

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**CONSTRUÇÃO E APLICAÇÃO ANALÍTICA DE ELETRODOS
DE PASTA DE CARBONO MODIFICADA COM
FTALOCIANINA DE COBALTO PARA DETERMINAÇÃO DE
ANALÍTOS DE INTERESSE**

CLEONE DAS DORES CAMPOS CONCEIÇÃO

Tese apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do título de DOUTOR EM
CIÊNCIAS, área de concentração: QUÍMICA
ANALÍTICA.

Orientador: Prof. Dr. Orlando Fatibello-Filho

Bolsista CAPES

**São Carlos - SP
2004**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

C744ca

Conceição, Cleone das Dores Campos.

Construção e aplicação analítica de eletrodos de pasta de carbono modificada com ftalocianina de cobalto para determinação de analítos de interesse / Cleone das Dores Campos Conceição. -- São Carlos : UFSCar, 2004.
196 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2004.

1. Química analítica. 2. Eletrodos de pasta de carbono modificados. 3. Produtos farmacêuticos. 4. Ftalocianina de cobalto. 5. Vitaminas. I. Título.

CDD: 543 (20^a)

DEDICATÓRIAS

Aos meus pais, Anacleto e Leonas, pelo o amor, carinhos, compreensão e por ter sempre confiado e acreditado em mim.

Aos meus irmãos Hélio, Cleonete e Eraldo pela eterna amizade, carinho e amor

Aos meus adoráveis sobrinhos, Rennan, Renata, Ryan, Julia, João Pedro e Cauane pelos seus sorrisos e os momentos de alegria que sempre me proporcionaram

A Ricardo Anchieta pelo carinho e por está sempre ao meu lado

*Ao meu padrinho, Antonio José Nicolau,
pelo incentivo dado no decorrer de minha vida escolar*

Obrigada a todos...

Agradeço,

A Deus, por está sempre do meu lado iluminando-me e por ter me concedido mais este momento importante em minha vida;

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho pela orientação, profissionalismo, atenção e incentivo que contribuíram para a realização deste trabalho e a minha formação acadêmica;

Ao Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka, meu especial agradecimento, pelos ensinamentos obtidos na iniciação científica e mestrado, que me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho e acima de tudo pela amizade e incentivo constantes durante todos estes anos;

A todos os professores do programa de Pós-Graduação em Química Analítica da UFSCar, em especial, ao Prof. Dr. Eduardo F. Neves e a Profa. Dra. Ana Rita A. Nogueira pelas sugestões e acompanhamento deste trabalho;

À minha família “Trapo”, Natilene, Ozelito, Erica, Adriana, Alan e os mais novos membros Kíria, Márcio e Alan (Osama) pela valiosa amizade, pelos os momentos de alegria, os quais foram muitos, e principalmente por estarem presentes nos momentos mais difíceis;

Aos meus amigos do LABBES, Júlio César, Claudineia, Viviane, Larissa, Humberto, Clezio, Kariana, Odair, Heberth, Renata, Evandro, Willian,

Geyser, Lucinéia e Iolanda que fizeram dos dias de trabalho momentos de alegrias;

Às meninas (Ariane, Cristiane e Luciane) da coordenação da Pós-Graduação pela atenção e presteza durante todos estes anos;

À CAPES pela bolsa concedida.

LISTA DE ABREVIATURAS

A	a área geométrica do eletrodo ($=0,03 \text{ cm}^2$)
Amp.	amplitude de pulso
r	coeficiente de correlação
D_0	coeficiente de difusão do analito ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$)
[DA]	concentração de dopamina
$[\text{N}_2\text{H}_4]$	concentração de hidrazina
$[\text{VB}_1]$	concentração de vitamina B ₁
$[\text{VB}_6]$	concentração de vitamina B ₆
C_0	concentração do analito no seio da solução (mol cm^{-3})
k^0	constante de velocidade heterogênea padrão
R	constante dos gases ($=8,314 \text{ J}/(\text{mol K})$)
I_{pa}	corrente de pico anódica
\bar{I}_{pa}	corrente pico anódica média
RSD	desvio padrão relativo
DA	dopamina
EPC	eletrodo de pasta de carbono
EPCM	eletrodo de pasta de carbono modificado
EPC/CoPc	eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto
Ag/AgCl	eletrodo de referência de prata/cloreto de prata
EQM	eletrodo quimicamente modificado
EQMs	Eletrodos quimicamente modificados
α	fator de simetria
PC	ftalocianina
CoPc	ftalocianina de cobalto
N_2H_4	Hidrazina
N_2	Nitrogênio
n_0	número de elétrons envolvidos na etapa determinante da velocidade da reação
n	número total de elétrons envolvidos na reação
αn_0	parâmetro que reflete a irreversibilidade da reação

E_{pa}	Potencial de pico anódico
\bar{E}_{pa}	Potencial de pico anódico médio
E°	Potencial formal (V)
T	Temperatura (K)
PDT	Terapia fotodinâmica
F	teste F (tabelado de Snedecor)
S^2_d	Variância total das medidas de um eletrodo
S^2_e	Variância total entre eletrodo
v	velocidade de varredura de potencial
VB_1	vitamina B ₁ ou tiamina
VB_6	vitamina B ₆ ou piridoxina
CV	voltametria cíclica
DPV	voltametria de pulso diferencial

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 – Estudo da repetibilidade sobre a resposta ciclovoltagemétrica da superfície do EPC/CoPc para uma solução N_2H_4 $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturado com N_2 . Dados extraídos da Fig. 5.8.....	70
Tabela 5.2 – Estudo da repetibilidade entre eletrodos de EPC/CoPc para uma solução N_2H_4 $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturado com N_2	70
Tabela 5.3 – Estudo da adição e recuperação de hidrazina em águas de caldeira, usando o método voltamétrico.....	75
Tabela 5.4 – Determinação de hidrazina em águas de caldeira usando o método espectrofotométrico e voltamétrico.....	75
Tabela 5.5 – Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc, em pH 13, contendo $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de N_2H_4 em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturado com N_2 , amp. = 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	84
Tabela 5.6 – Estudo da adição e recuperação de hidrazina em águas de caldeira, usando o método voltamétrico.....	88
Tabela 5.7 – Determinação de hidrazina em águas de caldeiras usando o método espectrofotométrico e voltamétrico.....	88
Tabela 5.8 – Estudo da repetibilidade sobre a resposta ciclovoltagemétrica da superfície do EPC/CoPc para uma solução DA $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4), saturado com N_2 , $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	98
Tabela 5.9 – Estudo da repetibilidade entre eletrodos para uma solução DA $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4), saturado com N_2 , $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	98
Tabela 5.10 – Resposta relativa (%) do EPC/CoPC para diferentes substâncias.....	102
Tabela 5.11 – Estudo da adição e recuperação de dopamina em ampolas de Revivan, usando o método voltamétrico.....	104
Tabela 5.12 – Determinação de dopamina em ampolas de Revivan usando o método espectrofotométrico e voltamétrico.....	104
Tabela 5.13 – Estudo da repetibilidade sobre a resposta DPV do EPC/CoPc para a solução de DA $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão	

	fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 , amp. = 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	113
Tabela 5.14 –	Estudo da adição e recuperação de dopamina em ampolas de Revivan, usando o método voltamétrico.....	117
Tabela 5.15 –	Determinação de dopamina em ampolas de Revivan usando o método espectrofotométrico e voltamétrico.....	117
Tabela 5.16 –	Efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica dos EPC/CoPc para a solução tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão (pH 12) sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s^{-1}	123
Tabela 5.17 –	Efeito da concentração hidrogeniônica (pH) sobre a resposta voltamétrica do EPC/CoPc para a solução de tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s^{-1}	123
Tabela 5.18 –	Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc, na presença de tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12,0, saturada com N_2 , amp. = 100 mV, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	129
Tabela 5.19 –	Estudo da adição e recuperação de vitamina B ₁ (tiamina) em três concentrações de padrão, usando o método voltamétrico.....	132
Tabela 5.20 –	Determinação de tiamina em formulações farmacêuticas usando o método espectrofluorimétrico e voltamétrico.....	132
Tabela 5.21 –	Efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica do EPC/CoPc para a solução piridoxina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12, saturado com N_2 , $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	136
Tabela 5.22 –	Estudo da repetibilidade do EPC/CoPc, em solução tampão pH 12, contendo piridoxina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	142
Tabela 5.23 –	Estudo da repetibilidade entre eletrodos do EPC/CoPc, em pH 12, contendo piridoxina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	142
Tabela 5.24 –	Estudo da adição e recuperação de vitamina B ₆ (cloridrato de piridoxina) em três concentrações padrão diferentes, usando o método voltamétrico.....	147
Tabela 5.25 –	Determinação de cloridrato de piridoxina em formulações farmacêuticas usando o método espectrofotométrico e voltamétrico.....	147
Tabela 5.26 –	Efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica dos EPC/CoPc para a solução piridoxina $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão (pH 12) sob uma amplitude de pulso	

	de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s ⁻¹	151
Tabela 5.27 –	Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc, na presença de piridoxina 5x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ em solução tampão pH 12,0, saturada com N ₂	156
Tabela 5.28 –	Estudo da adição e recuperação de vitamina B ₆ (cloridrato de piridoxina) em três concentrações padrão diferentes, usando o método voltamétrico.....	160
Tabela 5.29 –	Determinação de cloridrato de piridoxina em formulações farmacêuticas usando o método espectrofotométrico e voltamétrico.....	160
Tabela 5.30 (A) –	Determinação de tiamina em formulações farmacêuticas usando o método espectrofluorimétrico e voltamétrico (DPV).....	164
Tabela 5.30 (B) –	Determinação de piridoxina em formulações farmacêuticas usando o método espectrofotométrico e voltamétrico (DPV)....	164

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 –	Estratégica básica para o desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados. Figura adaptada da Ref. 14.....	9
Figura 2.2 –	Estrutura da ftalocianina de base livre.....	17
Figura 2.3 –	Estrutura da ftalocianina de cobalto.....	18
Figura 3.1 –	Estrutura da hidrazina.....	21
Figura 3.2 –	Estrutura da dopamina.....	25
Figura 3.3 –	Estrutura da tiamina (vitamina B ₁).....	28
Figura 3.4 –	Estrutura da piridoxina (vitamina B ₆).....	30
Figura 5.1 –	Voltamogramas cíclicos da reação de oxidação de hidrazina empregando-se o EPC (curvas a e c) e o EPC/CoPc (curvas b e d), na ausência (curvas a e b) e presença de N ₂ H ₄ 1,0x10 ⁻³ em solução NaOH 0,1 mol L ⁻¹ (curvas c e d), saturada com N ₂ , v = 100 mV s ⁻¹ e a 25 °C. EPC/CoPc foi composto de 55 %m/m de pó de grafite, 25 %m/m de parafina e 20 %m/m de CoPc.....	58
Figura 5.2 –	Efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta ciclovoltagemétrica do EPC/CoPc para a solução de hidrazina 1x10 ⁻³ mol L ⁻¹ em solução NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , saturada com N ₂ , v = 100 mV s ⁻¹ a 25 °C.....	60
Figura 5.3 –	Efeito do pH sobre a corrente de pico anódico (I _{pa}) da oxidação de hidrazina 1x10 ⁻³ mol L ⁻¹ em solução NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , saturada com N ₂ , empregando-se o EPC/CoPc, v = 100 mV s ⁻¹ a 25 °C.....	61
Figura 5.4 –	Efeito do pH sobre o potencial de pico anódico (E _{pa}) da oxidação de hidrazina 1x10 ⁻³ mol L ⁻¹ em solução NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , saturada com N ₂ , empregando-se o EPC/CoPc, v = 100 mV s ⁻¹ a 25 °C.....	62
Figura 5.5 –	Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes velocidades de varredura de potencial para a oxidação de hidrazina 1,0x10 ⁻³ mol L ⁻¹ em solução de NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , saturada com N ₂ , empregando-se o EPC/CoPc, a 25 °C.....	64
Figura 5.6 –	Gráfico da dependência de potencial de pico com o logaritmo da velocidade de varredura de potencial para a reação de oxidação de hidrazina 1,0x10 ⁻³ mol L ⁻¹ , saturado com N ₂ , empregando-se o EPC/CoPc. Dados extraídos da Fig.5.5.....	65
Figura 5.7 –	Gráfico da dependência da corrente de pico com a raiz quadrada da	

	velocidade de varredura de potencial para a reação de oxidação de hidrazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, saturado com N_2 , empregando-se o EPC/CoPc. Dados extraídos da Fig.5.5.....	66
Figura 5.8 –	Voltamogramas cíclicos para a oxidação de hidrazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , empregando-se o EPC/CoPc, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	69
Figura 5.9 –	Voltamogramas cíclicos empregando-se o EPC/CoPC em diferentes concentrações de hidrazina em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturado com N_2 , $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	72
Figura 5.10 –	Curva analítica empregando-se o EPC/CoPC em diferentes concentrações de hidrazina em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Dados extraídos da Figura 5.9.....	73
Figura 5.11 –	Voltamogramas de pulso diferencial da hidrazina empregando-se o EPC (curvas a e c) e o EPC/CoPc (curvas b e d), na ausência (curvas a e b) e presença de N_2H_4 $1,0 \times 10^{-3}$ em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (curvas b e c), saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV , $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ e a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	77
Figura 5.12 –	Efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta DPV do EPC/CoPc para a solução de hidrazina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	79
Figura 5.13 –	Efeito do pH sobre a resposta DPV do EPC/CoPc para a solução de hidrazina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	80
Figura 5.14 –	Voltamogramas de pulso diferencial registrados em diferentes velocidades de varredura de potencial para a oxidação de hidrazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , empregando-se o EPC/CoPc, amplitude de pulso de 100 mV a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	82
Figura 5.15 –	Voltamogramas de pulso diferencial registrada em diferentes amplitudes de pulso para a oxidação de hidrazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , empregando-se o EPC/CoPc, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	83
Figura 5.16 –	Voltamogramas de pulso diferencial empregando-se o EPC/CoPC em diferentes concentrações de hidrazina em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturado com N_2 , amp. = 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	85
Figura 5.17 –	Curva analítica empregando-se EPC/CoPc em diferentes concentrações de N_2H_4 em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturado com N_2 , amp. = 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Dados extraídos da Figura 5.16..	86

Figura 5.18 –	Voltamogramas cíclicos da reação de oxidação de dopamina empregando-se o EPC (curvas a e c) e o EPC/CoPc (curvas b e d), na ausência (curvas a e b) e presença (curvas c e d) de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com nitrogênio. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	90
Figura 5.19 –	Esquema da reação de oxidação da dopamina. Dados extraídos da referência 125.....	91
Figura 5.20 –	Efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta ciclovoltagemétrica do EPC/CoPc para a solução de dopamina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4), $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$, saturada com N_2 a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	92
Figura 5.21 –	Efeito da concentração hidrogeniônica sobre a resposta ciclovoltagemétrica do EPC/CoPc (20 %m/m) para a solução de dopamina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4), saturada com N_2 , $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	94
Figura 5.22 –	Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes velocidades de varredura de potencial para a oxidação de DA sobre EPC/CoPc em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4), saturada com N_2 , $25 \text{ }^\circ\text{C}$	95
Figura 5.23 –	Gráfico da dependência da corrente de pico (I_{pa}) com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ($\nu^{1/2}$) para a reação de oxidação de DA sobre o EPC/CoPc. Dados extraídos da Fig.5.22.....	96
Figura 5.24 –	Voltamogramas cíclicos obtidos com EPC/CoPC em diferentes concentrações de dopamina em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4), saturado com N_2 , $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	100
Figura 5.25 –	Curva analítica empregando-se o EPC/CoPC em diferentes concentrações de dopamina em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Dados extraídos da Figura 5.24.....	101
Figura 5.26 –	Voltamogramas cíclicos sobre o EPC/CoPc para diferentes substâncias, $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	102
Figura 5.27 –	Voltamogramas de pulso diferencial da reação de oxidação de DA sobre EPC e EPC/CoPc em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) contendo DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV e $\nu = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	106
Figura 5.28 –	Efeito do teor de CoPc na pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para a solução de DA $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV e $\nu = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$	108

- Figura 5.29 – Efeito do pH sobre a resposta DPV do EPC/CoPc para a solução de dopamina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 109
- Figura 5.30 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes velocidades de varredura de potencial para uma solução de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 , empregando-se EPC/CoPc, amplitude de pulso de 100 mV a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 111
- Figura 5.31 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes amplitudes de pulso 50; 75; 100 e 125 mV, para uma solução de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 , empregando-se EPC/CoPc, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 112
- Figura 5.32 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidas com EPC/CoPC em diferentes concentrações de DA em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturado com N_2 , amp. = 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 114
- Figura 5.33 – Curva analítica para DA obtida com o EPC/CoPc, em pH 4,0, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Dados extraídos da Figura 5.32..... 115
- Figura 5.34 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o EPC (curvas a e c) e EPC/CoPc (curvas b e d) na ausência (curvas a e b) e na presença de tiamina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (curvas c e d) em de solução NaOH + Na_2HPO_4 (pH 12,0), v de 100 mV s^{-1} à $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 119
- Figura 5.35 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com o EPC (a e c) e EPC/CoPc (b e d), em solução tampão pH 12, na ausência (a e b) e presença de tiamina $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (c e d). Amplitude de pulso 100 mV e velocidade de varredura de potencial 20 mV s^{-1} 121
- Figura 5.36 – Efeito da concentração hidrogeniônica (pH) sobre a resposta voltamétrica do EPC/CoPc para a solução de tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s^{-1} 124
- Figura 5.37 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes velocidades de varredura de potencial ($5, 10$ e 20 mVs^{-1}) para a oxidação de tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ empregando-se o EPC/CoPc(20%) em solução tampão pH 12,0, saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 126
- Figura 5.38 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes amplitudes de pulso (25; 50; 75; 100 e 125 mV), para a oxidação de tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ empregando-se o EPC/CoPc em solução tampão pH 12,0, saturada com N_2 , $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 127

- Figura 5.39 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com EPC/CoPc para diferentes concentrações de tiamina $0,0$; $5,0 \times 10^{-5}$; $1,0 \times 10^{-4}$; $1,5 \times 10^{-4}$; $1,9 \times 10^{-4}$; $2,4 \times 10^{-4}$; $2,9 \times 10^{-4}$; $3,4 \times 10^{-4}$ e $3,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em solução tampão pH 12, Amp = 100 mV e $v = 20$ mV s⁻¹ à 25 °C..... 130
- Figura 5.40 – Voltamogramas cíclicos empregando-se o EPC (curvas a e c) e EPC/CoPc (curvas b e d) na ausência (curvas a e b) e na presença de piridoxina 1×10^{-3} mol L⁻¹ (curvas c e d) em solução tampão pH 12, saturado com N₂, $v = 100$ mV s⁻¹ a 25 °C..... 134
- Figura 5.41 – Efeito da concentração hidrogeniônica (pH) sobre a resposta ciclovoltagemétrica do EPC/CoPc para a solução de piridoxina 1×10^{-3} mol L⁻¹ em pH 12, saturada com N₂, $v = 50$ mV s⁻¹ a 25 °C..... 136
- Figura 5.42 – Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes velocidades de varreduras de potencial para a reação de oxidação de piridoxina $1,0 \times 10^{-3}$ empregando-se o EPC/CoPc em uma solução tampão pH 12, saturado com N₂..... 138
- Figura 5.43 – Gráfico da dependência de potencial de pico com o logaritmo da velocidade de varredura de potencial para a oxidação de piridoxina 1×10^{-3} mol L⁻¹, em solução tampão pH 12, sobre o EPC/CoPc. Dados extraídos da Fig. 5.42..... 139
- Figura 5.44 – Gráfico da dependência da corrente de pico com raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial para a oxidação de piridoxina 1×10^{-3} mol L⁻¹, em solução tampão pH 12, sobre o EPC/CoPc. Dados extraídos da Fig. 5.42..... 140
- Figura 5.45 – Voltamogramas cíclicos obtidos com EPC/CoPc para diferentes concentrações de piridoxina em solução tampão pH 12, $v = 100$ mV s⁻¹ a 25 °C..... 144
- Figura 5.46 – Curva analítica para piridoxina obtida com o EPC/CoPc em diferentes concentrações de piridoxina. Dados extraídos da Fig. 5.45..... 145
- Figura 5.47 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com o EPC (curvas a e c) e EPC/CoPc (curvas b e d), em solução tampão pH 12, na ausência (curvas a e b) e presença de piridoxina 5×10^{-4} mol L⁻¹ (curvas c e d). Amplitude de pulso 100 mV e velocidade de varredura de potencial 20 mV s⁻¹ 149
- Figura 5.48 – Efeito da concentração hidrogeniônica (pH) sobre a resposta voltamétrica do EPC/CoPc para a solução de piridoxina $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s⁻¹ 151
- Figura 5.49 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes velocidades de varredura de potencial (5; 10 e 20 mV s⁻¹), para a oxidação de piridoxina sobre EPC/CoPc em solução tampão (pH

12,0), saturada com N₂, amplitude de pulso de 100 mV a 25 °C...153

- Figura 5.50 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes amplitudes de pulso (25; 50; 75; 100 e 125 mV), para a oxidação de piridoxina sobre EPC/CoPc em solução tampão (pH 12,0), saturada com N₂, $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$ a 25 °C.....154
- Figura 5.51 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com EPC/CoPc para diferentes concentrações de piridoxina 0,0; $5,0 \times 10^{-5}$; $1,0 \times 10^{-4}$; $1,5 \times 10^{-4}$; $2,0 \times 10^{-4}$; $2,4 \times 10^{-4}$; $2,9 \times 10^{-4}$ e $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12, Amp 100 mV e $\nu = 20 \text{ mVs}^{-1}$ a 25 °C.....157
- Figura 5.52 – Curva analítica empregando-se o EPC/CoPc por DPV no intervalo de concentração de piridoxina de $5,0 \times 10^{-5}$ a $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Dados extraídos da Fig. 5.51.....158
- Figura 5.53 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com EPC/CoPc para diferentes concentrações de tiamina e piridoxina simultânea 0,0; $1,0 \times 10^{-4}$; $1,9 \times 10^{-4}$; $2,9 \times 10^{-4}$; $3,8 \times 10^{-4}$; $4,7 \times 10^{-4}$; $5,6 \times 10^{-4}$; $6,5 \times 10^{-4}$ e $7,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12, Amp = 100 mV e $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$ a 25 °C.....162

RESUMO

CONSTRUÇÃO E APLICAÇÃO ANALÍTICA DE ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO MODIFICADAS COM FTALOCIANINA DE COBALTO PARA DETERMINAÇÃO DE ANALÍTOS DE INTERESSE

Este trabalho de tese descreve o desenvolvimento e aplicação de eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados com ftalocianina de cobalto (EPC/CoPc) para a determinação voltamétrica (voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial) de hidrazina em águas de caldeira, dopamina, vitamina B₁ (tiamina) e vitamina B₆ (piridoxina), em formulações farmacêuticas disponíveis comercialmente no mercado, sem qualquer tratamento prévio das amostras. O EPC/CoPc apresentou uma resposta voltamétrica (por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial) linear no intervalo de concentração de hidrazina de $1,3 \times 10^{-4}$ a $9,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $5,0 \times 10^{-5}$ a $7,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $2,3 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, respectivamente. A quantificação de hidrazina em águas de caldeiras utilizando o EPC/CoPc apresentou resultados concordantes com o método espectrofotométrico com um intervalo de erro relativo aceitável. O EPC/CoPc apresentou uma resposta voltamétrica (por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial) linear no intervalo de concentração de dopamina de $1,3 \times 10^{-5}$ a $2,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $5,0 \times 10^{-6}$ a $9,8 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,4 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente. Esse eletrodo modificado apresentou desempenho satisfatório como sensor voltamétrico na determinação de dopamina em formulações farmacêuticas. O EPC/CoPc apresentou uma resposta voltamétrica (voltametria de pulso diferencial) linear no intervalo de concentração de tiamina (vitamina B₁) de $5,0 \times 10^{-5}$ a $3,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $2,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. A quantificação de tiamina em formulações farmacêuticas utilizando o EPC/CoPc apresentou resultados concordantes com o método espectrofluorimétrico da Farmacopéia Brasileira com um intervalo de erro relativo aceitável. O EPC/CoPc apresentou uma resposta voltamétrica (por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial) linear no intervalo de concentração de piridoxina (vitamina B₆) de $5,0 \times 10^{-5}$ a $9,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $4,7 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $5,0 \times 10^{-5}$ a $3,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente. Esse eletrodo modificado apresentou desempenho satisfatório como sensor voltamétrico

na determinação de piridoxina em formulações farmacêuticas. O EPC/CoPc também foi empregado na determinação simultânea de vitamina B₁ e B₆ por voltametria de pulso diferencial, em formulações farmacêuticas, uma vez que os potenciais pico de oxidação da vitamina B₁ (-0,13 V) e vitamina B₆ (0,55V), são bem distintos. As curvas analíticas foram lineares no intervalo de concentração de tiamina de $1,9 \times 10^{-4}$ a $7,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $8,4 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e de $1,0 \times 10^{-4}$ a $7,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ para piridoxina. Esse eletrodo modificado apresentou desempenho satisfatório como sensor voltamétrico na determinação de ambos em formulações farmacêuticas.

ABSTRACT

CONSTRUÇÃO E APLICAÇÃO ANALÍTICA DE ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO MODIFICADAS COM FTALOCIANINA DE COBALTO PARA DETERMINAÇÃO DE ANALÍTOS DE INTERESSE

In this thesis work the development and applications of cobalt phthalocyanine carbon paste electrode (CoPc/CPE) for voltammetric determination (cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry) of hydrazine in boiler feed water, dopamine, vitamin B₁ (thiamine) and vitamin B₆ (pyridoxine) in pharmaceutical preparations available commercially in the market, without any previous treatment of the samples. The CoPc/CPE presented voltammetric response (for cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry) linear in the hydrazine concentration range from $1,3 \times 10^{-4}$ to $9,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, with detection limit of $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ and $5,0 \times 10^{-5}$ to $7,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, with detection limit of $2,3 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, respectively. The hydrazine quantification in waters of boilers using CoPc/CPE presented results of agreement with the spectrophotometric method with an interval of acceptable relative error. The CoPc/CPE presented a voltammetric response (for cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry) linear in the dopamine concentration range from $1,3 \times 10^{-5}$ to $2,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, with detection limit of $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $5,0 \times 10^{-6}$ to $9,8 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, with limit of detection of $1,4 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectively. That modified electrode presented good performance as voltammetric sensor in the dopamina determination in pharmaceutical preparations. The CoPc/CPE presented an voltammetric response (differential pulse voltammetry) linear in the vitamin B₁ (thiamine) concentration range from $5,0 \times 10^{-5}$ to $3,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, with detection limit of $2,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. The thiamine quantification in pharmaceutical formulations using CoPc/CPE presented results of agreement with the spectrofluorimetric method of Brazilian Pharmacopeia's with an interval of acceptable relative error. CoPc/CPE presented an voltammetric response (for cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry) linear in the vitamin B₆ (pyridoxine) concentration range from $5,0 \times 10^{-5}$ to $9,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, with detection limit of $4,7 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ and $5,0 \times 10^{-5}$ to $3,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, with detection limit of $1,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectively. That modified electrode presented good performance as voltammetric sensor in the pyridoxine determination in pharmaceutical preparations. The CoPc/CPE was also used in the simultaneous determination of vitamins B₁ (thiamine) and B₆ (pyridoxine) by differential pulse

voltammetry, in pharmaceutical preparations, once the oxidation peaks potentials of the vitamin B₁ (-0,13 V) and vitamin B₆ (0,55V), healthy very different. The analytic curves were linear in the interval of thiamine concentration of $1,9 \times 10^{-4}$ to $7,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, with limit of detection of $8,4 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ and of $1,0 \times 10^{-4}$ to $7,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, with limit of detection of $1,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ for pyridoxine. That modified electrode presented satisfactory acting as voltammetric in the determination of both in pharmaceutical preparations.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	INTRODUÇÃO	1
1.1 –	Introdução	3
CAPÍTULO II	FUNDAMENTOS TEÓRICOS	5
2.1 –	Eletrodos quimicamente modificados (EQMs)	7
2.2 –	2.2 – Desenvolvimento de EQM	8
2.2.1 –	Pré-concentração do analito ou acumulação	9
2.2.2 –	Eletrocatalise	10
2.2.3 –	Exclusão de interferentes	11
2.3 –	Preparação de eletrodos quimicamente modificados	11
2.3.1 –	Substrato base do eletrodo	12
2.3.2 –	Métodos de imobilização do modificador	12
2.3.2.1 –	Adsorção	12
2.3.2.2 –	Ligação covalente	3
2.3.2.3 –	Filmes poliméricos	13
2.3.2.4 –	Materiais compósitos	14
2.3.2.5 –	Pasta de carbono	14
2.4 –	Eletrodos de pasta de carbono (EPC)	15
2.5 –	Ftalocianina	16
CAPÍTULO III	PROCEDIMENTOS ELETROANALÍTICOS	19
3.1 –	Hidrazina	21
3.2 –	Dopamina	24
3.3 –	Vitamina B ₁ (Tiamina)	27
3.4 –	Vitamina B ₆ (Piridoxina)	30

CAPÍTULO IV PARTE EXPERIMENTAL.....	35
4.1 – Equipamentos.....	37
4.1.1 – Medidas voltamétricas.....	37
4.1.2 – Célula eletroquímica.....	37
4.1.3 – Espectrofotômetro.....	37
4.1.4 – Espectrofluorimétrico.....	38
4.1.5 – pHmetro.....	38
4.1.6 – Balança analítica.....	38
4.1.7 – Eletrodos.....	38
4.1.7.1 – Eletrodo de referência de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl).....	38
4.1.7.2 – Eletrodo auxiliar (contra-eletrodo).....	38
4.1.7.3 – Eletrodo de trabalho.....	39
4.2. – Reagentes e soluções.....	39
4.2.1 – Soluções tampão.....	40
4.2.1.1 – solução tampão (pH 2,0).....	40
4.2.1.2 – solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 4,0).....	40
4.2.1.3 – solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 6,0).....	40
4.2.1.4 – solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,0).....	40
4.2.1.5 – solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 8,0).....	40
4.2.1.6 – solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 10,0).....	41
4.2.1.7 – solução tampão (pH 12,0).....	41
4.2.1.8 – solução de NaOH 0,1 mol L ⁻¹ (pH 13,0).....	41
4.3 – Procedimento Experimental.....	41
4.3.1 – Construção do eletrodo de pasta de carbono modificado.....	41
4.3.2 – Determinação de hidrazina.....	42

4.3.2.1 – Reagentes soluções.....	42
4.3.2.1.1 – Soluções padrão de hidrazina.....	43
4.3.2.1.2 – Soluções de interferentes em potencial.....	43
4.3.2.2 – Método comparativo para hidrazina.....	43
4.3.2.2.1 – Solução de ácido clorídrico (1:9 v/v).....	44
4.3.2.2.2 – Solução de ácido clorídrico (1:99 v/v).....	44
4.3.2.2.3 – Solução de <i>p</i> -dimetilaminobenzaldeído.....	44
4.3.2.2.4 – Solução estoque de hidrazina (1 mL = 0,1 mg N ₂ H ₄).....	44
4.3.2.2.5 – Amostragem.....	44
4.3.2.2.6 – Procedimento.....	45
4.3.2.3 – Determinação voltamétrica de hidrazina nas amostras.....	45
4.3.3 – Determinação de dopamina.....	46
4.3.3.1 – Reagentes e soluções.....	46
4.3.3.2 – Solução padrão de dopamina.....	46
4.3.3.3 – Método comparativo para dopamina.....	46
4.3.3.3.1 – Solução da amostra.....	46
4.3.3.3.2 – Procedimento.....	47
4.3.3.4 – Determinação voltamétrica de dopamina nas amostras.....	47
4.3.4 – Determinação de vitamina B ₁ (tiamina).....	48
4.3.4.1 – Reagentes e soluções.....	48
4.3.4.2 – Solução padrão de tiamina.....	48
4.3.4.3 – Soluções de interferentes em potencial.....	48
4.3.4.4 – Método comparativo.....	49
4.3.4.4.1 – Solução estoque de tiamina (0,2 µg/mL tiamina).....	49
4.3.4.4.2 – Solução da amostra.....	49

4.3.4.4.3 – Procedimento.....	50
4.3.4.5 Determinação voltamétrica de tiamina nas amostras.....	51
4.3.5 – Determinação de vitamina B ₆ (piridoxina).....	51
4.3.5.1 – Reagentes e soluções.....	51
4.3.5.2 – Solução padrão de piridoxina.....	51
4.3.5.3 – Soluções de interferentes em potencial.....	52
4.3.5.4 – Método comparativo.....	52
4.3.5.4.1 – Solução de ácido clorídrico (0,1 mol L ⁻¹).....	52
4.3.5.4.2 – Solução de amostras.....	52
4.3.5.4.3 – Amostras sólidas.....	53
4.3.5.4.4 – Amostras líquidas.....	53
4.3.5.4.5 – Procedimento.....	53
4.3.5.5 – Determinação voltamétrica de piridoxina nas amostras.....	54

CAPÍTULO V RESULTADOS E DISCUSSÃO.....55

5.1 – Estudo do comportamento voltamétrico do EPC/CoPc na presença de hidrazina.....	57
5.1.1 – Medidas ciclovoltagemétricas.....	57
5.1.1.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e do pH da solução sobre a resposta ciclovoltagemétrica do EPC/CoPc para uma solução de hidrazina.....	59
5.1.1.2 - Efeito da velocidade de varredura de potencial sobre a resposta ciclovoltagemétrica do EPC/CoPc para uma solução de hidrazina.....	63
5.1.1.3 – Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc.....	67
5.1.1.4 – Curva analítica para EPC/CoPc.....	71
5.1.1.5 – Estudos de interferências em potencial.....	71
5.1.1.6 – Determinação de hidrazina em águas de caldeira.....	74
5.1.2 – Medidas por voltametria de pulso diferencial.....	76

5.1.2.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e pH sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para uma solução de hidrazina.....	78
5.1.2.2 – Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial e amplitude de pulso sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para uma solução de hidrazina.....	81
5.1.2.3 – Estudo da repetibilidade do EPC/CoPc.....	84
5.1.2.4 – Curva analítica do EPC/CoPc.....	85
5.1.2.5 – Determinação de hidrazina em águas de caldeira.....	87
5.2 – Estudo do comportamento voltamétrico do EPC/CoPc na presença de dopamina.....	89
5.2.1 – Medidas ciclovoltamétricas.....	89
5.2.1.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e pH sobre a resposta voltamétrica do EPC modificado com CoPc.....	91
5.2.1.2 – Efeito da velocidade de varredura de potencial sobre a resposta voltamétrica do EPC/CoPc.....	95
5.2.1.4 – Estudo da repetibilidade do EPC/CoPc.....	97
5.2.1.5 – Curva analítica para EPC/CoPc.....	99
5.2.1.6 – Resposta relativa (%) do EPC/CoPc para algumas catecolaminas em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 4,0).....	99
5.2.1.7 – Determinação de dopamina em formulações farmacêuticas.....	103
5.2.2 – Medidas por voltametria de pulso diferencial.....	105
5.2.2.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e do pH sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para uma solução de dopamina.....	107
5.2.2.2 – Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial e amplitude de pulso sobre resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para uma solução de dopamina.....	110

5.2.2.3 – Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc.....	113
5.2.2.4 – Curva analítica do EPC/CoPc.....	114
5.2.2.5 – Determinação de dopamina em formulações farmacêutica.....	116
5.3 – Estudo do comportamento voltamétrico do EPC/CoPc na presença de vitamina B₁.....	118
5.3.1 – Medidas ciclovoltamétricas.....	118
5.3.2 – Medidas voltamétrica de pulso diferencial.....	120
5.3.2.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e pH sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc.....	122
5.3.2.2 – Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial e amplitude de pulso sobre a corrente de pico da oxidação de tiamina sobre EPC/CoPc.....	125
5.3.2.3 – Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc.....	128
5.3.2.4 – Estudos de interferências em potencial.....	128
5.4.2.5 – Curva analítica do EPC/CoPc.....	129
5.3.2.6 – Determinação de tiamina em formulações farmacêuticas.....	131
5.4 – Estudo do comportamento voltamétrico do EPC/CoPc na presença de vitamina B₆ (piridoxina).....	133
5.4.1 – Medidas ciclovoltamétricas.....	133
5.4.1.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e pH da solução sobre a resposta voltamétrica do EPC modificado com CoPc..	134
5.4.1.2 – Efeito da velocidade de varredura de potencial sobre a resposta voltamétrica do EPC/CoPc.....	137
5.4.1.3 – Estudo da repetibilidade do EPC/CoPc.....	141
5.4.1.4 – Curva analítica para EPC/CoPc.....	143
5.4.1.5 – Estudos de Interferências em potencial.....	143
5.4.1.6 – Determinação de piridoxina em formulações farmacêutica.....	146
5.4.2 – Medidas voltamétrica de pulso diferencial.....	148
5.4.2.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e pH sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc na presença de	

piridoxina.....	151
5.4.2.2 – Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial e amplitude de pulso sobre a corrente de pico da oxidação de piridoxina sobre EPC/CoPc.....	152
5.4.2.3 – Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc.....	155
5.4.2.4 – Curva analítica do EPC/CoPc.....	156
5.4.2.5 – Determinação de piridoxina em formulações farmacêuticas.....	159
5.5 Determinação simultânea de vitamina B₁ (tiamina) e vitamina B₆ (piridoxina).....	161
5.5.1 – Determinação simultânea de tiamina e piridoxina em formulações farmacêuticas.....	63
CAPÍTULO VI CONCLUSÕES.....	165
CAPÍTULO VII ALGUMAS PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....	171
CAPÍTULO VIII REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	175
CAPÍTULO IX ANEXOS.....	189

CAPÍTULO I
INTRODUÇÃO

1.1 – Introdução

A modificação química da superfície de eletrodo visando sua otimização em eletrocatalise, aplicações analíticas ou dispositivos sensores, resultou no desenvolvimento de eletrodos denominados de eletrodos quimicamente modificados (EQMs), com objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução^{1,2}. Neste sentido, vários métodos de preparação de superfícies sólidas quimicamente modificadas têm sido descritos na literatura^{3,4}. Além disso, as aplicações e o desenvolvimento destes eletrodos em eletroquímica e eletroanalítica têm sido extensivamente revisados⁵⁻⁷.

A presente tese de doutorado teve como objetivo desenvolver sensores voltamétricos para a determinação de analitos de interesse. Eletrodos de pasta de carbono modificados com ftalocianina de cobalto foram utilizados para a determinação de hidrazina em águas de caldeira, dopamina, vitamina B₁ (tiamina) e vitamina B₆ (piridoxina) em formulações farmacêuticas.

No capítulo II descrevem-se alguns aspectos históricos e teóricos sobre eletrodos modificados de pasta de carbono, além da ftalocianina de cobalto.

No capítulo III descrevem-se alguns aspectos teóricos sobre hidrazina, dopamina, vitamina B₁ (tiamina) e vitamina B₆ (piridoxina), bem como algumas metodologias descritas na literatura para a determinação desses analitos.

No capítulo IV descreve-se a parte experimental, como equipamentos, reagentes e soluções utilizados e a metodologia empregada em cada etapa do trabalho.

No capítulo V são apresentados os resultados e discussão obtidos empregando-se os eletrodos de pasta de carbono modificados com ftalocianina de cobalto nas determinações dos analitos mencionados.

No capítulo VI são apresentadas as conclusões do trabalho, no capítulo VII algumas perspectivas para trabalhos futuros e, finalmente no capítulo VIII as referências bibliográficas consultadas durante todo o trabalho.

CAPÍTULO II
FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1 – Eletrodos quimicamente modificados (EQMs)

Até a metade da década de 70, os eletrodos utilizados na química analítica, bem como em outras áreas, eram os eletrodos convencionais como ouro, platina, mercúrio e carbono, porém esses eletrodos apresentavam alguns problemas que reduziam a sua aplicação tanto em Química Analítica quanto em outras áreas. As principais desvantagens desses eletrodos eram o fenômeno da adsorção ou precipitação do analito na superfície do eletrodo; a baixa velocidade de algumas reações eletroquímicas exibidas por algumas espécies que exigiam uma sobretensão para que a reação ocorresse e alto custo desses materiais nobres para aplicação prática em escala industrial. Verificou-se, posteriormente, que essas desvantagens poderiam ser controladas, manipulando-se a natureza físico-química da interface eletrodo/solução como uma forma de alterar a reatividade e seletividade do sensor base^{1,2}, favorecendo assim, o desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados, para vários fins e aplicações, desde a catálise de reações orgânicas e inorgânicas⁸ até a transferência de elétrons em moléculas de interesse⁹.

O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM) foi inicialmente utilizado na eletroquímica por MURRAY *et al*¹⁰ em 1975. A partir de então, os EQMs tem recebido especial atenção, devido às suas características, como: seletividade, simplicidade de construção e a possibilidade de monitorar o analito de interesse sem o prévio tratamento da amostra. Desta forma, os eletrodos quimicamente modificados (EQMs) encontram aplicações nas mais variadas áreas de atuação, como por exemplo, na saúde pública¹¹, onde sensores *in vivo* podem ser usados na determinação de drogas em situação de emergência. Além disso, esses sensores possuem baixo tempo de resposta, alta sensibilidade e seletividade que são

requisitos importantes em hospitais¹². Os EQMs, assim como os biossensores também encontram vasta aplicação nas indústrias de alimentos¹³ e bioprocessos, onde o monitoramento em tempo real é muito valioso, ou ainda em aplicações ambientais⁸ onde, tanto a indústria quanto os órgãos de vigilância ambiental, necessitam de sensores para análise quantitativa de inúmeras substâncias tóxicas e/ou poluentes que são despejados pelas indústrias. Além da eletroanálise, que tem se destacado como uma das áreas mais ativas neste campo, os EQMs tem sido utilizados para outros fins que não analíticos, incluindo estudos básicos de eletrocatalise, cinética de transferência de elétrons, síntese eletroorgânica e fotoeletroquímica.

A maioria das aplicações analíticas de EQMs envolve técnicas voltamétricas ou amperométricas.

2.2 – Desenvolvimento de EQM

Do ponto de vista analítico, a sensibilidade e seletividade de uma determinação deve aumentar com a utilização de um EQM para que seu uso seja justificado. Isto pode ser obtido por meio de um ou mais dos seguintes fenômenos^{1,2,14,15}: pré-concentração, eletrocatalise e exclusão de interferentes. A Figura 2.1 mostra um esquema da estratégia envolvida no desenvolvimento de EQM.

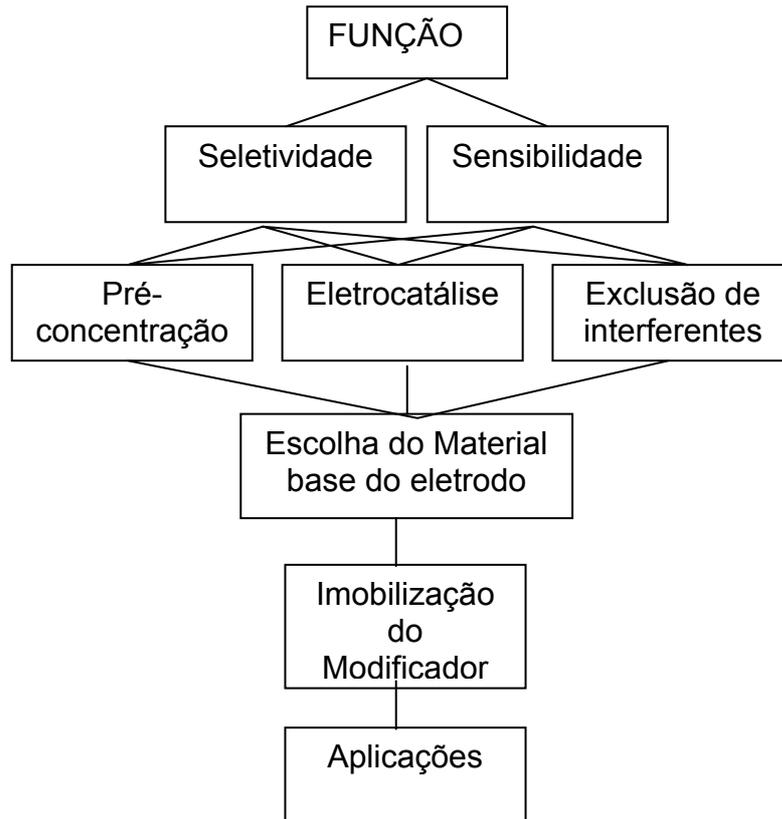


Figura 2.1 – Estratégica básica para o desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados. Figura adaptada da Ref. 14.

2.2.1 – Pré-concentração do analito ou acumulação

Consiste em pré-concentrar o analito na superfície modificada do eletrodo. O mecanismo de pré-concentração envolve interação química (complexação, troca iônica, ligação covalente) entre a espécie a ser pré-concentrada e o modificador imobilizado na superfície do eletrodo. Este agente modificador apresenta uma particular afinidade pela espécie alvo (analito), o que confere seletividade à medida voltamétrica.

2.2.2 – Eletrocatalise

O principal objetivo da eletrocatalise é reduzir a energia de ativação da reação envolvendo transferência de elétrons. A oxidação ou redução de um substrato que apresenta uma cinética de transferência de elétrons lenta, na superfície do eletrodo, podem ocorrer em potenciais bem acima do seu valor termodinâmico. Todavia, essa mesma reação pode ser catalisada pela modificação superficial do eletrodo, resultando não somente numa troca de elétrons mais rápida entre o eletrodo e o analito, ou seja, aumentando a velocidade da reação, como um aumento na intensidade de corrente, bem como uma diminuição no sobrepotencial de ativação da reação que podem ser eletroquímico-químico ou na ordem inversa. O sobrepotencial de ativação é o potencial adicional a E^0 necessário para vencer a energia de ativação de uma dada eletrólise em um dado eletrodo. A redução do sobrepotencial propicia um aumento na seletividade das medidas devido à possibilidade de aplicar potenciais de operações mais baixos, reduzindo ou até mesmo eliminando que potenciais de eletrólise de espécies interferentes presentes sejam atingidos.

As espécies químicas geralmente utilizadas, com o objetivo de diminuir o sobrepotencial, destacam-se os mediadores redox, os quais podem ser espécies orgânicas (quinonas, tetratiofulvaleno, tetracianoquinodimetano), compostos organometálicos (ferrocenos, ftalocianinas, óxidos de rutênio, metaloporfirinas, etc) ou enzimas. Estas espécies atuam em solução ou no caso de EQM, imobilizadas na superfície do eletrodo, podendo ser utilizada mais de um mediador.

