e 13 (MILLER; MILLER, 2010):

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{S_{\text{agrupado}}} \times \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} \dots\dots\dots(12)$$

$$S_{\text{agrupado}} = \frac{s_1^2(n_1 - 1) + s_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2} \dots\dots\dots(13)$$

em que $|\overline{x_1} - \overline{x_2}|$ é a diferença em módulo entre as duas recuperações médias que se desejava comparar; s_{agrupado} é o desvio padrão calculado levando em consideração os desvios padrões obtidos com cada metodologia expressos por s_1 e s_2 ; n_1 e n_2 são os números dos experimentos realizados por cada metodologia.

O valor de $t_{\text{calculado}}$ por meio das equações 12 e 13 foi 1,21, sendo o t_{tabelado} com nível de confiança de 95 % igual a 2,78. Logo, como o $t_{\text{calculado}}$ é menor que o t_{tabelado} , concluiu-se que não existia diferença significativa entre as taxas médias de recuperação dos ensaios utilizando solução oral de DIP pelas duas metodologias em discussão. O que evidencia que a metodologia proposta neste trabalho possui aplicabilidade comparável ao da metodologia considerada na literatura como padrão.

Quanto aos estudos de recuperações para o medicamento na forma de solução oral de DIP sobre EDDB em tampão BR pH 7,0 preparado com as águas do açude Gavião e do açude Acarape do Meio utilizando VOQ, foram obtidos voltamogramas representados pelas Figuras 26 e 27 e curvas de recuperação média que se encontram ilustradas nas Figuras 28 e 29, dotadas de equações iguais a $I_p = 2,83 \times 10^{-8} (\pm 1,27 \times 10^{-8}) + 0,02 (\pm 1,16 \times 10^{-3})$ [DIP] e $I_p = 4,93 \times 10^{-8} (\pm 1,42 \times 10^{-8}) + 0,02 (\pm 1,42 \times 10^{-3})$ [DIP], respectivamente para os estudos com as águas do açude Gavião e águas do açude Acarape do Meio.

Figura 136 – Voltamogramas de onda quadrada da DIP obtidos no estudo de recuperação utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 preparado com água do açude Gavião sobre EDDB, $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$

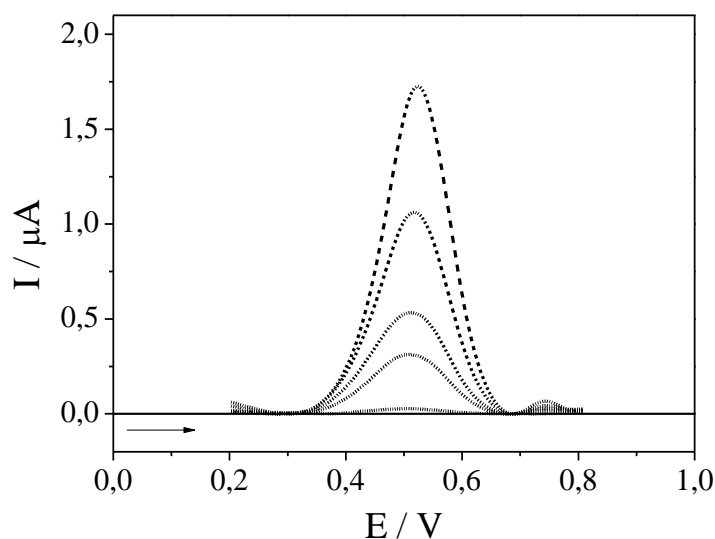
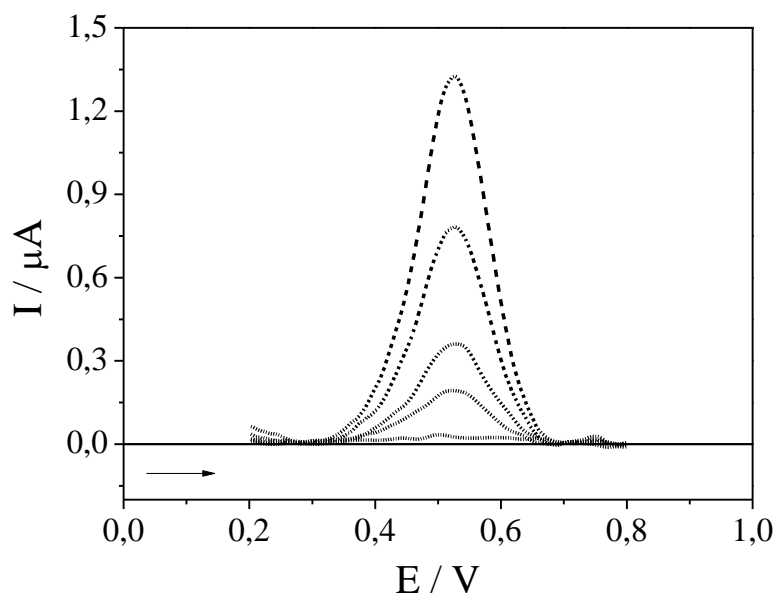
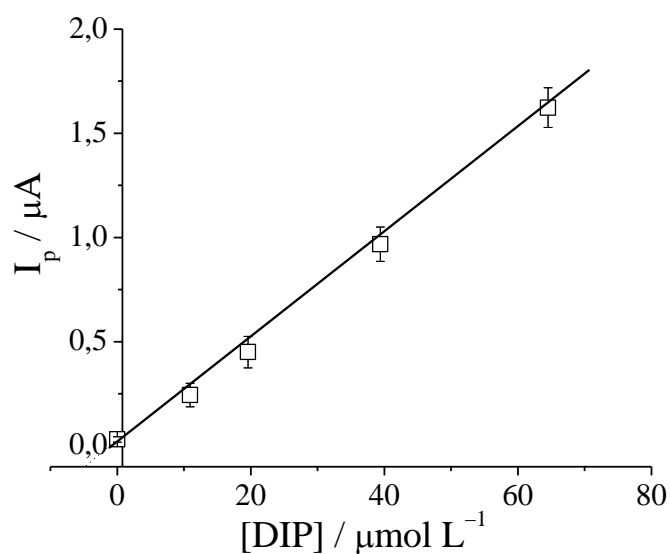