2.2.3 – Exclusão de interferentes

A resposta eletroquímica da espécie de interesse pode ser inibida ou mascarada pela presença de interferentes devido aos seguintes fenômenos:

a passivação do eletrodo, ou seja, adsorção do interferente à superfície do eletrodo, que impede o acesso da espécie de interesse;

competição do interferente com a espécie de interesse pelos sítios ligantes existentes na superfície do eletrodo;

eletrólise do interferente, pré-concentração na superfície do eletrodo ou em solução, em valor de potencial próximo ao potencial de eletrólise da espécie de interesse

A principal maneira de promover a exclusão de interferentes, por meios físicos, é recobrir a superfície do eletrodo com uma membrana polimérica que possa com base na carga (repulsão eletrostática) ou tamanho (meios físicos) bloquear o acesso do interferente, ser permeável somente ao eletrólito suporte e à espécie de interesse. Filmes, tais como acetato de celulose ou Nafion, são muito utilizados para este fim. Nafion é um polieletrólito aniônico que é capaz de repelir espécies aniônicas, enquanto permite a passagem de cátions. Por sua vez, os filmes de acetato de celulose atuam com base no tamanho das espécies envolvidas.

2.3 – Preparação de eletrodos quimicamente modificados

A escolha do substrato do eletrodo e o tipo de imobilização podem influenciar significativamente na resposta analítica e no tempo de vida do eletrodo, sendo a seleção adequada dos mesmos de grande interesse para o bom desempenho do sensor^{1,2,14-16}.

2.3.1 – Substrato base do eletrodo

A escolha do material para o eletrodo base, cuja superfície sofrerá a modificação, é um aspecto muito importante na preparação de um EQM. Este substrato deve apresentar características eletroquímicas e químicas conhecidas para que possa se adequar ao método de imobilização e ao agente modificador. Os materiais sólidos convencionais comumente utilizados como substrato na construção de EQM são ouro, platina, carbono vítreo e ligas metálicas ou misturas binárias como pasta de carbono, grafite-epóxi, grafite-polietileno, grafite-PVC, entre outros.

2.3.2 – Métodos de imobilização do modificador

Apresentar-se-ão a seguir os métodos mais utilizados para a introdução de um agente modificador sobre o eletrodo base.

2.3.2.1 – Adsorção

A adsorção consiste em dissolver o agente modificador em um solvente apropriado e na exposição, em geral por imersão, do eletrodo nesta solução^{17,18}. É uma técnica simples e eficiente, no entanto a mesma apresenta a desvantagem de ocorrer, na maioria das vezes, dessorção do modificador para o meio, durante sua utilização, resultando na perda de reprodutibilidade e redução da vida útil do eletrodo modificado. Na maioria dos trabalhos encontrados na literatura, a adsorção foi realizada em eletrodos de grafite e carbono vítreo¹⁹, por apresentarem uma particular capacidade de adsorver reagentes que possuem elétrons π delocalizados

(diversas ligações duplas na molécula), como por exemplo compostos orgânicos aromáticos.

2.3.2.2 – Ligação covalente

O agente modificador é ligado covalentemente ao substrato do eletrodo^{20,21}. Reações de silanização, envolvendo organosilanos e óxidos presentes na superfície do eletrodo, são bastante exploradas. A maioria dos eletrodos metálicos, quando oxidados em meio ácido, são recobertos com uma fina camada, bastante reativa em relação aos silanos. Desta forma, um eletrodo metálico, após ser oxidado, pode ser silanizado e posteriormente reagir com outra molécula, contendo o grupo funcional que se queira imobilizar.

A modificação de eletrodos a base de carbono baseia-se na manipulação da reatividade de seus grupos funcionais oxigenados, frente a reagentes como aminas, cloreto de tionila, organosilanos e outros²².

O método de modificação via ligação covalente é bastante estável em relação aos demais métodos, contudo gera cobertura com no máximo uma monocamada imobilizada, além de ser mais difícil de se executar.

2.3.2.3 – Filmes poliméricos

Consiste em recobrir a superfície do eletrodo com filmes poliméricos, que devem ser condutores e permeáveis ao eletrólito suporte e à espécie de interesse. Essa técnica permite a imobilização de muitas monocamadas da espécie ativa na superfície modificada, o que resulta na ampliação da resposta eletroquímica. Desta forma, filmes poliméricos têm sido consideravelmente usados

no desenvolvimento de sensores para proteger a superfície do eletrodo de impurezas²³, bloquear interferentes²⁴, imobilizar biocomponentes²⁵ e incorporar mediadores²⁶.

2.3.2.4 – Materiais compósitos

São formados pela combinação de duas ou mais fases de diferente natureza. Cada fase mantém suas características individuais, mas a mistura pode apresentar novas características físicas, químicas ou biológicas. Os polímeros envolvidos nestes materiais fornecem uma certa estabilidade ao eletrodo. Materiais a base de carbono formam fases condutoras ideais na elaboração de materiais compósitos, o que os torna muito empregados em sensores amperométricos²⁷. Estes materiais são bastante inertes quimicamente, apresentam grande intervalo de potencial de trabalho; baixa resistência e baixa corrente residual²⁸.

2.3.2.5 – Pasta de carbono

Pasta de carbono é uma mistura de grafite em pó e um líquido orgânico, denominado aglutinante. O pó de grafite deve ter tamanho de partículas uniforme, alta pureza química e baixa capacidade de adsorção de oxigênio e de impurezas eletroativas. O aglutinante serve para fixar a pasta ao eletrodo, é geralmente, um líquido orgânico quimicamente inerte, de baixa volatilidade, livre de impurezas, eletroinativo, imiscível com a solução do analito e deve preencher os interstícios entre as partículas de grafite, além de dar consistência à mistura. Os principais tipos de aglutinantes utilizados na preparação da pasta de carbono são hidrocarbonetos alifáticos²⁹ (hexano, octano, decano, dodecano), mistura de

hidrocarbonetos³⁰ (óleo mineral, parafina), compostos aromáticos³¹ (benzeno, naftaleno, difenil éter), graxas³² (óleo de silicone), ésteres de ácidos orgânicos³³ (fosfato de dioctila, fosfato de tricresila), ácidos carboxílicos³⁴ (ácido esteárico).

Uma das principais vantagens da pasta de carbono para a construção de sensores é que esses eletrodos possibilitam a modificação interna do material eletródico, diferentemente do que ocorre com os eletrodos sólidos convencionais, em que a modificação ocorre apenas na superfície. Além disso, os eletrodos preparados à base de pasta de carbono oferecem versatilidade, baixa corrente de fundo, baixo ruído, baixo custo e facilidade de renovação da superfície.

2.4 – Eletrodos de pasta de carbono (EPC)

O primeiro eletrodo de pasta de carbono foi desenvolvido por ADAMS³⁵ em 1958, na tentativa de preparar um eletrodo gotejante de pasta de carbono (1 g carbono/7 mL tribromometano) renovável para ser usado em uma ampla faixa de potenciais positivos onde o eletrodo de mercúrio metálico não é aplicável devido à sua oxidação. Contudo, não foi possível desenvolver esse eletrodo, devido à alta resistência elétrica causada pelo componente líquido orgânico (aglutinante) utilizado na preparação.

Entre 1960 e o início de 1970, os EPC eram extensivamente aplicados para estudos eletroquímicos, principalmente no estudo das propriedades redox de inúmeros compostos orgânicos. Alguns estudos teóricos e experimentais realizados nesse período contribuíram para melhor entender a estrutura complexa da pasta de carbono com respeito a seus constituintes, isto é, o pó de grafite e o aglutinante^{36,37}.

Durante esse período, em 1964, KUWANA & FRENCH³⁸ investigaram os comportamentos eletroquímicos de alguns compostos orgânicos e em algumas

preparações da pasta de carbono, eles utilizaram o próprio composto orgânico como aglutinante, demonstraram que a pasta de carbono poderia, também, conter outros constituintes. Ademais, verificaram que essa modificação proporcionava ao eletrodo características eletroquímicas do material usado na composição da pasta. Esse trabalho desenvolvido pode ser considerado o pioneiro na contribuição no desenvolvimento dos eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados (EPCMs). Além disso, estes pesquisadores observaram que as correntes de pico dos voltamogramas obtidos com os EPCMs variava proporcionalmente com a concentração do modificador adicionado na pasta. Conseqüentemente, diversos trabalhos foram propostos de modificação da pasta de carbono para estudos eletroquímicos^{39,40}.

2.5 – Ftalocianina

As ftalocianinas (Pc) foram descobertas acidentalmente em 1907 por BRUN & TCHEMIAC⁴¹, na South Metropolitan Gas Company em Londres, sendo um subproduto da síntese da *o*-cianobenzamida partindo da ftalamida e anidrido acético. A palavra ftalocianina do grego (ftalo = óleo de rocha e cianina = azul) foi utilizada pela primeira vez por LINSTEAD & ROBERTSON⁴² em 1933 para descrever uma nova classe de compostos orgânicos. Na década de 30, LINSTEAD & ROBERTSON⁴²⁻⁴⁴ determinaram as estruturas das ftalocianinas de base livre e ftalocianinas de Ni(II), Cu(II) e Pt(II), utilizando-se apenas análises de difração de raios-X.

Quanto a sua estrutura, a ftalocianina apresenta um sistema em anel de quatro unidades isoindol ligados por átomos de nitrogênio, como pode ser visto na Figura 2.2.

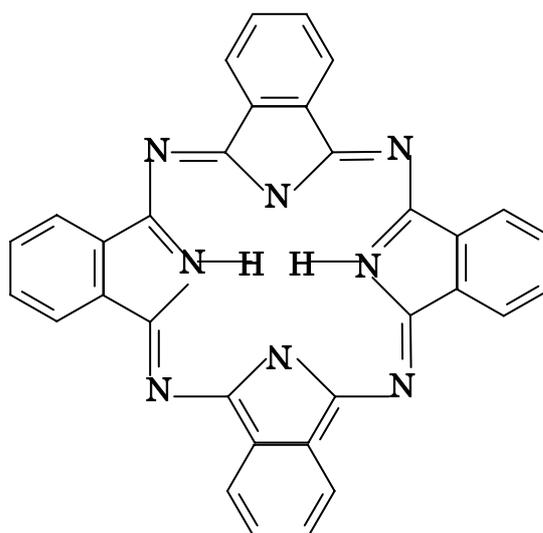


Figura 2.2 – Estrutura da ftalocianina de base livre

As ftalocianinas são compostos que apresentam diversas aplicações. Algumas ftalocianinas exibem fotossensibilidade no infravermelho próximo e podem ser usadas em conjunções com o diodo de laser em impressoras de alta velocidade^{45,46}. Além disso, as ftalocianinas também estão sendo intensivamente investigadas quanto as suas potencialidades como agentes em terapia fotodinâmica (PDT), como uma nova modalidade no tratamento de câncer^{41,44}. Neste caso, as ftalocianinas são adsorvidas pelos tecidos e posteriormente são fotossensibilizadas (excitadas) usando laser, gerando radicais livres citotóxicos e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) matando seletivamente as células cancerígenas. As ftalocianinas também são largamente utilizadas como corantes em plásticos e tecidos⁴⁷. E devido aos seus sistemas altamente conjugados, o que confere propriedades eletrônicas, tem aplicações tecnológicas de grande interesse como semicondutores, fotocondutores e catalisadores^{47,48}.

Na área de eletrocatalise, as metalofalocianinas possuem uma larga aplicação na modificação de superfícies de eletrodos, principalmente grafite e carbono, por apresentarem singular atividade eletrocatalítica frente a diferentes reações importantes, em particular a redução de oxigênio^{49,50} e peróxido de hidrogênio⁵¹ e na determinação eletrocatalítica de muitos compostos importantes como herbicidas⁵², cisteína⁵³, carboidratos⁵⁴, aminas alifáticas⁵⁵ e fenóis⁵⁶.

A ftalocianina de cobalto (CoPc) (Figura 2.3) é conhecida há muito tempo como catalisador homogêneo e heterogêneo para uma grande variedade de reações químicas. Ela funciona como catalisador redox no qual o estado de oxidação do complexo metálico varia durante o ciclo catalítico^{49,57,58}. A atividade catalítica deste complexo é dependente do íon metálico central envolvido e ainda, do estado de oxidação total do complexo^{49,57,58}. O uso deste macrociclo na construção de eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados tem adquirido um grande interesse para aplicações analíticas⁵⁹⁻⁶¹.

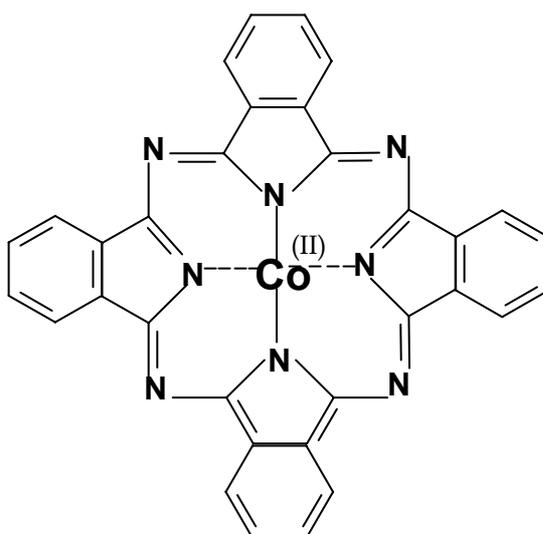


Figura 2.3 – Estrutura da ftalocianina de cobalto

CAPÍTULO III
PROCEDIMIENTOS ELETROANALÍTICOS

3.1 – Hidrazina

A hidrazina (N_2H_4), Figura 3.1, é um forte agente redutor muito utilizada na remoção de oxigênio de águas de caldeiras ou sistemas de aquecimento com o fim de prevenir a corrosão das mesmas⁶², ocasionada por oxigênio dissolvido, formando nitrogênio e água (reação 1). A hidrazina também reage com óxido férrico e óxido cúprico⁶³ (reações 2 e 3, respectivamente) formando a magnetita e óxido cuproso, estados passivos de óxidos de ferro e de cobre. Portanto, a hidrazina torna as superfícies de ferro e cobre menos suscetíveis à corrosão, reduzindo-as a um estado passivo.

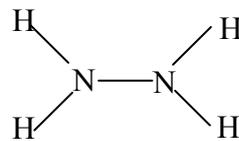
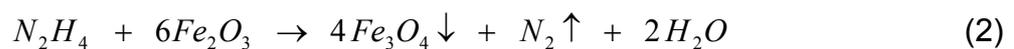
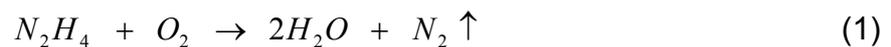


Figura 3.1 – Estrutura da hidrazina



Ela também é empregada na fabricação de propelentes de foguetes⁶⁴, como combustível alternativo na tecnologia de células a combustível, na produção de produtos farmacêuticos como tranqüilizantes e controladores de tuberculose⁶⁵, bem como reguladores no crescimento de plantas e na fabricação de inseticida⁶⁴. Hidrazina é uma substância volátil e tóxica, facilmente absorvida pela pele. O contato com a hidrazina causa irritação na pele, olhos e nas vias respiratórias⁶⁶. Além disso, suspeita-se que seja cancerígena⁶⁶. Sendo assim, há um grande interesse em sua quantificação e muitos métodos analíticos têm sido propostos para a determinação de hidrazina, tais como: espectrofotométricos⁶⁷⁻⁶⁹, fluorimétrico⁷⁰, quimiluminescentes⁷¹⁻⁷³ entre outros. Contudo, alguns destes métodos requerem um longo tempo de análise, já que são necessárias várias etapas analíticas. Entretanto, os métodos eletroquímicos permitem, quase sempre, a determinação do analito de interesse sem qualquer tratamento prévio da amostra, uma vez que as substâncias a serem determinadas se oxidam ou se reduzem em potenciais bem distintos daqueles das espécies concomitantes normalmente presentes nas amostras. Infelizmente, a oxidação de hidrazina sobre eletrodos convencionais (eg. carbono vítreo, pasta de carbono, platina etc) necessitam de um alto sobrepotencial, o que não é nada satisfatório. Assim sendo, eletrodos modificados podem ser uma boa alternativa para esse propósito devido à minimização do sobrepotencial. Desta forma, vários eletrodos quimicamente modificados têm sido preparados e aplicados na determinação de hidrazina. A seguir, descrever-se-ão alguns desses eletrodos modificados utilizados na determinação de hidrazina.

SHANKARAN & NARAYANAN⁷⁴ construíram um sensor amperométrico de grafite modificado com hexacianoferrato de cobalto para a determinação de hidrazina em água residual de indústria. Esse eletrodo apresentou excelente propriedade eletrocatalítica na oxidação de hidrazina. A resposta foi linear no

intervalo de $2,0 \times 10^{-5}$ a $2,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $9,8 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Outro trabalho descrito pelo mesmo grupo⁷⁵ foi à construção de um sensor amperométrico immobilizando hexacianoferrato de níquel sobre eletrodo de grafite. O eletrodo modificado exibiu um par redox associado com o seguinte processo $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$. O eletrodo modificado apresentou propriedade eletrocatalítica para a oxidação de hidrazina reduzindo significativamente o sobrepotencial. Esse eletrodo modificado respondeu linearmente em um intervalo de concentração de hidrazina de $4,0 \times 10^{-4}$ a $4,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ ($r = 0,9963$) com um limite de detecção de $9,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.

Um biossensor de pasta de carbono modificado com tecido de batata doce como fonte de peroxidase foi desenvolvido por VIEIRA *et al*⁷⁶ e empregado na determinação de hidrazina em águas de caldeira. Essa enzima na presença de peróxido de hidrogênio catalisa a oxidação de hidroquinona a *p*-benzoquinona. A hidrazina inibe diretamente a enzima peroxidase, reduz quimicamente *p*-benzoquinona a hidroquinona e/ou reduz o peróxido de hidrogênio decrescendo assim a corrente de pico catódica proporcionalmente a concentração desse analíto. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de hidrazina de $7,0 \times 10^{-6}$ a $1,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ ($r = 0,9980$) e limite de detecção de $5,1 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹.

YANG & LI⁷⁷ desenvolveram um um eletrodo magnético de filme de mercúrio modificado com microesferas magnéticas contendo grupos cetonas sobre a superfície. O potencial de pico para oxidação de hidrazina foi observado em $-1,06$ V vs. Ag/AgCl. A resposta voltamétrica para hidrazina foi de $0,3$ a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($6,0 \times 10^{-9}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) ($r = 0,995$) com limite de detecção de $0,1$ $\mu\text{g L}^{-1}$ ($2,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹). Esse método foi aplicado para determinação de hidrazina em água residuária de indústria, água potável e águas de rio.

PINGARRÓN *et al*⁶⁴ construíram um microeletrodo amperométrico de fibra de carbono modificado com ródio e o empregaram em um sistema de análise por injeção em fluxo para a determinação de hidrazina em águas de caldeira. A hidrazina foi monitorada em potencial constante de 0,3 V vs Ag/AgCl em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,4). O eletrodo modificado respondeu linearmente em um intervalo de concentração de hidrazina de 5,0x10⁻⁶ a 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ (r= 0,9995), com um limite de detecção de 6,2x10⁻⁷ mol L⁻¹.

A preparação de um sensor amperométrico de pasta de carbono modificado com porfirina de cobre em uma cavidade de zeólita foi desenvolvido por GUERRA *et al*⁷⁸. Aplicou-se um potencial constante de 0,27 V vs. ECS neste eletrodo para a eletrooxidação de hidrazina, obtendo-se uma resposta linear de 5,0x10⁻⁶ a 6,0x10⁻⁵ mol L⁻¹ (r=0,9995) com um limite de detecção de 1,0x10⁻⁶ mol L⁻¹.

Um sensor eletroquímico para hidrazina baseado na modificação de um eletrodo de pasta de carbono com ftalocianina tetrassulfonada de níquel imobilizada em sílica gel foi desenvolvido por PEREZ *et al*⁷⁹. Esse eletrodo modificado respondeu linearmente em um intervalo de concentração de hidrazina de 1,0x10⁻⁴ a 6,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ com um limite de detecção de 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹ para um potencial aplicado de 0,45 V vs ESC.

3.2 – Dopamina

Dopamina (DA), Figura 3.2, é uma catecolamina de grande interesse clínico e farmacêutico, atuando como mediador químico no sistema nervoso central, cardiovasculares e hormonais⁸⁰. A deficiência de dopamina no sistema nervoso central causa sérias doenças como mal de Parkinson e Esquizofrenia. Portanto, sua determinação *in vitro* e em vivo tem atraído muita atenção.

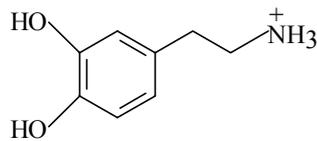


Figura 3.2 – Estrutura da dopamina

Diversas metodologias podem ser encontradas na literatura para a determinação desse analito, dentre estas os procedimentos em fluxo com detecção espectrofotométrica⁸¹, amperométrica⁸² e por quimiluminescência⁸³ são bastante citados. As técnicas eletroquímicas tem apresentada várias vantagens na biociência⁸⁴. A aplicação de ultramicroeletrodos na neurociência, com o objetivo de monitorar a concentração de neurotransmissores no sistema nervoso central (por exemplo, dopamina, L-dopa, carbidopa) tem recebido uma especial atenção. A seguir, descrever-se-ão alguns desses métodos.

O grupo de química analítica da Universidade Federal de São Carlos vem usando extrato bruto de tecidos de diversos vegetais e fungos como fontes enzimáticas para a construção de biossensores. Um destes trabalhos desenvolvidos foi um eletrodo de pasta de carbono modificado com extrato bruto enzimático do fungo *Pleurotus ostreatus* como fonte de lacase para a determinação voltamétrica de adrenalina e dopamina em formulações farmacêuticas⁸⁵. O biossensor apresentou uma resposta linear no intervalo de concentração de adrenalina de $6,0 \times 10^{-5}$ a $7,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e de $7,0 \times 10^{-5}$ a $4,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ para dopamina, com limites de detecção de $7,9 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $9,8 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente. Outro trabalho desenvolvido por este mesmo grupo⁸⁶ foi à construção de um biossensor de pasta de carbono bi-enzimático modificado com extrato bruto enzimático do fungo *Pleurotus ostreatus* e *Zucchini* como fonte de lacase e peroxidase, respectivamente,

para a determinação voltamétrica de dopamina, adrenalina, isoprenalina e L-dopa. O biossensor desenvolvido respondeu linearmente de $7,0 \times 10^{-6}$ a $3,9 \times 10^{-4}$; de $6,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4}$; de $7,0 \times 10^{-6}$ a $7,0 \times 10^{-5}$ e de $6,0 \times 10^{-6}$ a $8,1 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ para dopamina, adrenalina, L-dopa e isoprenalina, respectivamente. Os limites de detecção foram $2,7 \times 10^{-8}$; $2,5 \times 10^{-8}$; $2,4 \times 10^{-8}$ e $2,6 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, respectivamente. Além destes trabalhos, um outro biossensor também foi desenvolvido para a determinação voltamétrica de adrenalina e dopamina em formulações farmacêuticas⁸⁷. A resposta do biossensor foi baseada na redução eletroquímica das catecolaminas oxidadas pela enzima polifenol oxidase. O biossensor apresentou uma resposta linear no intervalo de concentração de dopamina de $2,0 \times 10^{-4}$ a $1,2 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $8,2 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e um tempo de vida de 3 meses.

Um eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de rutênio coberto com fina camada Náfion foi proposto por ZEN & CHEN⁸⁸ para a determinação seletiva de dopamina na presença de ácido ascórbico por voltametria de onda quadrada. Esse eletrodo apresentou um deslocamento do potencial inicial de reação para valores mais negativos, cerca de 50 mV, em relação ao eletrodo de carbono vítreo sem modificação, evidenciando o efeito catalítico desse eletrodo para oxidação de dopamina. Este eletrodo apresentou uma boa seletividade para dopamina na presença de ácido ascórbico e ainda apresentou uma linearidade de 5×10^{-6} a $7,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ para dopamina em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,4) em um potencial constante de -0,3 V vs. Ag/AgCl e com um limite de detecção de $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹.

RUBIANES & RIVAS⁸⁹ desenvolveram um eletrodo de carbono vítreo modificado com um polímero tipo melanina. Este polímero foi obtido pela polimerização de L-dopa $3,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em uma solução tampão fosfato 0,050 mol L⁻¹ (pH 7,4) aplicando-se um potencial de 1,00 V por 1h. Este filme polimérico

excluiu as espécies aniônicas como o ácido ascórbico e exibiu uma atração seletiva pelas espécies catiônicas como a dopamina a qual pode ser oxidada sobre o eletrodo carbono vítreo modificado. O eletrodo desenvolvido apresentou uma linearidade em um intervalo de concentração de dopamina de $1,5 \times 10^{-6}$ a $1,1 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ na presença de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de ácido ascórbico.

A construção de um eletrodo de carbono vítreo recoberto com filme de ácido sulfosalicílico eletrodepositado em uma solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,5) foi desenvolvido por ZHAO *et al*⁹⁰. Esse eletrodo, após estudo de caracterização, foi aplicado na determinação de dopamina em formulações farmacêutica por voltametria de pulso diferencial. A resposta voltamétrica do eletrodo desenvolvido foi de $5,5 \times 10^{-7}$ a $2,2 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ ($r=0,9985$), com um limite de detecção de $5,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹.

O estudo do comportamento eletroquímico de dopamina com um eletrodo de carbono vítreo modificado com ftalocianina de níquel foi feito por KANG *et al*⁹¹. Esse eletrodo foi aplicado na determinação de dopamina em formulações farmacêuticas e a corrente de oxidação foi linear com aumento da concentração de dopamina no intervalo de $2,0 \times 10^{-7}$ a $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ ($r=0,9986$) com um limite de detecção de $9,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹.

3.3 – Vitamina B₁ (Tiamina)

A vitamina B₁ (VB₁), Figura 3.3, também conhecida como tiamina, foi o primeiro membro do complexo B a ser identificado. A tiamina participa de várias reações químicas no interior das células, particularmente das reações que envolvem açúcares. A tiamina é transformada pelo fígado em carboxilase, uma co-enzima essencial aos processos metabólicos de obtenção de energia. Sendo indispensável

a todos os animais, encontra-se nos grãos de cereais, nas folhas verdes, carne suína e miúdos. Sua deficiência no organismo, afeta de modo especial, as funções do sistema nervoso do coração e do sistema digestivo, provocando uma doença, chamada de beribéri, que se manifesta pela inflamação dos nervos, dilatação do coração e mau funcionamento dos órgãos digestivos⁹².

A vitamina B₁ é encontrada, comercialmente, na forma de cloridrato de tiamina⁹³. É um pó cristalino branco, higroscópico, com leve odor de levedura e gosto amargo. No estado anidro é estável ao calor, mas quando exposto ao ar absorve 4% de água e oxida-se. Por essa razão deve ser armazenada em recipiente herméticos e opacos. Devido a estes problemas devem ser tomadas precauções adicionais evitando-se a deterioração, durante os processos de determinações⁹⁴.

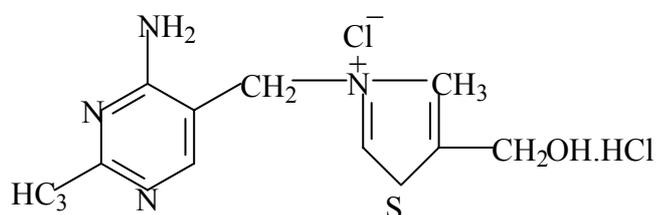


Figura 3.3 – Estrutura da tiamina ou vitamina B₁

Existem vários métodos descritos na literatura para determinação da vitamina B₁, por exemplo, fluorimétrico⁹⁵, espectrofotométrico⁹⁶, análise por injeção em fluxo^{93,94}, potenciométrico⁹⁷, entre outros. Porém são poucos os métodos eletroquímicos relatados na literatura para a determinação de tiamina. A seguir, descrever-se-ão alguns desses métodos.

WAN & YANG⁹⁸ estudaram o comportamento eletroquímico da tiamina sobre um eletrodo de ouro modificado com L-cisteína (Cys/SAM/Au) por voltametria

de onda-quadrada. Os voltamogramas de onda quadrada empregando o eletrodo de ouro sem modificação não apresentaram nenhuma atividade catalítica para a reação de oxidação de tiamina em uma solução tampão Britton-Robinson (pH 11,4), entretanto após a modificação do eletrodo de ouro com L-cisteína um pico anódico bem definido foi observado em 0,29 V vs ECS. Esses resultados obtidos indicaram que o Cys/SAM/Au apresentou atividade electrocatalítica para a reação de oxidação de tiamina em meio alcalino. A resposta voltamétrica para tiamina foi obtida no intervalo de concentração de $1,1 \times 10^{-8}$ a $2,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $5,5 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. Esse método foi aplicado na determinação de tiamina em formulações farmacêuticas.

ONI *et al*⁹⁸ também estudaram o comportamento electroquímico da tiamina, em meio alcalino, empregando-se o eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de manganês (EPC/MnPc) por voltametria cíclica. Esse eletrodo apresentou uma excelente atividade electrocatalítica frente à reação de oxidação de tiamina em solução tampão fosfato (pH 10). Esse eletrodo (EPC/MnPc) apresentou-se bastante estável para a determinação de tiamina quando comparado com o EPC. O eletrodo desenvolvido apresentou uma relação linear entre a corrente de pico de anódico (I_{pa}) e a concentração de tiamina com um limite de detecção na ordem de 10^{-5} mol L⁻¹. Este eletrodo foi utilizado na determinação voltamétrica de tiamina em formulações farmacêuticas.

CARABIAS-MARTINEZ *et al*¹⁰⁰ construíram um microsensor de platina modificado com dodecilssulfato de polipirrol por electrodeposição aplicando-se um potencial de 1,4 V vs. ECS por 5 minutos em uma solução contendo o monômero $0,23$ mol L⁻¹, SDS $0,05$ mol L⁻¹ em 80% (v/v) de acetonitrila. Este microsensor foi adaptado em um sistema de análise por injeção em fluxo e aplicado na determinação de tiamina em formulações farmacêuticas. Este microsensor

respondeu linearmente em um intervalo de concentração de tiamina de $1,01 \times 10^{-8}$ a $2,7 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $5,3 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹

3.4 – Vitamina B₆ (Piridoxina)

A vitamina B₆ (VB₆), Figura 3.4, é um pó cristalino branco, inodoro e relativamente estável ao ar e à luz. Suas soluções aquosas são mais estáveis em valores de pH menores que 5, tornando-se menos estáveis em soluções com pHs maiores que 7⁹². Ademais, as vitaminas do grupo B₆ são compostos que contêm um anel piridínico em suas moléculas e são hidrossolúveis.

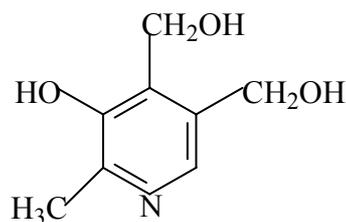


Figura 3.4 – Estrutura da piridoxina ou vitamina B₆

Essa vitamina consiste de uma mistura de piridoxina, piridoxal e piridoxamina, que são normalmente interconvertidas no organismo. Desses compostos, a piridoxina é a mais estável sendo normalmente usada nas preparações farmacêuticas na forma de sais como cloridato (Adermina), ascorbato, e aspartato⁹⁴. No organismo a piridoxina converte-se em fosfato de piridoxal, que atua como coenzima de cerca de 60 enzimas, a maioria relacionadas com o metabolismo de proteína e aminoácido. Essa vitamina desempenha importante papel na síntese de neurotransmissores como a noradrenalina, dopamina, serotonina e histamina.

Participa também de reações de degradação de aminoácidos, em que um dos produtos finais é a acetil-coenzima A, necessária à produção de energia e a síntese de proteínas, lipídios e acetilcolina. A deficiência de vitamina B₆ causa anemia, provoca insônia, irritabilidade, dor abdominal, dificuldade de andar, convulsões e redução de crescimento⁹⁴. A vitamina B₆ está amplamente distribuída na natureza⁹⁴, sendo as fontes de sua obtenção o fígado, farelo de cereais, leveduras, melão de cana e germe de trigo.

Há vários métodos descritos na literatura para a determinação de piridoxina, por exemplo, análise por injeção em fluxo¹⁰¹. A separação e determinação de vitaminas B₆ em formulações farmacêuticas e alimentos por cromatografia¹⁰² e eletroforese¹⁰³ com detecção eletroquímica também têm sido propostos, usando-se eletrodos de carbono como detector eletroquímico. A seguir, descrever-se-ão alguns métodos eletroquímicos para a determinação de vitamina B₆.

SÖDERHJELM & LINDQUIST¹⁰⁴ foram um dos primeiros pesquisadores a desenvolverem um eletrodo de pasta de carbono para a determinação voltamétrica de piridoxina e alguns compostos similares (piridoxal, piridoxal-5-fosfato, piridoxamina e 4-ácido piridoxico) em solução tampão de amônia. Dentre os interferentes estudados (tiamina, riboflavina, nicotinamida, ácido ascórbico e ferro (II)), somente o ácido ascórbico e ferro (II) apresentaram interferência. A fim de eliminar os interferentes, todas as amostras foram purificadas passando por uma coluna de troca catiônica. O método voltamétrico proposto foi comparado com método fotométrico e apresentou um desvio padrão relativo menor que o método fotométrico.

TEIXEIRA *et al.*¹⁰⁵ desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado com o complexo de hexacianoferrato(III) de cobre(II) (CuHCF) para a determinação eletroanalítica de piridoxina (vitamina B₆) em formulações

farmacêuticas usando voltametria cíclica. Diversos parâmetros, tais como: composição do eletrodo, melhor solução eletrolítica, efeito do pH, velocidade de varredura de potenciais e interferentes em potencial sobre a resposta do eletrodo modificado, foram estudados. As melhores condições foram encontradas para uma composição de eletrodo de 20 % de CuHCF (m/m), 55 % de grafite (m/m) e 25 % óleo mineral (m/m) em tampão acetato (pH 5,5) contendo NaCl 0,05 mol L⁻¹. O intervalo de concentração para determinação de piridoxina foi 1,2x10⁻⁶ a 6,9x10⁻⁴ mol L⁻¹. O procedimento foi aplicado na determinação de vitamina B₆ em formulações farmacêuticas e os resultados obtidos com o eletrodo de pasta de carbono modificado com CuHCF foram comparados com os resultados obtidos empregando-se espectrofotometria no visível. Este mesmo grupo¹⁰⁶ desenvolveu um outro eletrodo de pasta de carbono modificado com complexo salem de vanádio na determinação de piridoxina em formulações farmacêuticas. A resposta do eletrodo modificado foi linear no intervalo de concentração de piridoxina de 4,5x10⁻⁴ a 3,3x10⁻³ mol L⁻¹ com um limite de detecção de 3,7x10⁻⁵ mol L⁻¹.

HERNÁNDEZ *et al.*¹⁰⁷ determinaram simultaneamente as vitaminas B₆ e B₁₂ em formulações farmacêuticas por voltametria de onda quadrada empregando um eletrodo de carbono vítreo. O comportamento eletroquímico das vitaminas mencionadas foram inicialmente investigadas por voltametria cíclica em uma solução tampão de hidrogenoftalato de potássio 0,1 mol L⁻¹ + cloreto de sódio 0,1 mol L⁻¹ (pH 3). Os potenciais de pico de oxidação para vitamina B₆ e B₁₂ foram observadas em 1,30 V e -0,69 V vs. Ag/AgCl, respectivamente. A resposta deste eletrodo foi linear de 1,0 x 10⁻³ a 3,5 x 10⁻² mol L⁻¹ e 1,0x10⁻⁴ a 1,2x10⁻³ mol L⁻¹ para a determinação de vitamina B₆ e B₁₂, respectivamente.

USLU *et al.*¹⁰⁸ desenvolveram um método para a determinação simultânea de melatonina e cloridrato de piridoxina em formulações farmacêuticas

por voltametria de pulso diferencial empregando um eletrodo de carbono vítreo. Os comportamentos eletroquímicos da melatonina e cloridrato de piridoxina foram inicialmente investigados por voltametria cíclica e linear a fim de investigar as melhores condições de trabalho para esse eletrodo. A determinação simultânea de melatonina e piridoxina foi realizada em uma solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com 20 % (v/v) metanol. As respostas voltamétricas para melatonina e piridoxina foram de 2×10^{-5} a 8×10^{-5} e 2×10^{-5} a $4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com os limites de detecção de $5,86 \times 10^{-6}$ e $2,45 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. O método proposto foi aplicado em amostras comerciais que contêm esta combinação de droga sem qualquer interferência.

CAPÍTULO IV
PARTE EXPERIMENTAL

4.1 – Equipamentos

4.1.1 – Medidas voltamétricas

As medidas voltamétricas utilizadas na determinação de hidrazina e dopamina foram feitas empregando-se um Potenciostato/Galvanostato (EG&G PAR, Modelo 273A) interfaciado com uma placa GPIB PCIIA/ IIA. As medidas voltamétricas utilizadas na determinação de vitamina B₁ (tiamina) e vitamina B₆ (piridoxina) foram feitas em um Potenciostato/Galvanostato da Autolab PGSTAT12 gerenciado por programada GPES-4.9.

4.1.2 – Célula eletroquímica

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em uma célula de compartimento único de 15 mL, confeccionada em vidro Pyrex, contendo o eletrodo de trabalho (EPC/CoPc), o eletrodo auxiliar (eletrodo de platina) e o eletrodo de referência (Ag/AgCl com KCl 3,0 mol L⁻¹).

4.1.3 – Espectrofotômetro

Nos métodos comparativos para a determinação de hidrazina, dopamina, e vitamina B₆ (piridoxina), utilizou-se um espectrofotômetro modelo 8452A da Hewlett Packard, provido de uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1,00 cm, acoplado a um processador da Hewlett Packard modelo Vectra 286/12.

4.1.4 – Espectrofluorímetro

No método comparativo para a determinação de vitamina B₁ (tiamina), utilizou-se um espectrofluorímetro da Hitachi modelo F-4500.

4.1.5 – pHmetro

As medidas de pH das soluções foram realizadas empregando-se um pHmetro digital Orion EA 940, com precisão de 0,1 mV (ou 0,001 unidades de pH) contendo um eletrodo de vidro Ingold modelo 10/402/3092.

4.1.6 – Balança analítica

As pesagens foram feitas em uma balança analítica da Quimis modelo QISA 210, com precisão de 0,0001 g (0,1 mg).

4.1.7 – Eletrodos

4.1.7.1 – Eletrodo de referência de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl)

O eletrodo de referência utilizado em todas as medidas voltamétricas neste trabalho foi o eletrodo Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) Analion modelo R684.

4.1.7.2 – Eletrodo auxiliar (contra-eletrodo)

O eletrodo auxiliar empregado nas medidas voltamétricas foi uma placa de platina de 0,5 cm de largura e 1 cm de comprimento fixada em tubo de vidro contendo um fio de cobre.

4.1.7.3 – Eletrodo de trabalho

O eletrodo de trabalho utilizado nas medidas voltamétricas foi o eletrodo a base de pasta de carbono modificado com a ftalocianina de cobalto (EPC/CoPc).

4.2. – Reagentes e soluções

Neste trabalho, utilizaram-se reagentes de pureza analítica. A água utilizada no preparo das soluções era destilada e purificada em um sistema Millipore Milli-Q (Modelo UV Plus Ultra-baixo teor de compostos orgânicos dissolvidos), Millipore (Redford, MA, USA).

O gás nitrogênio utilizado durante as medidas eletroquímicas foi do tipo gás especial adquirido da White Martins S.A.

Os reagentes utilizados na preparação das soluções tampões foram: ácido clorídrico (HCl), Dinâmica; ftalato ácido de Potássio ($C_8H_5KO_4$), Reagen; fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4), J. T. Baker; fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4), Mallinckrodt; Hidróxido de sódio (NaOH), Merck. Os pHs de todas as soluções tampão foram devidamente padronizados e ajustados com auxílio de um pHmetro.

4.2.1 – Soluções Tampão

4.2.1.1 – solução tampão (pH 2,0)

Adicionaram-se 100 mL de uma solução HCl 0,1 mol L⁻¹ em 100 mL de uma solução C₈H₅KO₄ 0,1 mol L⁻¹.

4.2.1.2 – solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0)

A solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) foi preparada dissolvendo-se 5,440 g de KH₂PO₄ em 200 mL de água destilada

4.2.1.3 – solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,0)

A solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,0) foi preparada dissolvendo-se 3,680 g de KH₂PO₄ e 0,0856 g de Na₂HPO₄ em 200 mL de água destilada

4.2.1.4 – solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0)

A solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,00) foi preparada dissolvendo-se 0,942 g de KH₂PO₄ e 1,570 g de Na₂HPO₄ em 200 mL de água destilada

4.2.1.5 – solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 8,0)

A solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,00) foi preparada dissolvendo-se 0,122 g de KH_2PO_4 e 1,860 g de Na_2HPO_4 em 200 mL de água destilada

4.2.1.6 – solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 10,0)

A solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 10,00) foi preparada dissolvendo-se 1,784 g de Na_2HPO_4 e 0,062 g de Na_3PO_4 em 200 mL de água destilada

4.2.1.7 – solução tampão (pH 12,0)

Adicionaram-se 53,8 mL de $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em 100 mL de uma solução $\text{Na}_2\text{HPO}_4 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e diluiu-se para 200 mL.

4.2.1.8 – solução de $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 13,0)

Dissolveram-se 0,800 g de NaOH em 200 mL de água destilada.

4.3 – Procedimento experimental

4.3.1 – Construção do eletrodo de pasta de carbono modificado

Os eletrodos de pasta de carbono modificados foram preparados pela mistura de pó de grafite (Aldrich; diâmetro de partícula de 10-20 μm), parafina (Labsynth) e o modificador ftalocianina de cobalto (Aldrich) em diferentes proporções em massa (m/m):

75% pó de grafite; 25% parafina e 0% modificador;

70% pó de grafite; 25% parafina e 5% modificador;

65% pó de grafite; 25% parafina e 10% modificador;

55% pó de grafite; 25% parafina e 20% modificador;

45% pó de grafite; 25% parafina e 30% modificador;

Primeiramente, homogeneizou-se o pó de grafite com o modificador em um almofariz por aproximadamente 30 min. Em seguida, a mistura resultante era adicionada em béquer de 10 mL contendo parafina fundida. Esse béquer era mantido em banho Maria à temperatura entre 60-65 °C, sendo então a mistura dos três componentes, homogeneizada por mais 5 minutos e finalmente inserida em uma seringa de injeção para insulina (90 mm de altura e diâmetro interno da ponta de ~ 2,6 mm). Após introdução do material ativo era inserida uma haste de cobre adaptado ao êmbolo para o contato elétrico externo.

4.3.2 – Determinação de hidrazina

4.3.2.1 – Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados na determinação de hidrazina foram: hidrazina (N_2H_4), Sigma; hidróxido de sódio (NaOH), Merck; *p*-dimetilaminobenzaldeído, Sigma; álcool metílico (CH_3OH), Synth; ácido clorídrico (HCl), Dinâmica; cloreto de potássio (KCl) Synth; fluoreto de cálcio, Baker; sulfato de manganês tetra hidratado ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), Analar; cloreto de alumínio hexahidratado ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), Reagen; acetato de chumbo ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$), Riedel-De Haën; cloreto de zinco (ZnCl_2), Nuclear.

4.3.2.1.1 – Solução padrão de hidrazina

A solução de N_2H_4 $5,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} foi preparada diariamente pela dissolução de 39,0 μL de N_2H_4 em 10 mL de NaOH $0,1$ mol L^{-1} .

4.3.2.1.2 – Soluções de interferentes em potencial

Soluções de alguns cátions possivelmente presentes em águas de caldeiras (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Pb^{2+} e Zn^{2+}) foram preparadas nas concentrações de $1,0 \times 10^{-4}$; $5,0 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} na presença de solução padrão de hidrazina $5,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} a fim de se determinar o grau de interferência destas substâncias na determinação de hidrazina.

4.3.2.2 – Método comparativo para hidrazina

Como método comparativo para a determinação de hidrazina, utilizou-se o método espectrofotométrico da PETROBRAS n. 1474a/maio de 1982.

4.3.2.2.1 – Solução de ácido clorídrico (1:9 v/v)

Foram diluídos 10 mL de HCl concentrado em um balão volumétrico de 100 mL com água destilada.

4.3.2.2.2 – Solução de ácido clorídrico (1:99 v/v)

Foram diluídos 10 mL de HCl concentrado em um balão volumétrico de 1000 mL com água destilada.

4.3.2.2.3 – Solução de *p*-dimetilaminobenzaldeído

Dissolveram-se 4,0 g do reagente em 200 mL de CH₃OH e 20 mL de HCl, sendo a solução acondicionada em frasco de cor âmbar.

4.3.2.2.4 – Solução estoque de hidrazina (1 mL = 0,1 mg N₂H₄)

Foram diluídos 31,0 µL de N₂H₄ em 200 mL de HCl (1:99 v/v).

4.3.2.2.5 – Amostragem

As amostras foram coletadas em frascos de polietileno, previamente, limpos com solução de sulfonítrica (H₂SO₄/HNO₃ 1:1 v/v) e lavados com água

destilada. Coletaram-se as amostras em meio ácido, colocando 50 mL de HCl (1:9 v/v) num frasco com capacidade de 500 mL.

4.3.2.2.6 – Procedimento

Primeiramente, construiu-se a curva de analítica diluindo-se convenientemente a solução estoque de hidrazina ($2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) com HCl (1:99 v/v), de modo que uma alíquota de 50 mL de cada diluição estivesse no intervalo de concentração de hidrazina entre $1,0 \times 10^{-7}$ e $2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida adicionaram-se 10,0 mL da solução de *p*-dimetilaminobenzaldeído com uma pipeta volumétrica e deixou-se cada solução em repouso por 10 min e mediu-se a absorbância em 458 nm. O *p*-dimetilaminobenzaldeído produz com a hidrazina um cromóforo amarelo, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de hidrazina nas amostras.

As amostras foram analisadas rapidamente, após termostatizadas em 25 °C, uma vez que a hidrazina sofre auto-oxidação. Transferiu-se uma alíquota da amostra entre 0,1 e 2,5 mL para um balão volumétrico de 100 mL e adicionaram-se 50 mL de HCl 1:99 v/v. Em seguida juntaram-se 10,0 mL da solução de *p*-dimetilaminobenzaldeído com auxílio de uma pipeta volumétrica. Deixou-se a mistura repousar pelo menos 10 min e fizeram-se as medidas espectrométrica em 458 nm.