Figura 147 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes concentrações de DIP a partir das curvas de recuperação utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 preparado com água do açude Acarape do Meio sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



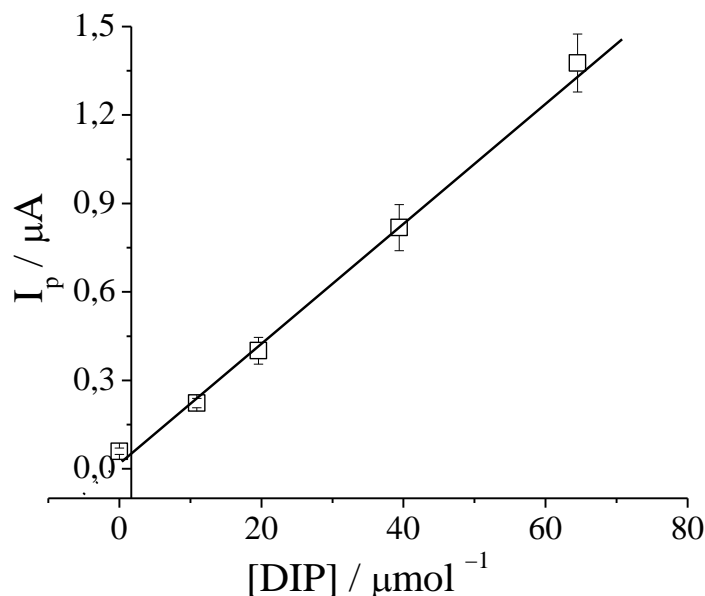
Fonte: Elaborado pela autora

Figura 158 – Relação entre corrente de pico (I_p) e concentração de DIP da curva de recuperação média, obtida a partir das três curvas de recuperação, utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 preparado com água do açude Gavião sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 169 – Relação entre corrente de pico (I_p) e concentração de DIP da curva de recuperação média, obtida a partir das três curvas de recuperação, utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 preparado com água do açude Acarape do Meio sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborado pela autora

Observou-se que para tais estudos existia uma diminuição da inclinação das curvas de recuperações em 0,01 (33,33%) quando comparadas com a curva de recuperação para o medicamento na forma de solução oral de DIP no eletrólito de suporte, o que sugere um possível efeito matriz gerado pelas águas dos açudes. Comportamento compreensível, visto que não foi realizada nenhuma etapa complexa que visasse à eliminação de interferentes presentes nas águas naturais.

As águas naturais testadas eram constituídas por quantidades consideráveis de compostos orgânicos e inorgânicos, espécies químicas que poderiam sofrer processos físicos ou químicos de modo a gerar interferências, seja aumentando ou diminuindo os sinais analíticos durante as determinações eletroanalíticas. A Tabela 8 traz a descrição de alguns parâmetros físicos-químicos das águas analisadas neste trabalho. Essa tabela ilustra que as águas do açude Gavião apresentaram maior concentração de clorofila e fósforo total que as encontradas para o açude Acarape do Meio, sendo os valores de concentração obtidos, respectivamente, $52,60 \mu\text{g L}^{-1}$; $0,114 \text{ mg P L}^{-1}$ e $16,38 \mu\text{g L}^{-1}$; $\leq 0,013 \text{ mg P L}^{-1}$. Pode-se observar também que o teor de feofitina é praticamente o mesmo em ambas as águas analisadas. Quanto aos teores de organofosfato, nitrogênio amoniacal, NO_2^- e NO_3^- , estes se

apresentaram em concentração inferiores ao limite de detecção dos métodos analíticos empregados nas análises. Em linhas gerais, a Tabela 8 ilustra a presença de compostos que poderiam agir como interferentes, porém, é válido ressaltar que um indício de um possível efeito matriz não quer dizer que a metodologia em questão seja de inviável aplicação.