4.3.2.3 – Determinação voltamétrica de hidrazina nas amostras

A determinação de hidrazina nas amostras foi realizada em triplicatas, pelo método de adição múltipla de padrões. Inicialmente ajustou-se o pH da amostra

para pH 13 com uma solução NaOH 0,1 mol L⁻¹. Em seguida foram adicionados 10 mL das amostras em uma célula eletroquímica e, realizou-se a varredura de potencial de -0,6 a 0,0 V vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹). Com o auxílio de uma micropipeta, foram adicionados volumes sucessivos da solução padrão de hidrazina e acompanharam-se as variações de correntes anódicas (μA) para cada volume adicionado por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial.

4.3.3 – Determinação de dopamina

4.3.3.1 – Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados na determinação de dopamina foram: dopamina (C₈H₁₁NO₂. HCl), Sigma; fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄), J. T. Baker

4.3.3.2 – Solução padrão de dopamina

A solução de dopamina 5,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ foi preparada diariamente pela dissolução de 0,237 g de dopamina em 25 mL de solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0).

4.3.3.3 – Método comparativo para dopamina

4.3.3.3.1 – Solução da amostra

Com auxílio de uma micropipeta, transferiu-se 190 μL de amostra contida em uma ampola (solução injetável) para um balão de 25 mL e o volume foi completado com solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0).

4.3.3.3.2 – Procedimento

Primeiramente, construiu-se a curva analítica a partir de uma solução padrão de dopamina ($5,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1}). Variou-se a concentração de dopamina de $5,0 \times 10^{-5}$ a $1,5 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} , adicionando-se, com auxílio de uma micropipeta, alíquotas de 100 a 300 μL da solução padrão, em um balão volumétrico de 10 mL, sendo o volume completado com solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0) e medidas as absorbâncias das distintas soluções em 280 nm. Utilizou-se solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0) para ajustar o zero do espectrofotômetro.

Transferiram-se 4 mL da solução estoque contendo a amostra para uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1,00 cm e, por fim mediu-se a absorbância da amostra contida na solução em 280 nm. A partir da leitura obtida, determinou-se a concentração de dopamina nas ampolas por interpolação empregando-se a curva analítica.

4.3.3.4 – Determinação voltamétrica de dopamina nas amostras

A determinação de dopamina nas amostras foi realizada em triplicata, pelo método de adição múltipla de padrões. Inicialmente foi adicionada 10 mL da solução estoque contendo a amostra (ver item 5.3.3.3) em uma célula eletroquímica e, realizou-se a varredura de potencial. Com o auxílio de uma micropipeta foram

adicionados volumes sucessivos da solução padrão de dopamina e acompanharam-se as variações de correntes anódicas (μA) para cada volume adicionado por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial.

4.3.4 – Determinação de vitamina B₁ (tiamina)

4.3.4.1 – Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados na determinação de tiamina foram: cloridrato de tiamina ($\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS}\cdot\text{HCl}$), Sigma; ácido clorídrico (HCl), Dinâmica; álcool etílico ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), Synth; Benzoato de sódio ($\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_2$), Vetec; citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), Synth; cafeína ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$), Sigma; frutose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), Aldrich; glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), Aldrich; sacarose ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$), Sigma; cianocobalamina ($\text{C}_{63}\text{H}_{88}\text{CoN}_{14}\text{O}_{14}\text{P}$), Reagen 99%; riboflavina ($\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$), Sigma.

4.3.4.2 – Solução padrão de tiamina

A solução padrão de tiamina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada diariamente pela dissolução de 0,4216 g de cloridrato de tiamina em 25,0 mL de solução tampão (pH 12,0). Essa solução foi acondicionada em frasco de cor âmbar.

4.3.4.3 – Soluções de interferentes em potencial

Foram preparadas soluções de benzoato de sódio, citrato de sódio, cafeína, frutose, glicose, sacarose, cianocobalamina, riboflavina nas concentrações

de $1,0 \times 10^{-4}$; $5,0 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ na presença de solução padrão de tiamina $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em solução tampão (pH 12) a fim de se determinar o grau de interferência destas substâncias na determinação de tiamina.

4.3.4.4 – Método comparativo

O procedimento fluorimétrico proposto pela Farmacopéia Brasileira¹⁰⁸ foi empregado para a determinação dos teores de vitamina B₁ em duas amostras comerciais. A vitamina B₁ foi determinada em ampolas injetáveis adquiridas em farmácias locais e comercializada como Citoneurin (Merck S.A. Indústrias Químicas, Rio de Janeiro/RJ) e Complexo B (Roque Químicos e Farmacêuticos S.A., Rio de Janeiro/RJ).

4.3.4.4.1 – Solução estoque de tiamina (0,2 µg/mL)

Transferiu-se exatamente 0,0125 g de cloridrato de tiamina, previamente seco a 105 °C por 2 horas, para um balão volumétrico de 500 mL. Dissolveu-se o padrão pesado em 500 mL de HCl diluído (1:50). Em seguida, transferiram-se 400 µL desta solução de cloridrato de tiamina para um balão volumétrico de 50 mL e completou com HCl (1:50) para obter uma solução padrão contendo 0,2 µg/mL de cloridrato de tiamina.

4.3.4.4.2 – Solução da amostra

Diluiu-se 300 µL da amostra em 50 mL de HCl (1:50)

4.3.4.4.3 – Procedimento

Transferiram-se 5 mL da solução estoque de cloridrato de tiamina e adicionou-se em três balões volumétricos de 50 mL. Em dois destes balões juntaram-se rapidamente (dentro de 1 a 2 s) 3,0 mL de reagente oxidante (misturaram-se 4,0 mL de permanganato de potássio a 1% m/v com 96,0 mL de NaOH (1:7 v/v)) e dentro de 30 s adicionou-se 20,0 mL de álcool isobutílico. Agitaram-se os balões volumétricos por 90 s. No terceiro balão volumétrico realizou-se o branco, substituindo-se o reagente oxidante por igual volume de solução de NaOH (1:7 v/v) e procedendo com ele da mesma maneira. O mesmo procedimento foi realizado com a solução da amostra. Adicionaram-se 2 mL de álcool isobutílico em cada um dos seis balões volumétricos, agitou-se por alguns segundos, deixou-se separar as fases e retirou-se cerca de 10 mL da solução sobrenadante límpida de álcool isobutílico para as cubetas espectrofluorímetro e mediu-se a fluorescência com filtro de entrada de faixa estreita com máximo em 365 nm, e filtro de saída também de faixa estreita com máximo em cerca de 435 nm. Calculou-se, então a massa, ou concentração de tiamina, na amostra, pela fórmula

$$125C \frac{(A - b)}{(P - d)}, \text{ em que:}$$

C = concentração em μg por mL, de cloridrato de tiamina padrão;

A = leitura fluorimétrica da solução da amostra;

P = leitura fluorimétrica da solução padrão de tiamina, tratada com o reagente oxidante;

b = leitura fluorimétrica para o branco da solução da amostra;

d = leitura fluorimétrica para o branco da solução padrão de tiamina.

4.3.4.5 – Determinação voltamétrica de tiamina nas amostras

A determinação voltamétrica de tiamina nas amostras foi realizada em triplicata, pelo método de adição múltipla de padrões. Transferiu-se alíquota de 3 mL da amostra para uma célula eletroquímica contendo 10 mL de solução tampão (pH 12) e, realizou-se a varredura de potencial entre $-0,4$ e $0,25$ V vs Ag/AgCl. Com o auxílio de uma micropipeta foram adicionados volumes sucessivos da solução padrão de tiamina e acompanharam-se as variações de correntes anódicas (μA) para cada volume adicionado por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial.

4.3.5 – Determinação de vitamina B₆ (piridoxina)

4.3.5.1 – Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados na determinação de piridoxina foram: cloridrato de piridoxina ($\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3 \cdot \text{HCl}$), Reagen; ácido clorídrico (HCl), Dinâmica; benzoato de sódio ($\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_2$), Vetec; citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), Synth; cafeína ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$), Sigma; frutose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), Aldrich; glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), Aldrich; sacarose ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$), Sigma; cianocobalamina ($\text{C}_{63}\text{H}_{88}\text{CoN}_{14}\text{O}_{14}\text{P}$), Reagen, riboflavina ($\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$), Sigma.

4.3.5.2 – Solução padrão de piridoxina

A solução padrão de piridoxina $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada diariamente pela dissolução de 0,2571 g de cloridrato de piridoxina em 25,0 mL de solução NaOH + Na₂HPO₄ (pH 12,0). Essa solução foi acondicionada em frasco de cor âmbar, sendo estável por aproximadamente 36 h nestas condições experimentais.

4.3.5.3 – Soluções de interferentes em potencial

Foram investigados os mesmos interferentes, nas mesmas condições, utilizadas na determinação de tiamina (ver item 4.3.4.3).

4.3.5.4 – Método comparativo

O procedimento espectrofotométrico proposto pela Farmacopéia Brasileira¹¹⁰ foi empregado para a determinação dos teores de vitamina B₆ nas três amostras comerciais. A vitamina B₆ foi determinada em amostras de formulações farmacêuticas em drágeas e ampolas injetáveis adquiridas em farmácias locais e comercializadas como Dramin (Altana Pharma Ltda, Jaguariúna/SP); Citoneurin (Merck S.A. Indústrias Químicas, Rio de Janeiro/RJ) e Complexo B (Roque Químicos e Farmacêuticos S.A., Rio de Janeiro/RJ).

4.3.5.4.1 – Solução de ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$

A solução de ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada pela diluição de 8,3 mL de HCl ($d=1,19 \text{ g/mL}$ e $T= 37\%$) em 1L de água destilada. Essa solução foi posteriormente padronizada com bórax.

4.3.5.4.2 – Solução de amostras

4.3.5.4.3 – Amostras sólidas

Vinte comprimidos da amostra foram maceradas, pesou-se cuidadosamente uma massa equivalente a 25 mg de cloridrato de piridoxiana, transferiu-se para um béquer de 100 mL, adicionaram-se 50 mL de ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, aqueceu-se em banho Maria por aproximadamente 15 min, agitando-se até a completa dissolução da amostra. Esperou-se esfriar e diluiu-se para 100 mL com HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, esta solução foi filtrada em papel de filtro Whatman nº 1, sendo descartado os primeiros 20 mL. Transferiram-se 5 mL desta solução para um balão volumétrico de 100 mL e o volume foi completado com HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

4.3.5.4.4 – Amostras líquidas

Um volume de 2 mL de amostra contido em uma ampola (solução injetável) foi pipetado e transferido para um balão de 50 mL e o volume completado com HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

4.3.5.4.5 – Procedimento

Primeiramente, construiu-se a curva analítica a partir de uma solução padrão de piridoxina $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando-se como solvente HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-6}$ a $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, adicionando-se, com auxílio de uma micropipeta, alíquotas de 10 a 300 μL da solução padrão, em um balão volumétrico de 100 mL, sendo esse volume completado com solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e medidas as absorvâncias dessas soluções de referência em 290 nm. Utilizou-se HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para ajustar o zero do espectrofotômetro.

A determinação de piridoxina nas amostras foi realizada em triplicata. Adicionaram-se 10 mL da solução estoque contendo a mostra, com auxílio de uma pipeta volumétrica, para uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1,00 cm e, por fim mediu-se a absorvância da solução resultante em 290 nm. Determinou-se a concentração de piridoxina nos comprimidos e ampolas empregando-se a curva analítica.

4.3.5.5 – Determinação voltamétrica de piridoxina nas amostras

A determinação voltamétrica de piridoxina nas amostras foi realizada em triplicata, pelo método de adição múltipla de padrões. Transferiu-se alíquota de 3 a 5 mL da amostra para célula eletroquímica contendo 10 mL de solução NaOH + Na_2HPO_4 (pH 12,0), realizou-se a varredura de potencial entre $-1,0$ e $0,8 \text{ V}$ vs Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$) Com o auxílio de uma micropipeta foram adicionados volumes sucessivos da solução padrão de cloridrato de piridoxina e acompanharam-se as variações de correntes anódicas (μA) para cada volume adicionado por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial.

CAPÍTULO V
RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – Estudo do comportamento voltamétrico do EPC/CoPc na presença de hidrazina

5.1.1 – Medidas ciclovoltamétricas

A atividade catalítica do eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto (EPC/CoPc) para reação de oxidação de hidrazina (N_2H_4) foi investigada por voltametria cíclica (CV). A Figura 5.1 apresenta os voltamogramas cíclicos para a oxidação de hidrazina (N_2H_4) sobre o eletrodo de pasta de carbono (EPC) (curva a e c) e sobre o eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto (EPC/CoPc) (curva b e d), na ausência (curva a e b) e na presença de N_2H_4 $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em NaOH $0,1$ mol L^{-1} (curva c e d), saturada com nitrogênio e com uma velocidade de varredura de potencial (v) de 100 mVs $^{-1}$. Pode ser observado que os ciclovoltamogramas empregando-se o EPC (curva a) e EPC/CoPc (curva b), na ausência de hidrazina, não apresentaram nenhum pico voltamétrico significativo. Além disso, o EPC (curva c) não apresentou nenhuma atividade catalítica para a reação de oxidação de hidrazina, porém o EPC/CoPc (curva d) apresentou um comportamento típico de um processo irreversível^{111,112}, bem como, um aumento acentuado na magnitude de corrente, sugerindo, portanto, que EPC/CoPc apresenta propriedade catalítica para a oxidação de hidrazina em meio alcalino. Essas observações estão em consonância com os resultados apresentados por outros autores^{113,114}, os quais apresentaram que a eletrocatalise da reação de oxidação de hidrazina em solução aquosa alcalina por complexos macrocíclicos está associada com a presença de um centro metálico. Alguns autores^{115,116} acreditam que a atividade eletrocatalítica da CoPc promove a

eletrooxidação de hidrazina via mecanismo catalítico envolvendo o par redox Co(II)Pc/Co(I)Pc, de acordo com as equações 4 a 9:

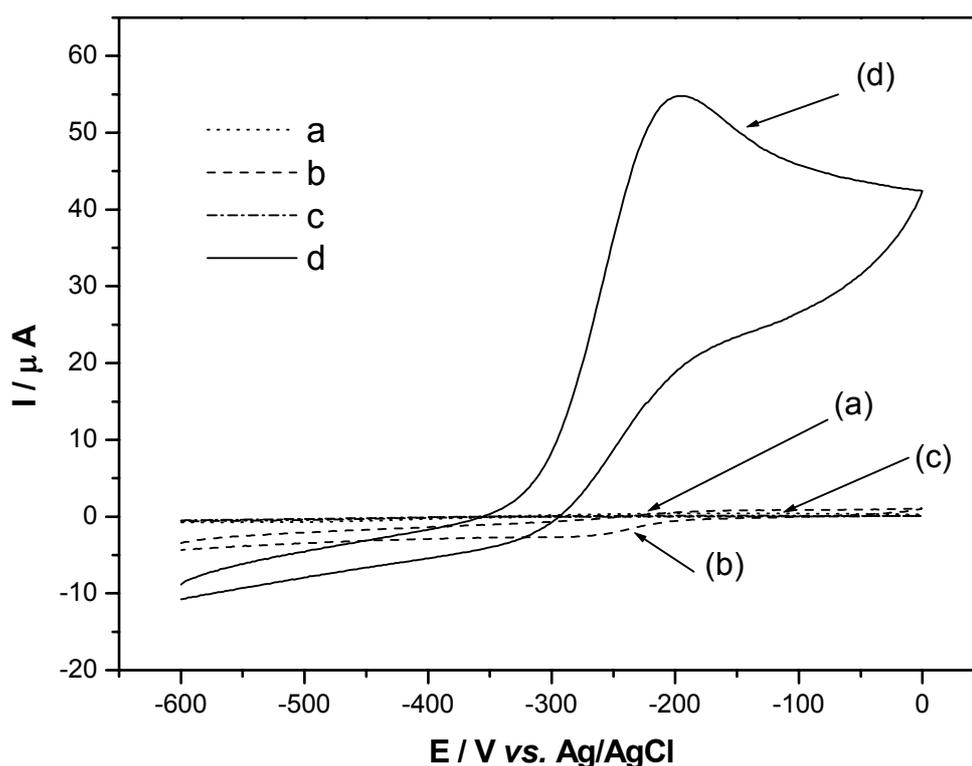
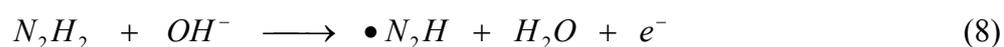
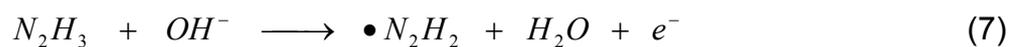
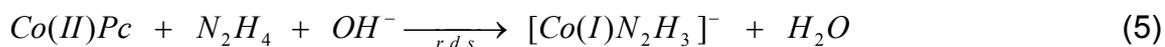


Figura 5.1 – Voltamogramas cíclicos da reação de oxidação de hidrazina empregando-se o EPC (curva a e c) e o EPC/CoPc (curva b e d), na ausência (curva a e b) e presença de N_2H_4 $1,0 \times 10^{-3}$ em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (curva c e d), saturada com N_2 , $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ e a $25^\circ C$. EPC/CoPc foi composto de 55 %m/m de pó de grafite, 25 %m/m de parafina e 20 %m/m de CoPc.

5.1.1.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e do pH da solução sobre a resposta ciclovoltamétrica do EPC/CoPc para uma solução de hidrazina

A Figura 5.2 apresenta o efeito da composição da pasta de carbono contendo 70, 65, 55 e 45 %m/m de pó de grafite, 25 %m/m de parafina e 5, 10, 20 e 30 %m/m de CoPc, respectivamente, sobre a resposta voltamétrica dos EPC/CoPc para uma solução de hidrazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Pode-se observar que o aumento do teor de 5 a 20 %m/m de CoPc na pasta de carbono levou a um aumento do sinal analítico. Para a composição contendo 30 %m/m de CoPc houve uma diminuição acentuada da resposta do eletrodo devido ao decréscimo da concentração de pó de grafite na pasta, que levou a um aumento da resistência elétrica do eletrodo, tornando-o inadequado para aplicações analíticas, devido a uma alteração significativa na corrente capacitiva e a uma diminuição da velocidade de transferência de elétrons no eletrodo¹¹⁷. Resultados semelhantes foram obtidos por TEIXEIRA¹¹⁸, na determinação voltamétrica de íons lítios, ácido ascórbico e adrenalina empregando-se eletrodos de pasta de carbono modificados com $\lambda\text{-MnO}_2$, fosfato de cobre (II) e tecido de alcachofra, respectivamente. Sendo assim, para os estudos posteriores foi selecionado um EPC modificado com 20 %m/m de CoPc.

Estudou-se, também, o efeito do pH sobre a corrente de pico e o potencial de pico para a oxidação de hidrazina sobre o EPC/CoPc no intervalo de pH entre 4 e 13 e os resultados estão apresentados nas Figuras 5.3 e 5.4. Pode-se observar que tanto o potencial de pico quanto a corrente de pico são dependentes do pH (concentração hidrogeniônica). No intervalo de pH entre 4 e 7 ocorre um aumento da corrente de pico, enquanto que no intervalo de pH entre 7 e 10 a

resposta analítica é praticamente constante e para valores de pH maiores que 10 há um aumento acentuado da corrente de pico anódica (Figura 5.3). Ademais, o potencial de pico apresentou um deslocamento de potencial para potenciais mais negativos (Figura 5.4), com o aumento de pH de 4 para 13. Para determinação de hidrazina em águas de caldeiras foi selecionado o pH 13 (solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹).

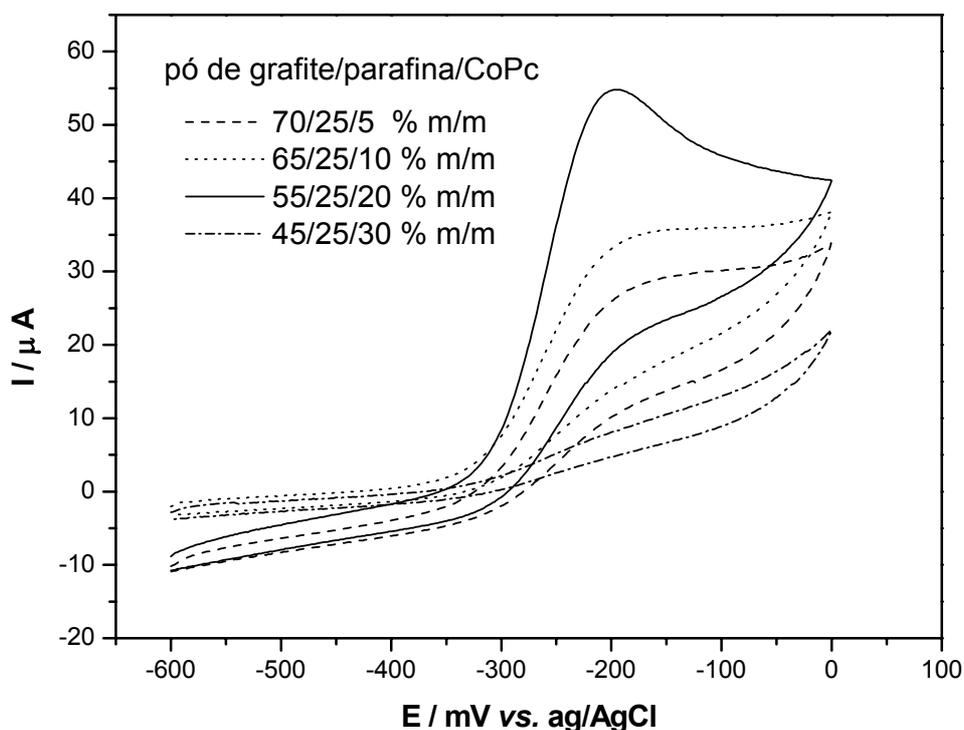


Figura 5.2 – Efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta ciclovoltagemétrica do EPC/CoPc para a solução de hidrazina 1×10^{-3} mol L⁻¹ em solução NaOH 0,1 mol L⁻¹, saturada com N₂, $v = 100$ mV s⁻¹ a 25 °C.

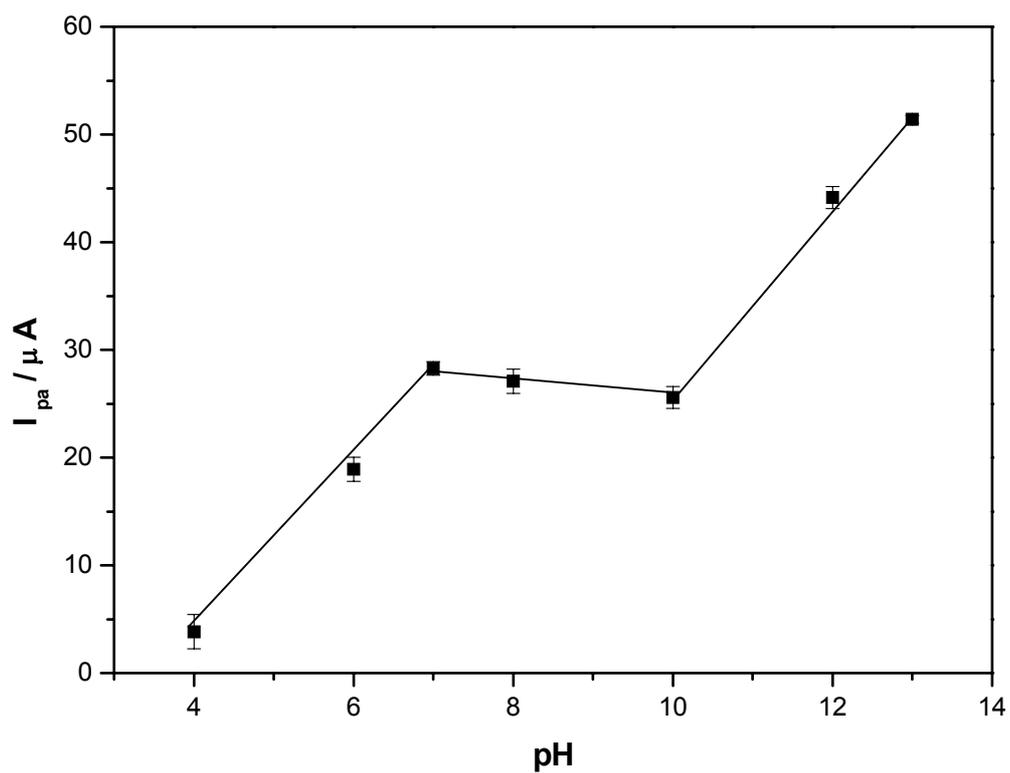


Figura 5.3 – Efeito do pH sobre a corrente de pico anódico (I_{pa}) da oxidação de hidrazina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , empregando-se o EPC/CoPc, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

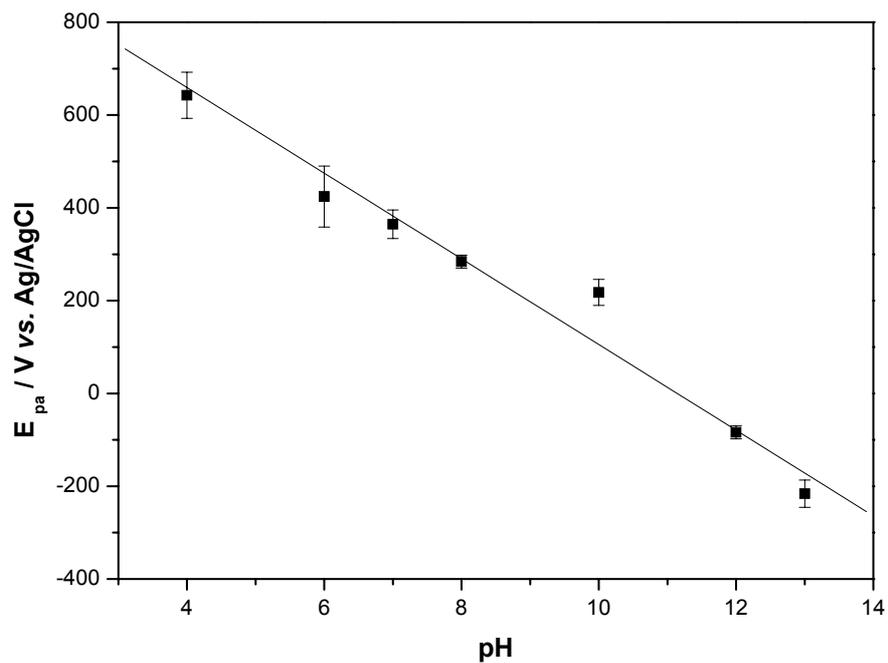


Figura 5.4 – Efeito do pH sobre o potencial de pico anódico (E_{Pa}) da oxidação de hidrazina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , empregando-se o EPC/CoPc, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.1.1.2 – Efeito da velocidade de varredura de potencial sobre a resposta ciclovoltamétrica do EPC/CoPc para uma solução de hidrazina

Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes velocidades de varreduras de potencial para a reação de oxidação de hidrazina sobre EPC/CoPc em uma solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ são apresentados na Figura 5.5. Uma análise dos ciclovoltagemogramas apresentadas nessa figura mostra que há um aumento do sinal analítico (correntes anódicas) com o aumento da velocidade de varredura de potencial. A Figura 5.6 mostra que há uma relação linear entre os potenciais de pico anódicos (E_{pa}) com o logaritmo da velocidade de varredura de potencial ($\log v$). Ademais, há uma dependência linear de corrente de pico anódica (I_{pa}) com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ($v^{1/2}$) (Figura 5.7). Essas características são de um processo eletroquímico irreversível e com controle difusional^{118,119}, expressas pelas seguintes equações¹¹⁹.

$$E_P = K + [0.03 / (\alpha n_o)] (\log v) \quad (10)$$

$$I_P = 2,99 \times 10^5 n (\alpha n_o)^{1/2} A C_o D_o^{1/2} v^{1/2} \quad (11)$$

onde E_P e I_P representam o potencial e a corrente de pico, respectivamente, v a velocidade de varredura de potencial; n o número total de elétrons envolvidos na reação de oxidação de hidrazina; A ($=0,03 \text{ cm}^2$) a área geométrica do eletrodo; C_o ($=1,0 \times 10^{-6} \text{ mol cm}^{-3}$) a concentração de N_2H_4 em solução; D_o ($=1,4 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ a 25° C) o coeficiente de difusão da N_2H_4 ^{13,14}, “ αn_o ” um parâmetro que reflete a irreversibilidade da reação (α é o fator de simetria ($0 < \alpha < 1$) e n_o representa o número de elétrons envolvidos na etapa de transferência de carga) e K uma constante relacionada a R (constante dos gases), T (temperatura), F (constante de

Faraday), D_0 (coeficiente de difusão da N_2H_4), E^f (o potencial formal) e k^0 (a constante de velocidade heterogênea padrão).

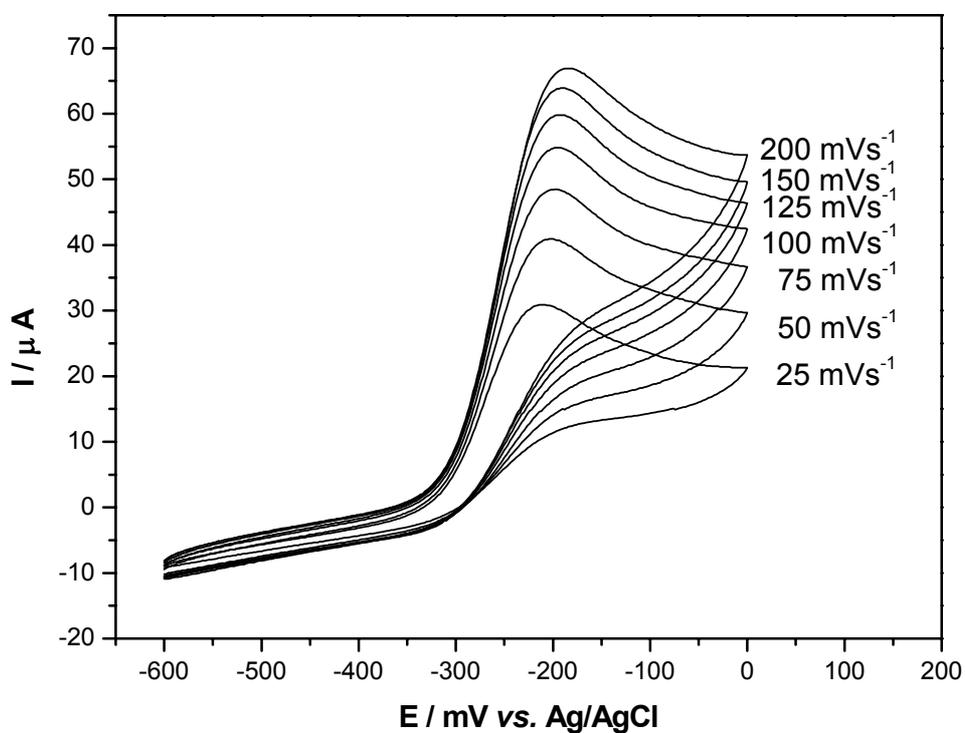


Figura 5.5 – Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes velocidades de varredura de potencial para a oxidação de hidrazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , empregando-se o EPC/CoPc, a $25^\circ C$.

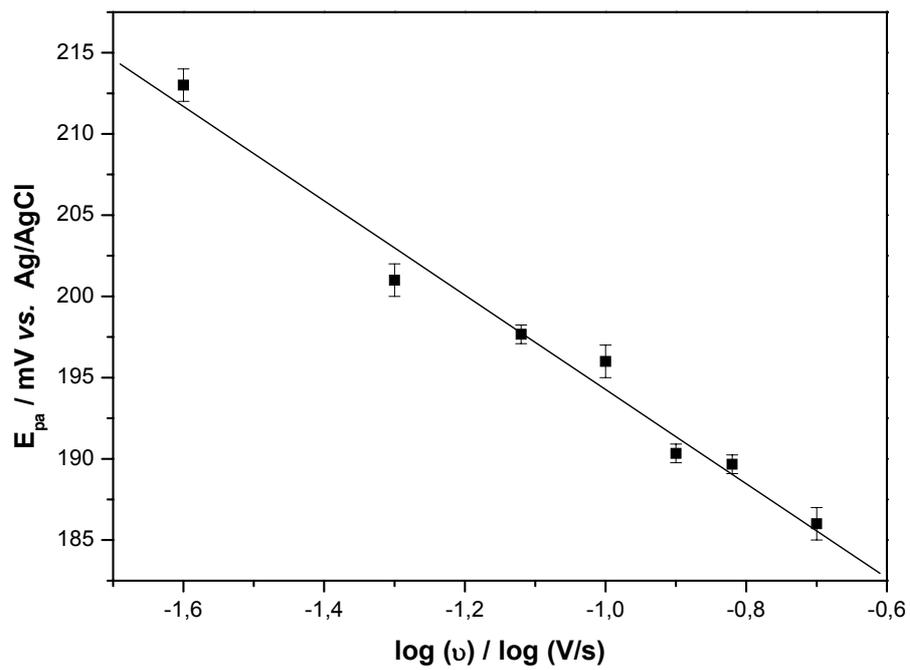


Figura 5.6 – Gráfico da dependência de potencial de pico com o logaritmo da velocidade de varredura de potencial para a reação de oxidação de hidrazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, saturado com N_2 , empregando-se o EPC/CoPc. Dados extraídos da Fig.5.5.

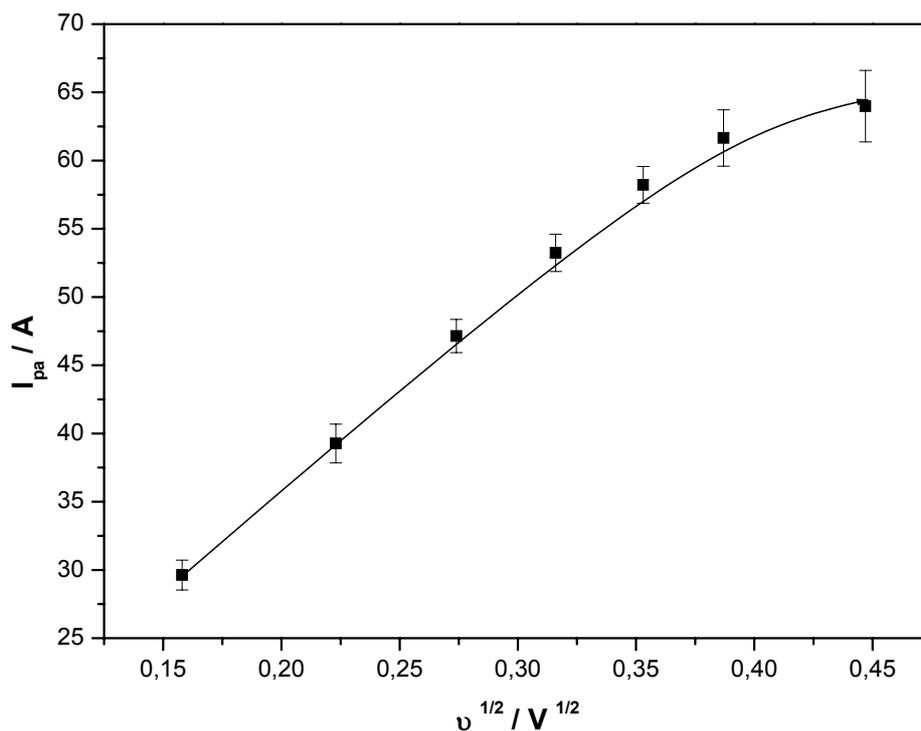


Figura 5.7 – Gráfico da dependência da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial para a reação de oxidação de hidrazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, saturado com N_2 , empregando-se o EPC/CoPc. Dados extraídos da Fig.5.5.

O valor calculado para o coeficiente angular da reta apresentada na Figura 5.6 foi $-0,029 \text{ V}/[\log \text{Vs}^{-1}]$, o que resultou em $\alpha n_0 \approx 1$. Substituindo-se o valor de αn_0 , na Equação 7, estimou-se o número de elétrons envolvidos na reação de

oxidação de N_2H_4 catalisada pela ftalocianina de cobalto como sendo de aproximadamente igual a 4 elétrons, indicando assim que a reação de oxidação de N_2H_4 em soluções aquosas alcalinas eletrocatalisada pelo CoPc leva a formação de N_2 como principal produto¹¹⁵⁻¹²⁰, como mostrado na equação (8).



A partir dos resultados apresentados na Figura 5.5, optou-se em usar sempre a velocidade de varredura de potencial de 100 mV s^{-1} nas medidas voltamétricas do EPC/CoPc para determinação de hidrazina, por possibilitar a obtenção de voltamogramas com perfis melhores definidos e com maior precisão.

5.1.1.3 – Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc

A repetibilidade da superfície do EPC/CoPc foi estudada, empregando uma solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo N_2H_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Observou-se um decréscimo da corrente de pico a cada ciclo voltamograma realizado. A fim de manter a repetibilidade do eletrodo nas medidas voltamétricas, a superfície do eletrodo foi renovada eletroquimicamente, ciclando o potencial do eletrodo no intervalo de potencial de $-1,0$ a $-0,6 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, antes da obtenção de cada ciclo voltamograma, com objetivo de remover possíveis espécies adsorvidas na superfície do mesmo (Figura 5.8). A Tabela 5.1 apresenta os valores de correntes de pico anódica (I_{Pa}) e potencial de pico anódico (E_{Pa}) para 14 ciclo voltamogramas do EPC/CoPc na presença de N_2H_4 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os valores de corrente pico anódica média (\bar{I}_{Pa}) e de potencial de pico anódico médio (\bar{E}_{Pa})

obtidos foram $57,0 \pm 0,4$ e 193 ± 2 , respectivamente, e seus respectivos desvios padrões relativos (RSD) de 0,7% e 1%.

O estudo da repetibilidade entre três eletrodos de EPC/CoPc foi realizado empregando-se solução de N_2H_4 $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em NaOH 0,1 mol L^{-1} . Para cada medida voltamétrica, com cada eletrodo, a superfície do mesmo era renovada, lixando-a sobre um papel sulfite. A Tabela 5.2 apresenta os valores de I_{pa} , da oxidação de hidrazina sobre o EPC/CoPc, bem como, o valor \bar{I}_{pa} . De acordo com a análise de variância (ANOVA)^{121,122}, pode-se calcular se os valores das médias das correntes de pico dos distintos eletrodos do EPC/CoPc apresentavam diferenças significativas. O valor calculado de $F_{experimental}$ (tabela de Snedecor)^{120,121} foi de 3,167 menor que o valor de $F_{critico}$ igual a 3,885. Pode-se assim afirmar, que os valores das correntes de pico não apresentaram diferenças significativas, logo, o EPC/CoPc apresentou boa repetibilidade entre os eletrodos construídos, a um nível de confiança de 95%.

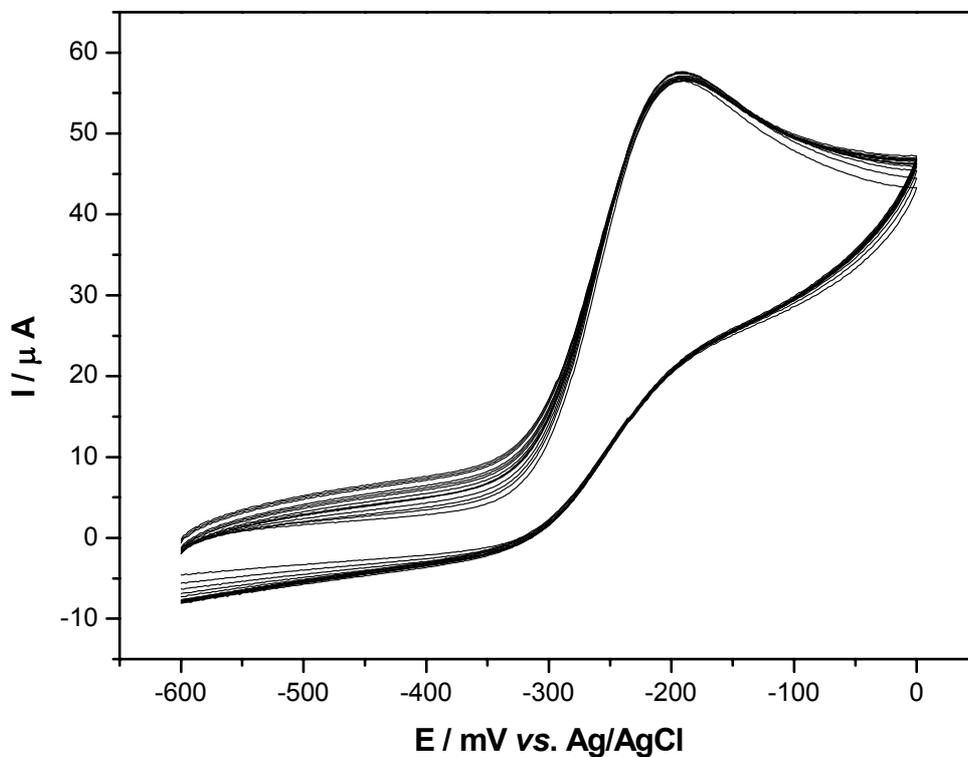


Figura 5.8 – Voltamogramas cíclicos para a oxidação de hidrazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , empregando-se o EPC/CoPc, $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabela 5.1 – Estudo da repetibilidade sobre a resposta ciclovoltagemétrica da superfície do EPC/CoPc para uma solução N_2H_4 $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturado com N_2 . Dados extraídos da Fig. 5.8.

Replicatas	$I_{pa} / \mu A$	$E_{pa} (mV) \text{ vs. Ag/AgCl}$
1	57,6	-194
2	57,6	-190
3	57,4	-196
4	57,4	-196
5	57,1	-190
6	57,0	-196
7	56,9	-194
8	56,9	-194
9	56,9	-194
10	56,8	-190
11	56,8	-190
12	56,6	-192
13	56,6	-192
14	56,5	-194
	$\bar{I}_{pa} = 57,0 \pm 0,1$ RSD = 0,6%	$\bar{E}_{pa} = 193 \pm 2$ RSD = 1,0%

Tabela 5.2 – Estudo da repetibilidade entre eletrodos de EPC/CoPc para uma solução N_2H_4 $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturado com N_2 .

Eletrodos	$I_{pa} / \mu A$					$\bar{I}_{pa} / \mu A$
1	57,6	57,5	57,4	57,4	57,3	57,4
2	57,8	57,6	57,6	57,5	57,5	57,6
3	57,6	57,5	57,4	57,4	57,4	57,5

Estimativa da variância total entre eletrodos $S_e^2 = 0,038$ com 2 graus de liberdade

Estimativa da variância total das medidas do eletrodo $S_d^2 = 0,012$ com 12 graus de liberdade

$$F_{critico} = S_e^2 / S_d^2 = 3,167$$

5.1.1.4 – Curva analítica para EPC/CoPc

Após otimizar as melhores condições de trabalho do EPC/CoPc (20 %m/m CoPc, pH 13 e $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$), realizou-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de $-0,6$ a $0,0 \text{ V vs Ag/AgCl}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo diferentes concentrações de hidrazina (Figura 5.9), a fim de se obter a curva analítica do eletrodo desenvolvido. Antes de cada medida voltamétrica, a superfície do EPC/CoPc era renovada eletroquimicamente, como mencionado no item 5.1.1.3. A Figura 5.10 apresenta a curva analítica obtida para o EPC/CoPc contendo diferentes concentrações de hidrazina. A equação da curva analítica obtida foi $I_{Pa} = 1,47 + 49015,63 [\text{N}_2\text{H}_4] \text{ mol L}^{-1}$ para um intervalo de concentração de hidrazina de $1,3 \times 10^{-4}$ a $9,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

5.1.1.5 – Estudos de Interferências em potencial

A fim de investigar a seletividade do EPC/CoPc, alguns cátions foram testados (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Pb^{2+} e Zn^{2+}) foram preparadas nas concentrações de $1,0 \times 10^{-4}$; $5,0 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ na presença de solução padrão de hidrazina $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a fim de se determinar o grau de interferência desses cátions metálicos na determinação de hidrazina. Não foi observada qualquer interferência na resposta do eletrodo de pasta de carbono modificado.

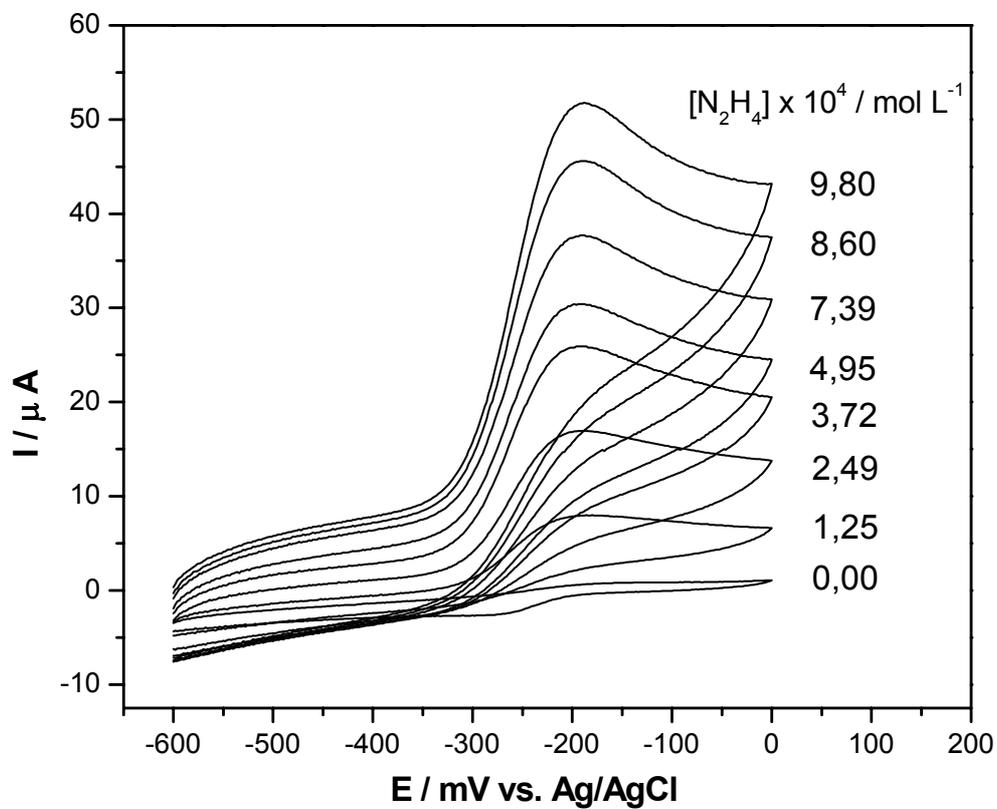


Figura 5.9 – Voltamogramas cíclicos empregando-se o EPC/CoPC em diferentes concentrações de hidrazina em NaOH 0,1 mol L⁻¹, saturado com N₂, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, a 25 °C.

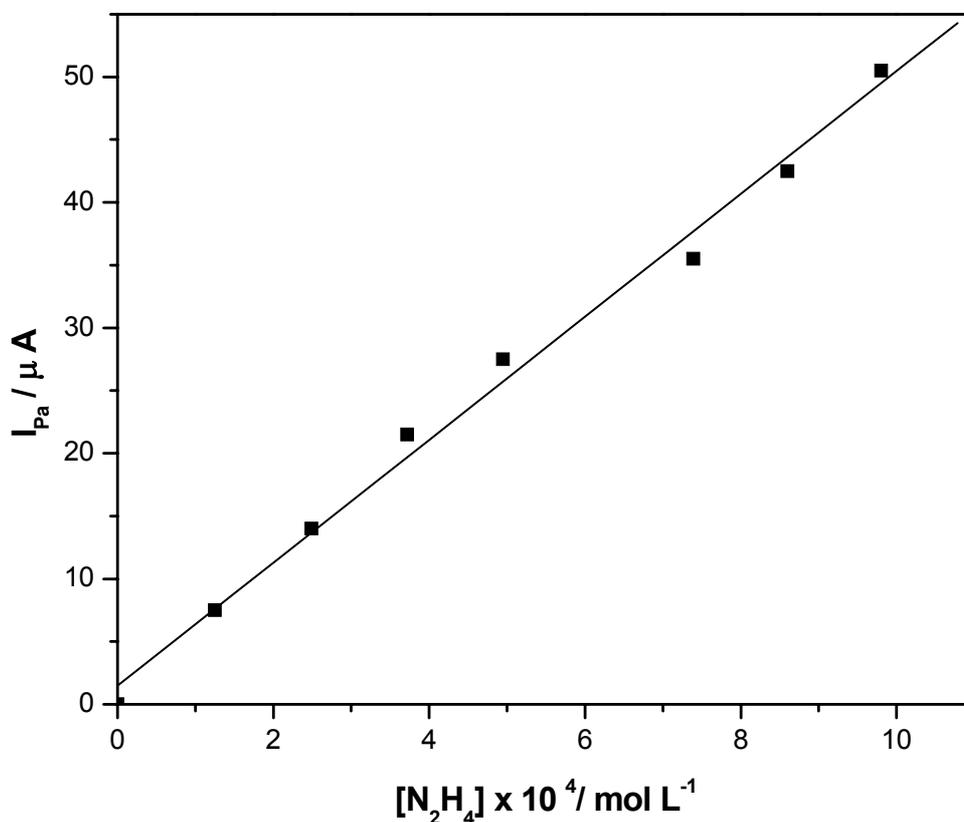


Figura 5.10 – Curva analítica empregando-se o EPC/CoPC em diferentes concentrações de hidrazina em NaOH 0,1 mol L⁻¹, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a 25 °C. Dados extraídos da Figura 5.9.

5.1.1.6 – Determinação de hidrazina em águas de caldeira

Objetivando-se avaliar o desempenho analítico do EPC/CoPc 20 %m/m, determinou-se o teor de hidrazina em águas de caldeiras. O método utilizado

para a determinação de hidrazina foi o da adição de padrão. Os anexos 1 e 2 mostram um dos voltamogramas obtidos para a determinação de hidrazina em águas de caldeiras e a curva obtida pelo método de adição padrão, respectivamente.

A Tabela 5.3 ilustra os resultados obtidos no estudo de adição e recuperação de hidrazina em triplicata para as três amostras de água de caldeira. Foram obtidas recuperações entre 92,0 % a 108 %, indicando assim que não houve efeito da matriz nessas determinações voltamétricas.

A Tabela 5.4 ilustra os resultados obtidos da determinação de hidrazina em três amostras de águas de caldeira (A, B e C), determinados pelo o método espectrofotométrico e voltamétrico (adição sucessiva de padrão). Aplicando-se o teste *t pareado*^{121,122}, ($t_{\text{exp}} = 1,73$ menor que o valor $t_{\text{critico}} = 4,30$), concluindo-se, portanto, que os resultados da determinação de hidrazina obtidos por voltametria cíclica e espectrofotometria não apresentaram diferenças significativas a um nível de confiança de 95% e um intervalo de erro relativo aceitável.

Tabela 5.3 – Estudo da adição e recuperação de hidrazina em águas de caldeira, usando o método voltamétrico.

HIDRAZINA (mol L⁻¹)

Amostras	Valor adicionado x 10 ⁴	Valor recuperado x 10 ⁴	Recuperação (%)
A	1,3	1,4±0,6	108
	2,5	2,4±0,4	96,0
	3,7	3,7±0,3	100
B	1,3	1,2±0,5	92,0
	2,5	2,6±0,5	104
	3,7	3,5±0,4	95,0
C	1,3	1,4±0,5	108
	2,5	2,5±0,4	100
	3,7	3,8±0,3	103

n = 3

Tabela 5.4 – Determinação de hidrazina em águas de caldeira usando o método espectrofotométrico e voltamétrico.

Amostras	Espectrofotométrico* UV-Visível x 10 ⁵ (mol L ⁻¹)	Voltamétrico VC x 10 ⁵ (mol L ⁻¹)	Er (%)
A	5,0±0,4	5,2±0,6	4
B	4,9±0,5	4,5±0,5	-8
C	4,8±0,3	4,4±0,4	-8

n = 3.

Er = erro relativo = método voltamétrico vs. Método espectrofotométrico

5.1.2 – Medidas por voltametria de pulso diferencial

A oxidação de hidrazina também foi estudada por voltametria de pulso diferencial. A Figura 5.11 ilustra os voltamogramas de pulso diferencial (DPV)

obtidos com o EPC não modificado (curva a e c) e modificado com ftalocianina de cobalto (curvas b e d) na ausência (curva a e b) e na presença de hidrazina 1×10^{-3} mol L⁻¹ em solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ (curva c e d), saturado com nitrogênio. Pode-se observar que o EPC (curva c) também não apresentou nenhuma onda voltamétrica no sentido anódico para a reação de oxidação de hidrazina, porém o EPC/CoPc (curva d) apresentou uma corrente de pico anódico considerável no potencial de pico de aproximadamente, -0,30 V vs Ag/AgCl. Esses resultados demonstram que o EPC/CoPc apresenta uma excelente eficiência na eletrooxidação de hidrazina em meio alcalino. Além disso, nenhum pico voltamétrico significativo, empregando-se EPC (curva a) e EPC/CoPc (curva b), foi observado na ausência de hidrazina. Estes dados estão em consonância com os obtidos por voltametria cíclica nas mesmas condições.

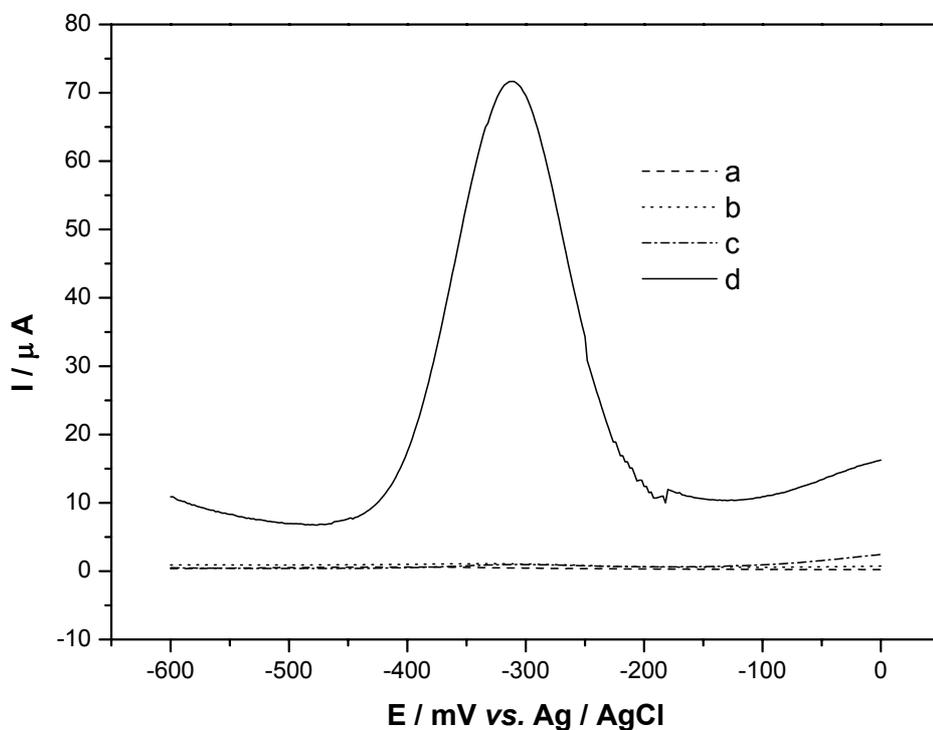


Figura 5.11 – Voltamogramas de pulso diferencial da hidrazina empregando-se o EPC (curvas a e c) e o EPC/CoPc (curvas b e d), na ausência (curvas a e b) e presença de N_2H_4 $1,0 \times 10^{-3}$ em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (curvas b e c), saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ e a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.1.2.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e pH sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para uma solução de hidrazina

A Figura 5.12 apresenta o efeito da composição da pasta de carbono contendo 70, 65, 55 e 45 %m/m de pó de grafite, 25 %m/m de parafina e 5, 10, 20 e 30 %m/m de CoPc, sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para uma solução de hidrazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 5 mV s^{-1} . Podem-se observar as mesmas considerações obtidas por voltametria cíclica, ou seja, o aumento do teor de 5 a 20 %m/m de CoPc na pasta de carbono levou a um aumento do sinal analítico. Para a composição contendo 30 %m/m de CoPc houve uma diminuição acentuada do sinal analítico devido, provavelmente, ao decréscimo da concentração de pó de grafite na pasta, que levou a um aumento acentuado de resistência elétrica do eletrodo¹¹⁶. Assim, para os estudos posteriores foi selecionado um EPC modificado com 20 %m/m de CoPc.

Estudou-se, também, o efeito do pH sobre o potencial de pico e corrente de pico para a oxidação de hidrazina sobre o EPC/CoPc no intervalo de pH entre 4 e 13 e os resultados estão apresentados na Figura 5.13. Pode-se observar que tanto o potencial de pico quanto a corrente de pico são dependentes do pH. Com a diminuição da concentração hidrogeniônica na solução, o potencial de pico apresentou um deslocamento de potencial para potenciais mais negativos e a magnitude das correntes de picos aumentou. Esses resultados estão em consonância com os apresentados por voltametria cíclica. Finalmente, completou-se esses estudos, determinando-se os teores de hidrazina em águas de caldeira em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 13).

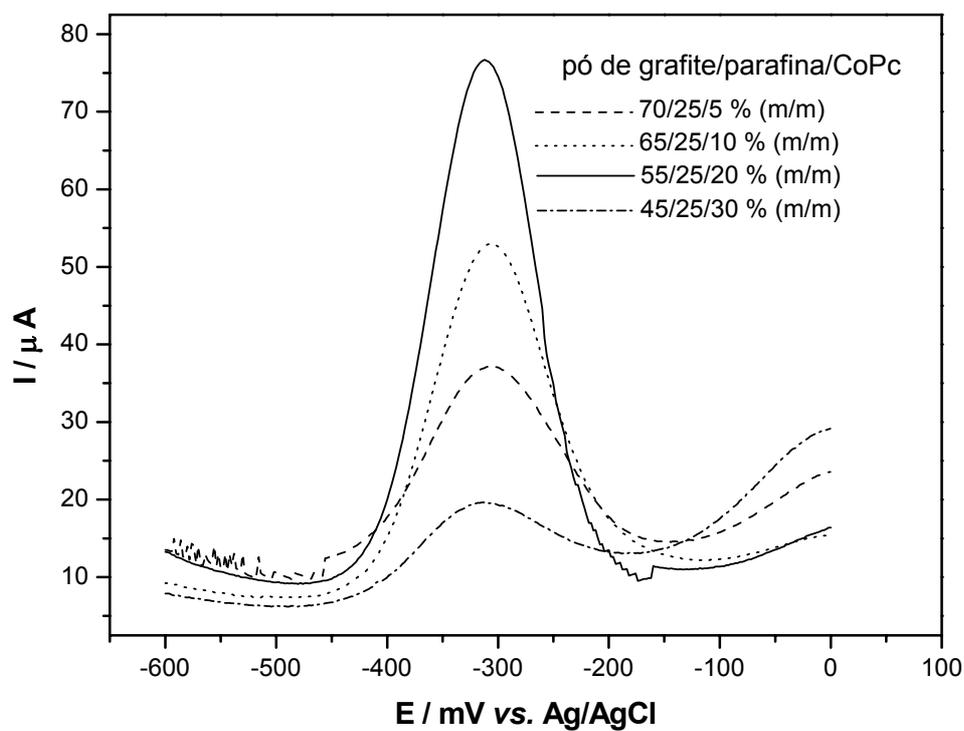


Figura 5.12 – Efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta DPV do EPC/CoPc para a solução de hidrazina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

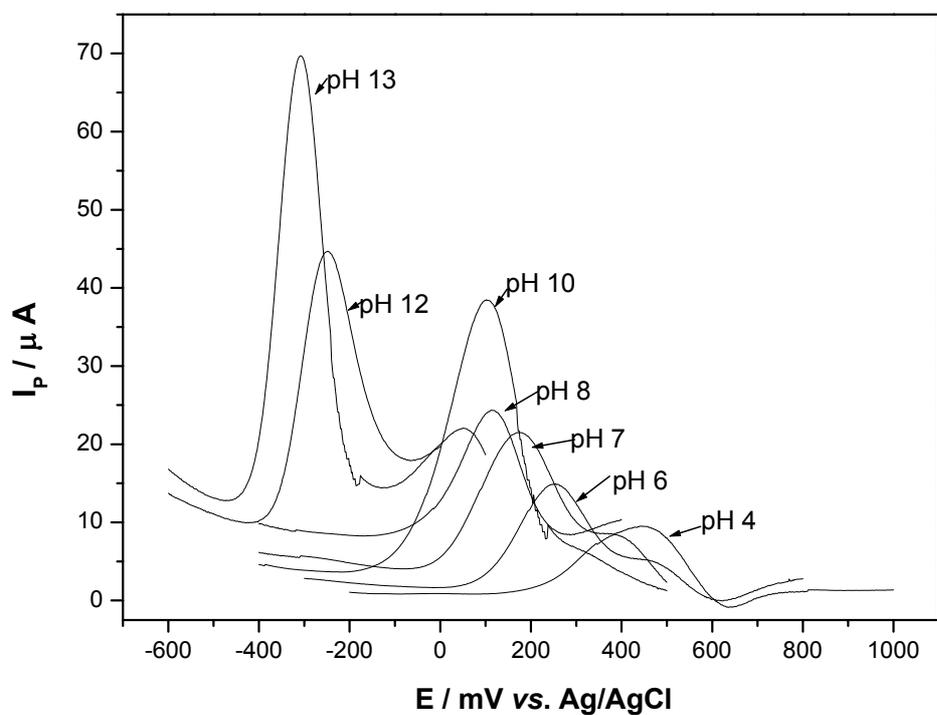


Figura 5.13 – Efeito do pH sobre a resposta DPV do EPC/CoPc para a solução de hidrazina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.1.2.2 – Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial e amplitude de pulso sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para uma solução de hidrazina

Estudou-se a dependência da corrente de pico e potencial de pico com a velocidade de varredura de potencial (v) e amplitude de pulso (Amp.). A Figura 5.14 ilustra a variação da corrente de pico com a velocidade de varredura de potencial. Pode-se observar que a corrente de pico aumenta com a diminuição da velocidade de varredura de potencial de 2,5 a 20 mVs^{-1} . Além disso, a velocidade de varredura de potencial pouco afeta o potencial de pico da oxidação de hidrazina sobre o EPC/CoPc.

A Figura 5.15 ilustra a influência da amplitude de pulso sobre a corrente de pico e potencial de pico para a reação de oxidação de N_2H_4 sobre o EPC/CoPc. A corrente de pico aumenta com o aumento da amplitude de pulso de 25 a 150 mV, além disso, pode-se observar um aumento na largura de pico, bem como um deslocamento de potencial de pico para potenciais mais negativos com o aumento da amplitude de pulso.

A partir dos resultados apresentados nas Fig. 5.14 e 5.15, optou-se em empregar sempre uma velocidade de varredura de potencial de 5 mVs^{-1} e amplitude de pulso de 100 mV nas medidas por voltametria de pulso diferencial por possibilitar a obtenção de voltamogramas bem definidos e mais estáveis, comparando-se com aqueles obtidos em outras velocidades de varredura de potencial.

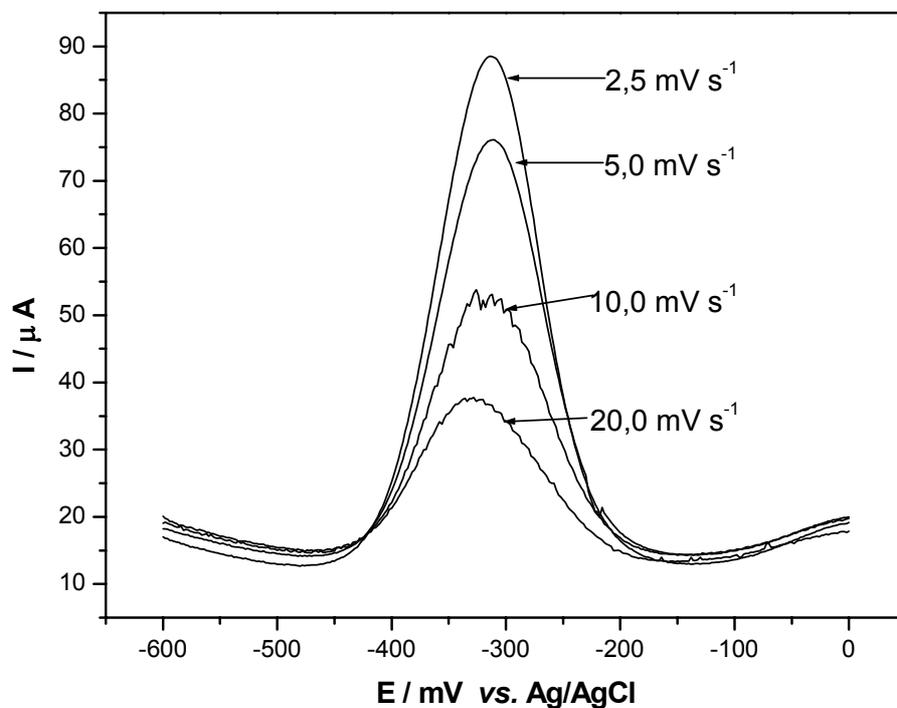


Figura 5.14 – Voltamogramas de pulso diferencial registrados em diferentes velocidades de varredura de potencial para a oxidação de hidrazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , empregando-se o EPC/CoPc, amplitude de pulso de 100 mV a 25 $^{\circ}\text{C}$.

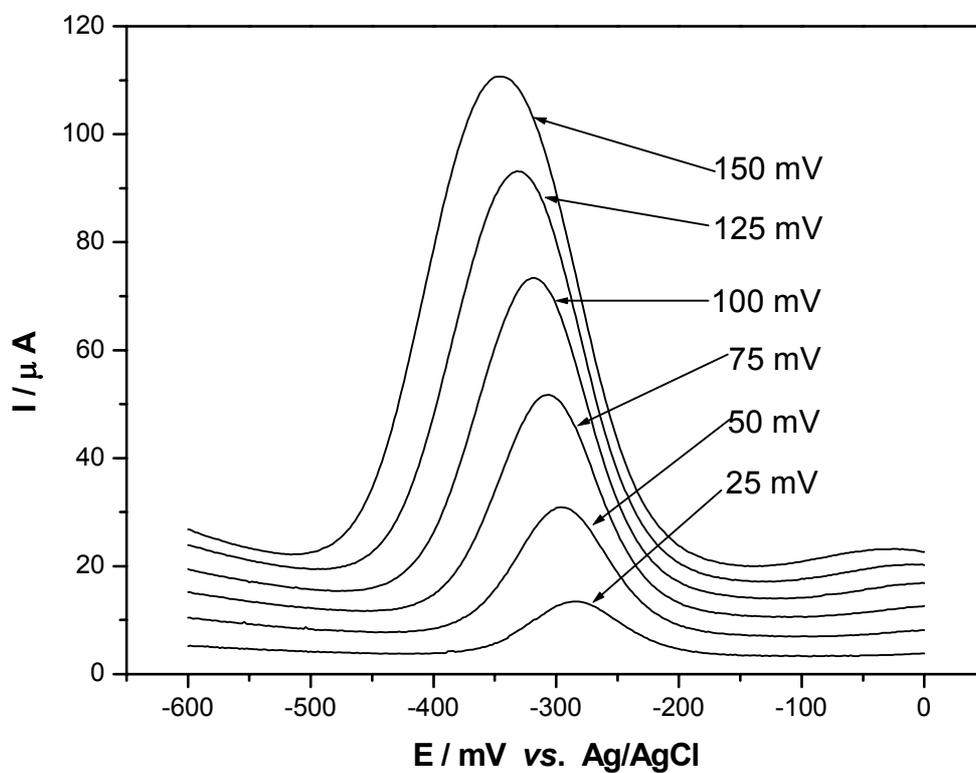


Figura 5.15 – Voltamogramas de pulso diferencial registrada em diferentes amplitudes de pulso para a oxidação de hidrazina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , empregando-se o EPC/CoPc, $\nu = 5 \text{ mVs}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.1.2.3 – Estudo da repetibilidade do EPC/CoPc

No estudo da repetibilidade do EPC/CoPc empregou-se uma solução NaOH 0,1 mol L⁻¹ contendo N₂H₄ 1,0x10⁻³ mol L⁻¹, saturada com nitrogênio. Para cada medida voltamétrica de pulso diferencial (DPV), a superfície do eletrodo era renovada eletroquimicamente, ciclando o potencial do eletrodo no intervalo de potencial de -1 a -0,6 V, antes de cada medida de DPV, a fim de remover possíveis espécies adsorvidas na superfície do eletrodo. A Tabela 5.5 apresenta os valores de correntes de pico anódica (I_{pa}) e potencial de pico anódico (E_{pa}) para 10 voltamogramas de pulso diferencial do EPC/CoPc na presença de N₂H₄ 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ em NaOH 0,1 mol L⁻¹, empregando-se o EPC/CoPc. O valor de \bar{I}_{pa} e \bar{E}_{Pa} obtidos foram 63,1 ± 0,7 e 313,0 ± 0,7, respectivamente. Os desvios padrões relativos (RSD) obtidos foram 1,3% e 0,3%, respectivamente. Pode-se assim concluir que esse eletrodo (EPC/CoPc) apresentou boa repetibilidade a um nível de confiança de 95%.

Tabela 5.5 – Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc, em pH 13, contendo 1x10⁻³ mol L⁻¹ de N₂H₄ em NaOH 0,1 mol L⁻¹, saturado com N₂, amp. = 100 mV e v = 5 mV s⁻¹ a 25 °C.

Replicatas	I _{pa} / μA	E _{pa} (mV) vs. Ag/AgCl
1	63,6	312,0
2	63,3	312,0
3	62,6	313,0
4	62,1	313,0
5	64,1	312,0
6	63,8	313,0
7	63,5	313,0
8	62,9	314,0
9	62,9	314,0
10	61,7	314,0
	$\bar{I}_{pa} = 63,1 \pm 0,8$ RSD = 1,3%	$\bar{E}_{Pa} = 313,0 \pm 0,7$ RSD = 0,3%

5.1.2.4 – Curva analítica do EPC/CoPc

Após otimizar as melhores condições de trabalho do EPC/CoPc (20 %m/m CoPc, pH 13, Amp. = 100 mV e $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$), realizou-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de $-0,6$ a $0,0 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 13) contendo diferentes concentrações de hidrazina (Figura 5.16), a fim de se obter a curva analítica do eletrodo desenvolvido. A Figura 5.17 mostra a curva analítica obtida para o EPC modificado com 20 %m/m CoPC contendo diferentes concentrações de hidrazina ($5,0 \times 10^{-5}$ a $7,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). A equação da curva analítica obtida foi $I_{Pa} = 1,3 + 56046,3 [\text{N}_2\text{H}_4] \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $2,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

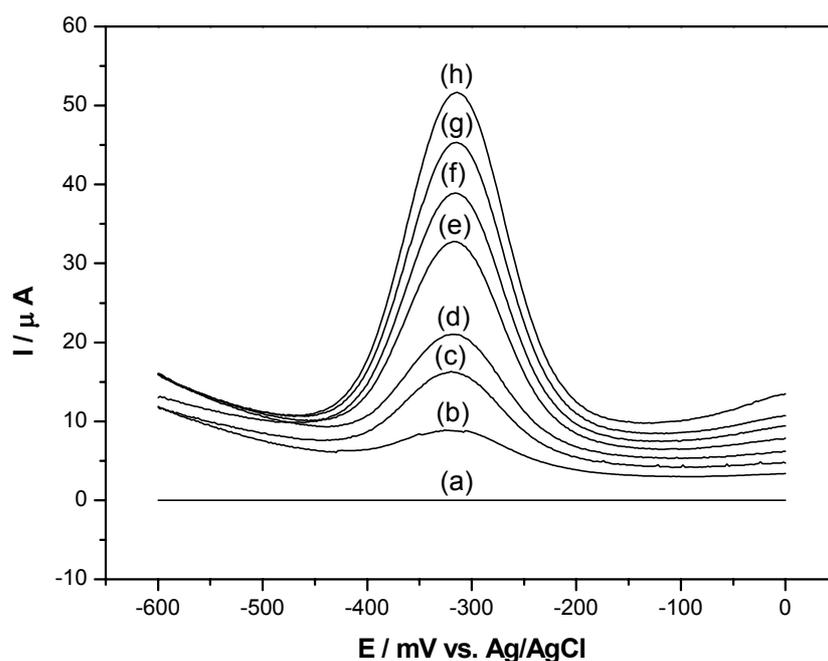


Figura 5.16 – Voltamogramas de pulso diferencial empregando-se o EPC/CoPC em diferentes concentrações de hidrazina ((a) $0,00$; (b) $1,25$; (c) $2,49$; (d) $3,72$; (e) $4,95$; (f) $7,39$; (g) $8,60$; (h) $9,80 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, saturado com N_2 , amp. = 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

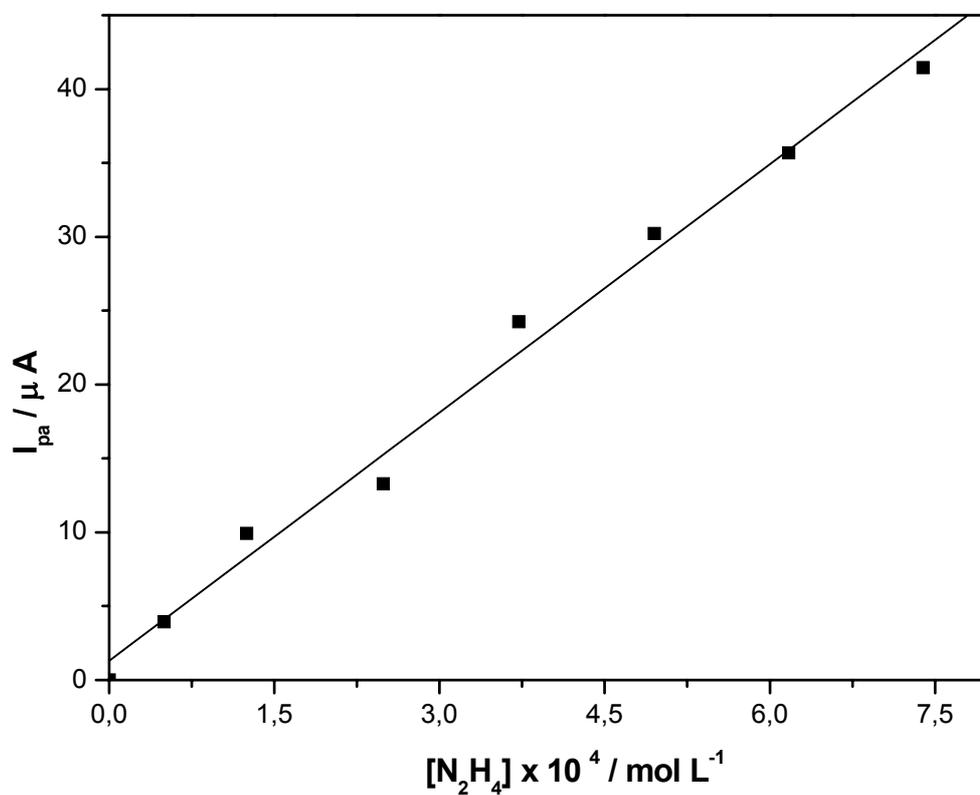


Figura 5.17 – Curva analítica empregando-se EPC/CoPc em diferentes concentrações de N₂H₄ em NaOH 0,1 mol L⁻¹, saturado com N₂, amp. = 100 mV e $\nu = 5 \text{ mV s}^{-1}$, a 25 °C. Dados extraídos da Figura 5.16.

5.1.2.5 – Determinação de hidrazina em águas de caldeira

Objetivando-se avaliar o desempenho analítico do EPC/CoPc 20%(m/m) por DPV, determinou-se o teor de hidrazina em águas de caldeira. O método utilizado para a determinação de hidrazina foi da adições sucessivas de padrão.

A Tabela 5.6 ilustra os resultados obtidos no estudo de adição e recuperação de hidrazina em triplicata para uma amostra de água de caldeira (A, B e C). Foram obtidas recuperações entre 92,0% a 108%, indicando assim que não houve efeito da matriz nessas determinações por voltametria de pulso diferencial.

A Tabela 5.7 ilustra os resultados obtidos da determinação de hidrazina em três amostras de águas de caldeira (A, B, e C), determinados empregando-se os métodos espectrofotométrico e o voltamétrico (adição sucessiva de padrão). Aplicando-se o teste *t pareado*^{121,122}, ($t_{exp.} = 1,32$ menor que o valor $t_{critico} = 4,30$), concluindo-se, portanto, que os resultados da determinação de hidrazina obtidos por voltametria cíclica e espectrofotométrico não apresentaram diferenças significativas com nível de confiança de 95%.

Tabela 5.6 – Estudo da adição e recuperação de hidrazina em águas de caldeira, usando o método voltamétrico.

HIDRAZINA (mol/L)			
Amostras	Valor adicionado x 10 ⁴	Valor recuperado x 10 ⁴	Recuperação (%)
A	1,3	1,2±0,2	92,0
	2,5	2,6±0,8	104
	3,7	3,6±0,5	97,0
B	1,3	1,4±0,5	108
	2,5	2,6±0,3	104
	3,7	3,7±0,8	100
C	1,3	1,4±0,5	108
	2,5	2,7±0,4	108
	3,7	3,5±0,6	95,0

n = 3

Tabela 5.7 – Determinação de hidrazina em águas de caldeiras usando o método espectrofotométrico e voltamétrico.

Amostras	Espectrofotométrico*	Voltamétrico	Er (%)
	UV-Visível x 10 ⁵ (mol L ⁻¹)	DPV x 10 ⁵ (mol L ⁻¹)	
A	5,0±0,4	5,1±0,6	+2,0
B	4,9±0,5	4,3±0,5	-12,2
C	4,8±0,3	4,5±0,4	-6,3

n = 3.

5.2 – Estudo do comportamento voltamétrico do EPC/CoPc na presença de dopamina

5.2.1 – Medidas ciclovoltamétricas

A Figura 5.18 apresenta os voltamogramas cíclicos para a oxidação de dopamina (DA) empregando-se o EPC (a e c) e o EPC/CoPc (b e d), na ausência (a e b) e presença (c e d) de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com nitrogênio. Observou-se que o ciclovoltamograma empregando-se o EPC (curva a) e EPC/CoPc (curva b), na ausência de dopamina não apresentaram nenhum pico significativo. Após a modificação do EPC com CoPc (curva d), a corrente de pico apresentou uma magnitude de corrente maior que aquela obtida empregando-se o EPC (curva c). Ademais, a presença de dois picos de oxidação (picos 1 e 4) e dois picos de redução (picos 2 e 3) foram observados. Esse mesmo comportamento foi observado por outros pesquisadores^{89,123}. Segundo esses autores, o pico de oxidação em 0,65 V (pico 1) é devido à oxidação da dopamina (A) a dopaminoquinona (B). O primeiro pico de redução em 0,15 V (pico 2) é atribuído à redução da dopaminoquinona (B) a dopamina (A) e o segundo pico de redução em -0,300 V (pico 3) é devido à redução da dopaminacromo (D) a leucodopaminocromo (C). Finalmente, o pico de oxidação em -0,225 V (pico 4) pode ser atribuído à oxidação da leucodopaminocromo (C) a dopaminacromo (D). A oxidação de dopamina (A) é um processo que envolve dois elétrons acompanhados da transferência de dois prótons formando a dopaminaquinona (B), que é oxidada quimicamente a leucodopaminocromo (C) e posteriormente a dopaminacromo (D) (processo eletroquímico). A Figura 5.19 mostra o esquema dessas reações.

A reação de oxidação de dopamina catalisada por ambos eletrodos apresenta característica de uma reação quase-reversível uma vez que o ΔE_p , ou seja, a diferença entre o potencial de pico anódico (0,65 V) e o potencial de pico catódico (0,15 V), é 500 mV. Esses resultados estão em consonância com aqueles obtidos por outros pesquisadores¹²⁴, empregando-se eletrodos de carbono vítreo modificados com hexacianoferrato de cobalto para o mesmo analito.

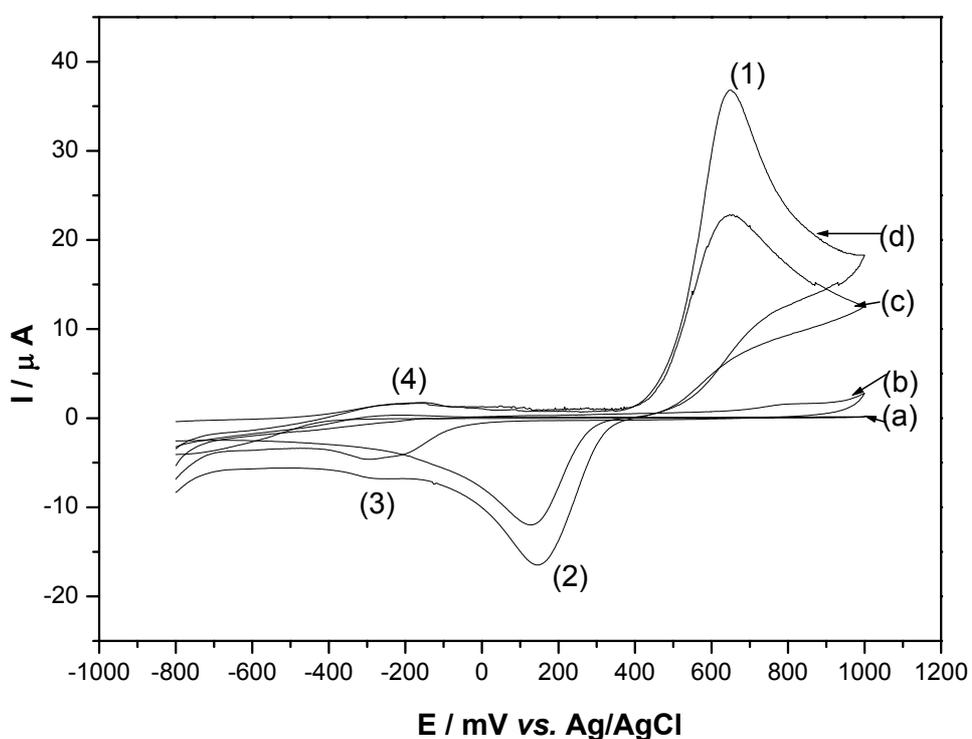


Figura 5.18 – Voltamogramas cíclicos da reação de oxidação de dopamina empregando-se o EPC (curvas a e c) e o EPC/CoPc (curvas b e d), na ausência (curvas a e b) e presença (curvas c e d) de DA $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0), saturada com nitrogênio. $v = 100$ mV s⁻¹ a 25 °C.

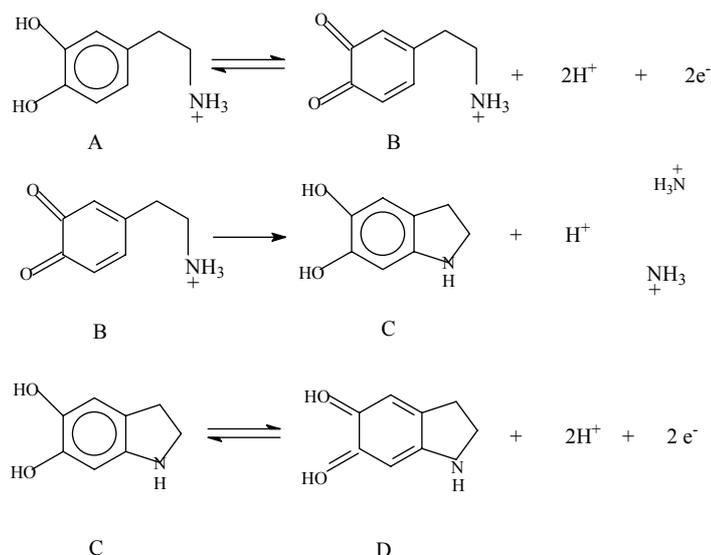


Figura 5.19 – Esquema da reação de oxidação da dopamina. Dados extraídos da referência 125.

5.2.1.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e do pH sobre a resposta voltamétrica do EPC modificado com CoPc

O efeito da composição da pasta de carbono contendo 70, 65, 55 e 45 %m/m de pó de grafite, 25 %m/m de parafina e 5, 10, 20 e 30 %m/m de CoPc, respectivamente, sobre a resposta voltamétrica dos EPC/CoPc para uma solução de dopamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sob uma velocidade 100 mV s^{-1} , saturada com N_2 , está apresentado na Figura 5.20. Pode-se observar que o aumento do teor de 5 a 20 %m/m de CoPc na pasta de carbono levou a um aumento do sinal analítico¹¹⁷. Para a composição contendo 30 %m/m de CoPc houve um decréscimo da corrente de pico devido ao aumento da resistência da pasta de carbono. Desta forma, para os estudos posteriores foi selecionado um EPC modificado com 20 %m/m de CoPc.

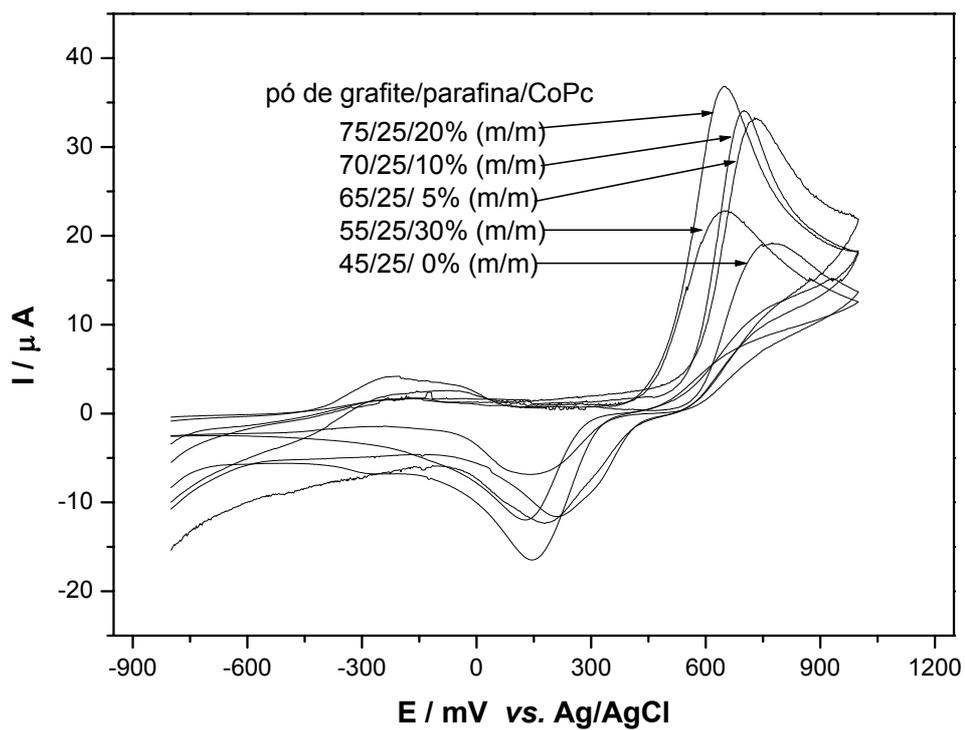


Figura 5.20 – Efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta ciclovoltagemétrica do EPC/CoPc para a solução de dopamina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4), $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, saturada com N_2 a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

A eficiência eletrocatalítica do EPC modificado com 20 %m/m de CoPc para reação de oxidação de DA foi estudada em função do pH no intervalo entre pH 2 e 13. A resposta voltamétrica variou com a concentração hidrogeniônica até o pH 7, obtendo-se magnitudes de correntes maiores no intervalo de pH de 2 - 4, e menores no intervalo de 4 - 7. Em valores de pHs maiores que 7, nenhum pico anódico ou catódico foi observado, no intervalo de potencial estudado, corroborando com o esquema apresentado na Figura 5.19. A Figura 5.21 apresenta os voltamogramas cíclicos para as diferentes soluções tampão empregadas. Pode-se observar que tanto a corrente de pico quanto o potencial de pico são dependentes do pH da solução. Com o aumento do pH da solução tampão, o potencial de pico anódico deslocou-se para potenciais mais negativos, aumentando-se o valor de ΔE_p . As maiores magnitudes de corrente foram observadas em pH 4, sendo esse pH selecionado para a determinação de dopamina em formulações farmacêuticas.

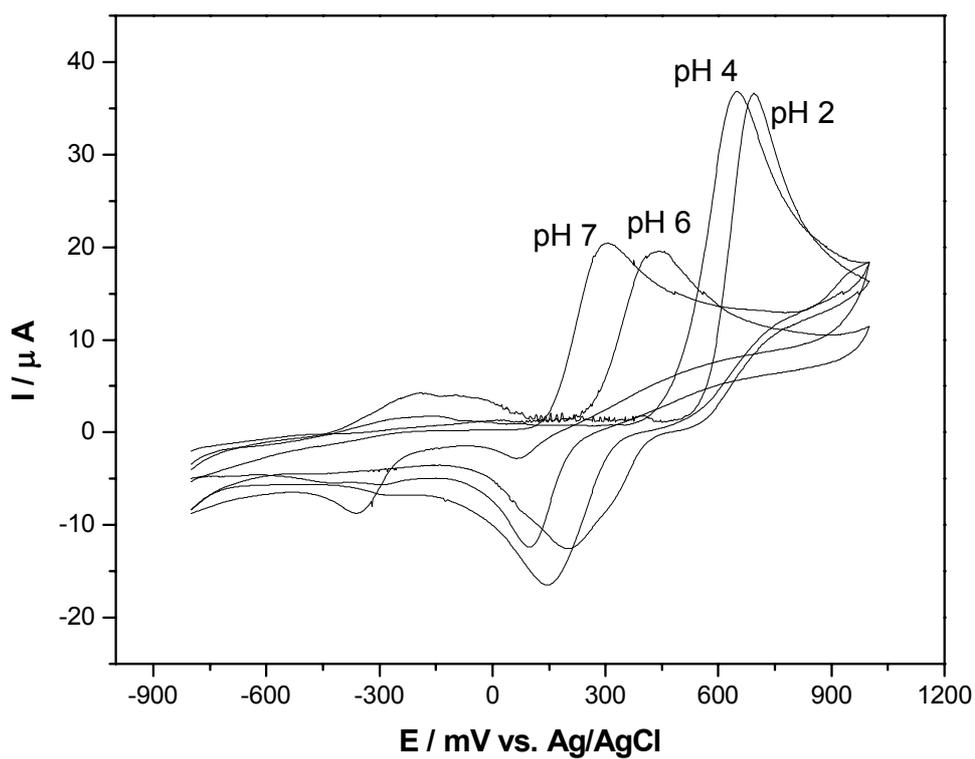


Figura 5.21 – Efeito da concentração hidrogeniônica sobre a resposta ciclovoltagemétrica do EPC/CoPc (20 %m/m) para a solução de dopamina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4), saturada com N_2 , $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a 25°C .

5.2.1.2 – Efeito da velocidade de varredura de potencial sobre a resposta voltamétrica do EPC/CoPc

Voltamogramas cíclicos registrados a diferentes velocidades de varreduras de potencial para a reação de oxidação de dopamina sobre EPC/CoPc em uma solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4) são apresentados na Figura 5.22.

A Figura 5.23 apresenta a dependência linear da corrente de pico (I_{pa}) com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ($v^{1/2}$). Essa característica indica que o processo eletroquímico possui um controle difusional¹²⁶⁻¹²⁸. A partir dos resultados apresentados na Figura 5.22, optou-se em usar sempre a velocidade de varredura de potencial de 100 mV s⁻¹ nas medidas voltamétricas do EPC/CoPc para a determinação de dopamina, por possibilitar a obtenção de voltamogramas com perfis bem definidos.

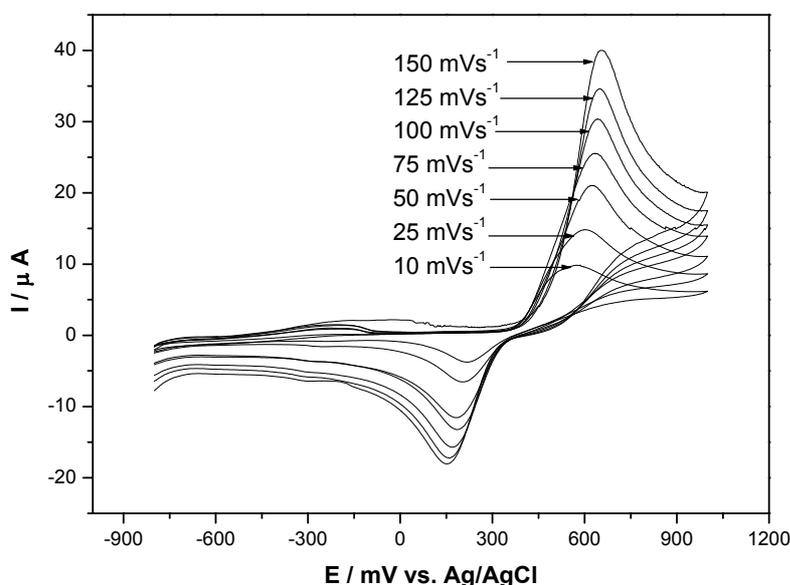


Figura 5.22 – Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes velocidades de varredura de potencial para a oxidação de DA sobre EPC/CoPc em solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4), saturada com N₂, a 25 °C.