Tabela 8 – Parâmetros físico-químicos para águas do açude Gavião e as águas do açude Acarape do Meio

Parâmetros	Açude Gavião	Açude Acarape do Meio
Clorofila A ($\mu\text{g L}^{-1}$)	52,60	16,38
Fósforo total (mg P L^{-1})	0,114	$\leq 0,013$
Organofosfato ($\text{mg P-PO}_4^{-3} \text{ L}^{-1}$)	$\leq 0,01$	$\leq 0,01$
Nitrogênio total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,828	2,072
Nitrogênio amoniacal ($\text{mg N-NH}_3 \text{ L}^{-1}$)	$\leq 0,1$	$\leq 0,1$
NO_2^- ($\text{mg N-NO}_2^- \text{ L}^{-1}$)	$\leq 0,005$	$\leq 0,005$
NO_3^- ($\text{mg N-NO}_3^- \text{ L}^{-1}$)	$\leq 0,035$	$\leq 0,035$
Feofitina ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,54	2,63

Fonte: Elaborado pela autora

Analisando as Tabelas 9 e 10, que são formadas pelos resultados dos ensaios de recuperações para o medicamento na forma de solução oral de DIP utilizando as águas do açude Gavião e do açude Acarape do Meio pelas técnicas de VOQ e TI, verificamos que mesmo não realizando etapas complexas para eliminar possíveis interferentes presentes nas águas naturais, as taxas médias de recuperação foram $117,33 \pm 6,26$ % com DPR de 2,15 % e $91,00 \pm 4,47$ % com DPR de 1,98 %, respectivamente para o açude Gavião e o açude Acarape do Meio utilizando a metodologia eletroanalítica proposta neste trabalho, sendo que estes valores encontram-se dentro dos limites aceitáveis pela literatura que são para taxas de recuperação e coeficientes de variações, expressos em termos de DPR, respectivamente 75 a 120 % e 16 % para a recuperação de concentrações na ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$ (AOAC, 2002), Quanto ao parâmetro BIAS, os valores calculados foram 17,00 % para os estudos com as águas do açude Gavião e - 9,00 % para os estudos com águas do açude Acarape do Meio, sendo que ambos os valores estão dentro do proposto pela AOAC, que regulamenta como aceitáveis erros de + 20 % e - 25 % em relação à recuperação da quantidade total do analito de interesse, representada por uma taxa de 100 %.

Observou-se na Tabela 9, que os valores das taxas médias de recuperação para os ensaios utilizando água do açude Gavião por VOQ foi de 117,33% com DP de 2,52 e por TI foi de 106,86% com DP de 2,57. A diferença numérica entre as recuperações médias é de 10,47 % e os valores dos DP são estatisticamente iguais, segundo o teste F, pois o valor $F_{\text{calculado}}$ igual a 0,96 é inferior ao F_{tabelado} , igual a 19,00 com nível de confiança de 95 %. Para verificar se a diferença entre as recuperações médias era significativa em termos estatísticos utilizou-se o teste t de Student, fazendo uso das equações intituladas 12 e 13 descritas em linhas anteriores. O valor de $t_{\text{calculado}}$ foi 1,97, sendo o t_{tabelado} para $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade, ou seja, t_4 , com nível de confiança de 95 % foi igual a 2,78. Logo, como o $t_{\text{calculado}}$ é menor que o t_{tabelado} , concluiu-se que não existia diferença significativa entre as taxas médias de recuperação utilizando medicamento na forma de solução oral de DIP em meio das águas do açude Gavião pelas duas metodologias em discussão.

Tabela 9 – Resultados de recuperação para o medicamento na forma de solução oral de DIP sobre EDDB em tampão BR pH 7,0 preparado com água do açude Gavião utilizando voltametria de onda quadrada com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e utilizando titulação iodométrica

	VOQ		TI	
	[DIP] _{adicionada} / mol L ⁻¹ 1,00 × 10 ⁻⁶		m (DIP) _{adicionada} / g 0,350	
Análise	[DIP] _{encontrada} / mol L ⁻¹	Recuperação (%)	m (DIP) _{encontrada} / g	Recuperação (%)
1	1,20 × 10 ⁻⁶	120,00	0,365	104,29
2	1,15 × 10 ⁻⁶	115,00	0,383	109,43
3	1,17 × 10 ⁻⁶	117,00	0,374	106,86
Média	1,17 × 10 ⁻⁶ ± 6,26 × 10 ⁻⁸	117,33 ± 6,26	0,374 ± 0,02	106,86 ± 6,38
DP	2,52 10 ⁻⁸	2,52	9,00 × 10 ⁻³	2,57
DPR (%)	2,15	2,15	2,41	2,41
BIAS (%)	17,00	-	6,86	-

Fonte: Elaborado pela autora

Nos estudos de recuperações para o medicamento na forma de solução oral de DIP utilizando águas do açude Acarape do Meio foram obtidas taxas de recuperação de 91,00 % com DP de 1,80 e 93,34 % com DP de 1,65, respectivamente para os ensaios realizados por VOQ e por TI, como ilustrado na Tabela 10. Considerando que os valores dos DP foram estatisticamente iguais segundo o teste F, pois o valor $F_{\text{calculado}}$ igual a 1,19 é inferior ao F_{tabelado} , igual a 19,00 com nível de confiança de 95 %, aplicou-se o teste t de Student para a certificação da existência de diferença significativa entre as taxas médias de recuperação, sendo as equações 12 e 13 utilizadas (MILLER; MILLER, 2010).

Tabela 10 – Resultados de recuperação para o medicamento na forma de solução oral de DIP sobre EDDB em tampão BR pH 7,0 preparado com água do açude Acarape do Meio utilizando voltametria de onda quadrada com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e utilizando titulação iodométrica

	VOQ		TI	
	[DIP] _{adicionada} / mol L ⁻¹ 1,00 × 10 ⁻⁶		m (DIP) _{adicionada} / g 0,350	
Análise	[DIP] _{encontrada} / mol L ⁻¹	Recuperação (%)	m (DIP) _{encontrada} / g	Recuperação (%)
1	9,15 × 10 ⁻⁷	91,50	0,330	94,29
2	9,25 × 10 ⁻⁷	92,50	0,320	91,43
3	8,9 × 10 ⁻⁷	89,00	0,330	94,29
Média	9,10 × 10 ⁻⁷ ± 4,47 × 10 ⁻⁸	91,00 ± 4,47	0,327 ± 0,01	93,34 ± 4,10
DP	1,80 10 ⁻⁸	1,80	5,77 × 10 ⁻³	1,65
DPR (%)	1,98	1,98	1,76	1,77
BIAS (%)	- 9,00	-	-6,57	-

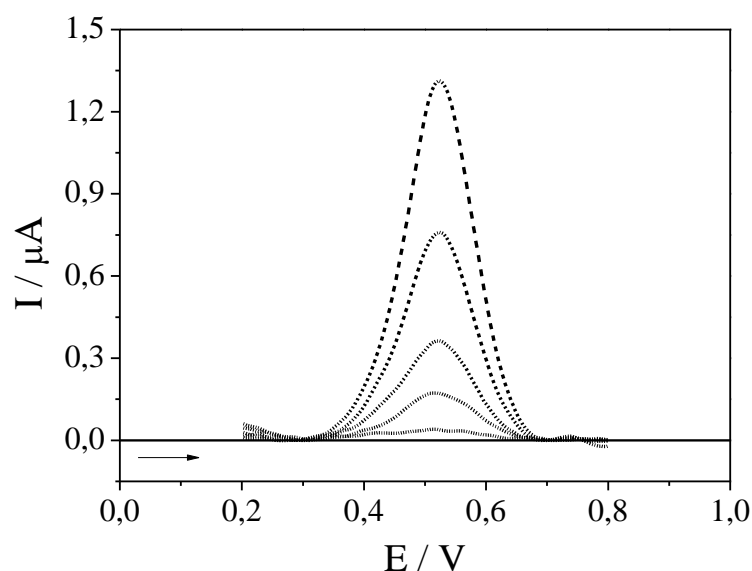
Fonte: Elaborado pela autora

O valor de $t_{\text{calculado}}$ foi 0,96, sendo o t_{tabelado} para 4 graus de liberdade, ou seja t_4 , com nível de confiança de 95 % igual a 2,78. Logo, como o $t_{\text{calculado}}$ é menor que o t_{tabelado} , conclui-se que não existe diferença significativa entre as taxas médias de recuperação comparadas, conseqüentemente ficou certificado que a metodologia proposta neste trabalho

possui aplicabilidade comparável a da metodologia indicada pela Farmacopeia Brasileira para determinação de DIP nas águas naturais testadas.

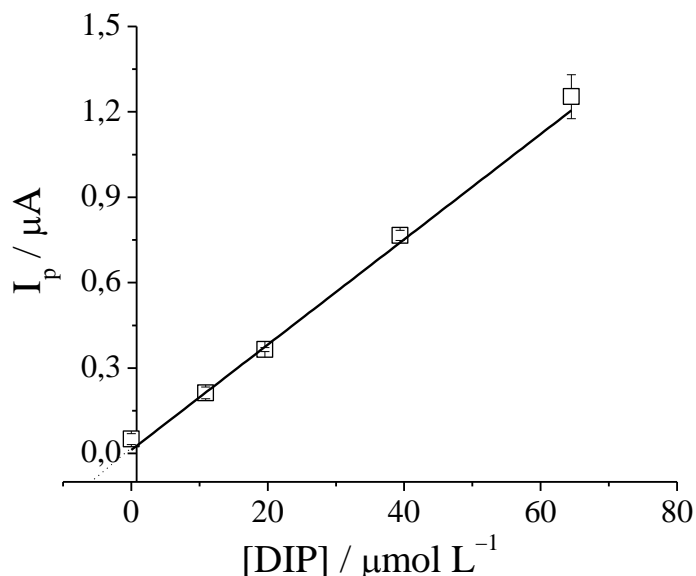
Os resultados alcançados nos estudos de recuperações para o medicamento na forma de solução oral de DIP em tampão BR pH 7,0 contendo urina humana, utilizando VOQ e TI estão descritos na tabela 11. Os ensaios por VOQ geraram voltamogramas representados pela Figura 30 e uma curva de recuperação média que se encontra ilustrada na Figura 31, dotada de equação igual a $I_p = 1,21 \times 10^{-8} (\pm 2,16 \times 10^{-8}) + 0,02 (\pm 9,87 \times 10^{-4})$ [DIP]. Comparando o valor de inclinação obtido para curva de recuperação nos ensaios utilizando urina com o valor de inclinação para curva de recuperação do medicamento no eletrólito de suporte, foi observada uma diferença significativa entre as inclinações, o que sugere um possível efeito matriz gerado pela urina ao longo dos experimentos eletroquímicos. Porém, o valor médio de recuperação utilizando VOQ foi de $104,0 \pm 4,97$ % com DPR de 1,92 % e BIAS de 4,00%, sendo valores dentro dos limites aceitáveis descritos na literatura (AOAC, 2002).