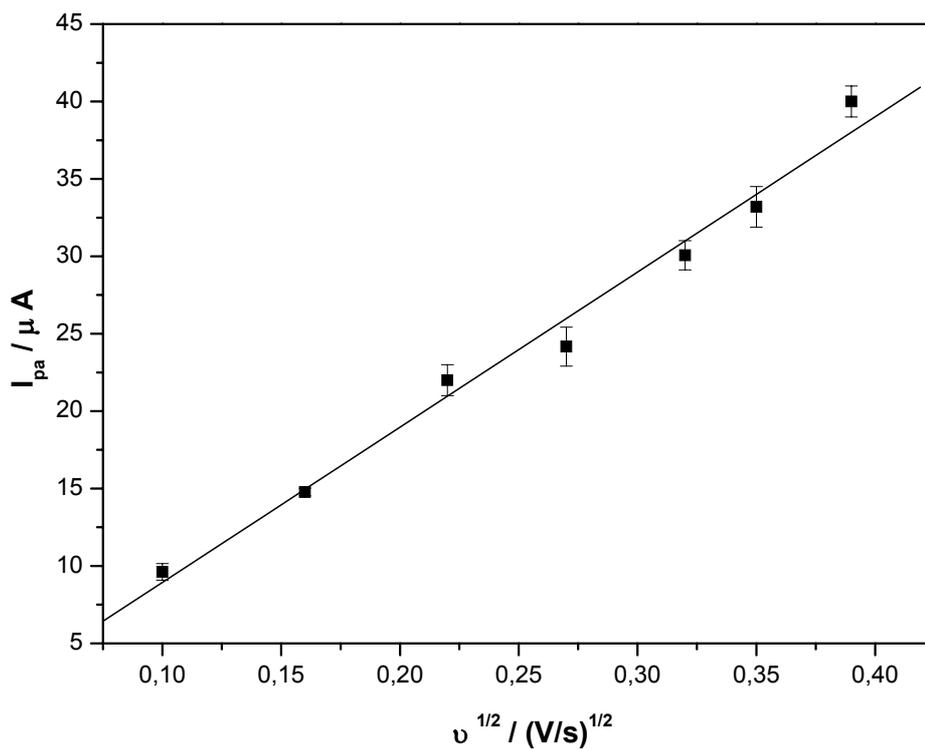


Figura 5.23 – Gráfico da dependência da corrente de pico (I_{pa}) com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ($v^{1/2}$) para a reação de oxidação de DA sobre o EPC/CoPc. Dados extraídos da Fig.5.22.

5.2.1.4 – Estudo da repetibilidade do EPC/CoPc

A repetibilidade da superfície do EPC/CoPc foi realizada em uma solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) contendo DA 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ para 10 determinações consecutivas. Todas as determinações foram estudadas com a mesma superfície do eletrodo, não sendo necessário renovar eletroquimicamente a superfície do mesmo, como mencionado anteriormente nas determinações de dopamina. A Tabela 5.8 apresenta os valores de correntes de pico anódica (I_{Pa}), potencial de pico anódico (E_{pa}), valores de \bar{I}_{Pa} e \bar{E}_{pa} e, os desvios padrões relativos (RSD) de I_{Pa} e E_{pa} obtidos. Os valores de \bar{I}_{Pa} e \bar{E}_{pa} obtidos foram $29,3 \pm 0,5$ e 644 ± 2 , com RSDs de 2,3% e 0,5%, respectivamente. O eletrodo apresentou uma boa repetibilidade com um desvio padrão relativo aceitável e um nível de confiança de 95%.

O estudo da repetibilidade entre três eletrodos de EPC/CoPc foi realizado empregando-se solução de DA 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ em soluções tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0). Para cada medida voltamétrica, com cada eletrodo, a superfície do mesmo era renovada mecanicamente com auxílio de uma folha de papel sulfite. A Tabela 5.9 apresenta os valores de I_{pa} , da oxidação de DA sobre o EPC/CoPc, bem como, o valor \bar{I}_{pa} . De acordo com a análise de variância^{121,122} (ANOVA) calculou-se os valores das médias das correntes de pico das distintas superfícies do EPC/CoPc apresentavam diferenças significativas. O valor calculado de F_{exp} foi de 0,401 menor que o valor de $F_{critico}$ igual a 3,885. Portanto, os valores das correntes de pico dos distintos eletrodos não apresentaram diferenças significativas, logo o EPC/CoPc apresentou boa repetibilidade entre os eletrodos construídos, a um nível de confiança de 95%.

Tabela 5.8 – Estudo da repetibilidade sobre a resposta ciclovoltagemétrica da superfície do EPC/CoPc para uma solução DA 1×10^{-3} mol L⁻¹ em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4), saturado com N₂, $v = 100$ mV s⁻¹ a 25 °C.

Replicatas	$I_{pa} / \mu A$	E_{pa} (mV) vs. Ag/AgCl
1	30,2	638
2	29,9	642
3	29,9	642
4	29,8	644
5	29,8	646
6	28,8	646
7	28,8	644
8	28,7	646
9	28,7	646
10	28,5	644
	$\bar{I}_{pa} = 29,3 \pm 0,5$	$\bar{E}_{pa} = 644 \pm 2$
	RSD = 2,3%	RSD = 0,5%

Tabela 5.9 – Estudo da repetibilidade entre eletrodos para uma solução DA 1×10^{-3} mol L⁻¹ em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4), saturado com N₂, $v = 100$ mV s⁻¹ a 25 °C.

Eletrodos	$I_{pa} / \mu A$			$\bar{I}_{pa} / \mu A$		
1	30,2	30,0	30,0	29,9	29,9	30,0
2	30,2	29,9	29,9	29,9	29,8	29,9
3	30,2	29,9	29,9	29,8	29,8	29,9

Estimativa da variância total entre superfícies $S_e^2 = 0,009$ com 2 graus de liberdade
 Estimativa da variância total entre as medidas do eletrodo $S_d^2 = 0,022$ com 12 graus de liberdade

$$F_{exp.} = S_e^2 / S_d^2 = 0,401 < F_{crítico} = 3,885 \text{ (95\% de confiança)}$$

5.2.1.5 – Curva analítica para EPC/CoPc

A pós otimizar as melhores condições experimentais, quais sejam a composição da pasta do EPC/CoPc em 20 %m/m de CoPc, pH 4 e $v = 100 \text{ mVs}^{-1}$, realizaram-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de $-0,8$ a $1,0 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4) contendo diferentes concentrações de DA (Figura 5.24), a fim de se obter a curva analítica do eletrodo desenvolvido. A Figura 5.25 mostra a curva analítica para dopamina obtida empregando-se o EPC/CoPC. A equação da curva analítica obtida foi $I_{Pa} = 0,38 + 38204,67 [\text{DA}] \text{ mol L}^{-1}$ para um intervalo de concentração de DA de $1,3 \times 10^{-5}$ a $2,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

5.2.1.6 – Resposta relativa (%) do EPC/CoPc para algumas catecolaminas em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0).

A resposta voltamétrica relativa (%) para as catecolaminas: dopamina, adrenalina, L-dopa e dipirona foram inicialmente determinadas (obtidas). Os ciclovoltamogramas no intervalo de potencial de $-1,0 \text{ V}$ a $1,0 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ em pH 4,0 contendo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de cada substâncias estão representadas na Figura 5.26. As respostas relativas obtidas estão apresentadas na Tabela 5.10. Os valores das respostas (%) foram calculados em relação à resposta de dopamina como sendo 100%. Como pode ser observado, o EPC/CoPc apresentou maiores respostas relativas (%) para dopamina, sendo assim selecionada para ser determinada em amostras farmacêuticas.

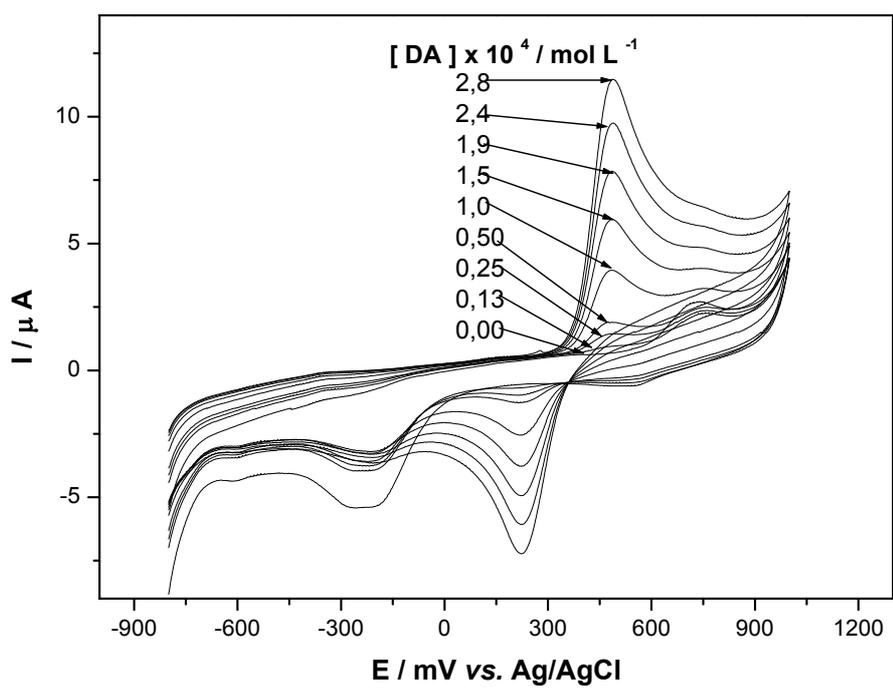


Figura 5.24 – Voltamogramas cíclicos obtidos com EPC/CoPC em diferentes concentrações de dopamina em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4), saturado com N_2 , $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

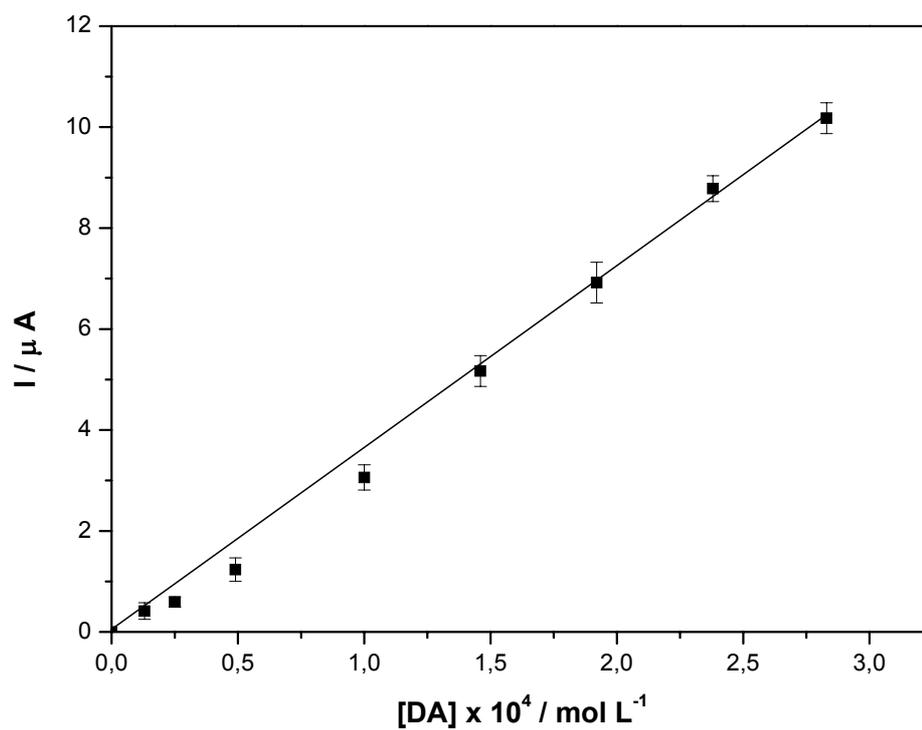


Figura 5.25 – Curva analítica empregando-se o EPC/CoPC em diferentes concentrações de dopamina em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0), $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a 25 °C. Dados extraídos da Figura 5.24.

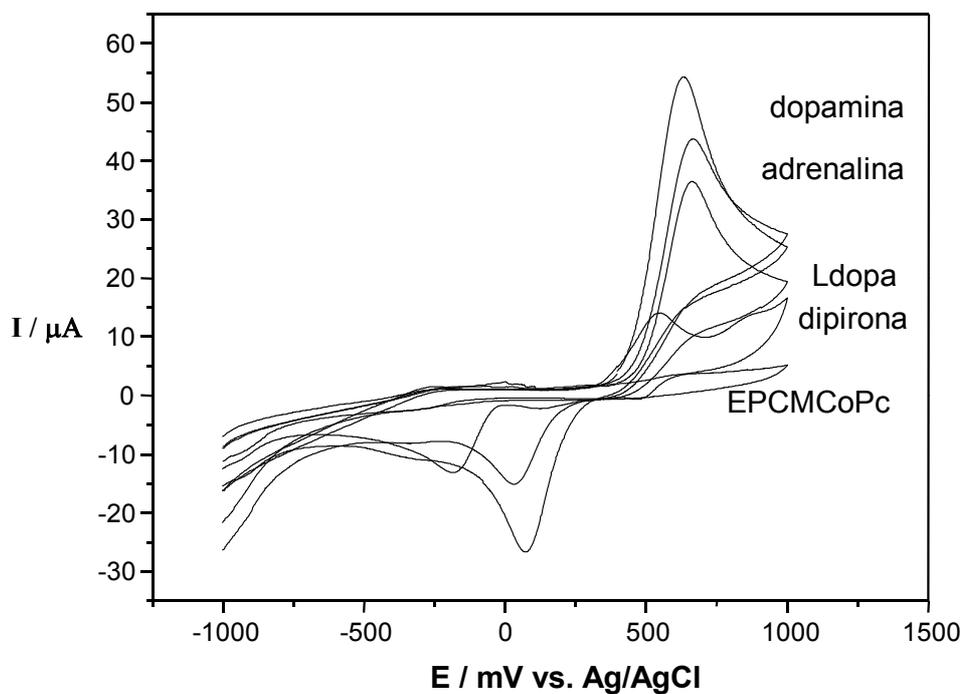


Figura 5.26 – Voltamogramas cíclicos sobre o EPC/CoPc para diferentes substâncias, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabela 5.10 – Resposta relativa (%) do EPC/CoPC para diferentes substâncias

Compostos	Resposta relativa (%)
Dopamina	100,0
Adrenalina	80,5
L-Dopa	67,2
Dipirona	27,4

5.2.1.7 – Determinação de dopamina em formulações farmacêuticas

Objetivando-se avaliar o desempenho analítico do EPC/CoPc, determinou-se o teor de dopamina em formulações farmacêuticas (ampolas de Revivan). O método utilizado para a determinação de dopamina foi de adição sucessivas de padrão. Os anexos 3 e 4 mostram um dos voltamogramas obtidos para a determinação de dopamina nas formulações e a curva obtida pelo método de adição padrão, respectivamente. A Tabela 5.11 apresenta os resultados obtidos no estudo de adição e recuperação de dopamina em triplicata para três amostras de ampolas de Revivan. Foram obtidas recuperações entre 92,0% a 108 %, indicando assim que não houve efeito da matriz da amostra nessas determinações voltamétricas.

A Tabela 5.12 apresenta os teores de dopamina em ampolas de Revivan, determinados pelos métodos espectrofotométrico e voltamétrico (adição sucessiva de padrão). Aplicou-se o teste *t pareado* entre o método padrão e método proposto, ($t_{exp} = 0,84$ menor que o valor $t_{critico} = 2,77$). Como o $t_{exp}(0,84)$ é menor que o $t_{critico}(2,77)$ conclui-se que a resultados obtidos na determinação de dopamina por voltametria cíclica e espectrofotométrico não apresentaram diferenças significativas, com nível de confiança de 95% e dentro de um erro relativo aceitável.

Tabela 5.11 – Estudo da adição e recuperação de dopamina em ampolas de Revivan, usando o método voltamétrico.

Amostra	Valor		
	Adicionado x 10 ⁵	Encontrado x 10 ⁵	Recuperado (%)
1	2,5	2,3 ± 0,2	92,0
	5,0	4,9 ± 0,3	98,0
	7,5	7,5 ± 0,4	100%
2	2,5	2,7 ± 0,5	108%
	5,0	4,7 ± 0,7	94,0%
	7,5	7,3 ± 0,5	97,0%
3	2,5	2,6 ± 0,3	104%
	5,0	5,0 ± 0,2	100%
	7,5	7,4 ± 0,3	97,0%

n = 5

Tabela 5.12 – Determinação de dopamina em ampolas de Revivan usando o método espectrofotométrico e voltamétrico.

Amostras	Valor rotulado	Ampolas de Revivan (mg/L)			
		Espectrofotométrico	Voltamétrico	Er ₁ (%)	Er ₂ (%)
1	50	48,4±0,2	48,9±0,2	-2,2	1,0
2	50	50,6±0,1	50,9±0,2	1,8	0,6
3	50	50,4±0,2	51,5±0,4	3	2,2
4	50	51,1±0,1	51,3±0,2	2,6	0,4
5	50	50,7±0,2	49,9±0,3	-0,2	-1,6

n = 5

Er₁ = erro relativo = método voltamétrico vs. valor rotulado

Er₂ = erro relativo = método voltamétrico vs. método espectrofotométrico

5.2.2 – Medidas por voltametria de pulso diferencial

A determinação de dopamina também foi investigada por voltametria de pulso diferencial. A Figura 5.27 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial obtidos com o EPC não modificado e modificado com ftalocianina de cobalto (EPC/CoPc), em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) contendo dopamina 1x10⁻³ mol L⁻¹, saturado com nitrogênio, amplitude de pulso de 100 mV s⁻¹ e $v = 5$ mV s⁻¹.

Podem-se observar dois picos anódicos para a oxidação de dopamina sobre o EPC/CoPc, um pico intenso em potencial de 400 mV e outro de menor intensidade em 670 mV vs Ag/AgCl. O primeiro pico anódico (400 mV) pode ser devido à oxidação de dopamina a dopaminoquinona e o segundo pico de anódico, provavelmente, pode está associado ao processo redox do centro metálico da ftalocianina de cobalto, ou seja, Co(II)Pc/Co(III)Pc. Esse comportamento voltamétrico foi observado no estudo do efeito da composição da pasta sobre a resposta do eletrodo modificado. Quando se aumenta o teor de CoPc na pasta de carbono, há um aumento da magnitude do pico anódico em 670 mV (item 5.2.2.1).

A corrente de pico para a oxidação de dopamina sobre o EPC foi observada em 440 mV e após a modificação da superfície do EPC com CoPc, houve um deslocamento do potencial de pico para potenciais menos positivos (400 mV). Além disso, como pode ser observado, houve um aumento acentuado na magnitude de corrente de pico quando comparado com o EPC. Esses resultados indicam que o EPC/CoPc apresenta uma excelente eficiência na eletrooxidação de dopamina em meio ácido.

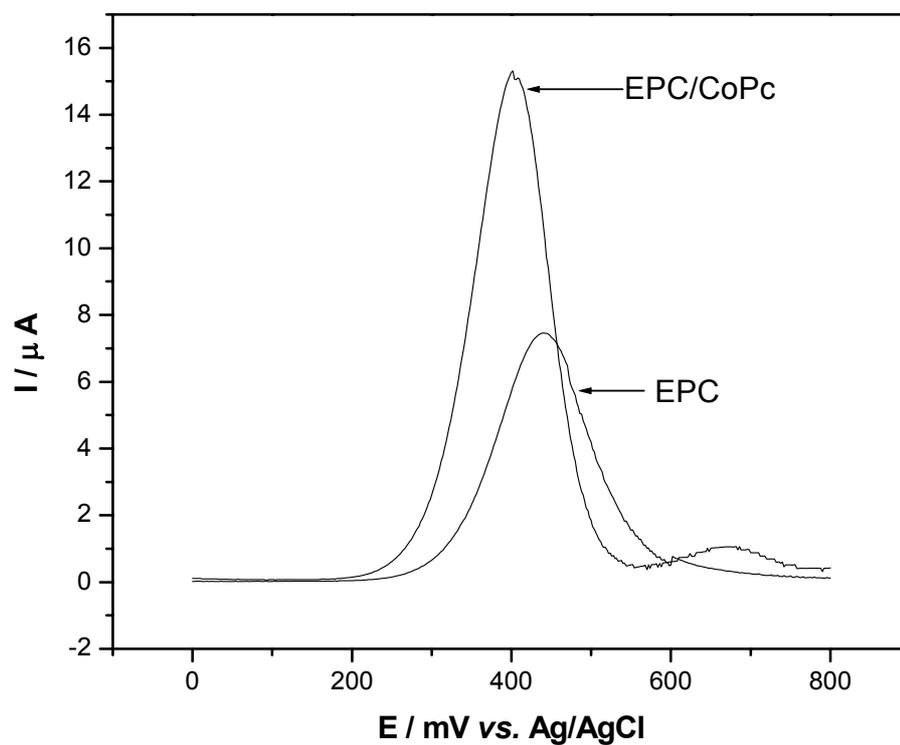


Figura 5.27 – Voltamogramas de pulso diferencial da reação de oxidação de DA sobre EPC e EPC/CoPc em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) contendo DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.2.2.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e do pH sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para uma solução de dopamina

A Figura 5.28 apresenta o efeito da composição da pasta de carbono contendo, 70, 65, 55 e 45 %m/m de pó de grafite, 25 %m/m de parafina e 5, 10, 20 e 30 %m/m de CoPc, sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para uma solução de dopamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 5 mV s^{-1} . Pode-se observar que o aumento do teor de 5 a 20 %m/m de CoPc na pasta de carbono levou a um aumento do sinal analítico. Para a composição contendo 30 %m/m de CoPc houve um decréscimo da corrente de pico devido ao aumento da resistência da pasta de carbono. Desta forma, para os estudos posteriores foi selecionado um EPC modificado com 20 %m/m de CoPc.

A dependência do pH sobre a resposta a EPC/CoPc na presença de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, também foi investigada. Os voltamogramas de pulso diferencial para a oxidação de DA sobre EPC/CoPc foi obtido no intervalo de pH entre 2 e 7 e os resultados estão apresentados na Figura 5.29. Pode-se observar que tanto o potencial de pico quanto a corrente de pico são dependentes do pH da solução. O potencial de pico apresentou um deslocamento de potencial para potenciais mais negativos com o aumento do valor de pH (diminuição da concentração hidrogeniônica), e a maior magnitude de corrente de pico anódica foi observada em pH 4,0, sendo menores nos valores extremos de pH. Comportamento semelhante para a oxidação de DA foi reportado por ZHAO *et al.*⁸⁹. Neste trabalho, o efeito do pH da solução sobre a oxidação de DA foi investigada no intervalo de pH entre 4,5 e

8,3. A corrente de pico anódica decresceu com o aumento no valor de pH devido a participação de 2 prótons no processo de oxidação.

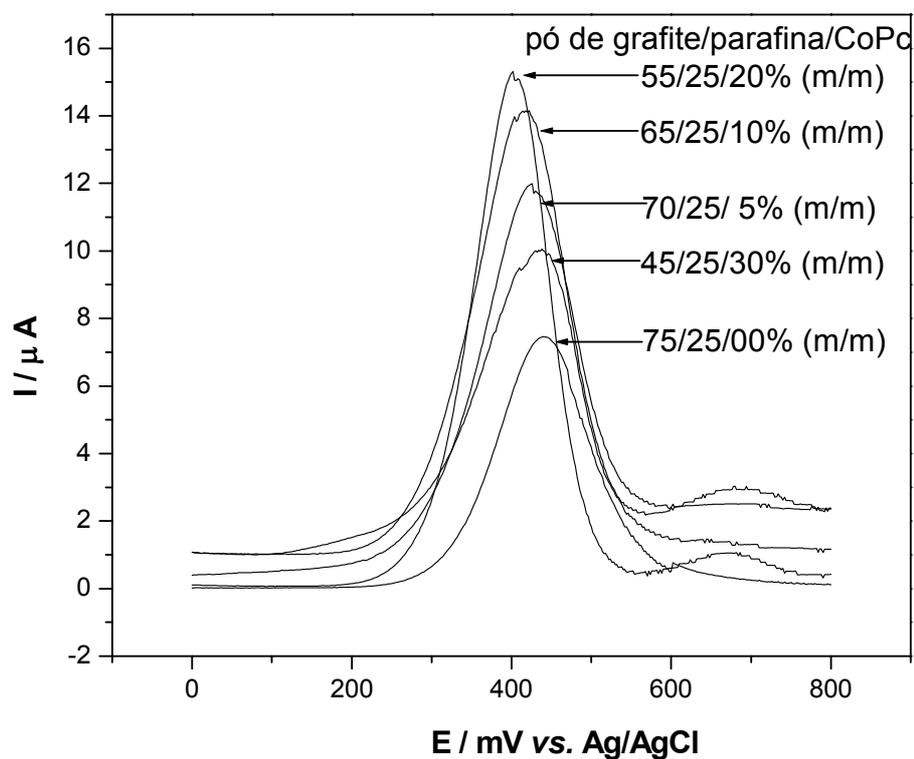


Figura 5.28 – Efeito do teor de CoPc na pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para a solução de DA $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

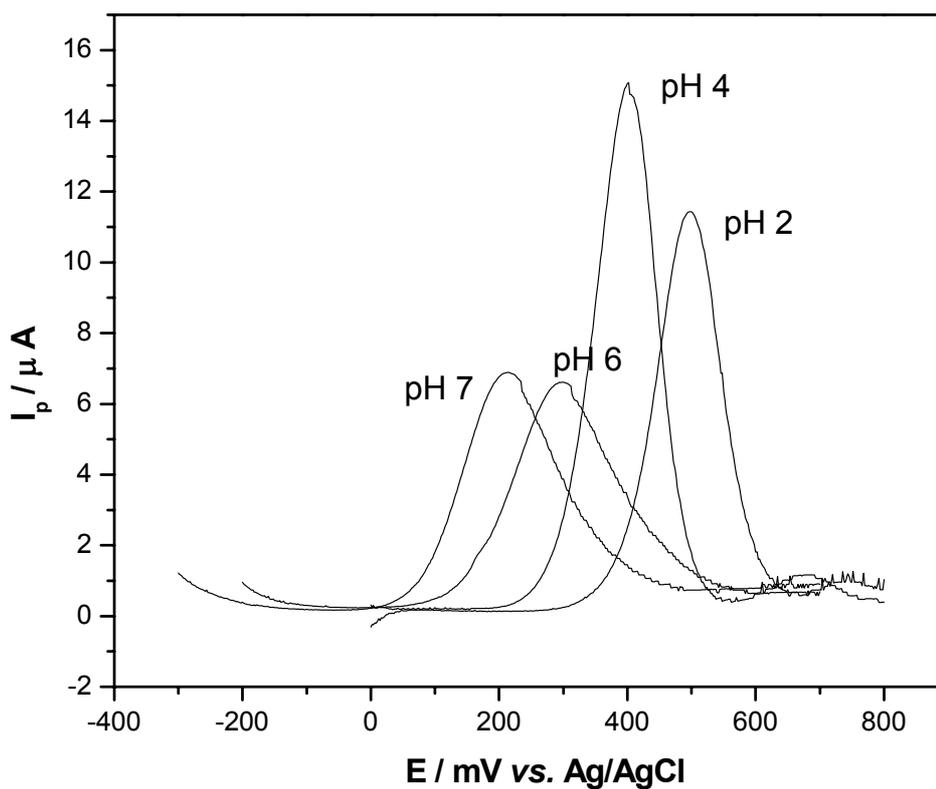


Figura 5.29 – Efeito do pH sobre a resposta DPV do EPC/CoPc para a solução de dopamina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.2.2.2. Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial e amplitude de pulso sobre resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para uma solução de dopamina

A corrente de pico é dependente da velocidade de varredura de potencial (v) e amplitude de pulso (Amp.). A Figura 5.30 apresenta a variação da corrente de pico anódica com a velocidade de varredura de potencial. Pode-se observar que a corrente de pico aumenta com a diminuição da velocidade de varredura de potencial de 5 a 20 mV s^{-1} . Além disso, a velocidade de varredura de potencial pouco afeta o potencial de pico da oxidação de dopamina sobre o EPC/CoPc.

A Figura 5.30 ilustra a influencia da amplitude de pulso sobre a corrente de pico e potencial de pico para a reação de oxidação de dopamina sobre o EPC/CoPc. Observa-se que a corrente de pico aumenta com o aumento da amplitude de pulso de 25 a 125 mV. Além disso, um aumento na largura de pico, bem como um deslocamento de potencial de pico para potenciais mais negativos foi observado.

A partir dos resultados apresentados nas Figuras 5.29 e 5.30, optou-se em usar sempre uma velocidade de varredura de potencial de 5 mV s^{-1} e amplitude de pulso de 100 mV nas medidas por voltametria de pulso diferencial do EPC/CoPc por possibilitar a obtenção de voltamogramas bem definidos e mais estáveis.

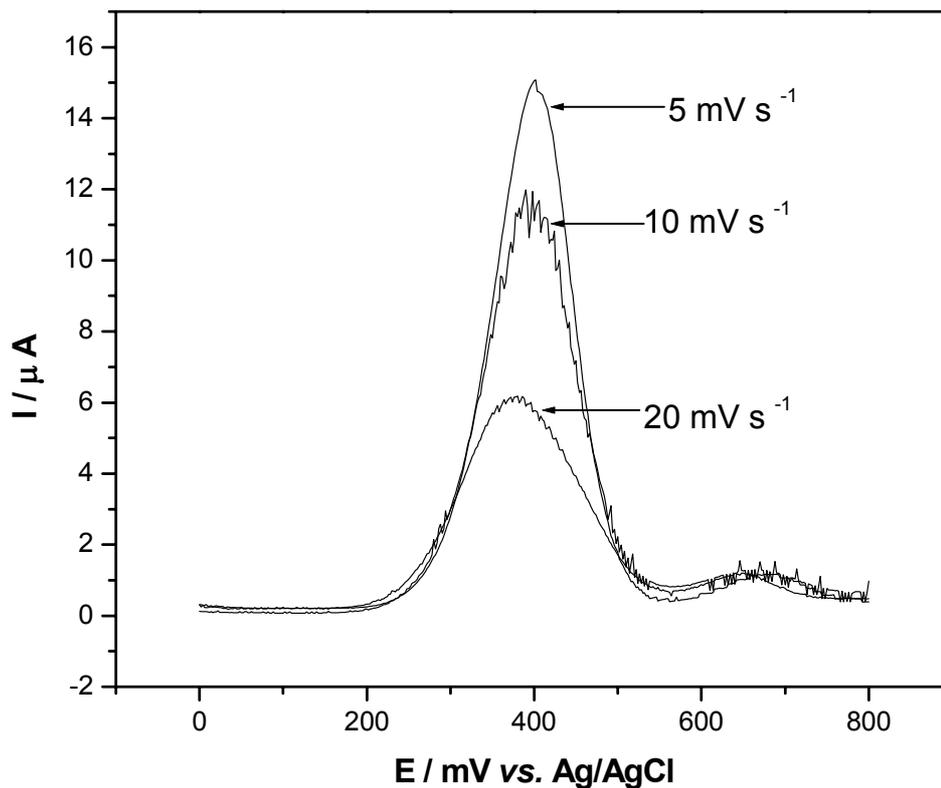


Figura 5.30 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes velocidades de varredura de potencial para uma solução de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 , empregando-se EPC/CoPc, amplitude de pulso de 100 mV a 25°C .

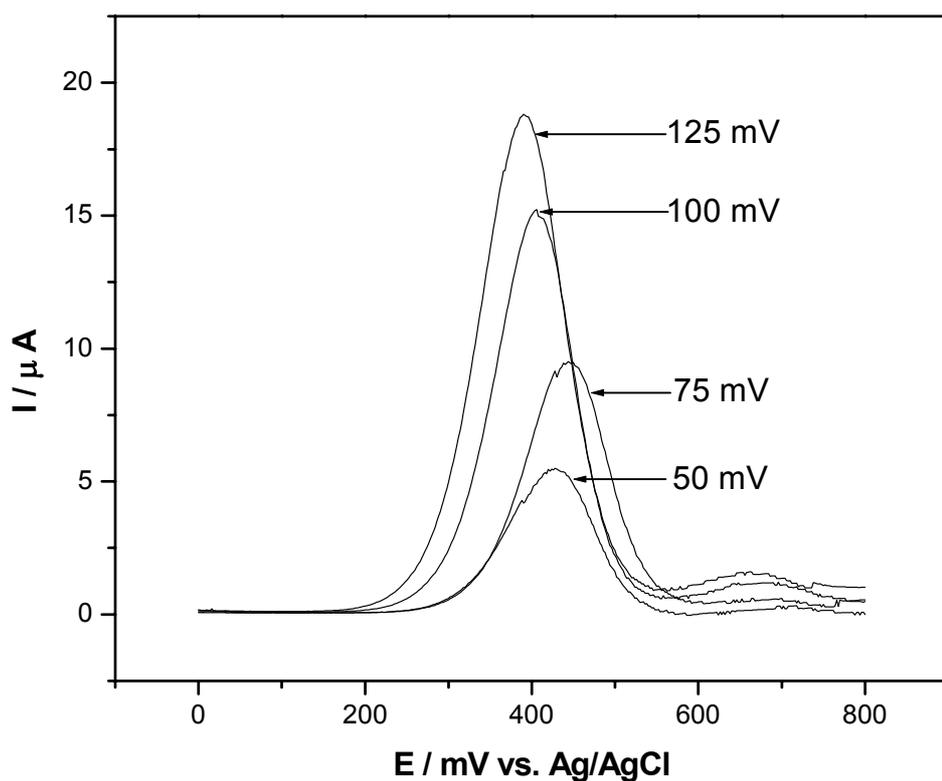


Figura 5.31 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes amplitudes de pulso 50; 75; 100 e 125 mV, para uma solução de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 , empregando-se EPC/CoPc, $\nu = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.2.2.3 Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc

Investigou-se a repetibilidade sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial (DPV) do EPC/CoPc para a solução de DA $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 . A Tabela 5.13 apresenta os valores de correntes de pico anódica (I_{pa}) e potencial de pico anódico (E_{pa}) para 10 voltamogramas de pulso diferencial do EPC/CoPc na presença de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 . Os valores \bar{I}_{pa} e \bar{E}_{pa} obtidos foram $(14,8 \pm 0,1) \mu\text{A}$ e $(409 \pm 2) \text{ V vs. Ag/AgCl}$, respectivamente e seus respectivos desvios padrões relativos (RSD) de 1,3% e 0,5%. Pode-se assim concluir que esse eletrodo (EPC/CoPc) apresentou boa repetibilidade a um nível de confiança de 95%.

Tabela 5.13 – Estudo da repetibilidade sobre a resposta DPV do EPC/CoPc para a solução de DA $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 , amp. = 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$

Replicatas	$I_{\text{pa}} / \mu\text{A}$	$E_{\text{pa}} \text{ (mV) vs. Ag/AgCl}$
1	15,2	406
2	15,0	406
3	15,0	408
4	14,6	408
5	14,9	409
6	14,8	410
7	14,8	410
8	14,7	410
9	14,7	412
10	14,6	412
	$\bar{I}_{\text{pa}} = 14,8 \pm 0,1$ RSD = 1,3%	$\bar{E}_{\text{pa}} = 409 \pm 2$ RSD = 0,5%

5.2.2.4. Curva analítica do EPC/CoPc

Após otimizar as melhores condições sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial (DPV) do EPC/CoPc (20% m/m, Amp. = 100 mV e $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$) para a solução de DA $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturada com N_2 , realizou-se medidas voltamétricas no intervalo de potencial de 0,0 a 0,8 V vs. Ag/AgCl em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) contendo diferentes concentrações de dopamina (Figura 5.32), a fim de se obter a curva analítica do eletrodo desenvolvido. A Figura 5.33 mostra a curva analítica obtida para o EPC/CoPC contendo diferentes concentrações de dopamina ($5,0 \times 10^{-6}$ a $9,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). A equação da curva analítica obtida foi $I_{Pa} = 0,01 + 21921,82 [\text{DA}] \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $1,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

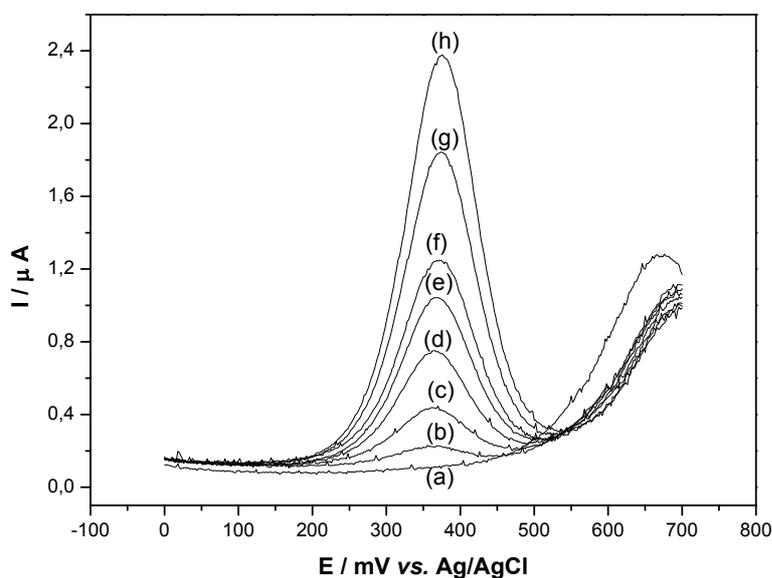


Figura 5.32 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidas com EPC/CoPC em diferentes concentrações de DA ((a) 0,0; (b) 0,5; (c) 1,3; (d) 2,5; (e) 3,7; (f) 5,0; (g) 7,4 e (h) $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), saturado com N_2 , amp. = 100 mV e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

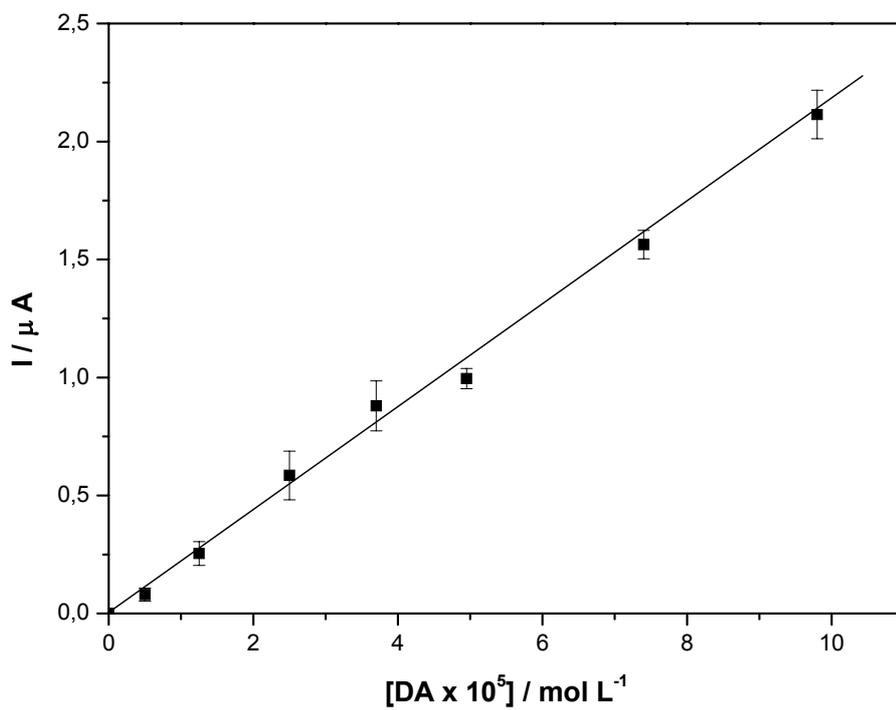


Figura 5.33 – Curva analítica para DA obtida com o EPC/CoPc, em pH 4,0, a 25 °C. Dados extraídos da Figura 5.32.

5.2.2.5. Determinação de dopamina em formulações farmacêuticas

Objetivando-se avaliar o desempenho analítico do EPC/CoPc, determinou-se o teor de dopamina em formulações farmacêuticas (ampolas de Revivan). O método utilizado para a determinação de dopamina foi o da adições sucessivas de padrão.

A Tabela 5.14 ilustra os resultados obtidos no estudo de adição e recuperação de dopamina em triplicata para três amostras de ampolas de Revivan. Foram obtidas recuperações entre 91% a 108 %, indicando assim que não houve efeito da matriz da amostra nessas determinações voltamétricas.

A Tabela 5.15 ilustra os resultados obtidos da determinação de dopamina em ampolas de Revivan, determinados pelos métodos espectrofotométrico e voltamétrico (adição sucessiva de padrão). Aplicando-se o *teste t pareado* entre o método padrão e método proposto, ($t_{exp} = 0,19$ menor que o valor $t_{critico} = 4,30$), portanto, os resultados da determinação de dopamina obtidos por voltametria de pulso diferencial e espectrofotométrico não apresentaram diferenças significativas, com nível de confiança de 95%, além disso, apresentam um intervalo de erro relativo aceitável.

Tabela 5.14 – Estudo da adição e recuperação de dopamina em ampolas de Revivan, usando o método voltamétrico.

Amostra	Valor		Valor Recuperado (%)
	Adicionado x 10 ⁵	Encontrado x 10 ⁵	
1	2,5	2,3 ± 0,1	92,0
	5,0	5,1 ± 0,1	102
	7,5	6,8 ± 0,2	91,0
2	2,5	2,7 ± 0,3	108
	5,0	4,9 ± 0,5	98,0
	7,5	7,2 ± 0,6	96,0
3	2,5	2,6 ± 0,7	104
	5,0	5,0 ± 0,2	100
	7,5	7,2 ± 0,1	96,0

n = 5

Tabela 5.15 – Determinação de dopamina em ampolas de Revivan usando o método espectrofotométrico e voltamétrico.

Amostras	Ampolas de Revivan (mg/L)				
	Valor rotulado	Espectrofotométrico	Voltamétrico	E ₁ (%)	E ₂ (%)
1	50	48,6±0,8	49,8±0,2	-0,4	2,4
2	50	51,5±0,5	52,4±0,2	4,8	1,7
3	50	52,8±0,3	51,2±0,1	5,6	-3,1

n = 5

E₁ = erro relativo = método voltamétrico vs. valor rotulado

E₂ = erro relativo = método voltamétrico vs. método espectrofotométrico

5.3 – Estudo do comportamento voltamétrico do EPC/CoPc na presença de vitamina B₁

5.3.1 – Medidas ciclovoltagemétricas

A Figura 5.34 mostra os voltamogramas cíclicos (CV) obtidos com o eletrodo de pasta de carbono, EPC (curvas a e c) e eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto, EPC/CoPc (curvas b e d) na ausência (curvas a e b) e na presença de tiamina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12 (curvas c e d). Pode-se observar que os ciclovoltagemogramas sobre o EPC (curva a) e EPC/CoPc (curva b), na ausência de tiamina, não apresentaram nenhum pico voltamétrico significativo. Entretanto, os ciclovoltagemogramas sobre o EPC (curva c) e EPC/CoPc (curva d), na presença de tiamina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de em solução tampão pH 12, apresentaram picos anódicos próximo a 0,45 e 0,00 V vs. Ag/AgCl, respectivamente, pode-se observar uma mudança de potencial para potenciais mais negativo quando o EPC/CoPc é empregado para a oxidação de tiamina, nas mesmas condições. Esse resultado indica que EPC/CoPc apresenta atividade electrocatalítica para oxidação de tiamina. A seguir estudar-se-ão a determinação de tiamina em formulações farmacêutica somente por voltametria de pulso diferencial.

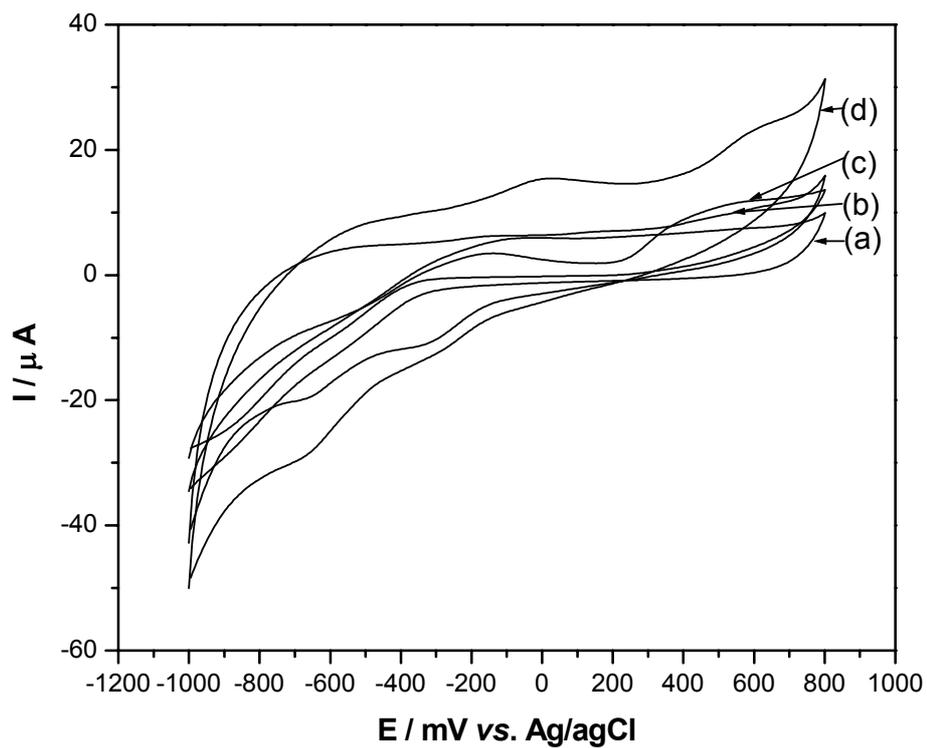


Figura 5.34 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o EPC (curvas a e c) e EPC/CoPc (curvas b e d) na ausência (curvas a e b) e na presença de tiamina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (curvas c e d) em de solução NaOH + Na_2HPO_4 (pH 12,0), v de 100 mV s^{-1} à $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.3.2 – Medidas voltamétrica de pulso diferencial

A determinação de tiamina foi investigada por voltametria de pulso diferencial (DPV). A Figura 5.35 ilustra os voltamogramas de pulso diferencial obtidos com o EPC (curvas a e c) e EPC/CoPc (curvas b e d), em solução tampão pH 12, na ausência (curvas a e b) e presença de tiamina $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (curvas c e d). Pode-se observar que os DPV sobre o EPC (curva a) e EPC/CoPc (curva b), na ausência de tiamina, não apresentaram nenhum pico voltamétrico significativo. Entretanto, os DPV obtidos sobre o EPC/CoPc, na presença de tiamina $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12 (curva d), apresentou um pico anódico, bem definido, em potenciais próximos a $-0,13 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, bem como um aumento acentuado na magnitude de corrente quando comparado com EPC não modificado (curva c), nas mesmas condições. Esses resultados indicam que EPC/CoPc apresenta excelente atividade eletrocatalítica para oxidação de tiamina.