Figura 30 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos a partir das curvas de recuperação utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 contendo urina humana sobre EDDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 31 – Relação entre corrente de pico (I_p) e concentração de DIP da curva de recuperação média utilizando medicamento na forma de solução oral em meio de tampão BR pH 7,0 contendo urina humana sobre EDDB com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 11 – Resultados de recuperação para o medicamento na forma de solução oral de DIP sobre EDDB em tampão BR pH 7,0 contendo urina humana utilizando voltametria de onda quadrada com $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e utilizando titulação iodométrica

	VOQ		TI	
	[DIP] _{adicionada} / mol L^{-1} $1,00 \times 10^{-6}$		m (DIP) _{adicionada} / g 0,350	
Análise	[DIP] _{encontrada} / mol L^{-1}	Recuperação (%)	m (DIP) _{encontrada} / g	Recuperação (%)
1	$1,06 \times 10^{-6}$	106,00	0,364	104,00
2	$1,02 \times 10^{-6}$	102,00	0,365	104,29
3	$1,04 \times 10^{-6}$	104,00	0,369	105,43
Média	$1,04 \times 10^{-6} \pm 4,97 \times 10^{-8}$	104,00 $\pm 4,97$	$0,366 \pm 6,58 \times 10^{-3}$	104,57 $\pm 1,89$
DP	$2,00 \times 10^{-8}$	2,00	$2,65 \times 10^{-3}$	0,76
DPR (%)	1,92	1,92	$7,24 \times 10^{-3}$	0,73
BIAS (%)	4,00	–	4,57	–

Fonte: Elaborado pela autora

De acordo com a Tabela 11, as taxas de recuperação obtidas nos ensaios utilizando urina humana foram de $104,00 \pm 4,97$ % com DP de 2,00 e $104,57 \pm 1,89$ % com DP de 0,76, respectivamente para os ensaios realizados por VOQ e por TI. O teste t de Student foi aplicado, por meio da utilização das equações 12 e 13 citadas em linhas anteriores, para a certificação da existência de diferença significativa entre as taxas médias de recuperação, considerando que os valores dos DP eram estatisticamente iguais segundo o teste F, pois o valor $F_{\text{calculado}}$ igual a 6,93 é inferior ao F_{tabelado} , igual a 19,00 com nível de confiança de 95 %. O valor de $t_{\text{calculado}}$ foi 0,30, sendo o t_{tabelado} para 4 graus de liberdade, com nível de confiança de 95 % igual a 2,78. Logo, como o $t_{\text{calculado}}$ é menor que o t_{tabelado} , concluiu-se que não existe diferença significativa entre as taxas médias de recuperação dos ensaios utilizando medicamento na forma de solução oral de DIP em meio contendo urina humana pelas duas metodologias em discussão.

5 CONCLUSÕES

Por meio da análise dos voltamogramas cíclicos sobre EDDB para DIP, observou-se um processo de oxidação bem definido na ausência de processos de redução, o que é típico de processos irreversíveis. Verificou-se que o processo redox da DIP, nas condições testadas, era controlado por difusão. Evidenciou-se, a partir dos resultados obtidos com o estudo da influência do pH, que ocorre a participação de prótons no processo redox da DIP e que os valores calculados para o coeficiente de transferência de carga (α), menores que 0,5, estavam em concordância com os valores descritos na literatura.

Com as condições experimentais e voltamétricas otimizadas, a metodologia desenvolvida neste trabalho demonstrou região linear relativamente extensa e valor de LD comparável a de outras metodologias eletroanalíticas relatadas na literatura, além de demonstrar considerável precisão, pois os ensaios de repetibilidade e de reprodutibilidade geraram valores de DPR inferiores a 2,5 %, valor abaixo do máximo proposto pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC).

As taxas médias de recuperação, seguidas do seu respectivo valor de DPR e de BIAS, calculadas para a recuperação de DIP em solução oral em meio de tampão BR pH 7,0, águas do açude Gavião, águas do açude Acarape do Meio e urina humana apresentaram-se dentro dos limites aceitáveis para as recuperações de concentrações na ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$ propostos pela AOAC, indicando eficiência da metodologia proposta, sem a necessidade de etapas de eliminação de interferentes, atribuindo a seletividade à esta metodologia.

As taxas médias de recuperação calculadas se mostraram estatisticamente iguais às taxas médias de recuperação obtidas utilizando a metodologia proposta pela Farmacopeia Brasileira, que utiliza como técnica a titulação iodométrica. Com isso, concluiu-se que as metodologias são equivalentes em termos de precisão. Porém, a metodologia eletroanalítica desenvolvida neste trabalho demonstrou-se mais sensível, pois esta tem capacidade de quantificar DIP em concentrações na ordem de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, enquanto que a titulação iodométrica quantifica em concentrações na ordem de $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, sendo ainda necessária a utilização de reagentes com considerável padrão de pureza e a dedicação de um intervalo de tempo relativamente extenso destinado para o preparo e a padronização de soluções.

REFERÊNCIAS

ABUIN, S. et al. Analysis of macrolide antibiotics in river water by solid-phase extraction and liquid chromatography – mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1114, p. 73–81, 2006.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Agrotóxico, herbicida e pesticida**. 2009. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/informacoes-tecnicas13/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/agrotoxico-erbicida-e-pesticida/219201/pop_up?_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_viewMode=print&_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_languageId=en_US> . Acesso em: 18 de novembro de 2016.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Divulgado relatório sobre resíduos de agrotóxicos em alimentos**. 2016. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/divulgado-relatorio-sobre-residuos-de-agrotoxicos-em-alimentos/219201?p_p_auth=GINWLgUg&inheritRedirect=false&redirect=http%3A%2F%2Fportal.anvisa.gov.br%2Fnoticias%3Fp_p_auth%3DGINWLgUg%26p_p_id%3D101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3D118_INSTANCE_dKu0997DQuKh__column-1%26p_p_col_count%3D1> . Acesso em: 06 de dezembro de 2016.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. 2003. Disponível em: < http://redsang.ial.sp.gov.br/site/docs_leis/vm/vm1.pdf> . Acesso em: 24 de novembro de 2016.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals**. 2002. Disponível em: <http://www.aoac.org/aoac_prod_imis/AOAC_Docs/StandardsDevelopment/SLV_Guidelines_Dietary_Supplements.pdf>. Acesso em: 28 de novembro de 2016.

BARANOWSKA, I.; MARKOWSKI, P.; BARANOWSKI, J. Development and validation of an HPLC method for the simultaneous analysis of 23 selected drugs belonging to different therapeutic groups in human urine samples. **Analytical Sciences**, v. 25, p. 1307–1313, 2009.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R.; **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**, Wiley, New York, 2001.

BINDEWALD, E. H.; BERGAMINI, M. F.; MARCOLINO JR., L. H. Disposable solid-state sensor based on polypyrrole films doped for potentiometric determination of dipyrone in human urine and pharmaceuticals products. **Electroanalysis**, v. 25, p. 1535–1540, 2013.

BOIX, C. et al. Analytical methodologies based on LC – MS / MS for monitoring selected emerging compounds in liquid and solid phases of the sewage sludge. **MethodsX**, v. 3, p. 333–342, 2016.

BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A.; **Electroquímica Princípios, Métodos e Aplicações**, Coimbra, Livraria Almedina, 1996.

BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Ecotoxicologia e meio ambiente**, v. 13, p. 129–146, 2003.

BRITTON, H. T. S.; ROBINSON, R. A. Universal buffer solutions and the dissociation constant of veronal. **Journal of the Chemical Society**, v. 458, p. 1456–1462, 1931.

BUENO, M. J. M. et al. Application of liquid chromatography / quadrupole-linear ion trap mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry to the determination of pharmaceuticals and related contaminants in wastewater. **Analytical Chemistry**, v. 79, p. 9372–9384, 2007.

CALZA, P. et al. Fate of antibacterial spiramycin in river waters. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 396, p. 1539–1550, 2010.

CARVALHO, T. O. et al. Calorimetric studies of removal of nonsteroidal anti-inflammatory drugs diclofenac and dipyron from water. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 106, p. 475–481, 2011.

CHAPARRO, A. M. et al. Comparative analysis of the electroactive area of Pt / C PEMFC electrodes in liquid and solid polymer contact by underpotential hydrogen adsorption / desorption. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, p. 4838–4846, 2009.

COMPTON, R. G.; BANKS, C. E., **Understanding Voltammetry**, World Scientific Publishing, USA, 2007.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução n° 357, de 17 de março de 2005 alterada pela 410/2009 e pela 430/2011**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 22 de novembro de 2016.

CRF – Conselho Regional de Farmácia da Paraíba. **Dez medicamentos mais vendidos no Brasil**. Disponível em: <http://www.crfpb.org.br/index.php/responsive/item/221-saiba-quais-foram-os-remedios-mais-vendidos-no-brasil-em-2015>. Acesso em: 19 de maio de 2016.

CRF-SP – Conselho Regional de Farmácia de São Paulo. **Projeto: Farmácia estabelecimento de saúde**. Disponível em: <http://portal.crfsp.org.br/phocadownload/fasciculo_ii_internet.pdf>. Acesso em: 19 de novembro de 2016.

DADAMOS, T. R. L. et al. Electrochemical characterization of the paste carbon modified electrode with $\text{KSr}_2\text{Ni}_{0.75}\text{Nb}_{4.25}\text{O}_{15-\delta}$ solid in catalytic oxidation of the dipyron. **Sensors & Actuators: B. Chemical**, v. 169, p. 267–273, 2012.

DEA, J. J. O.; RIBES, A.; OSTERYOUNG, J. G. Square-wave voltammetry applied to the totally irreversible reduction of adsorbate. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 345, p. 287–301, 1993.

DEBLONDE, T.; COSSU-LEGUILLE, C.; HARTEMANN, P. Emerging pollutants in wastewater: a review of the literature. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 214, p. 442–448, 2011.

DEZOTTI, M.; BILA, D. M. Fármacos no meio Ambiente. **Química Nova**, v. 26, p. 523–530, 2003.

DIPIRONA: solução oral. Responsável técnico Tatiana de Campos. Campinas, SP. Medley, 2014. Bula de remédio.

EPA – Environmental Protection Agency. **Aquatic life criteria for contaminants of emerging concern**. 2008. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/white_paper_aquatic_life_criteria_for_contaminants_of_emerging_concern_part_i_general_challenges_and_recommendations_1.pdf>. Acesso em: 17 de novembro de 2016.

EPA – Environmental Protection Agency. **EPA Bans Pesticide Insecticide Carbofuran by 2010**. 2009. Disponível em: <<http://www.treehugger.com/green-food/epa-bans-pesticide-insecticide-carbofuran-by-2010.html>>. Acesso em: 06 de dezembro de 2016.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. **Monografias**. vol. 2. 5^a ed. 2010. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/volume2.pdf>. Acesso em: 24 de novembro de 2016.