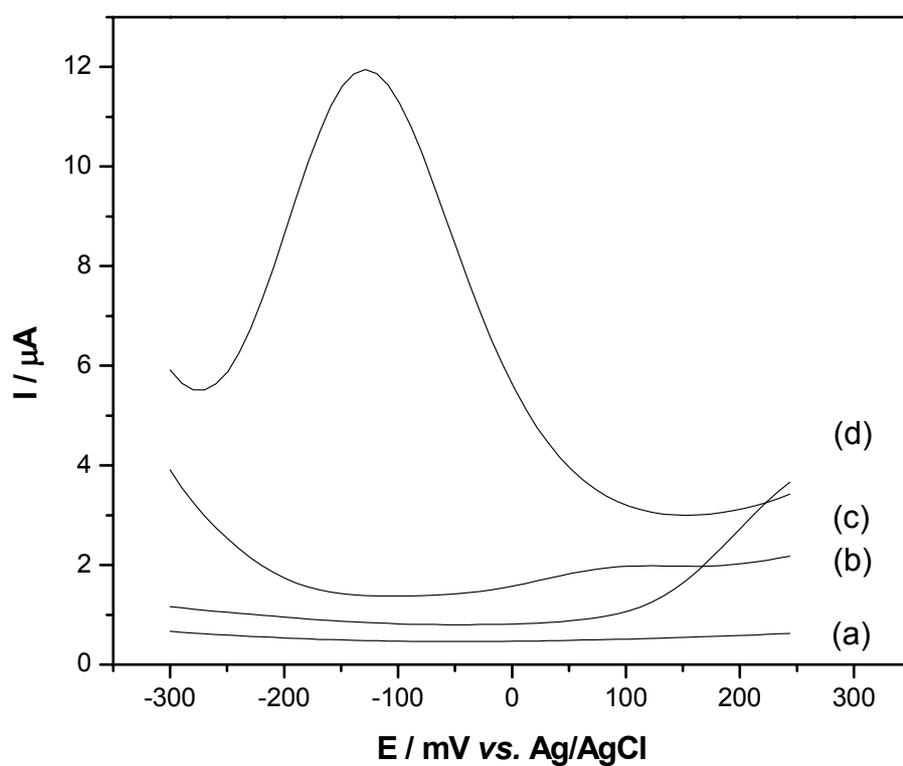


Figura 5.35 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com o EPC (a e c) e EPC/CoPc (b e d), em solução tampão pH 12, na ausência (a e b) e presença de tiamina $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (c e d). Amplitude de pulso 100 mV e velocidade de varredura de potencial 20 mV s^{-1} .

5.3.2.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e pH sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc

O efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica do eletrodo modificado foi avaliado em uma solução tampão pH 12 contendo tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. A Tabela 5.16 apresenta o efeito do teor de CoPc na pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para uma solução de tiamina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s^{-1} . Como pode ser observado, um aumento da concentração de 5 a 20 %m/m de CoPc na pasta levou a um aumento da corrente de pico anódico obtida de $2,4 \pm 0,3$ a $3,5 \pm 0,3 \text{ } \mu\text{A}$ até uma composição de 20 %m/m. Para concentrações superiores de CoPc na pasta, as correntes de pico decresceram, devido a um aumento da resistência ôhmica da pasta de carbono causado pela diminuição do teor de grafite na mesma¹²⁹. Sendo assim, para o desenvolvimento deste trabalho foi utilizado o EPC modificado com 20 %m/m de CoPc.

O efeito do pH, no intervalo de 4 a 13, sobre a resposta voltamétrica de um eletrodo de pasta de carbono modificado com CoPc 20 %m/m na presença de tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ também foi investigado e os resultados estão apresentados na Tabela 5.17 e Figura 5.36. Observou-se que somente no intervalo de pH 7 a 13, esse eletrodo apresentou resposta para oxidação de tiamina. Além disso, observou-se que tanto o potencial de pico quanto a corrente de pico são dependentes do pH. O potencial de pico apresentou um deslocamento de potencial para potenciais mais negativos e as correntes de pico anódicas aumentaram com o aumento do pH da solução tampão empregada como eletrólito suporte. Sendo assim selecionou-se o pH 12 para os estudos posteriores.

Tabela 5.16 – Efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica dos EPC/CoPc para a solução tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão (pH 12) sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s^{-1} .

Composição grafite/parafina/CoPc %m/m	I_{PA} (μA)	E_{PA} (mV)
70/25/5	$2,4 \pm 0,3$	-128 ± 1
65/25/10	$3,2 \pm 0,2$	-120 ± 1
55/25/20	$3,5 \pm 0,3$	-128 ± 1
45/25/30	$1,1 \pm 0,3$	-127 ± 1

n = 3

Tabela 5.17 – Efeito da concentração hidrogeniônica (pH) sobre a resposta voltamétrica do EPC/CoPc para a solução de tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s^{-1} .

pH	I_{PA} (μA)	E_{PA} (mV)
7	0,43	-350 ± 1
8	0,88	-328 ± 1
9	1,86	-378 ± 1
10	3,30	-148 ± 1
12	3,65	-128 ± 1
13	4,04	-128 ± 1

n = 3

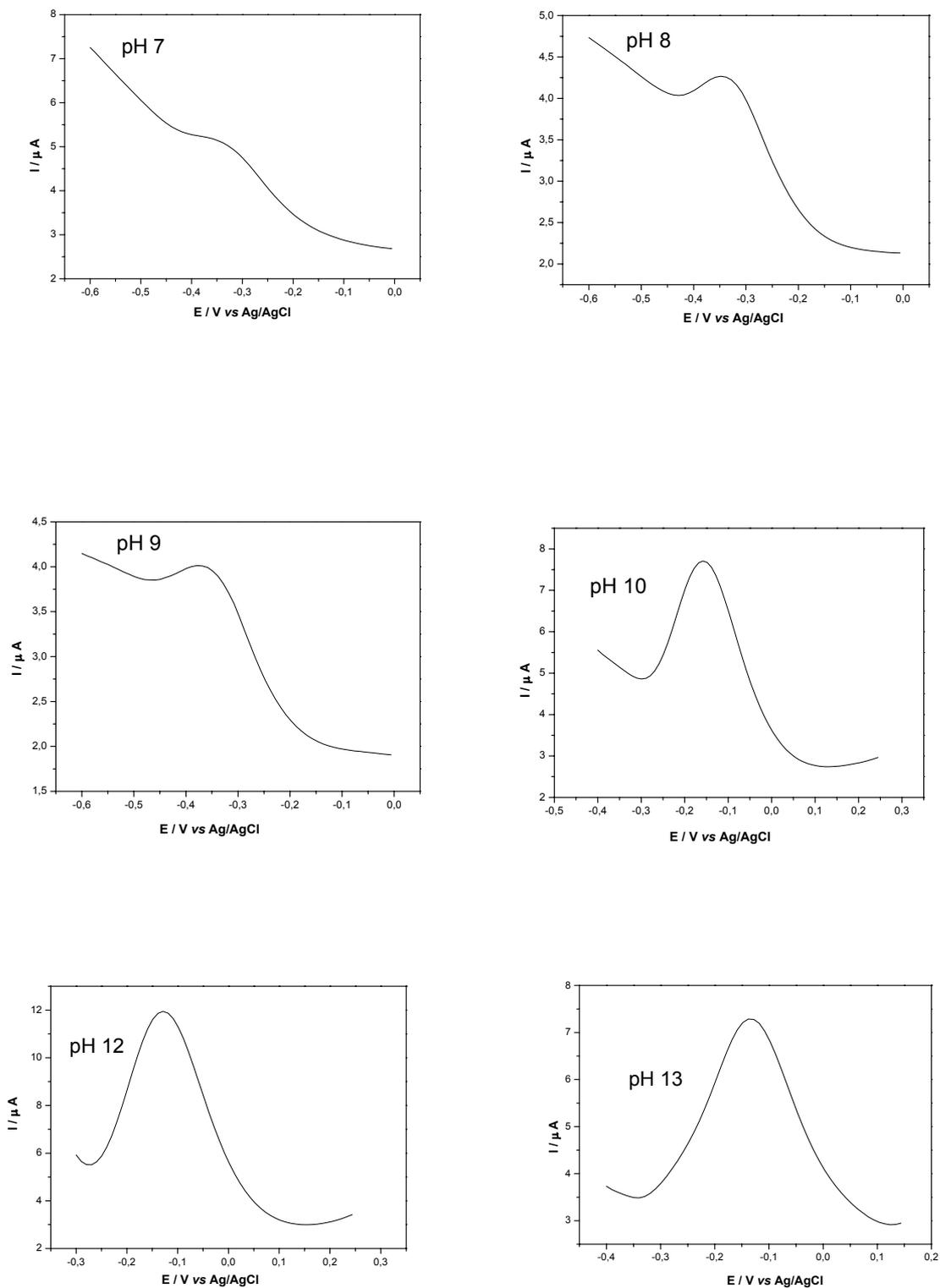


Figura 5.36 – Efeito da concentração hidrogeniônica (pH) sobre a resposta voltamétrica do EPC/CoPc para a solução de tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s^{-1} .

5.3.2.2 – Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial e amplitude de pulso sobre a corrente de pico da oxidação de tiamina sobre EPC/CoPc

A corrente de pico é dependente da velocidade de varredura de potencial (v) e amplitude de pulso (Amp.). A Figura 5.37 mostra a variação da corrente de pico com a velocidade de varredura de potencial. Pode-se observar que a corrente de pico aumenta com aumento da velocidade de varredura de potencial de 5 a 20 mV s^{-1} . Além disso, como pode ser observado a velocidade de varredura de potencial pouco afetou o potencial de pico de oxidação de tiamina sobre o EPC/CoPc.

A Figura 5.38 apresenta o efeito da amplitude de pulso sobre a corrente de pico e potencial de pico para a reação de oxidação de tiamina empregando-se o EPC/CoPc. Observou-se que a magnitude da corrente de pico aumentou com o aumento da amplitude de pulso de 25 a 125 mV. Além disso, um aumento na largura de pico, bem como um deslocamento de potencial de pico para potenciais mais negativos foram obtidos ao aumentar-se a amplitude de pulso de 25 a 125 mV.

A partir dos resultados apresentados nas Figs. 5.37 e 5.38, optou-se em trabalhar em uma velocidade de varredura de potencial de 20 mVs^{-1} e amplitude de pulso de 100 mV.

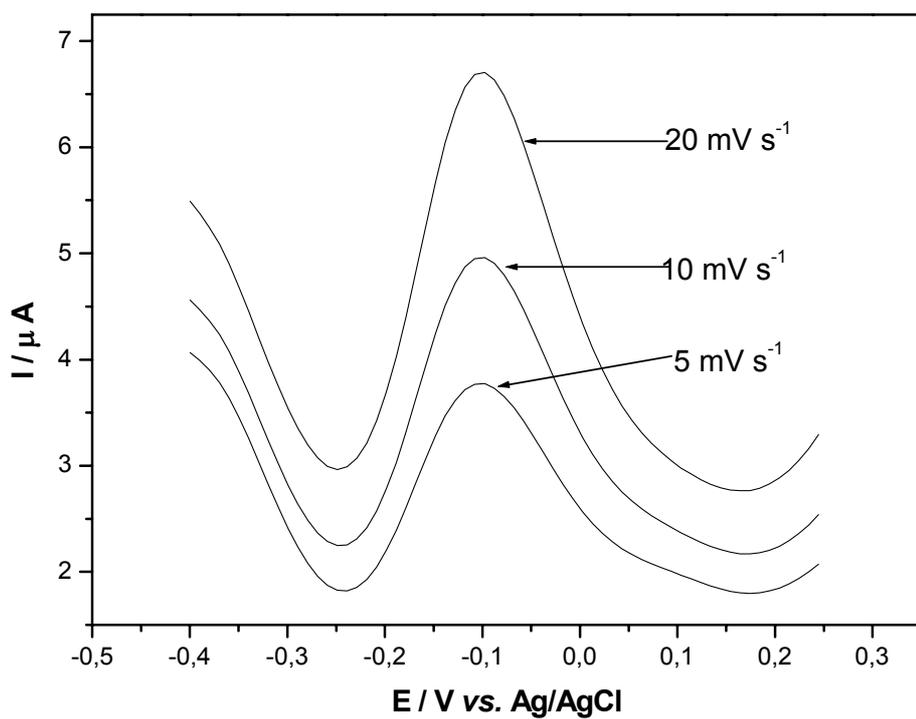


Figura 5.37 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes velocidades de varredura de potencial (5, 10 e 20 mVs⁻¹) para a oxidação de tiamina 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ empregando-se o EPC/CoPc(20%) em solução tampão pH 12,0, saturada com N₂, amplitude de pulso de 100 mV a 25 °C.

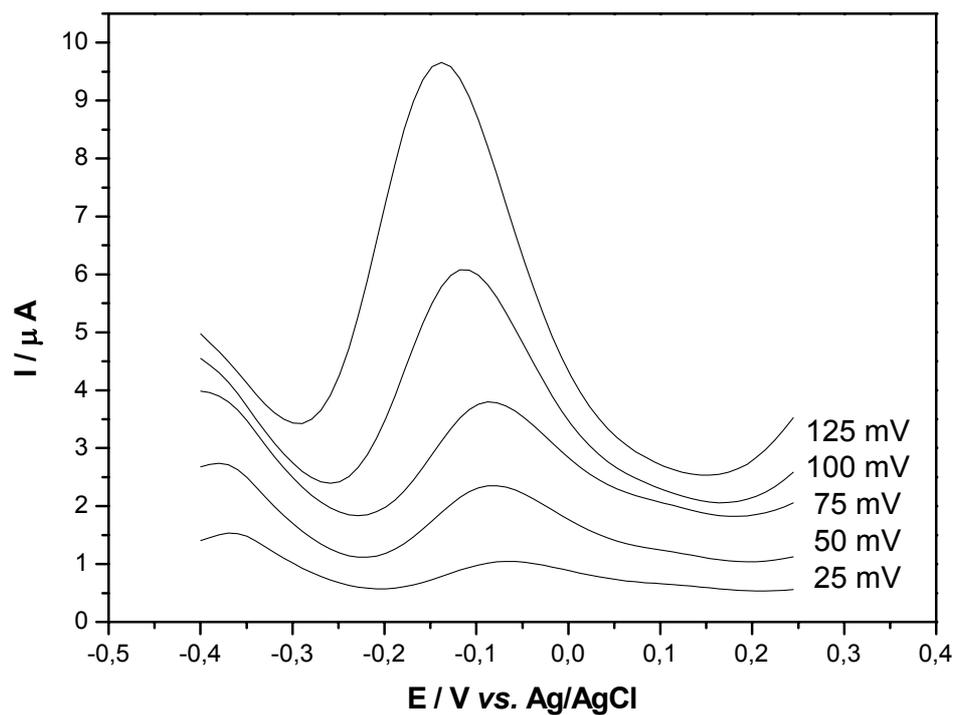


Figura 5.38 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes amplitudes de pulso (25; 50; 75; 100 e 125 mV), para a oxidação de tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ empregando-se o EPC/CoPc em solução tampão pH 12,0, saturada com N_2 , $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.3.2.3 – Estudo da repetibilidade do EPC/CoPc

O estudo da repetibilidade do EPC modificado com CoPc 20 %m/m foi realizado em uma solução tampão pH 12,0 contendo tiamina $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ para 10 determinações, sendo que a superfície do eletrodo modificado foi renovada eletroquimicamente após cada voltamograma ciclando o potencial do eletrodo no intervalo de -1,0 a -0,4 V vs Ag/AgCl. Esse tratamento eletroquímico deve ter removido possíveis espécies adsorvidas na superfície do mesmo. A Tabela 5.18 apresenta os valores de correntes de pico anódica (I_{Pa}) e potencial de pico anódico (E_{Pa}) para 10 voltamogramas de pulso diferencial do EPC/CoPc na presença de tiamina $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solução tampão pH 12,0, saturada com N₂. Os valores médios de corrente de pico anódica e potencial de pico anódico obtidos foram $3,3 \pm 0,2$ e -128 ± 1 e os desvios padrão relativos (RSD) de 3,6% e 3,3%, respectivamente. Pode-se assim concluir que esse eletrodo (EPC/CoPc) apresentou boa repetibilidade a um nível de confiança de 95%.

5.3.2.4 – Estudos de Interferências em potencial

A influência de possíveis interferentes em potencial na resposta voltamétrica do EPC/CoPc foi investigada. Para tal, medidas voltamétricas de pulso diferencial do eletrodo foram realizadas em soluções tampões pH 12 contendo benzoato de sódio, citrato de sódio, cafeína, frutose, glicose, sacarose, cianocobalamina, riboflavina nas concentrações $1,0 \times 10^{-4}$; $5,0 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ na presença de solução padrão de tiamina $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Entre as substâncias testadas, nenhuma causou interferência significativa.

Tabela 5.18 – Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc, na presença de tiamina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12,0, saturada com N_2 , amp. = 100 mV, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Replicatas	$I_{pa} / \mu\text{A}$	$E_{pa} \text{ (mV) vs. Ag/AgCl}$
1	3,5	-127
2	3,5	-127
3	3,4	-127
4	3,4	-127
5	3,4	-128
6	3,3	-128
7	3,3	-128
8	3,2	-128
9	3,2	-128
10	3,2	-128
	$\bar{I}_{pa} = 3,3 \pm 0,2$	$\bar{E}_{pa} = -128 \pm 1$
	RSD = 3,6%	RSD = 3,3%

5.4.2.5 – Curva analítica do EPC/CoPc

Após otimizar as melhores condições de trabalho para o eletrodo de pasta de carbono modificado (CoPc 20 %m/m, pH = 12, amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s^{-1}), realizou-se medidas voltamétricas de pulso diferencial no intervalo de -0,4 a 0,25 V vs Ag/AgCl em diferentes concentrações de tiamina (Figura 5.39), a fim de se obter a curva analítica do eletrodo modificado desenvolvido. Para cada medida voltamétrica de pulso diferencial a superfície do eletrodo foi renovada eletroquimicamente, varrendo o potencial no intervalo de -1,0 a -0,4 V, a fim de remover possíveis espécies adsorvidas na superfície do eletrodo. A equação da curva analítica obtida foi $I_{Pa} = -0,63 \times 10^{-8} + 37,0 \times 10^{-4} [\text{tiamina}] \text{ mol L}^{-1}$ com coeficiente de correlação $r = 0,9965$ para um intervalo de concentração de tiamina de $5,0 \times 10^{-5}$ a $3,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

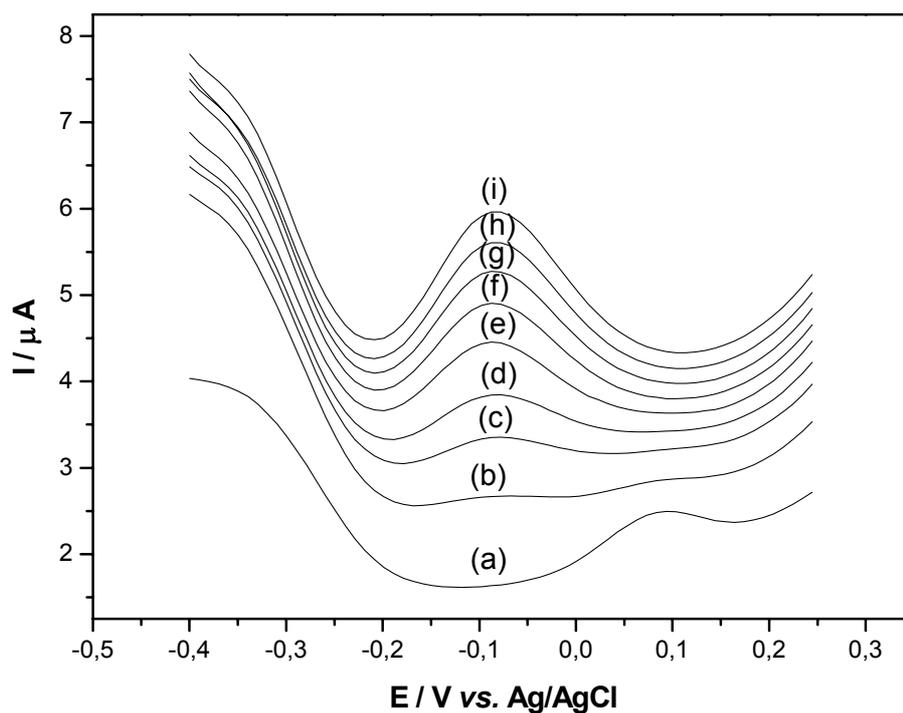


Figura 5.39 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com EPC/CoPc para diferentes concentrações de tiamina (a) 0,0; (b) $5,0 \times 10^{-5}$; (c) $1,0 \times 10^{-4}$; (d) $1,5 \times 10^{-4}$; (e) $1,9 \times 10^{-4}$; (f) $2,4 \times 10^{-4}$; (g) $2,9 \times 10^{-4}$; (h) $3,4 \times 10^{-4}$ e (j) $3,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12, Amp = 100 mV e $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ à 25 °C.

5.3.2.6 – Determinação de tiamina em formulações farmacêuticas

O teor de tiamina foi determinado nas seguintes formulações farmacêuticas: Citoneriu e Complexo B. O método utilizado para a determinação de tiamina foi o das adições sucessivas de padrão. Os anexos 5 e 6 mostram um dos voltamogramas obtidos para a determinação de tiamina nas formulações e a curva obtida pelo método de adição padrão, respectivamente. A Tabela 5.19 apresenta os resultados obtidos no estudo de adição e recuperação de tiamina em triplicata para três amostras contendo tiamina em três concentrações ($1,3 \times 10^{-4}$; $2,5 \times 10^{-4}$ e $3,7 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹). Foram obtidas recuperações entre 96,0 a 107%, indicando assim que não houve efeito da matriz da amostra nessas determinações voltamétricas. A Tabela 5.20 apresenta os resultados obtidos dos teores de tiamina (mg L⁻¹ da amostra) determinados pelo método voltamétrico (adição múltipla de padrão) e por fluorimetria¹⁰⁸. Aplicou-se o teste *t* pareado entre o método proposto e método padrão, ($t_{\text{exp.}} = 0,59$ menor que o valor $t_{\text{critico.}} = 2,77$ (complexo B) e $t_{\text{exp.4,95\%}} = 0,77$ menor que o valor $t_{\text{tab.4,95\%}} = 2,77$ (citoneurim)), portanto, os resultados da determinação de tiamina obtidos por voltametria de pulso diferencial (DPV) e fluorimétrico não apresentaram diferenças significativas, com nível de confiança de 95%, além disso, apresentam um intervalo de erro relativo aceitável.

Tabela 5.19 – Estudo da adição e recuperação de vitamina B₁ (tiamina) em três concentrações de padrão, usando o método voltamétrico

Amostra	Valor adicionado x 10 ⁴ (mol L ⁻¹)	Valor encontrado x 10 ⁴ (mol L ⁻¹)	Recuperação (%)
Complexo B (injetável)	1,3	1,3±0,2	100
	2,5	2,6±0,2	104
	3,7	3,7±0,1	100
Citoneurim (injetável)	1,3	1,4±0,2	107
	2,5	2,4±0,1	96,0
	3,7	3,7±0,1	100

n = 5

Tabela 5.20 – Determinação de tiamina em formulações farmacêuticas usando o método espectrofluorimétrico e voltamétrico.

Amostras	Tiamina (mg/L)				
	Valor rotulado	fluorimétrico	DPV	E ₁ (%)	E ₂ (%)
Complexo B (injetável)	21,6	21,3±0,3	21,1±0,1	-2,31	-0,93
Citoneurim (injetável)	33,3	33,2±0,2	33,1±0,2	-0,60	-0,60

n = 5

E₁ = erro relativo = método por voltametria de pulso diferencial (DPV) vs. valor rotulado

E₂ = erro relativo = método por voltametria de pulso diferencial (DPV) vs. método espectrofluorimétrico

5.4 – Estudo do comportamento voltamétrico do EPC/CoPc na presença de vitamina B₆ (piridoxina)

5.4.1 – Medidas ciclovoltagemétricas

Os voltamogramas cíclicos (CV) obtidos com o EPC (curvas a e c) e EPC/CoPc (curvas b e d) na ausência (curvas a e b) e na presença de piridoxina 1×10^{-3} mol L⁻¹ (curvas c e d) e em solução tampão pH 12, estão apresentados na Figura 5.40. Pode-se observar que os ciclovoltagemogramas empregando-se o EPC (curva a) e EPC/CoPc (curva b), na ausência de piridoxina, não apresentaram nenhum pico voltamétrico significativo. Entretanto, os voltamogramas cíclicos sobre o EPC (curva c) e EPC/CoPc (curva d), na presença de piridoxina 1×10^{-3} mol L⁻¹ em solução tampão pH 12, apresentaram picos anódicos próximo a 0,64 e 0,60 V vs Ag/AgCl, respectivamente. Pode-se observar que o EPC/CoPc apresentou um comportamento típico de um processo irreversível¹¹¹, bem como um aumento acentuado na magnitude da corrente e um deslocamento de potencial de 40 mV para potenciais mais negativos quando comparado com o EPC não modificado. Esses resultados indicam que EPC/CoPc apresenta excelente atividade eletrocatalítica para oxidação de piridoxina. Resultados semelhantes foram apresentados por CHEN *et al.*¹⁰³ na determinação de vitamina B₆ em formulações farmacêutica por eletroforese com detecção eletroquímica empregando um eletrodo de carbono. De acordo com esses autores, o pico de oxidação observado é devido, provavelmente, a oxidação do grupo hidroxila da piridoxina (ver Figura 3.4).

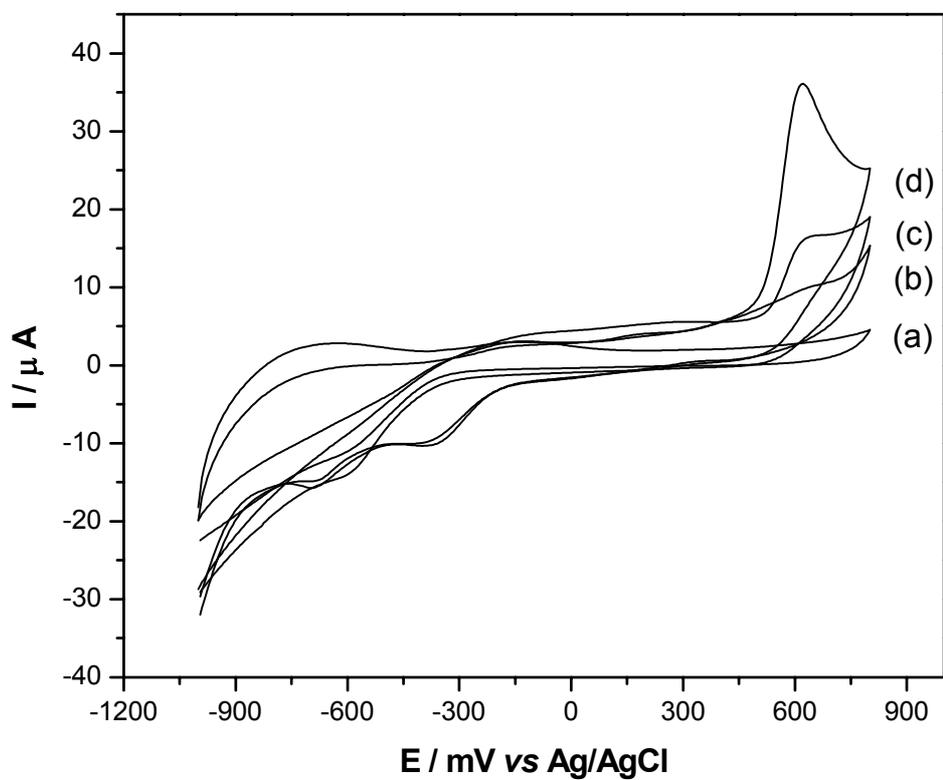


Figura 5.40 – Voltamogramas cíclicos empregando-se o EPC (curvas a e c) e EPC/CoPc (curvas b e d) na ausência (curvas a e b) e na presença de piridoxina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (curvas c e d) em solução tampão pH 12, saturado com N_2 , $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

6.4.1.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e pH da solução sobre a resposta voltamétrica do EPC modificado com CoPc

O efeito da composição da pasta de carbono contendo 70, 65, 55 e 45 %m/m de pó de grafite, 25 %m/m de parafina e 5, 10, 20 e 30 %m/m de CoPc, respectivamente, sobre a resposta voltamétrica dos EPC/CoPc para uma solução de piridoxina $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, sob uma velocidade de varredura de potencial de 100 mV s⁻¹, saturada com N₂, também foi investigado. A Tabela 5.21 apresenta a dependência da corrente de pico anódica obtida com EPC/CoPc em função de sua composição. Observou-se que um aumento da concentração de CoPc de 5 a 20 %m/m na pasta de carbono, levou a um aumento na magnitude corrente de pico anódica. Para concentrações de 30 %m/m de CoPc na pasta de carbono obteve-se um decréscimo da corrente de pico anódica, devido a um aumento da resistência ôhmica da pasta de carbono causado pela diminuição do teor de grafite na mesma. Sendo assim, selecionou-se uma composição de 55 %m/m de pó de grafite, 25 %m/m de parafina e 20 %m/m de CoPc para o trabalho posterior.

A piridoxina apresenta duas constantes de ionização ácida (pK_{a1}= 5,00 e pK_{a2}= 8,96). Sendo assim, o estudo do efeito do pH sobre a resposta voltamétrica é de extrema importância. Nesse trabalho estudou-se o efeito do pH entre 7 a 13 sobre a magnitude da corrente de pico e potencial de pico para solução de piridoxina $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ empregando o EPC modificado com 20 %m/m de CoPc. A Figura 5.42 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para esse analito em diferentes soluções tampão. Pode-se observar que tanto o potencial de pico quanto a corrente de pico são dependentes do pH. Houve um aumento na magnitude da corrente de pico anódico com o aumento do pH. De acordo com TEIXEIRA *et al*¹⁰⁶, esse decréscimo da corrente de pico com a diminuição do pH da solução é devido à

formação da piridoxina ácida. Assim é esperado que em uma solução fortemente alcalina a piridoxina apresente-se na forma aniônica devido à desprotonação do grupo –OH ligado ao anel piridinico e em meio ácido esteja na forma catiônica, uma vez que o átomo de nitrogênio do anel piridinico é protonado. Além disso, o potencial de pico apresentou um deslocamento de potencial para potenciais mais negativos com aumento do pH. Sendo assim, para o desenvolvimento deste trabalho foi selecionado o pH 12 por apresentar perfis voltamétricos melhores definidos, além de maiores sensibilidade e precisão.

Tabela 5.21 – Efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica do EPC/CoPc para a solução piridoxina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12, saturado com N_2 , $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ a 25°C .

Composição grafite/parafina/CoPc % (m/m)	I_{PA} (μA)	E_{PA} (V)
75/25/0	1,7	0,61
70/25/5	15,0	0,63
65/25/10	24,8	0,60
55/25/20	35,0	0,60
45/25/30	10,0	0,61

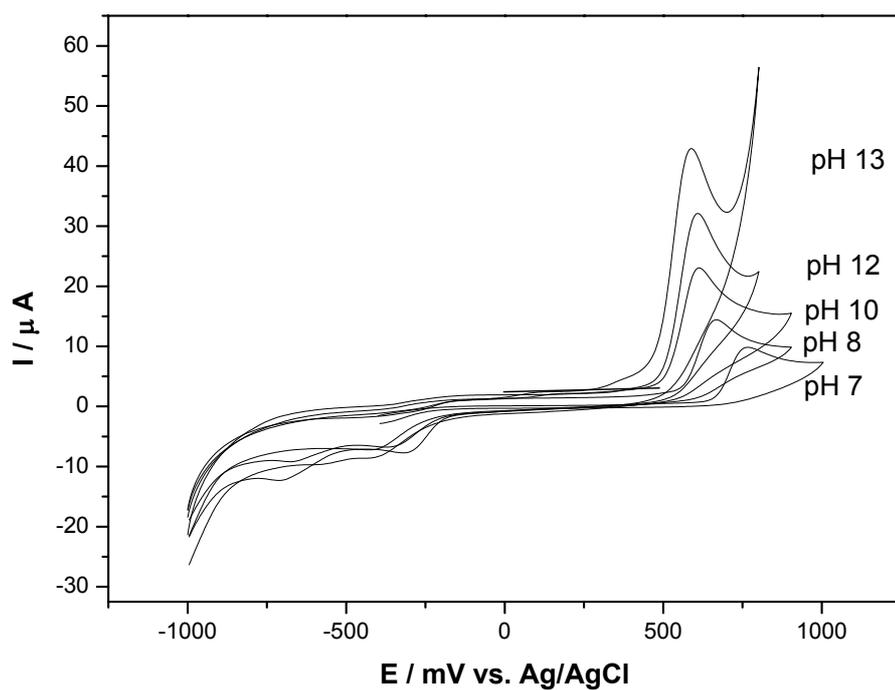


Figura 5.42 – Efeito da concentração hidrogeniônica (pH) sobre a resposta ciclovoltagemétrica do EPC/CoPc para a solução de piridoxina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em pH 12, saturada com N_2 , $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.4.1.2 – Efeito da velocidade de varredura de potencial sobre a resposta voltamétrica do EPC/CoPc

Voltamogramas cíclicos registrados a diferentes velocidades de varreduras de potencial para a reação de oxidação de piridoxina sobre o EPC/CoPc em uma solução tampão pH 12 estão apresentados na Figura 5.43. Uma análise dos ciclovoltamogramas apresentados nessa figura mostra que há um aumento do sinal analítico (correntes anódicas) com o aumento da velocidade de varredura de potencial. Além disso, para velocidade de varredura de potenciais acima de 150 mV s^{-1} os perfis dos voltamogramas ficaram comprometidos. Sendo assim, optou-se em usar a velocidade de varredura de potencial de 100 mVs^{-1} nas medidas voltamétricas empregando-se o EPC/CoPc para a determinação de piridoxina.

A Figura 5.44 mostra que há uma relação linear entre os potenciais de pico anódico (E_{pa}) com o logaritmo da velocidade de varredura de potencial ($\log v$). A equação de regressão linear obtida foi $E_{pa} = 656,41 + 36,56 (\log v)$, com coeficiente de correlação (r) de 0,9909. Ademais, há uma dependência linear da corrente de pico (I_{pa}) com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ($v^{1/2}$) (Figura 5.45). A equação de regressão linear obtida foi de $I_{pa} = -0,11 + 117,04 v^{1/2}$. Essas características são de um processo eletroquímico irreversível e com controle difusional^{111,112}, o que está em consonância com estudos de HERNÁNDEZ *et al.*¹⁰⁷ para determinação piridoxina empregando-se o eletrodo de carbono vítreo.

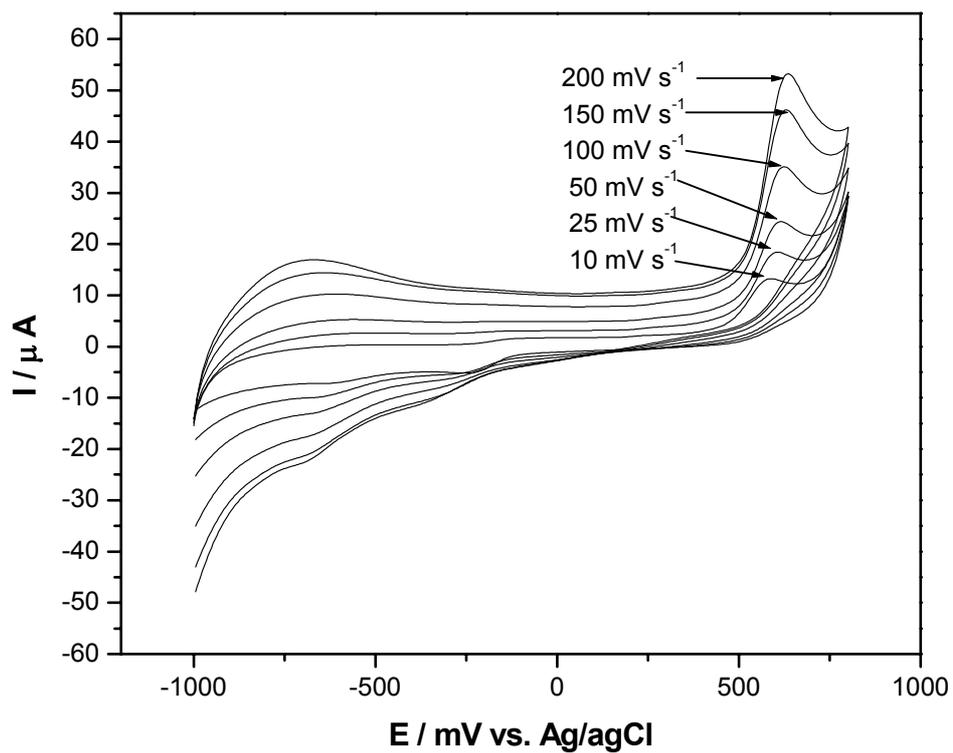


Figura 5.43 – Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes velocidades de varreduras de potencial para a reação de oxidação de piridoxina $1,0 \times 10^{-3}$ empregando-se o EPC/CoPc em uma solução tampão pH 12, saturado com N_2 .

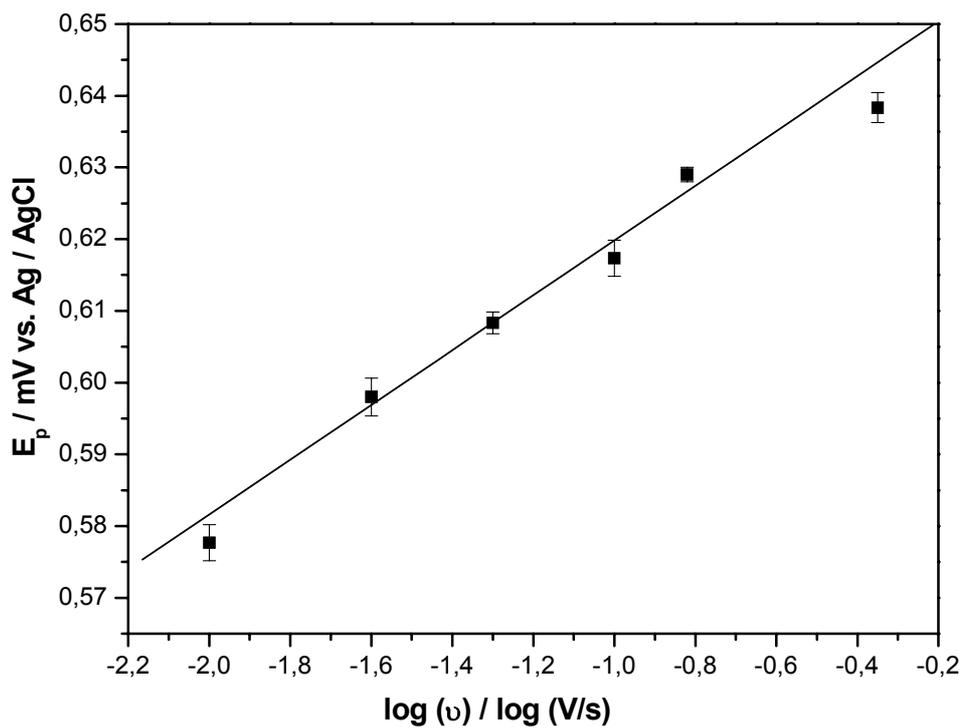


Figura 5.44 – Gráfico da dependência de potencial de pico com o logaritmo da velocidade de varredura de potencial para a oxidação de piridoxina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em solução tampão pH 12, sobre o EPC/CoPc. Dados extraídos da Fig. 5.43.

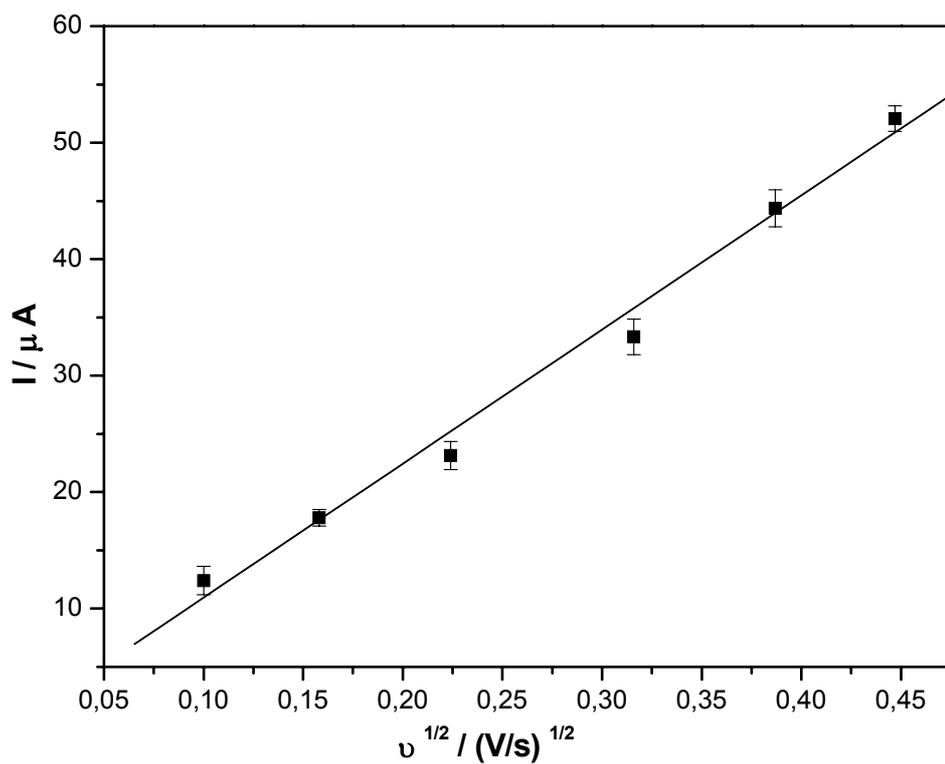


Figura 5.45 – Gráfico da dependência da corrente de pico com raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial para a oxidação de piridoxina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em solução tampão pH 12, sobre o EPC/CoPc. Dados extraídos da Fig. 5.43.

5.4.1.3 – Estudo da repetibilidade do EPC/CoPc

A repetibilidade da superfície do EPC/CoPc foi realizada em uma solução tampão pH 12 contendo piridoxina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para 10 determinações consecutivas. Todas as determinações foram estudadas com a mesma superfície do eletrodo, não sendo necessário renovar eletroquimicamente a superfície do mesmo. A Tabela 5.22 apresenta os valores de correntes de pico anódica (I_{Pa}), potencial de pico anódico (E_{pa}), valores de \bar{I}_{Pa} e \bar{E}_{pa} e seus respectivos desvios padrão relativos (RSD). Os valores de \bar{I}_{Pa} e \bar{E}_{pa} obtidos foram $32,0 \pm 0,9$ e 611 ± 0 com RSD de 2,7% e 0,0, respectivamente. O eletrodo apresentou uma boa repetibilidade a um nível de confiança de 95% e desvio padrão relativo aceitável.

O estudo da repetibilidade entre três eletrodos de EPC/CoPc foi realizado empregando-se solução de piridoxina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão (pH 12). Para cada medida voltamétrica, com cada eletrodo, a superfície do mesmo era renovada, lixando-a sobre um papel sulfite. A Tabela 5.23 apresenta os valores de I_{Pa} , da oxidação de piridoxina sobre cada eletrodo EPC/CoPc construídos, bem como, o valor da \bar{I}_{Pa} . De acordo com a análise de variância^{121,122} (ANOVA), pode-se calcular se os valores das médias das correntes de pico dos eletrodos (EPC/CoPc) construídos apresentam diferenças significativas. O valor calculado de $F_{experimental}$ foi de 1,43 menor que o valor de $F_{critico}$ igual a 3,885. Portanto, os valores das correntes de pico de cada EPC/CoPc não apresentaram diferenças significativas, logo os EPC/CoPc apresentaram boa repetibilidade, a um nível de confiança de 95%.

Tabela 5.22 – Estudo da repetibilidade do EPC/CoPc, em solução tampão pH 12, contendo piridoxina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Replicatas	$I_{pa} / \mu\text{A}$	$E_{pa} \text{ (mV) vs. Ag/AgCl}$
1	33,9	611
2	32,6	611
3	32,4	611
4	32,2	611
5	32,0	611
6	31,6	611
7	31,5	611
8	31,2	611
9	31,2	611
10	31,0	611
	$\bar{I}_{Pa} = 32,0 \pm 0,9$	$\bar{E}_{pa} = 611 \pm 0$
	RSD = 2,7%	RSD = 0%

Tabela 5.23 – Estudo da repetibilidade entre eletrodos do EPC/CoPc, em pH 12, contendo piridoxina $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Superfícies	$I_{pa} (\mu\text{A})$					\bar{I}_{Pa}
1	33,9	32,6	32,4	32,2	32,0	32,6
2	32,9	32,8	32,6	32,6	29,5	32,1
3	33,2	33,0	29,9	29,8	29,8	31,1

Estimativa da variância total entre eletrodos $S_e^2 = 2,80$ com 2 graus de liberdade
 Estimativa da variância total dentro do eletrodos $S_d^2 = 1,95$ com 12 graus de liberdade

$$F_{\text{cal}} = S_e^2 / S_d^2 = 1,43 < F_{\text{tab}} = 3,885 \text{ (95\% de confiança)}$$

5.4.1.4 – Curva analítica para EPC/CoPc

Após otimizar as melhores condições de trabalho do EPC/CoPc (20 %m/m de CoPc, pH 12 e $v = 100 \text{ mVs}^{-1}$), obteve-se voltamogramas cíclicos no intervalo de potencial de $-1,0$ a $0,8 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, em solução tampão pH 12 contendo diferentes concentrações de piridoxina (Figura 5.46), a fim de se obter a curva analítica do eletrodo desenvolvido. A Figura 5.47 apresenta a curva analítica obtida com o EPC/CoPc. A equação da curva analítica obtida foi $I_{Pa} = 3,4 \times 10^{-6} + 0,04 [\text{piridoxina}] \text{ mol L}^{-1}$ para um intervalo de concentração de piridoxina de $5,0 \times 10^{-5}$ a $9,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $4,7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

5.4.1.5 – Estudos de Interferências em potencial

A influência de possíveis interferentes em potencial na resposta voltamétrica do EPC/CoPc foi investigada. Para tal, medidas voltamétricas do eletrodo foram realizadas em soluções tampões pH 12 contendo benzoato de sódio, citrato de sódio, cafeína, frutose, glicose, sacarose, cianocobalamina, riboflavina nas concentrações $1,0 \times 10^{-4}$; $5,0 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ na presença de solução padrão de piridoxina $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Entre as substâncias testadas, somente frutose e glicose causaram interferência significativa. Os voltamogramas cíclicos obtidos com o EPC/CoPc na presença de frutose e glicose apresentaram picos anódicos próximo a $0,60$, ou seja, no mesmo potencial de oxidação de piridoxina sobre EPC/CoPc. No entanto estas duas substâncias não estavam presentes nas amostras analíticas.