FARRE, M. et al. First interlaboratory exercise on non-steroidal anti-inflammatory drugs analysis in environmental samples. **Talanta**, v. 76, p. 580–590, 2008.

FELDMANN, D. F.; ZUEHLKE, S.; HEBERER, T. Occurrence, fate and assessment of polar metamizole (dipyrone) residues in hospital and municipal wastewater. **Chemosphere**, v. 71, p. 1754–1764, 2008.

FERREIRA, B. C. D. A. et al. Estudo de estabilidade físico-química e microbiológica de dipirona em gotas armazenadas em residências do município de São Luis de Montes Belos-GO. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 7, p. 109–120, 2014.

FLORES, A.; HILL, E. M. Chemosphere Formation of estrogenic brominated ethinylestradiol in drinking water: Implications for aquatic toxicity testing. **Chemosphere**, v. 73, n. 7, p. 1115–1120, 2008.

FOORD, J. S.; HAO, W.; HURST, S. Studies of the chemical functionalisation of diamond electrodes. **Diamond & Related Materials**, v. 16, p. 877–880, 2007.

GEISSEN, V. et al. Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. **International Soil and Water Conservation Research**, v. 3, p. 57–65, 2015.

GHICA, M. E.; FERREIRA, G. M.; BRETT, C. M. A. Poly(thionine)-carbon nanotube modified carbon film electrodes and application to the simultaneous determination of acetaminophen and dipyrone. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 19, p. 2869–2881, 2015.

GÓMEZ, M. J. et al. Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast. **Chemosphere**, v. 66, p. 993–1002, 2007.

GOPU, G. et al. Stripping voltammetric determination of Analgesics in their pharmaceuticals using nano-riboflavin-modified glassy carbon electrode. **International Journal of Electrochemistry**, v. 2011, p. 1–11, 2011.

GOPU, G. et al. Determination of three analgesics in pharmaceutical and urine sample on nano poly (3,4-ethylenedioxythiophene) modified electrode. **Ionics**, v. 18, p. 231–239, 2012.

GOSSER, JR. K. D.; **Cyclic voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms**, New York, UCH Publishers., 1993.

GYENGE-SZABÓ, Z. et al. Monitoring of four dipyrone metabolites in communal wastewater by solid phase extraction liquid chromatography electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 90, p. 58–63, 2014.

HELVER, W. E. L. S. et al. Measurement of triclosan in water using a magnetic particle enzyme immunoassay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 3758–3763, 2007.

IBÁÑEZ, M.; SANCHO, J. V; HERNÁNDEZ, F. Importance of MS selectivity and chromatographic separation in LC-MS / MS-based methods when investigating pharmaceutical metabolites in water: dipyrone as a case of study. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 47, p. 1040–1046, 2012.

ICH-Q2(R1) - Conferência Internacional sobre Harmonização dos Requisitos Técnicos para o Registro de Produtos Farmacêuticos para Uso Humano. **Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)**. Disponível em: <http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf>. Acesso em: 31 de maio de 2016.

IWAHARA, K.; TANABE, C.; MAEKAWA, M. Dipyrone (Metamizole) metabolites interfere with HPLC analysis of plasma catecholamines but not with the determination of urinary catecholamines. **Clinical Chemistry**, v. 52, p. 1829–1831, 2006.

JIANG, J.; ZHOU, Z.; SHARMA, V. K. Occurrence , transportation , monitoring and treatment of emerging micro-pollutants in waste water: a review from global views. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 292–300, 2013.

JONGH, C. M. DE et al. Screening and human health risk assessment of pharmaceuticals and their transformation products in Dutch surface waters and drinking water. **Science of the Total Environment**, v. 427, p. 70–77, 2012.

KULANDAINATHAN, M. A. et al. Boron-doped diamond electrodes in organic media : Electrochemical activation and selectivity effects. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 606, p. 150–158, 2007.

LIN, A. Y.; PANCHANGAM, S. C.; CHEN, H. Implications of human pharmaceutical occurrence in the Sindian river of Taiwan : A strategic study of risk assessment. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 12, p. 261–270, 2010.

LOVRIC, M., KOMORSKY-LOVRIC, S., MURRAY, S. W. Adsorption effects in square wave voltammetry of totally irreversible redox reactions. **Electrochimica Acta**, v. 33, p. 739–744, 1988.

LUCAS, F. W. D. S. et al. Diclofenac on boron doped diamond electrode: from electroanalytical determination to prediction of the electrooxidation mechanism with HPLC-ESI / HRMS and computational simulations. **Langmuir**, v. 30, p. 5645–5654, 2014.

MACPHERSON, J. V. A practical guide to using boron doped diamond in electrochemical research. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, p. 2935–2949, 2015.

MELO, L. C. et al. Sensitive determination of the diquat herbicide in fresh food samples on a highly boron doped diamond electrode. **Electroanalysis**, v. 22, p. 2502–2510, 2010.

MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Statistics and chemometrics for analytical chemistry**. 6. ed. London: Prentice Hall/Pearson, 2010.

MIRCESKI, V.; KOMORSKY-LOVRIC, S.; LOVRIC, M. **Square-Wave Voltammetry: theory and application**. Berlin: Springer, 2007.