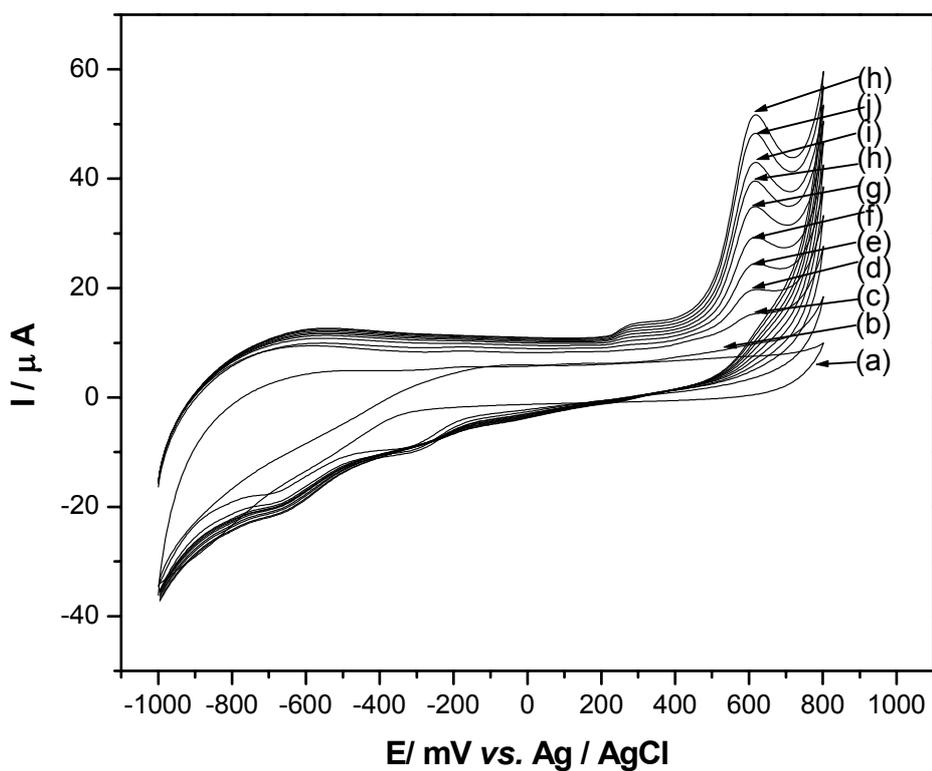


Figura 5.46 – Voltamogramas cíclicos obtidos com EPC/CoPc para diferentes concentrações de piridoxina ((a) 0,0; (b) 0,5; (c) 1,2; (d) 2,5; (e) 3,7; (f) 5,0; (g) 6,2; (h) 7,4; (i) 8,6; (j) $9,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução tampão pH 12, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

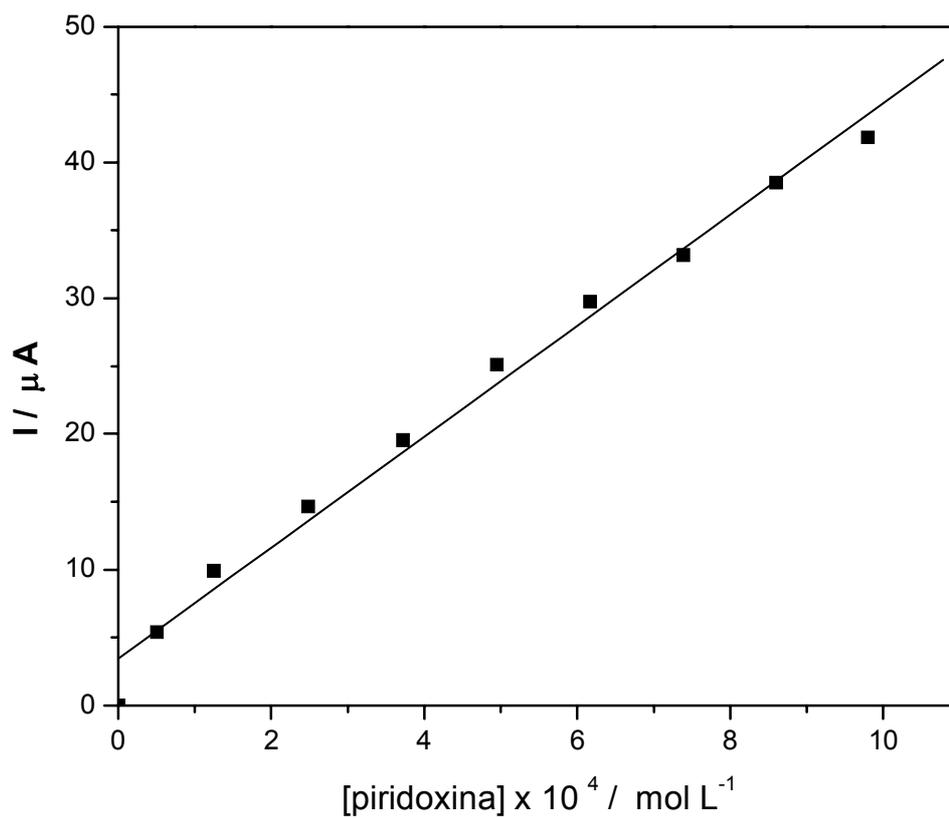


Figura 5.47 – Curva analítica para piridoxina obtida com o EPC/CoPc em diferentes concentrações de piridoxina. Dados extraídos da Fig. 5.46.

5.4.1.6 – Determinação de piridoxina em formulações farmacêuticas

Objetivando-se avaliar o desempenho analítico do EPC/CoPc, determinou-se o teor de piridoxina em formulações farmacêuticas (Dramin B₆, Citoneriun, Complexo B). O método utilizado para a determinação de piridoxina foi de adição sucessivas de padrão. Os anexos 7 e 8 mostram um dos voltamogramas obtidos para a determinação de piridoxina em uma amostra e a curva obtida pelo método de adição padrão, respectivamente. A Tabela 5.24 ilustra os resultados obtidos no estudo de adição e recuperação de piridoxina em triplicata para três amostras contendo cloridrato de piridoxina em três concentrações ($1,3 \times 10^{-4}$; $2,5 \times 10^{-4}$ e $3,7 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹). Foram obtidas recuperações entre 96,0% a 108 %. Indicando, que não houve efeito da matriz da amostra nessas determinações voltamétricas.

A Tabela 5.25 apresenta os teores de vitamina B₆ encontrados em três formulações farmacêuticas comerciais empregando-se o método oficial¹⁰⁹, o procedimento proposto e também os valores rotulados. Aplicou-se o teste *t* pareado entre o método padrão e método proposto, ($t_{exp.} = 0,38$ menor que o valor $t_{critico} = 4,30$), portanto, os resultados da determinação de piridoxina obtidos por voltametria cíclica (CV) e espectrofotométrico não apresentaram diferenças significativas, com nível de confiança de 95%, além disso, apresentam um intervalo de erro relativo aceitável.

Tabela 5.24 – Estudo da adição e recuperação de vitamina B₆ (cloridrato de piridoxina) em três concentrações padrão diferentes, usando o método voltamétrico.

Amostra	Valor adicionado x 10 ⁴ (mol L ⁻¹)	Valor encontrado x 10 ⁴ (mol L ⁻¹)	Recuperação (%)
Complexo B (injetável)	1,3	1,3 ± 0,3	100
	2,5	2,6 ± 0,2	104
	3,7	3,6 ± 0,4	97,3
Citoneurim	1,3	1,4 ± 0,7	108
	2,5	2,6 ± 0,5	104
	3,7	3,6 ± 0,5	97,3
Dramin	1,3	1,4 ± 0,2	108
	2,5	2,4 ± 0,3	96,0
	3,7	3,6 ± 0,3	97,3

n = 5

Tabela 5.25 – Determinação de cloridrato de piridoxina em formulações farmacêuticas usando o método espectrofotométrico e voltamétrico.

Amostras	Cloridrato de piridoxina (mg/g) ou (mg/L)				
	Valor rotulado	Espectrof.	CV	E ₁ (%)	E ₂ (%)
Complexo B (injetável)	50	49,4±0,2	48,9±0,2	-2,2	-1,0
citoneurim (injetável)	33	30,6±0,1	31,0±0,2	-6,1	1,3
Dramin	10	10,4±0,2	10,8±0,4	8	3,8

n = 5

E₁ = erro relativo = método voltamétrico (CV) vs. valor rotulado

E₂ = erro relativo = método voltamétrico (CV) vs. método espectrofotométrico

5.4.2 – Medidas voltamétricas de pulso diferencial

A determinação de piridoxina também foi investigada por voltametria de pulso diferencial (DPV). A Figura 5.48 ilustra os voltamogramas de pulso diferencial obtidos com o EPC (curvas a e c) e EPC/CoPc (curvas b e d), em solução tampão pH 12, na ausência (curvas a e b) e presença de piridoxina $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (curvas c e d) em solução tampão pH 12. Pode-se observar que os DPV sobre o EPC (curva a) e EPC/CoPc (curva b), na ausência de piridoxina, não apresentaram nenhum pico voltamétrico significativo. Entretanto, os DPV obtidos sobre o EPC/CoPc (curva c), na presença de piridoxina $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12, apresentou um pico anódico, bem definido, em potenciais próximos a 0,55 V vs. Ag/AgCl, bem como um aumento acentuado na magnitude de corrente quando comparado com EPC não modificado (curva d), nas mesmas condições. Esses resultados indicam que EPC/CoPc apresenta excelente atividade eletrocatalítica para oxidação de piridoxina.

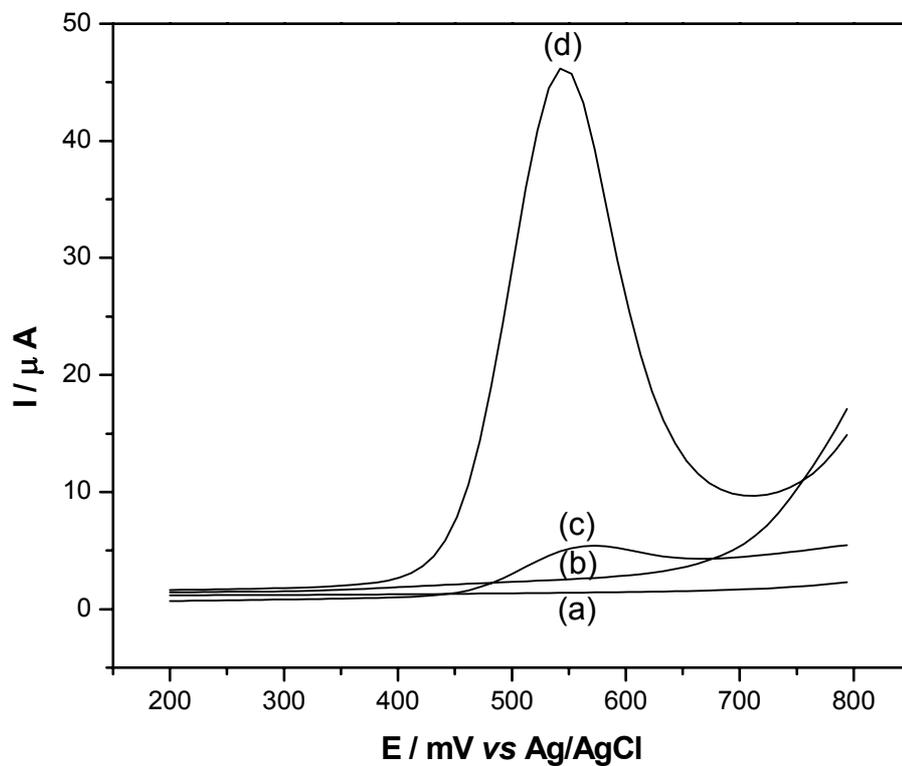


Figura 5.48 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com o EPC (curvas a e c) e EPC/CoPc (curvas b e d), em solução tampão pH 12, na ausência (curvas a e b) e presença de piridoxina $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (curvas c e d). Amplitude de pulso 100 mV e velocidade de varredura de potencial 20 mV s^{-1} .

5.4.2.1 – Efeito da composição da pasta de carbono e pH sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc

A Tabela 5.26 apresenta o efeito da composição da pasta de carbono contendo 70, 65, 55 e 45 %m/m de pó de grafite, 25 %m/m de parafina e 5, 10, 20 e 30 %m/m de CoPc, respectivamente, sobre a resposta voltamétrica de pulso diferencial do EPC/CoPc para uma solução de piridoxina 5×10^{-4} mol L⁻¹, sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s⁻¹. Pode-se observar as mesmas considerações obtidas para oxidação de piridoxina por voltametria cíclica, ou seja, o aumento do teor de 5 a 20 %m/m de CoPc na pasta de carbono levou a um aumento do sinal analítico de 14 ± 1 a 5 ± 1 μ A, devido provavelmente ao aumento da resistência da pasta de carbono. Para a composição contendo 30 %m/m de CoPc houve um decréscimo da corrente de pico, devido provavelmente ao aumento da resistência da pasta de carbono. Desta forma, para os estudos posteriores foi selecionado um EPC modificado com 20 %m/m de CoPc.

O efeito do pH sobre o potencial de pico e corrente de pico para a oxidação de piridoxina sobre o EPC/CoPc no intervalo de pH 6 a 13, também foi investigado e os resultados estão apresentados na Figura 5.49. Pode-se observar que tanto o potencial de pico quanto a corrente de pico são dependentes do pH. O potencial de pico apresentou um deslocamento de potencial para potenciais menores e aumento das correntes de picos com o aumento do pH. Estes resultados estão em concordância com os apresentados por voltametria cíclica. Dando continuidade aos estudos da determinação de piridoxina em formulações farmacêuticas foi selecionado o pH 12.

Tabela 5.26 – Efeito da composição da pasta de carbono sobre a resposta voltamétrica dos EPC/CoPc para a solução piridoxina $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em solução tampão (pH 12) sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s⁻¹.

Composição grafite/parafina/CoPc % (m/m)	I _{PA} (μA)	E _{PA} (mV)
75/25/0	14±1	570±1
70/25/5	54±1	560±1
65/25/10	56±2	550±1
55/25/20	58±1	550±1
45/25/30	25±2	570±1

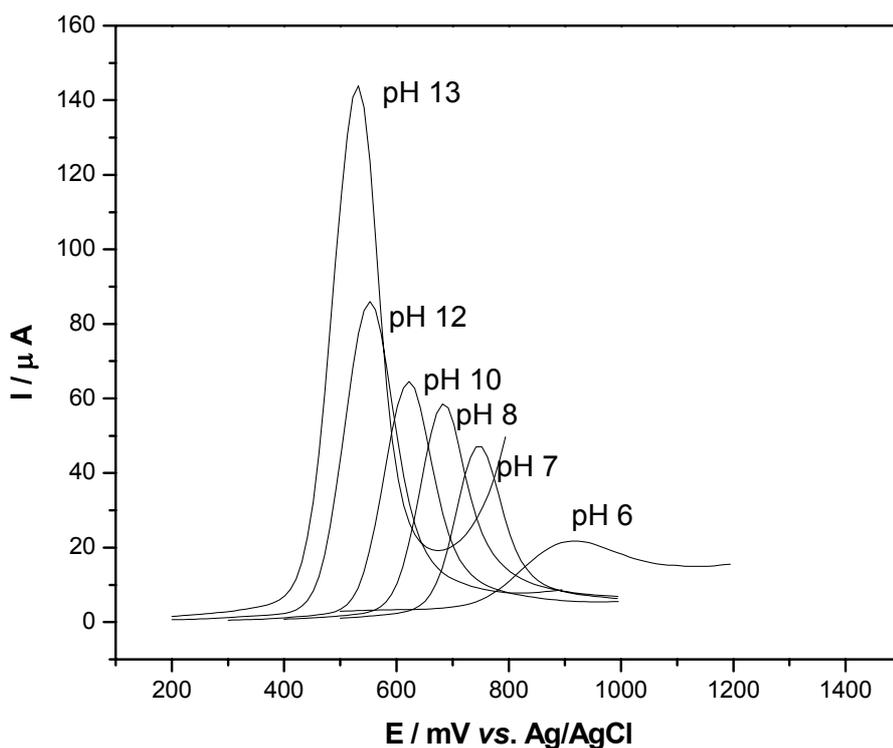


Figura 5.49 – Efeito da concentração hidrogeniônica (pH) sobre a resposta voltamétrica do EPC/CoPc para a solução de piridoxina $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, sob uma amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s⁻¹.

5.4.2.2. Estudo da influência da velocidade de varredura de potencial e amplitude de pulso sobre a corrente de pico da oxidação de piridoxina sobre EPC/CoPc.

A corrente de pico é dependente da velocidade de varredura de potencial (v) e amplitude de pulso (Amp.). A Figura 5.50 mostra a variação da corrente de pico com a velocidade de varredura de potencial. Pode-se observar que a corrente de pico aumenta com aumento da velocidade de varredura de potencial de 5 a 20 mV s^{-1} . Além disso, como pode ser observado que a velocidade de varredura de potencial pouco afetou o potencial de pico de oxidação de piridoxina sobre o EPC/CoPc.

A Figura 5.51 apresenta o efeito da amplitude de pulso sobre a corrente de pico e potencial de pico para a reação de oxidação de piridoxina sobre o EPC/CoPc. Observou-se que a magnitude da corrente de pico aumentou com o aumento da amplitude de pulso de 25 a 125 mV. Além disso, um aumento na largura de pico, bem como um deslocamento de potencial de pico para potenciais menores foram obtidos ao aumentar-se a amplitude de pulso de 25 a 125 mV.

A partir dos resultados apresentados nas Figs. 5.50 e 5.51, optou-se em trabalhar com uma velocidade de varredura de potencial de 20 mV s^{-1} e amplitude de pulso de 100 mV.

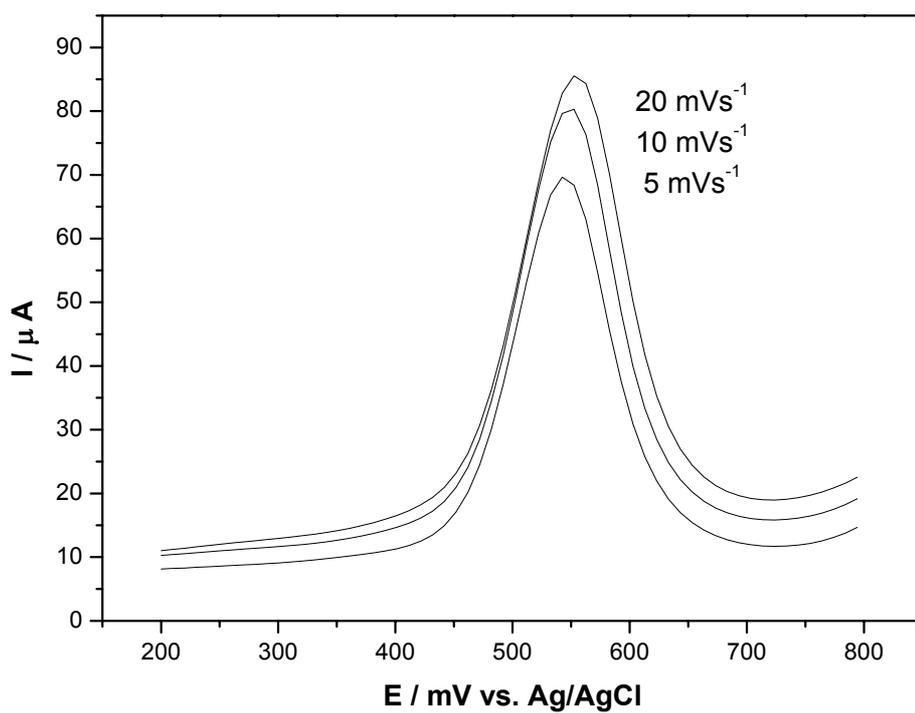


Figura 5.50 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes velocidades de varredura de potencial (5; 10 e 20 mV s^{-1}), para a oxidação de piridoxina sobre EPC/CoPc em solução tampão (pH 12,0), saturada com N_2 , amplitude de pulso de 100 mV a 25 °C.

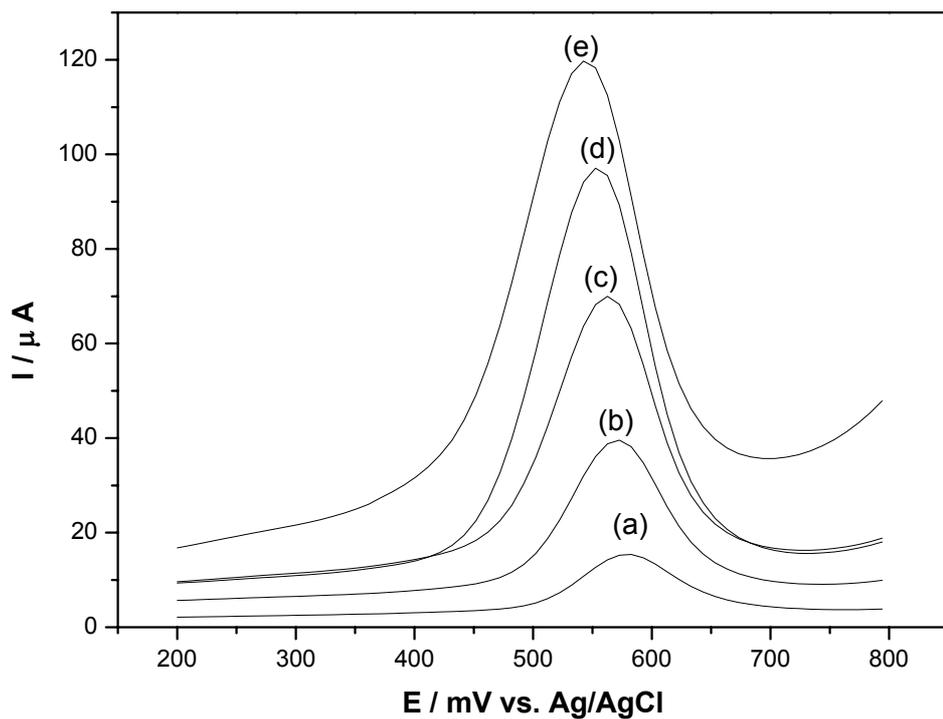


Figura 5.51 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes amplitudes de pulso ((a) 25; (b) 50; (c) 75; (d) 100 e (e) 125 mV), para a oxidação de piridoxina sobre EPC/CoPc em solução tampão (pH 12,0), saturada com N_2 , $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.4.2.3 Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc

O estudo da repetibilidade do EPC/CoPc foi realizado em uma solução tampão pH 12,0 contendo piridoxina 5×10^{-4} mol L⁻¹ empregando-se o EPC modificado com 20 %m/m de CoPc. Observou-se um ligeiro decréscimo da corrente de pico, sem a renovação da superfície do eletrodo (EPC/CoPc), a cada voltamograma de pulso diferencial registrado sendo que RSD foi de 6,2%. A fim de melhorar a repetibilidade do eletrodo modificado nas medidas voltamétricas, a superfície do eletrodo modificado foi renovada eletroquimicamente, após cada voltamograma ciclando o potencial do eletrodo no intervalo de -1,0 a 0,0 V vs Ag/AgCl. Esse tratamento eletroquímico deve ter removido possíveis espécies adsorvias na superfície do mesmo. A Tabela 5.27 apresenta os valores de correntes de pico anódica (I_{Pa}) e potencial de pico anódico (E_{Pa}) para 10 voltamogramas de pulso diferencial do EPC/CoPc na presença de piridoxina 5×10^{-4} mol L⁻¹ em solução tampão pH 12,0, saturada com N₂. Os valores de corrente pico anódica média e potencial de pico anódico médio obtidos foram $54,5 \pm 0,4$ e 606 ± 2 e seus respectivos desvio padrão relativo (RSD) de 1,1% e 0,5%. Pode-se assim concluir que esse eletrodo (EPC/CoPc) apresentou boa repetibilidade a um nível de confiança de 95%.

Tabela 5.27 – Estudo de repetibilidade do EPC/CoPc, na presença de piridoxina $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12,0, saturada com N_2

Replicatas	$I_{pa} / \mu\text{A}$	$E_{pa} \text{ (mV) vs. Ag/AgCl}$
1	55,2	602
2	55,0	602
3	55,0	603
4	54,6	604
5	54,9	604
6	54,8	608
7	54,8	608
8	53,7	608
9	53,7	610
10	53,6	610
	$\bar{I}_{pa} = 54,5 \pm 0,4$ RSD = 1,1%	$\bar{E}_{pa} = 606 \pm 2,3$ RSD = 0,5%

5.4.2.4. Curva analítica do EPC/CoPc

Realizaram-se medidas por DPV no intervalo de 0,2 a 0,8 V vs. Ag/AgCl em pH 12 contendo diferentes concentrações de piridoxina (Figura 5.52), a fim de se obter a curva analítica do eletrodo desenvolvido. Para cada medida voltamétrica de pulso diferencial a superfície do eletrodo foi renovada eletroquimicamente, varrendo o potencial no intervalo de $-1,0$ a $0,0$ V, a fim de remover possíveis espécies adsorvidas na superfície do eletrodo. A Figura 5.53 apresenta a curva analítica obtida. A equação da curva analítica obtida foi $I_{Pa} = 8,3 \times 10^{-7} + 9,8 \times 10^{-2} [\text{piridoxina}] \text{ mol L}^{-1}$ para um intervalo de concentração de piridoxina de $5,0 \times 10^{-5}$ a $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $1,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

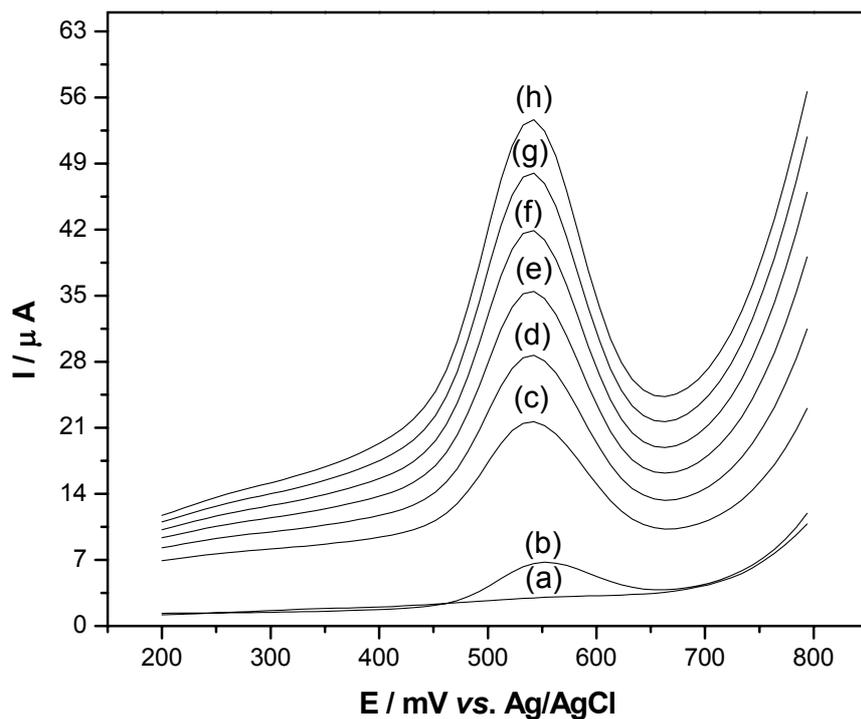


Figura 5.52 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com EPC/CoPc para diferentes concentrações de piridoxina (a) 0,0; (b) $5,0 \times 10^{-5}$; (c) $1,0 \times 10^{-4}$; (d) $1,5 \times 10^{-4}$; (e) $2,0 \times 10^{-4}$; (f) $2,4 \times 10^{-4}$; (g) $2,9 \times 10^{-4}$ e (h) $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12, Amp 100 mV e $v = 20 \text{ mVs}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

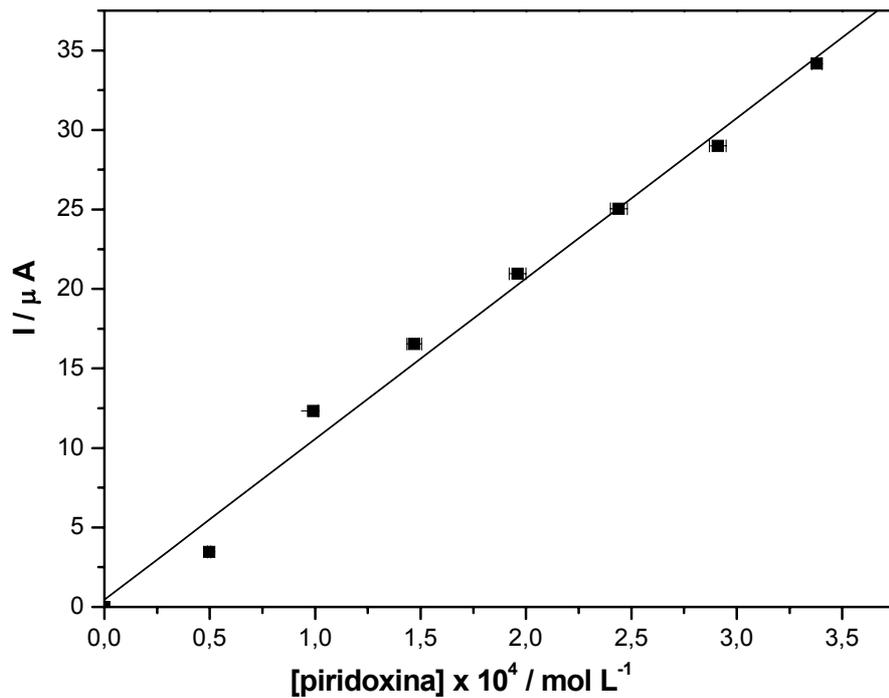


Figura 5.53 – Curva analítica empregando-se o EPC/CoPc por DPV no intervalo de concentração de piridoxina de $5,0 \times 10^{-5}$ a $3,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Dados extraídos da Fig. 5.52.

5.4.2.6 – Determinação de piridoxina em formulações farmacêuticas

Objetivando-se avaliar o desempenho analítico do EPC/CoPc, determinou-se o teor de piridoxina em formulações farmacêuticas (Dramin B₆, Citoneriun, Complexo B). O método utilizado para a determinação de piridoxina foi de adição sucessivas de padrão. A Tabela 5.28 ilustra os resultados obtidos no estudo de adição e recuperação de piridoxina em triplicata para três amostras contendo cloridrato de piridoxina em três concentrações ($1,3 \times 10^{-4}$; $2,5 \times 10^{-4}$ e $3,7 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹). Foram obtidas recuperações entre 94,6 a 108%, indicando assim que não houve efeito da matriz da amostra nessas determinações voltamétricas.

A Tabela 5.29 apresenta os teores de vitamina B₆ encontrados em três formulações farmacêuticas comerciais empregando-se o método oficial¹⁰⁹, o procedimento proposto e também os valores rotulados. Aplicou-se o teste *t* pareado entre o método padrão e método proposto, ($t_{\text{exp.}} = 0,93$ menor que o valor $t_{\text{critico.}} = 4,30$), portanto, os resultados da determinação de piridoxina obtidos por voltametria de pulso diferencial (DPV) e espectrofotométrico não apresentaram diferenças significativas, com nível de confiança de 95%, além disso, apresentam um intervalo de erro relativo aceitável.

Tabela 5.28 – Estudo da adição e recuperação de vitamina B₆ (cloridrato de piridoxina) em três concentrações padrão diferentes, usando o método voltamétrico

Amostra	Valor adicionado x 10 ⁴ (mol L ⁻¹)	Valor encontrado x 10 ⁴ (mol L ⁻¹)	Valor Recuperado (%)
Complexo B (injetável)	1,3	1,4 ± 0,1	108
	2,5	2,6 ± 0,3	104
	3,7	3,6 ± 0,2	97,3
citoneurim	1,3	1,3 ± 0,3	100
	2,5	2,4 ± 0,3	104
	3,7	3,9 ± 0,2	105
Dramin	1,3	1,3 ± 0,3	100
	2,5	2,5 ± 0,2	100
	3,7	3,5 ± 0,3	94,6

n = 5

Tabela 5.29 – Determinação de cloridrato de piridoxina em formulações farmacêuticas usando o método espectrofotométrico e voltamétrico.

Amostras	Cloridrato de piridoxina (mg/g) ou (mg/L)				
	Valor rotulado	Espectrof.	DPV	E ₁ (%)	E ₂ (%)
Complexo B (injetável)	50	49,4±0,2	49,6±0,2	-0,8	0,4
citoneurim (injetável)	33	30,6±0,1	31,5±0,3	-4,5	2,9
Dramin	10	10,4±0,2	10,2±0,1	2,0	-1,9

n = 5

E₁ = erro relativo = método por voltametria de pulso diferencial (DPV) vs. valor rotulado

E₂ = erro relativo = método por voltametria de pulso diferencial (DPV) vs. método espectrofotométrico

5.5 – Determinação simultânea de vitamina B₁ (tiamina) e vitamina B₆ (piridoxina)

A determinação simultânea de vitamina B₁ e B₆ também foi investigada por voltametria de pulso diferencial, uma vez que os potenciais de pico de oxidação da vitamina B₁ (-0,13 V) e vitamina B₆ (0,55V), são bem distintos. Após otimizar as melhores condições de trabalho para o eletrodo de pasta de carbono modificado (CoPc 20 %m/m, pH = 12, amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de potencial de 20 mV s⁻¹), realizou-se medidas voltamétricas de pulso diferencial no intervalo de -0,4 a 0,8 V vs. Ag/AgCl em diferentes concentrações de tiamina e piridoxina simultaneamente (Figura 5.54), a fim de se obter a equação da curva analítica do eletrodo modificado desenvolvido. Para cada medida voltamétrica de pulso diferencial a superfície do eletrodo foi renovada eletroquimicamente, varrendo o potencial no intervalo de -1,0 a -0,4 V vs. Ag/AgCl, a fim de remover possíveis espécies adsorvidas na superfície do eletrodo. As equações das curvas analíticas obtidas foram $I_{Pa} = -5,5 \times 10^{-7} + 3,9 \times 10^{-3} [\text{tiamina}] \text{ mol L}^{-1}$ ($r = 0,9955$), com limite de detecção de $8,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $I_{Pa} = -1,0 \times 10^{-5} + 3,1 \times 10^{-2} [\text{piridoxina}] \text{ mol L}^{-1}$ ($r = 0,9907$), com limite de detecção de $1,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, para um intervalo de concentração de piridoxina e tiamina simultânea de $1,0 \times 10^{-4}$ a $7,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$

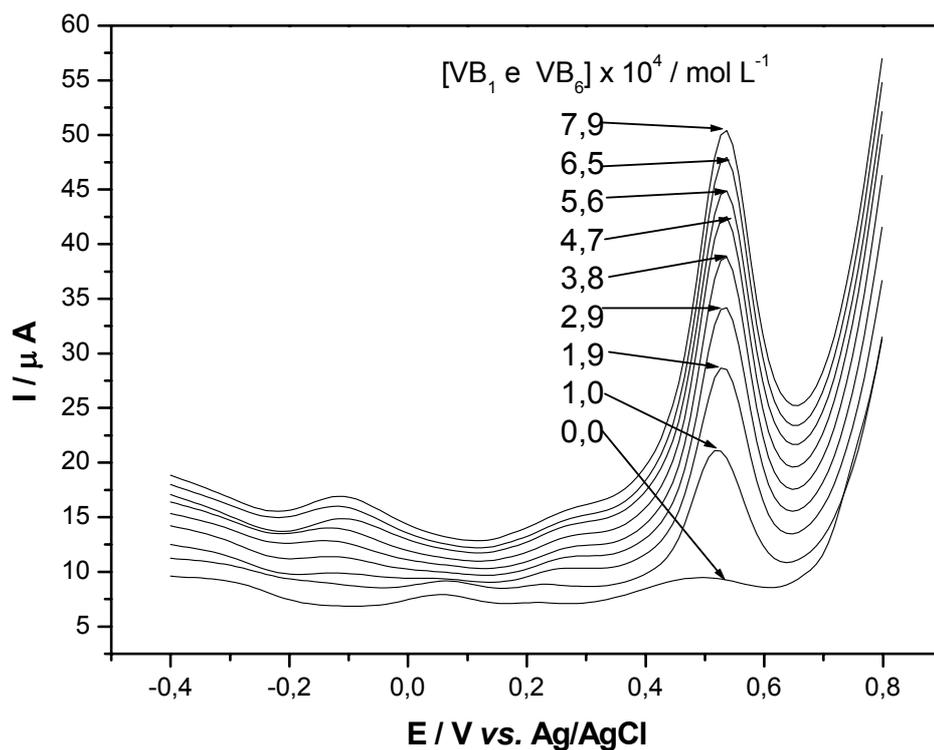


Figura 5.54 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com EPC/CoPc para diferentes concentrações de tiamina e piridoxina simultânea $0,0$; $1,0 \times 10^{-4}$; $1,9 \times 10^{-4}$; $2,9 \times 10^{-4}$; $3,8 \times 10^{-4}$; $4,7 \times 10^{-4}$; $5,6 \times 10^{-4}$; $6,5 \times 10^{-4}$ e $7,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 12, Amp = 100 mV e $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.5.1 – Determinação simultânea de tiamina e piridoxina em formulações farmacêuticas

Os teores de tiamina e piridoxina foram determinados simultaneamente nas seguintes formulações farmacêuticas: citoneurim e Complexo B. O método utilizado para determinação de tiamina e piridoxina simultânea foi o das adições sucessivas de padrão. Os anexos 9, 10 e 11 mostram um dos voltamogramas obtidos para a determinação de tiamina e piridoxina simultânea nas formulações e a curva obtida pelo método de adição padrão, respectivamente. As Tabelas 5.30 (A) e (B) apresentam os resultados obtidos dos teores de tiamina e piridoxina (mg L^{-1} da amostra) determinados pelo método voltamétrico (adição múltipla de padrão), espectrofluorimétrico¹⁰⁸ (tiamina) e espectrofotométrico¹⁰⁹ (piridoxina), respectivamente. Aplicou-se o teste *t* pareado entre os métodos propostos e métodos padrões, respectivamente, ($t_{\text{exp}} = 1,39$ menor que o valor $t_{\text{critico}} = 2,26$ (tiamina) e $t_{\text{exp.}} = 2,24$ menor que o valor $t_{\text{critico}} = 2,26$ (piridoxina)), portanto, os resultados da determinação de tiamina obtidos por voltametria de pulso diferencial (DPV) e espectrofluorimétrico e a determinação de piridoxina por DPV e espectrofotométrico não apresentaram diferenças significativas, com nível de confiança de 95%. Além disso, apresentaram um intervalo de erro relativo aceitável.

Tabela 5.30 (A) – Determinação de tiamina em formulações farmacêuticas usando o método espectrofluorimétrico e voltamétrico (DPV).

Amostras	tiamina (mg L ⁻¹)				
	Valor rotulado	fluorimétrico	DPV	E ₁ (%)	E ₂ (%)
Complexo B (injetável)	21,6	21,3±0,2	22,1±0,7	2,3	3,8
Citoneurim (injetável)	33,3	32,6±0,1	33,0±1,0	-0,9	1,2

n = 5

E₁ = erro relativo = método por voltametria de pulso diferencial (DPV) vs. valor rotulado

E₂ = erro relativo = método por voltametria de pulso diferencial (DPV) vs. método espectrofluorimétrico

Tabela 5.30 (B) – Determinação de piridoxina em formulações farmacêuticas usando o método espectrofotométrico e voltamétrico (DPV).

Amostras	piridoxina (mg L ⁻¹)				
	Valor rotulado	Espectrof.	DPV	E ₁ (%)	E ₂ (%)
Complexo B (injetável)	25,0	24,9±0,3	25,3±0,7	1,2	1,6
Citoneurim (injetável)	33,3	33,2±0,2	33,5±0,4	0,6	0,9

n = 5

E₁ = erro relativo = método por voltametria de pulso diferencial (DPV) vs. valor rotulado

E₂ = erro relativo = método por voltametria de pulso diferencial (DPV) vs. método espectrofotométrico

CAPÍTULO VI
CONCLUSÕES

Algumas conclusões já foram apresentadas no capítulo V, após cada estudo realizado.

Os eletrodos de pasta de carbono modificados com ftalocianinas de cobalto (EPC/CoPc) propostos neste trabalho são de fácil construção, possuem baixo custo, boa sensibilidade e baixo tempo de resposta, podendo ser utilizados como sensores para a determinação de hidrazina em águas de caldeira, dopamina, vitamina B₁ e vitamina B₆ em amostras de produtos farmacêuticos comerciais.

Os analitos estudados foram determinados por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial. A técnica de voltametria de pulso diferencial apresentou-se muito mais sensível do que a voltametria cíclica.

O eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto apresentou excelente atividade eletrocatalítica, tanto do ponto de vista de deslocamento de potencial inicial de reação quanto das magnitudes de correntes obtidas, quando comparados com o do eletrodo de pasta de carbono não modificado, para todas as reações estudadas.

Para as determinações dos analitos estudados a melhor resposta voltamétrica foi obtida para o eletrodo de pasta de carbono modificado com 55 %m/m de pó de grafite, 25 %m/m de parafina e 20 %m/m de ftalocianina de cobalto apresentando uma boa repetibilidade entre as superfícies, a um nível de confiança de 95%.

Para a determinação de hidrazina por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial o EPC/CoPc apresentou uma resposta linear de $1,3 \times 10^{-4}$ a $9,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $5,0 \times 10^{-5}$ a $7,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $2,3 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, respectivamente. A melhor resposta voltamétrica foi obtida em solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹. Nenhum dos cátions investigados (K⁺, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, Pb²⁺ e Zn²⁺) apresentou interferência na

resposta voltamétrica. A quantificação de hidrazina em águas de caldeiras utilizando o EPC/CoPc apresentou resultados concordantes com o método espectrofotométrico com um intervalo de erro relativo aceitável.

A determinação de dopamina por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial o EPC/CoPc apresentou uma resposta linear de $1,3 \times 10^{-5}$ a $2,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $5,0 \times 10^{-6}$ a $9,8 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,4 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente. A melhor resposta voltamétrica foi obtida em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0). A quantificação de dopamina em formulações farmacêuticas utilizando o EPC/CoPc apresentou resultados concordantes com o método espectrofotométrico com um intervalo de erro relativo aceitável.

A determinação de tiamina (vitamina B₁) por voltametria de pulso diferencial empregando-se o EPC/CoPc apresentou uma resposta linear de $5,0 \times 10^{-5}$ a $3,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $2,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. A melhor resposta por voltametria de pulso diferencial foi obtida em uma solução tampão (pH 12,0). Nenhuma das substâncias investigadas como possíveis interferentes (benzoato de sódio, citrato de sódio, cafeína, frutose, glicose, sacarose, cianocobalamina, riboflavina) causaram interferência significativa. A quantificação de tiamina em formulações farmacêuticas utilizando o EPC/CoPc apresentou resultados concordantes com o método espectrofluorimétrico da Farmacopéia Brasileira com um intervalo de erro relativo aceitável.

A determinação de piridoxina (vitamina B₆) por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial empregando-se o EPC/CoPc apresentou uma resposta linear de $5,0 \times 10^{-5}$ a $9,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $4,7 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $5,0 \times 10^{-5}$ a $3,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,3 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente. A melhor resposta voltamétrica foi obtida em uma solução tampão

pH 12,0. Entre as substâncias testadas (benzoato de sódio, citrato de sódio, cafeína, frutose, glicose, sacarose, cianocobalamina e riboflavina), somente frutose e glicose causaram interferência significativa. Os voltamogramas cíclicos obtidos com o EPC/CoPc na presença de frutose e glicose apresentaram picos anódicos próximo a 0,60, ou seja, no mesmo potencial de oxidação de piridoxina sobre EPC/CoPc. No entanto estas duas últimas substâncias não estavam presentes nas amostras analíticas. A quantificação de piridoxina em formulações farmacêuticas utilizando o EPC/CoPc apresentou resultados concordantes com o método espectrofotométrico com um intervalo de erro relativo aceitável.

O EPC/CoPc também apresentou resposta voltamétrica na determinação de simultânea de vitamina B₁ e B₆ por voltametria de pulso diferencial. As curvas analíticas foram lineares no intervalo de concentração de tiamina de $1,9 \times 10^{-4}$ a $7,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $8,4 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e de $1,0 \times 10^{-4}$ a $7,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ para piridoxina. Esse eletrodo foi aplicado com sucesso na determinação desse analitos em amostras de produtos farmacêuticos.

CAPÍTULO VII

ALGUMAS PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

Durante o desenvolvimento do presente trabalho de doutorado, surgiram algumas sugestões de trabalhos que poderão ser investigados futuramente.

Estudar as propriedades redox da ftalocianina de cobalto imobilizada na pasta de carbono, ou seja, obter maiores informações sobre os processos redox envolvendo o metal central do complexo (cobalto). Determinar o número de elétrons envolvidos no processo de oxi-redução do metal central, investigando-se a dependência das correntes de pico anódica (I_{Pa}) e catódica (I_{Pc}) em função da velocidade de varredura de potencial e estudar a dependência destes processos redox com o pH da solução.

Estudar as propriedades eletrocatalíticas do eletrodo de pasta de carbono modificadas com ftalocianinas de cobalto para as reações estudadas (oxidação de hidrazina, dopamina, tiamina e piridoxina) a fim de se obter informações sobre o mecanismo destas reações.

O EPC/CoPc também pode ser empregado na determinação voltamétrica de adrenalina, L-dopa, dipirona, glicose, frutose e ácido oxálico. Os estudos preliminares realizados evidenciaram que o EPC/CoPc apresenta propriedade eletrocatalítica para as reações de oxidação dos analitos mencionados.

Estudar outros compostos derivados da ftalocianina e/ou porfirinas (eg. ftalocianina de ferro (FePc), naftalocianina de cobalto (CoNPc), ftalocianina tetrasulfonada de cobalto, porfirina de cobalto (CoP), tetrapiridilporfirina de ferro (FeTPyP), entre outros).

Adaptação desses eletrodos amperométricos em sistema de análises por injeção em fluxo para a determinação dos analitos de interesse.