MMA – Ministério do Meio Ambiente. **Princípio da precaução**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/destaques/item/7512>>. Acesso em: 12 de dezembro de 2016.

MURALIDHARAN, B. et al. Determination of analgesics in pharmaceutical formulations and urine samples using nano polypyrrole modified glassy carbon electrode. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 39, p. 1177–1184, 2009.

OLIVEIRA, T. M. B. F. et al. Carbon fibre microelectrodes coupled with square-wave voltammetry for the direct analysis of dimethomorph fungicide in natural waters. **Microchemical Journal**, v. 109, p. 84–92, 2013.

PAULIUKAITE, R. et al. Graphite-epoxy electrodes modified with functionalised carbon nanotubes and chitosan for the rapid electrochemical determination of dipyrone. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 13, p. 590–598, 2010

PÉREZ, J. A. P. et al. Determination of dipyrone in pharmaceutical preparations based on the chemiluminescent reaction of the quinolinic and flow-injection analysis. **Luminescence**, v. 27, p. 45–50, 2012.

PESTANA, J. L.; PRADO, M. A. F.; CAMPOS, L. M. M. Desenvolvimento de método por iodometria alternativo para doseamento da dipirona sódica em matéria-prima e medicamentos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, p. 13–17, 2008.

PRICHARD, E., BARWICK, V. **Quality Assurance in Analytical Chemistry**. New York: Wiley Interscience, 2007.

RIBEIRO, F. W. P. et al. Sensitive voltammetric responses and mechanistic insights into the determination of residue levels of endosulfan in fresh foodstuffs and raw natural waters. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 40–47, 2013.

ROSADO, F. G. L. Aplicação da ozonização e de processos oxidativos na degradação dos fármacos paracetamol e dipirona presentes em efluentes aquosos simulados. 2014. 125f. Dissertação (Mestrado em Química) – Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhó e Mucuri, Diamantina, 2014.

ROSENFELDT, E. J. et al. Destruction of estrogenic activity in water using UV advanced oxidation. **Science of the Total Environment**, v. 377, p. 105–113, 2007.

ROSSI, M. C. et al. Electronic properties of hydrogen and oxygen terminated surfaces of polycrystalline diamond films. **Physica Status Solid**, v. 199, p. 71–76, 2003.

SALAZAR-BANDA, G. R. et al. On the changing electrochemical behaviour of boron-doped diamond surfaces with time after cathodic pre-treatments. **Electrochimica Acta**, v. 51, p. 4612–4619, 2006.

SANCHES, A. F. C. et al. Near-infrared spectrometric determination of dipyrone in closed ampoules. **Talanta**, v. 92, p. 84–86, 2012.

SHABIR, G. A. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 987, p. 57–66, 2003.

SMAJDOR, J.; PACZOSA-BATOR, B.; PIECH, R. Voltammetric electrode based on nafion and Poly(2,3-dihydrothieno-1,4-dioxin)-poly(styrenesulfonate) film for fast and high sensitive determination of metamizole. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 163, p. 146–152, 2016.

SOUZA, D. DE; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, p. 81–89, 2003.

ŠVORC, L. et al. Sensitive electrochemical determination of amlodipine in pharmaceutical tablets and human urine using a boron-doped diamond electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 728, p. 86–93, 2014.

TEIXEIRA, M. F. S., MARCOLINO-JÚNIOR, M. H., FATIBELLO-FILHO, O., MORAES, F. C.; NUNES, R. S. Determination of analgesics (dipyrone and acetaminophen) in pharmaceutical preparations by cyclic voltammetry at a copper (II) hexacyanoferrate (III) modified carbon paste electrode. **Current Analytical Chemistry**, v. 5, p. 303–310, 2009.

TERNES, T. A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. **Water Research**, v. 32, p. 3245–3260, 1998.

TERNES, T.; BONERZ, M.; SCHMIDT, T. Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography – electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 938, p. 175–185, 2001.

THOMAS, T. et al. Poly(Patton and Reeder's reagent) modified carbon paste electrode for the sensitive detection of acetaminophen in biological fluid and pharmaceutical formulations. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 101, p. 91–96, 2013.

USGS – United States Geological Survey. **Contaminants of emerging concern in the environment**. Disponível em: <<http://toxics.usgs.gov/investigations/cec/index.php>>. Acesso em: 17 de novembro de 2016.

WAN, Q. et al. Effects of capacitance and resistance of MWNT-film coated electrodes on voltammetric detection of acetaminophen. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 39, p. 1145–1151, 2009.

WANG, Y.; LIMON-PETERSEN, J. G.; COMPTON, R. G. Measurement of the diffusion coefficients of $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ and $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ in aqueous solution using microelectrode double potential step chronoamperometry. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 652, p. 13–17, 2011.

YU, Y. et al. Occurrence and behavior of pharmaceuticals, steroid hormones, and endocrine-disrupting personal care products in wastewater and the recipient river water of the Pearl River Delta, South China. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, p. 871–878, 2011.

VOLZ, M.; KELLNER, H. Kinetics and metabolism of pyrazolones (propyphenazone, aminopyrine and dipyrone). **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 10, p. 299–308, 1980.

ZACHOWSKI, E. J.; OSTERYOUNG, J.; WOJCIECHOWSKI, M. The analytical application of square-wave voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 183, p. 47–57, 1986.