CAPÍTULO VIII
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referências Bibliográficas

- 1 SOUZA, M. de F. B. "Eletrodos quimicamente modificados a eletroanálise: Uma breve abordagem". *Quím. Nova*, **20**(2): 191, 1997.
- 2 PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; & KUBOTA, L. T. "Tendências em modificação de eletrodos amperometricos para aplicações eletroanalíticas". *Quím. Nova*, **25**(6): 1012, 2002.
- 3 COX, J. A.; TESS, M. E. & CUMMINGS, T. E. "Electroanalytical methods based on modified electrodes: A review of recent advances". *Reviews in Analytica Chemistry*, **15**(3), 173, 1996.
- 4 KALCHER, K.; KAUFFMANN, J.-M.; WANG, J.; SVANCARA, I.; VYTRÁS, K.; NEUHOLD, C. & YANG, Z. "Sensors based on carbon paste in electrochemical analysis: A review with particular emphasis on the period 1990-1993". *Electroanalysis*, **7**: 5, 1995.
- 5 SALIMI, A.; ABDI, K. & KHAYATIAN, G. R. "Amperometric detection of dopamine in the presence of ascorbic acid using a nafion coated glassy carbon electrode modified with catechin hydrate as a natural antioxidant". *Microchimica Acta*, **144** (1-3): 161, 2004.
- 6 FERREIRA, M.; DINELLI, L. R.; WOHNATH, K.; BATISTA, A. A. & OLIVEIRA, O. N. "Langmuir-Blodgett films from polyaniline/ruthenium complexes as modified electrodes for detection of dopamine". *Thin Solid Films*, **446** (2): 301, 2004.
- 7 WEN, Z. H. & KANG, T. F. "Determination of nitrite using sensors based on nickel phthalocyanine polymer modified electrodes". *Talanta*, **62** (2): 351, 2004.
- 8 KATZ, E.; LOTZBEYER, T.; SCHLERETH, D. D.; SCHUHMANN, W. & SCHMIDT, H.-L. "Electrocatalytic Oxidation Of Reduced Nicotinamide Coenzymes At Gold And Platinum-Electrode Surfaces Modified With A Monolayer Of Pyrroloquinoline Quinone - Effect Of Ca²⁺ Cations". *Electroanal Chem*, **373** (1-2): 189, 1994.
- 9 ALVES, R. P.; CONCEIÇÃO, C. D. C.; CHAVES, J. A. P. & TANAKA, A. A. "Electrocatalise da reação de redução de oxigênio sobre eletrodos de grafite modificados com ftalocianina octametoxilada de ferro". *Anais Assoc. Brás. Quim.*, **49**(1): 46, 2000.
- 10 MURRAY, R. W. "Chemically modified electrodes" In: *Electroanalytical chemistry*, edited by A. J. Bard, vol. **13**, M. Delber, New York, 1984.
- 11 WILKINS, E. & ATANASOV, P. "Glucose monitoring: State of the art and future possibilities". *Med. Eng. Phys.*, **18** (4): 273, 1996.
- 12 TURNER, A. P. F. "Electrochemical Sensors For Continuous Monitoring During Surgery And Intensive-Care". *Acta Anaesth Scand*, **39**: 15, 1995.

- 13 UDOMSOPAGIT, S.; SUPHANTHARIKA, M.; KUNNECKE, W.; BILITEWAKI, U. & BHUMIRATANA, A. "Determination of L-glutamate in various commercial soy sauce products using flow injection analysis with a modified electrode". *World J Microb Biot*, **14** (4): 543, 1998.
- 14 LABUDA, J. "Chemically modified electrodes as sensors in analytical chemistry". *Selective Electrode Rev.* **14**: 33, 1992.
- 15 DURST, R. A.; BÄUMNER, A. J.; MURRAY, R. W.; BUCK, R. P. & ANDRIEUX, C. P. A. "Analytical aspects of chemically modified electrodes: Classification, critical evaluation and recommendations (IUPAC recommendations 1998)". *Pure & Appl. Chem.*, **69**: 1317, 1997.
- 16 FOSTER, R. J. & VOS, J. G. "Theory and analytical applications of modified electrodes". In: *Comprehensive Analytical Chemistry*. SMYTH, M. R.; VOS, J. G. & SVEHLA, G. (Eds.), Amsterdã, Elsevier, 1992, Vol. **27**, p. 465.
- 17 EMR, S. A. & YACYNYCH, A. M. "Use of polymer-films in amperometric biosensors". *Electroanal.*, **7**(10): 913, 1995.
- 18 ALBAREDA-SIRVENT, M.; MERKOCI, A. & ALEGRET, S. "Configurations used in the design of screen-printed enzymatic biosensors: A review" *Sensor Actuat B-Chem.*, **69**(1-2): 153, 2000.
- 19 BARTLETT, P. N. "Modified electrode surface in amperometric biosensors" *Med Biol Eng Comput.*, **28**(3): B10, 1990.
- 20 HENKE, L. & KRULL, U. J. "Immobilization technologies used for nucleic acid biosensors: A review" *Can J Anal Sci Spect.*, **44**(2): 61, 1999.
- 21 DOWNARD, A. J. "Electrochemically assisted covalent modification of carbon electrodes". *Electroanal.*, **12**(14): 1085, 2000.
- 22 WALCARIUS, A. "Analytical applications of silica-modified electrodes - A comprehensive review" *Electroanal.*, **10**(18): 1217, 1998.
- 23 PERSSON, B.; LAN, H. L.; GORTON, L.; OKAMOTO, Y.; HALE, P. D.; BOGUSLAVSKY, L. & SKOTHEIM, T. "Amperometric biosensors based on electrocatalytic regeneration of Nad⁺ At Redox polymer-modified electrodes". *Biosens. Bioelectron.*, **8**(2): 81, 1993.
- 24 ALVAREZICAZA, M. & BILITEWSKI, U. "Mass-production of biosensors". *Anal Chem.*, **65**(11): A525, 1993.
- 25 WALLACE, G. G.; SMYTH, M. & ZHAO, H. "Conducting electroactive polymer-based biosensors". *Trac-Trend Anal Chem.*, **18**(4): 245, 1999.
- 26 GARCIA, C. A. B.; NETO, G. D. & KUBOTA, L. T. "New fructose biosensors utilizing a polypyrrole film and D-fructose 5-dehydrogenase

- immobilized by different processes". *Anal Chim Acta*, **374**(2-3): 201, 1998.
- 27 CESPEDES, F.; MARTINEZ-FABREGAS, E. & ALEGRET, S. "Amperometric glucose biosensor based on an electrocatalytically bulk-modified epoxy-graphite biocomposite". *Anal Chim Acta*, **284**(1): 21, 1993.
- 28 ALEGRET, S. "Rigid carbon - Polymer biocomposites for electrochemical sensing - A review". *Analyst*, **121**(12): 1751, 1996.
- 29 ULAKHOVICH, N. A.; MEDYANTSEVA, E. P. & BUDNIKOV, G. K. "The carbon paste electrode as a sensor in voltammetric analysis". *Zh. Anal. Khim.*, **48**: 980, 1993.
- 30 SVANCARA, I.; HVÍZDALOVÁ, M.; VYTRAS, K.; KALCHER, K. & NOVOTNY, R. "A microscopic study on carbon paste electrodes". *Electroanalysis*, **8**: 61, 1996.
- 31 SVANCARA, I. & VYTRAS, K. "Preparation and properties of carbon paste electrodes". *Chem. Listy*, **88**: 138, 1994.
- 32 MARTÍNEZ, R.; RAMÍREZ, M. T. & GONZÁLEZ, I. "Voltammetric characterization of carbon paste electrodes with a nonconducting binder. Part I: Evidence of the influence of electroactive species dissolution into the paste on the voltammetric response". *Electroanalysis*, **10**: 336, 1998.
- 33 SVANCARA, I. & VYTRAS, K. "Voltammetry with carbon paste electrodes containing membrane plasticizers used for PVC-based ion-selective electrodes". *Anal Chem. Acta*, **273**: 195, 1993.
- 34 PETIT, C.; GONZÁLEZ-CORTÉS, A. & KAUFFMANN, J. M. "On the origin of the differences between stearic-acid-modified carbon paste electrode performances after exposure to surfactant and brain tissues". *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **41**: 101, 1996.
- 35 ADAMS, R. N. "Carbon paste electrodes". *Anal Chem* **30**(9): 1576, 1958.
- 36 MONIEN, H.; SPECKER, H. & ZINKE, K. "Über die anwendbarkeit verschiedener kohleelektroden zur inversen voltammetrie von silber". *Z Anal Chem Fresenius*, **225**(2): 342, 1967.
- 37 LINDQUIS, J. "Study of 7 different carbon paste electrodes". *Electroanal Chem.*, **52**(1): 37, 1974.
- 38 KUWANA, T. & FRENCH, W. H. "Electrooxidation or reduction of organic compounds into aqueous solutions using carbon paste electrode". *Anal. Chem.*, **36**: 241, 1964.
- 39 LAMACHE, M. & BAUER, D. "Chronamperometric study of carbon paste electrode with electrolyte binder and insoluble electroactive solid". *J. Electroanal. Chem.*, **79**: 359, 1977.

- 40 KALCHER, K. "Chemically modified carbon paste electrodes in voltammetric analysis". *Electroanalysis*, **2**: 419, 1990.
- 41 BRAUN, A. E. & TCHERNIAC, J. "Phthalocyanines: Synthesis". *Ann. Ber.*, **40**: 2709, 1907.
- 42 LINSTEAD, R. P. & ROBERTSON, J. M., "The stereochemistry of metallic phthalocyanine". *J. Chem. Soc.*, **3**: 1736, 1936.
- 43 ROBERTSON, J. M., "An X-Ray study of the structure of the phthalocyanines. Part I. The metal-free, nickel, copper, and platinum compounds". *J. Chem. Soc.*, **1**: 615, 1935.
- 44 ROBERTSON, J. M., "An X-Ray study of the phthalocyanines. Part II. Qualitative structure determination of the metal-free compound". *J. Chem. Soc.*, **2**: 1195, 1936.
- 45 LOUTFY, R. O.; HOR, A. M. & RUCKLIDGE, A. "Near-infrared photoreceptor devices incorporating evaporated chloroindium phthalocyanine". *J. Imag. Sci.*, **31**: 31, 1987.
- 46 LOUTFY, R. O.; HOR, A. M.; HSIAO, C. K.; BARANYI, G. & KAZMAIER, P. "Organic photoconductive materials". *Pure Appl. Chem.* **60**: 1047, 1988.
- 47 ZHU, D. G.; PETTY, M. C. & HARRIS, M. "An optical sensor for nitrogen-dioxide based on a copper phthalocyanine langmuir-blodgett-film". *Sensor actuat. B-Chem.*, **2**: 265, 1990.
- 48 SAJI, T. "Phthalocyanine: properties and applications". New York, VCA, 1993, p. 59-60.
- 49 ZAGAL, J. H. "metallophthalocyanines as catalysts in electrochemical reactions". *Coordin. Chem. Rev.*, **119**: 89, 1992.
- 50 COUTANCEAU, C.; RAKOTONDRAINIBE, A.; CROUIGNEAU, P.; LÉGER, J. M.; LAMY, C. "Spectroscopic investigations of polymer-modified electrodes containing cobalt phthalocyanine - application to the study of oxygen reduction at such electrodes". *J. Electroanal. Chem.*, **386**(1-2): 173, 1995.
- 51 MIZUTANI, F; YABUKI, S. & IJIMA, S. "Carbon-paste electrode incorporated with cobalt(ii) octaethoxyphthalocyanine for the amperometric detection of hydrogen-peroxide". *Electroanal.*, **7**(8): 706, 1995.
- 52 FERNÁNDEZ, C.; REVIEJO, A. J. & PINGARRÓN, J. M. "Voltammetric determination of the herbicides thiram and disulfiram with a cobalt phthalocyanine modified carbon paste electrode". *Analisis*, **23**: 319, 1995.
- 53 PEREZ, F. E.; KUBOTA, L. T.; TANAKA, A. A. & OLIVEIRA NETO, G. de "Anodic oxidation of cysteine catalysed by nickel tetrasulphonated phthalocyanine immobilized on sílica gel modified with titanium (IV) oxide".

Electrochimica Acta, **43**(12,13): 1665, 1998.

- 54 SANTOS, L. M. & BALDWIN, R. P. "Liquid-chromatography electrochemical detection of carbohydrates at a cobalt phthalocyanine containing chemically modified electrode". *Anal. Chem.*, **59**(14): 1766, 1987.
- 55 COOKEAS, E. G. & EFSTATHIOU, C. E. "Flow injection-pulse amperometric detection of ephedrine at a cobalt phthalocyanine modified carbon paste electrode". *Analyst*, **125**(6): 1147, 2000.
- 56 MAFATLE, T. & NYOKONG, T. "Use of cobalt(II) phthalocyanine to improve the sensitivity and stability of glassy carbon electrodes for the detection of cresols, chlorophenols and phenol". *Anal. Chim. Acta*, **354**(1-3): 307, 1997.
- 57 COSTAMAGNA, J.; FERRAUDI, G.; CANALES, J. & VARGAS, J. "Carbon dioxide activation by aza-macrocyclic complexes". *Coordin. Chem. Rev.* **148**: 221, 1996.
- 58 ZAGAL, J.; PAEZ, M.; TANAKA, A. A.; SANTOS DOS, J. R. & LINKOUS, C. "Electrocatalytic activity of metal phthalocyanines for oxygen reduction". *J. Electroanal. Chem.*, **339**(1-2): 13, 1992.
- 59 EBADI, M. & LEVER, A. B. P. "Electroreduction of nitrite catalyzed by a dinuclear ruthenium phthalocyanine modified graphite electrode". *J. Porphy. Phthalocya.*, **7**(8): 529, 2003.
- 60 SHAHROKHIAN, S. & YAZDANI, J. "Electrocatalytic oxidation of thioglycolic acid at carbon paste electrode modified with cobalt phthalocyanine: application as a potentiometric sensor". *Electrochim. Acta*, **48**(28): 4143, 2003.
- 61 HIGNETT, G.; THRELFELL, S.; WAIN, A. J. "Electroanalytical exploitation of quinone-thiol interactions: application to the selective determination of cysteine". *Analyst*, **126**(3): 353, 2001.
- 62 SCHESSL, H. W. In: K. Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology, 4th Edition, vol. **13**, Wiley/Interscience, New York, 1995, p. 560.
- 63 BUCHARD, J. T. *Princípios de tratamento de águas industriais* [Tradução Thomas J. Buchard; revisão técnica Charles R. Lehwing]. – São Paulo: Drew Produtos Químicos, 1979.
- 64 PINGARRÓN, J. M.; HERNÁNDEZ, I. O.; GONZÁLEZ-CORTÉS, A. & YÁÑEZ-SEDEÑO, P. "Carbon fibre microelectrodes modified with rhodium for the electrocatalytic determination of hydrazine". *Anal. Chim. Acta*, **439**: 281, 2001.
- 65 GHONEIM, M. M.; EL-BARADIE, K. Y. & TAWFIK, A. "Electrochemical behavior of the antituberculosis drug isoniazid and its square-wave

- adsorptive stripping voltammetric estimation in bulk form, tablets and biological fluids at a mercury electrode". *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **33**: 673, 2003.
- 66 VERNOT, E. H; MACEWEN, J. D; BRUNER, R. H. "Long-term inhalation toxicity of hydrazine". *Fund. Appl. Toxicol.*, **5**(6): 1050, 1985.
- 67 AFKHAMI, A. & AFSHAR-E-ASL, A. "Kinetic-spectrophotometric determination of hydrazine by the inhibition of the bromate-hydrochloric acid reaction". *Anal. Chim. Acta*, **419**: 101, 2000.
- 68 ENSAFI, A. A.; SADEGHIE, M. M. & EMAMEI, F. "Kinetic reaction rate method for the determination of hydrazine with spectrophotometric". *J. of Anal. Chem.* **54**(11): 1024, 1999.
- 69 ENSAFI, A. A. & NADERI, B. "Flow injection spectrophotometric determination of hydrazine". *Microchemical Journal*, **56**: 269, 1997.
- 70 ENSAFI, A. A. & REZAEI, B. "Flow injection determination of hydrazine with fluorimetric". *Talanta*, **47**: 645, 1998.
- 71 SAFAVI, A. & KARIMI, M. A. "Flow injection chemiluminescence determination of hydrazine by oxidation with chlorinated isocyanurates". *Talanta*, **58**: 785, 2002.
- 72 LI, B. X.; ZHANG, Z. J. ZHENG, X. W. & XU, C. L. "Flow-injection chemiluminescence determination of hydrazine using on-line electrogenerated BrO⁻ as the oxidat". *Chemia Analityczna*, **45**(5); 709, 2000.
- 73 SONG, Z. H.; WANG, L. & ZHAO, T. Z. "Chemiluminescence flow sensor for hydrazine with immobilized reagents". *Analytical Letters*, **34**(3): 399, 2001.
- 74 SHANKARAN, D. R. & NARAYANAN, S. S. "Cobalt hexacyanoferrate-modified electrode for amperometric assay of hydrazine". *Russian Journal of Electrochemistry*, **38**(9): 987, 2002.
- 75 SHANKARAN, D. R. & NARAYANAN, S. S. "Amperometric sensor for hydrazine determination based on mechanically immobilized nickel hexacyanoferrate modified electrode". *Russian J. of Electrochem.*, **37**(11): 1149, 2001.
- 76 VIEIRA, L. C.; LUPETTI, K. O. & FATIBELLO, O. "Sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) tissue as a biocatalyst in a paraffin/graphite biosensor for hydrazine determination in boiler feed water". *Analytical Letters*, **35** (14): 2221, 2002.
- 77 YANG, W. & LI, H. L. "Determination of trace hydrazine by differential pulse voltammetry using magnetic microspheres". *Talanta*, **55**: 479, 2001.

- 78 GUERRA, S. V.; HUBOTA, L. T.; XAVIER, C. R. & NAKAGAKI, S. "Experimental optimization of selective hydrazine detection in flow injection analysis using a carbon paste electrode modified with copper porphyrin occluded into zeolite cavity". *Anal. Sciences*, **15**: 1231, 1999.
- 79 PEREZ, E. F.; OLIVEIRA NETO, G. de; TANAKA, A. A. & KUBOTA, L. T. "Electrochemical sensor for hydrazine base on sílica modified with nicked tetrasulfonated phthalocyanine". *Electroanalysis* **10**(3): 111, 1998.
- 80 ZHENG, L.; WU, S.; LIN, X.; NIE, L. & RUI, L. "Selective determination of dopamine in the presence of ascorbic acid at an over-oxidized poly (*N*-acetylaniline) electrode". *Analyst*, **126**: 736, 2001.
- 81 LUPETTI, K. O.; RAMOS, L. A. & FATIBELLO-FILHO, O. "Determinação enzimática de dopamina em formulações farmacêuticas utilizando sistema de análise por injeção em fluxo com extrato bruto de abacate (*Persea americana*)". *Quim. Nova*, **26**(2), 197, 2003.
- 82 FORZANI, E. S.; RIVAS, G. A. & SOLIS, V. M. "Amperometric determination of dopamine on an enzymatically modified carbon paste electrode". *J. Electroanal. Chem.* **382**: 33, 1995.
- 83 HUANG, J. C.; ZHANG, C. X. & ZHANG, Z. J. "Flow injection chemiluminescence determination of catecholamines". *Chinese Chemical Letters*, **9**: 843, 1998.
- 84 XUN, Z.; CAI, C.; XING, W. & LU, T. "Electrocatalytic oxidation of dopamine at a cobalt hexacyanoferrate modified glassy carbon electrode prepared by a new method". *J. Electroanal. Chem.*, **545**: 19, 2003.
- 85 LEITE, O. D.; FATIBELLO-FILHO, O. & BARBOSA, A. de M. "Determination of catecholamines in pharmaceutical formulations using a biosensor modified with a crude extract of fungi laccase (*Pleurotus ostreatus*)". *J. Braz. Chem. Soc.*, **14**(2): 297, 2003.
- 86 LEITE, O. D.; LUPETTI, K. O. & FATIBELLO-FILHO, O. "Synergic effect studies of the bi-enzymatic system laccase-peroxidase in a voltammetric biosensor for catecholamines". *Talanta*, **59**(5): 889, 2003.
- 87 CARUSO, C. S., VIEIRA, I. D. & FATIBELLO-FILHO, O. "Determination of epinephrine and dopamine in pharmaceutical formulations using a biosensor based on carbon paste modified with crude extract of cara root (*Dioscorea bulbifera*)". *Analytical Letters*, **32**(1): 39, 1999.
- 88 ZEN, J.-M. & CHEN, I.-L. "Voltammetric determination of dopamine in the presence of ascorbic acid at a chemically modified electrode". *Electroanalysis*, **9**(7): 537, 1997.
- 89 RUBIANES, M. D. & RIVAS, G. A. "Highly selective dopamine quantification using a glassy carbon electrode modified with a melanin-type polymer". *Anal. Chim. Acta*, **440**: 99, 2001.

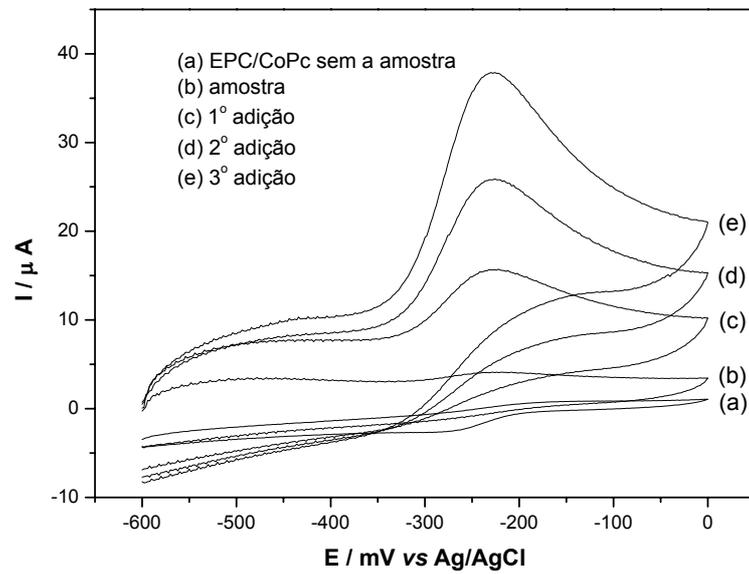
- 90 ZHAO, H.; ZHANG, Y. & YUAN, Z. "Study on the electrochemical behavior of dopamine with poly (sulfosalicylic acid) modified glassy carbon electrode". *Anal. Chem. Acta*, **441**: 117, 2001.
- 91 KANG, T.-F.; SHEN, G.-L. & YU, R.-Q. "Voltammetric behavior of dopamine at nickel phthalocyanine polymer modified electrodes and analytical applications". *Anal. Chem. Acta*, **356**: 245, 1997.
- 92 KOROLKOVAS, A. & BURCKHALTER, J. H.; *Quimica Farmacêutica*, 1^a ed.; Guanabara Dois, Rio de Janeiro, R. J., 1982, p. 655, 664-666.
- 93 ANICETO, C.; PEREIRA, A. V.; COSTA-NETO CO & FATIBELLO-FILHO, O. "Flow-injection spectrophotometric determination of vitamin B-1 (thiamine) in multivitamin preparations". *Lab. Robotics Automat.*, **11**(1): 45, 1999.
- 94 ANICETO, C. *Determinação de vitaminas B₁, B₂ e B₆ e analgésico paracetamol em produtos farmacêuticos utilizando sistemas de análise por injeção em fluxo*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 1997. Tese de doutorado.
- 95 Chen, Q. Y.; Li, D. H. & Yang, H. H. "Novel spectrofluorimetric method for the determination of thiamine with iron(III) tetrasulfonatophthalocyanine as a catalyst". *Analyst*, **124**(5): 771, 1999.
- 96 Srividya, K. & Balasubramanian, N. "Indirect spectrophotometric determination a thiamine in pharmaceutical preparations". *Chem Pharm Bull*, **45**(12): 2100, 1997.
- 97 Petukhova, I. Y.; Zarechenskii, M. A. & Gaidukevich, A. N. "Potentiometric determination of thiamine bromide in pharmaceutical preparations using an ion-selective electrode" *J. Anal. Chem.* **51**(9): 934, 1996
- 98 WAN, Q.; YANG, N. & YE, Y. "Electrochemical behavior of thiamine on a self-assembled gold electrode and its square-wave voltammetric determination in pharmaceutical preparations". *Anal. Sciences*, **18**: 413, 2002.
- 99 ONI, J.; WESTBROEK, P. & NYOKONG, T. "Voltammetric detection of vitamin B-1 at carbon paste electrodes and its determination in tablets". *Electroanalysis*, **14**(17): 1165, 2002.
- 100 CARABIAS-MARTINEZ, R.; BACERRO-DOMINGUEZ, F.; SIERRA-GARCIA, I. M.; HERNANDEZ-MENDEZ, J.; CORDOVA-ORELLANA, R. & SCHREBLER-GUZMAN, R. "Electrochemical response of a polypyrroledodecylsulfate electrode with multicharged cations and vitamins B₁ and B₆. Application as a microsensor in flow-injection analysis". *Anal. Chim. Acta*, **336**(1-3): 47, 1996.
- 101 ANICETO, C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Flow injection spectrophotometric

- determination of vitamin B-6 (pyridoxine) in pharmaceutical formulations”. *Quím. Nova*, **22**: 805, 1999.
- 102 HU, Q.; ZHOU, T.; ZHANG, L.; LI, H. & FANG, Y. “Separation and determination of three water-soluble vitamins in pharmaceutical preparations and food by micellar electrokinetic chromatography with amperometric electrochemical detection”. *Anal. Chim. Acta*, **437**: 123, 2001.
- 103 CHEN, G.; DING, X.; CAO, Z. YE, J. “Determination of melatonin and pyridoxine in pharmaceutical preparations for health-carrying purposes by capillary electrophoresis with electrochemical detection”. *Anal. Chim. Acta*, **408**: 249, 2000.
- 104 SÖDERHJELM, P. & LINDQUIST, J. “Voltammetric determination of pyridoxine by use of a carbon paste electrode”. *Analyst*, **100**: 349, 1975.
- 105 TEIXEIRA, M. F. S.; SEGNINIA, A.; MORAES, F. C.; MARCOLINO-JÚNIOR, L. H.; FATIBELLO-FILHO, O. & CAVALHEIRO, E. T. G. “Determination of Vitamin B6 (Pyridoxine) in Pharmaceutical Preparations by Cyclic Voltammetry at a Copper(II) Hexacyanoferrate(III) Modified Carbon Paste Electrode”. *J. Braz. Chem. Soc.*, **14**(2): 316, 2003.
- 106 TEIXEIRA, M. F. S.; MARINO, G.; DOCKAL, E. R. & CAVALHEIRO, E. T. G. “Voltammetric determination of pyridoxine (Vitamin B6) at a carbon paste electrode modified with vanadyl(IV)–Salen complex”. *Anal. Chim. Acta, no prelo*.
- 107 HERNÁNDEZ, S. R.; RIBEIRO, G. G. & GOICOECHEA, H. C. “Enhanced application of square wave voltammetry with glassy carbon electrode coupled to multivariate calibration tools for the determination of B6 and B12 vitamins in pharmaceutical preparations”. *Talanta*, **61**: 743, 2003.
- 108 USLU, B.; DEMIRCIGIL, B. T.; OZKAN, S. A.; SENTURK, Z. & ABOUL-ENEIN, H. Y. “Simultaneous determination of melatonin and pyridoxine in tablet formulations by differential pulse voltammetry”. *Pharmazie*, **56**(12): 938, 2001.
- 109 FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 3^a ed. Organização Andrei Editora S. A. São Paulo.
- 110 FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4^a ed. Organização Andrei Editora S. A. São Paulo.
- 111 BARD, A. J. & FAULKNER, L. R. “Electrochemical methods fundamentals and applications” New York: John Wiley & Sons, 1980.
- 112 ZAGAL, J.; BINDRA, P. & YEAGER, E. “A mechanistic study of O₂ reduction on water soluble phtalocyanines adsorbed on graphite electrodes”. *J. Electrochem. Soc.*, **127**(7): 1506, 1980.

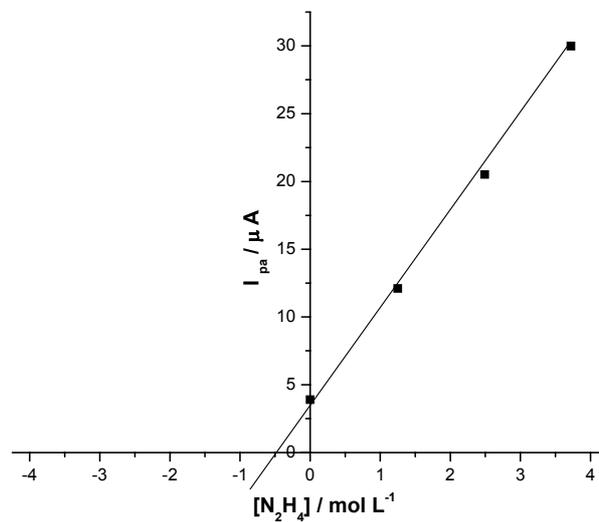
- 113 XIA, H. & LI, H.-LI. "Electrooxidation of hydrazine catalyzed by 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethyl-piperidinyloxy (TEMPOL)". *J. Electroanal. Chem.* **430**: 183, 1997.
- 114 GOLABI, S. M.; ZARE, H. R. & HAMZEHLOO, M. "Electrocatalytic oxidation of hydrazine at a pyrocatechol Violet (PVC) chemically modified electrode". *Microchem. Journal*, **69**: 111, 2001.
- 115 ZAGAL, J. H. & PÁEZ, M. "Electro-oxidation of hydrazine on electrodes modified with vitamin B₁₂". *Electrochim. Acta*, **42**(23-24): 3477, 1997.
- 116 ISAACS, M.; AGUIRRE, M. J.; TORO-LABBÉ, A.; COSTAMAGNA, J.; PÁEZ, M. & ZAGAL, J. H. "Comparative study of the electrocatalytic activity of cobalt phthalocyanine and cobalt naphthalocyanine for the reduction of oxygen and the oxidation hydrazine". *Electrochim. Acta*, **43**(12-13): 1821, 1998.
- 117 URBANICZKY, C. & LUNDSTRÖM, K. "Voltammetric studies on carbon paste electrodes: Influence of paste composition on electrode capacity and kinetics". *J. Electroanal. Chem.*, **176**: 169, 1984.
- 118 TEIXEIRA, M. F. de S. *Eletrodos voltamétricos e potenciométricos modificados de interesse analítico*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2000. Tese de doutorado.
- 119 ZHANG, J.; TSE, Y.-H.; PIETRO, W. J. & LEVER, A. B. P. "Electrocatalytic activity of N,N',N'',N'''-tetramethyl-tetra-3,4-pyridoporphyrazinocobalt (II) adsorbed on a graphite electrode towards the oxidation of hydrazine and hydroxylamine". *J. Electroanal. Chem.* **406**: 203, 1996.
- 120 ARDILES, P.; TROLLUND, E.; ISAACS, M.; ARMIJO, F.; CANALES, J. C.; AGUIRRE, M. J. & CANALES, M. J. "Electrocatalytic oxidation of hydrazine at polymeric iron-tetraaminophthalocyanine modified electrodes". *J. Molec. Catal. A: Chem*, **165**: 169, 2001.
- 121 AMARANTE JUNIOR, O. P.; CALDAS, E. P. A.; BRITO, N. M.; SANTOS, T. C. R. & VALE, M. L. B. F. "Validação de métodos analíticos: uma breve revisão" *Caderno de Pesquisa*, **12**(1-2): 116, 2001.
- 122 MILLER, J. C. & MILLER, J. N. *Estadística para química analítica* 2 ed. Addison-Wesley iberoamericana, S.A., Wilmington, Delaware, E.U.A., 1993.
- 123 SHANKARAN, D. R.; UEHARA, N. & KATO, TEIJI "Sol-gel derived metal dispersed ceramic-graphite composite electrode for amperometric determination of dopamine". *Anal. Chim. Acta*, **478**: 321, 2003.
- 124 XUN, Z.; CAI, C.; XING, W. & LU, T. "Electrocatalytic oxidation of dopamine at a cobalt hexacyanoferrate modified glassy carbon electrode prepared by a new method" *J. Electroanal. Chem.*, **545**: 19, 2003.

- 125 LIN, X.-Q. & ZHANG, L. "Simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid at glutamic acid modified graphite electrode". *Anal. Letters*, **34**(10): 1585, 2001.
- 126 RAZMI, H.; AGAZADEH, M. & HABIBI-A, B. "Electrocatalytic oxidation of dopamine at aluminum electrode modified with pentacyanonitrosylferrate films, synthesized by electrodeless procedure". *J. Electroanal. Chem.*, **547**: 25, 2003.
- 127 RAY, R. C.; KOICHI, T. & OHSAKA, T. "Electroanalytical applications of cationic self-assembled monolayers: square-wave voltammetric determination of dopamine and ascorbate". *Bioelectrochemistry*, **53**: 183, 2001.
- 128 ONI, J. & NYOKONG, T. "Simultaneous voltammetric determination of dopamine and serotonin on carbon paste electrodes modified with iron (II) phthalocyanine complexes". *Anal. Chem. Acta*, **434**: 9, 2001.
- 129 LINDQUIST, J. "A study of seven different carbon paste electrodes". *J. Electroanal. Chem.*, **52**: 37, 1974.

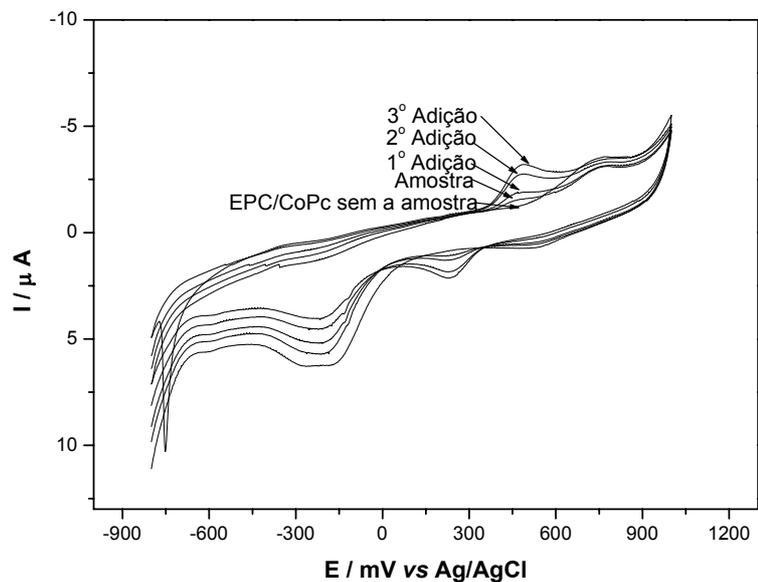
ANEXOS



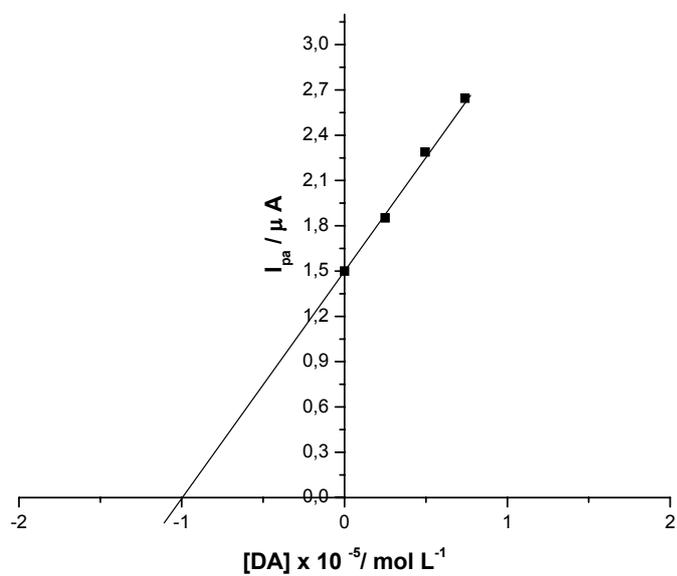
Anexo 1 – Voltamogramas cíclicos da determinação de hidrazina em águas de caldeira



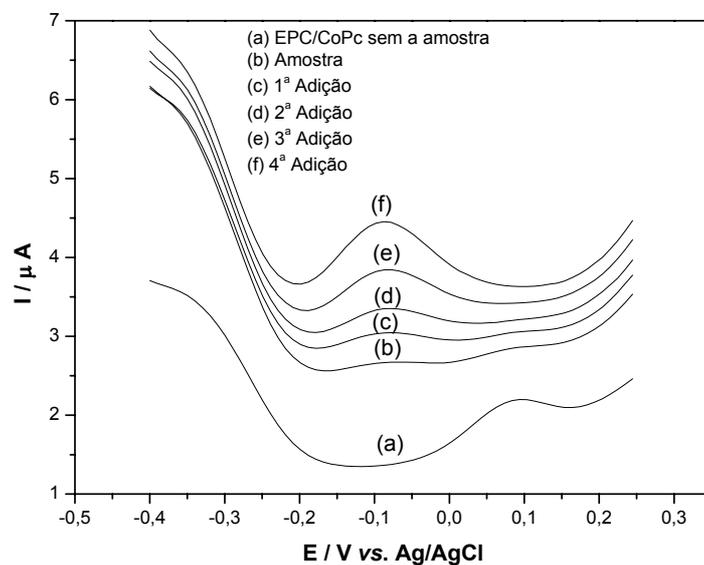
Anexo 2 – Determinação de hidrazina em águas de caldeira pelo método de adição múltipla de padrão.



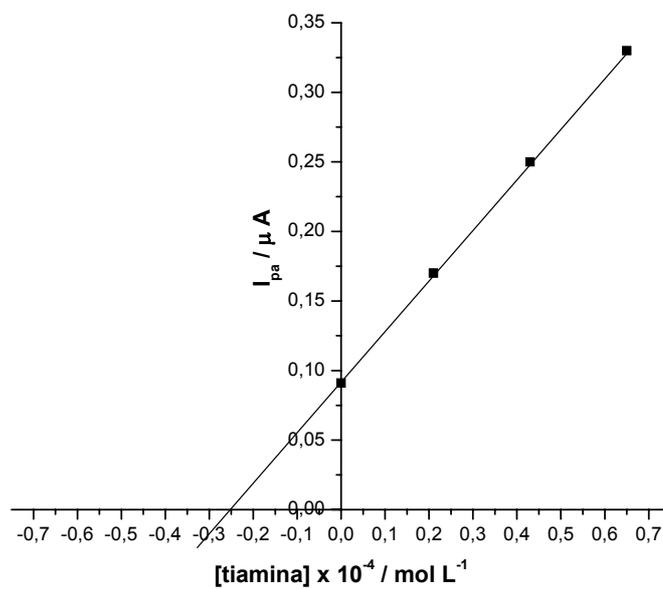
Anexo 3 – Voltamogramas cíclicos da determinação de dopamina em formulação farmacêutica



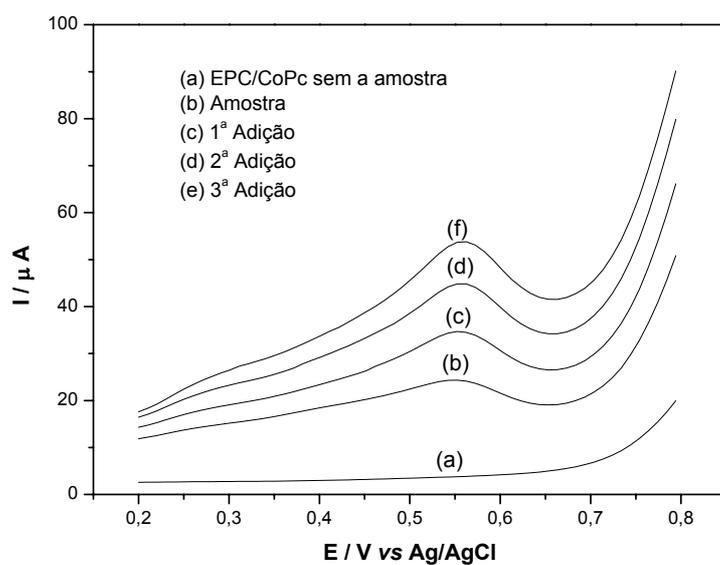
Anexo 4 – Determinação de dopamina em formulação farmacêutica pelo método de adição múltipla de padrão



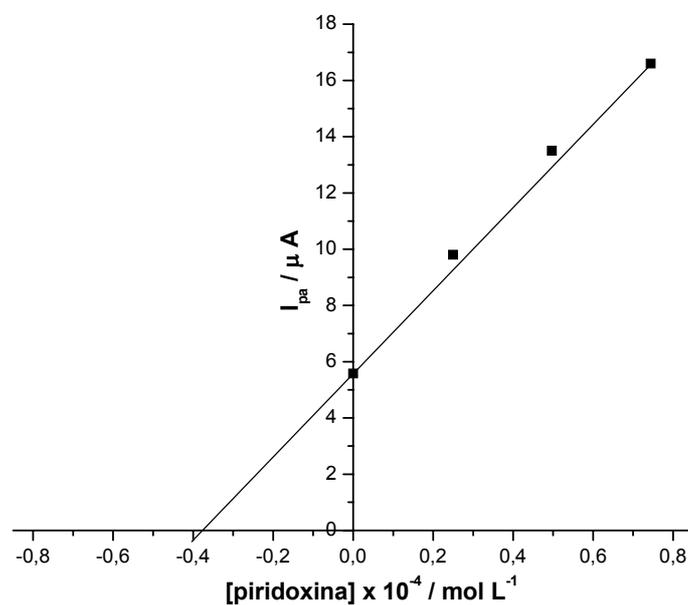
Anexo 5 – Voltamogramas cíclicos da determinação de tiamina em formulação farmacêutica



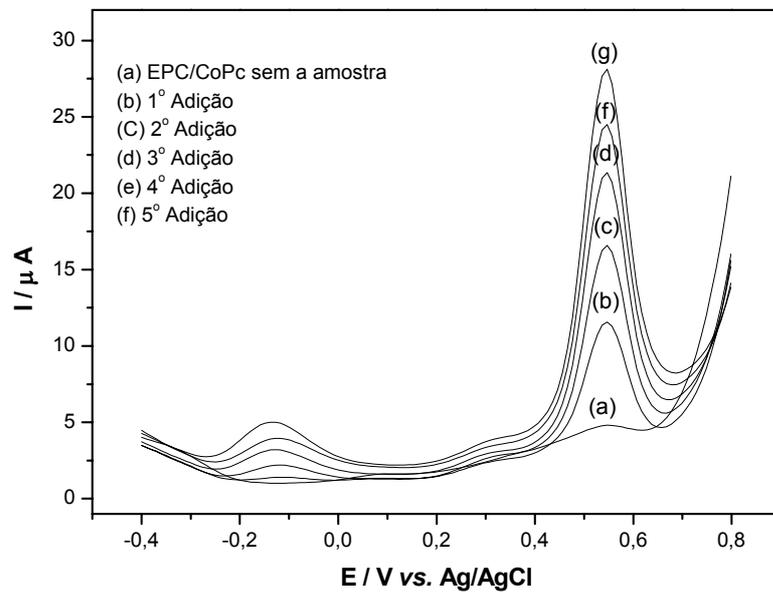
Anexo 6 – Determinação de tiamina em formulação farmacêutica pelo método de adição múltipla de padrão



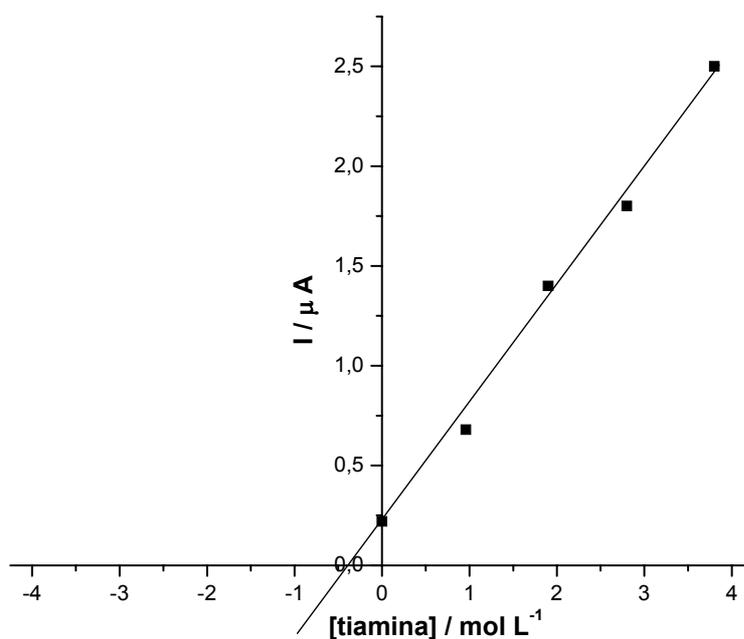
Anexo 7 – Voltamogramas cíclicos da determinação de piridoxina em formulação farmacêutica



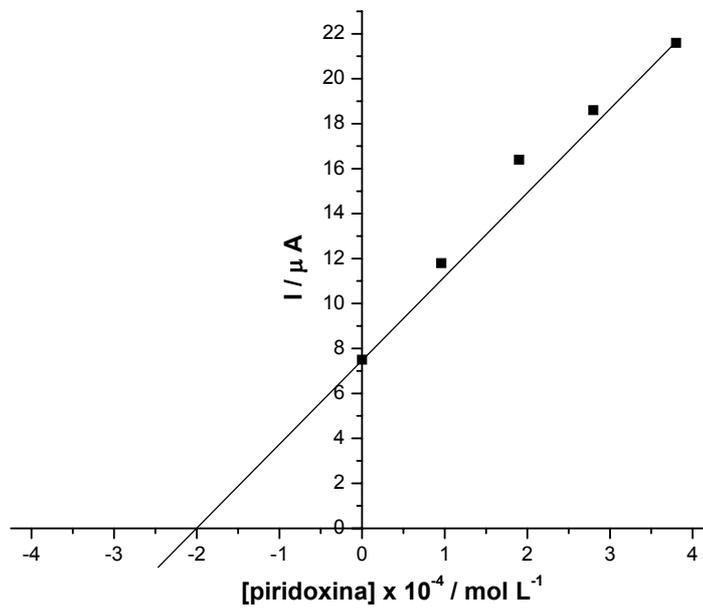
Anexo 8 – Determinação de piridoxina em formulação farmacêutica pelo método de adição múltipla de padrão



Anexo 9 – Voltamogramas cíclicos da determinação simultânea de tiamina e piridoxina em formulação farmacêutica



Anexo 10 – Determinação de tiamina em formulação farmacêutica pelo método de adição múltipla de padrão



Anexo 11 – Determinação de piridoxina em formulação farmacêutica pelo método de adição múltipla de padrão