

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

DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTOS EM FLUXO PARA A
DETERMINAÇÃO DE CAPTOPRIL, DAPIRONA E PARACETAMOL
ENVOLVENDO MULTICOMUTAÇÃO E INIBIÇÃO DA
QUIMILUMINÊSCENCIA

Geiser Gabriel de Oliveira *

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do título de
MESTRE EM QUÍMICA (área de
concentração QUÍMICA ANALÍTICA)

Orientador: Prof. Dr. Orlando Fatibello-Filho

*Bolsista do CNPq

São Carlos – SP

2008

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

O48dp

Oliveira, Geiser Gabriel de.

Desenvolvimento de procedimentos em fluxo para a determinação de Captopril, Dipirona e Paracetamol envolvendo multicomutação e inibição da quimiluminescência / Geiser Gabriel de Oliveira. -- São Carlos : UFSCar, 2012.

75 f.

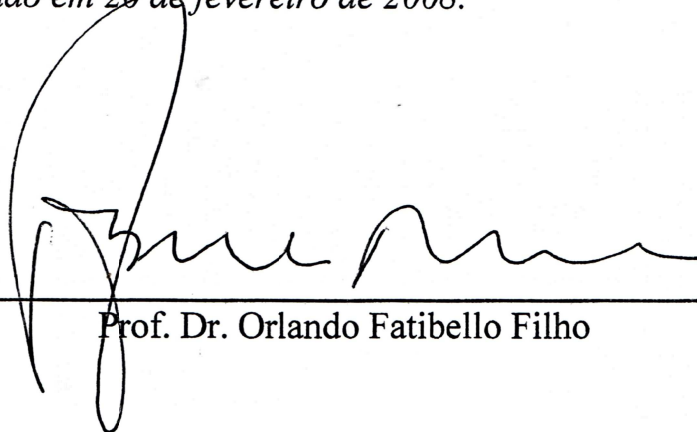
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2008.

1. Química analítica. 2. Captopril. 3. Dipirona. 4. Acetaminofen. 5. Quimiluminescência. I. Título.

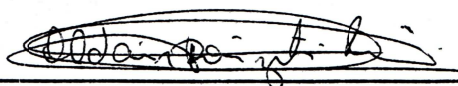
CDD: 543 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Mestrado

Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de dissertação de mestrado do candidato Geiser Gabriel de Oliveira realizado em 20 de fevereiro de 2008:



Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho



Prof. Dr. Oldair Donizeti Leite



Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Rogério e a Inês.*

Aos meus irmãos, Apolo e Heber.

Agradeço,

- *A Deus por me dar forças nos momentos difíceis;*
- Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho, pela orientação e discussão profissional;
- À minha mãe Inês, meu pai Rogério, meus irmãos Apolo e o Heber, pelo apoio, amor e carinho;
- Ao meu avô Salvador Gabriel de Oliveira (em memória);
- Aos amigos (irmãos) Bruno e Avaré pela amizade;
- À Garça (Marina) pelo apoio no desenvolvimento desse projeto e pelos momentos de muita risada;
- As minhas pequenas GRANDES amigas que sempre estiveram ao meu lado nos momentos de dificuldades e nunca negaram um ombro amigo, seja de dia ou a noite, sempre dispostas, Fernanda Salami e Kallyni Irikura
- Aos amigos do LABBES, Bruna, Luis, Viviane, Willian, Humberto, Fernanda, Heloíse, Roberta, Cyber, Lucia e Alexandro, pela convivência;
- À Universidade Federal de São Carlos e ao Programa de Pós-Graduação em Química, pela oportunidade;
- À todos aqueles, que tive o privilégio de conhecer e conviver durante estes anos de mestrado,

Muitíssimo Obrigado.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1 – Esquema de acionamento das válvulas solenóides para a determinação de captopril, diagrama de fluxo Figura 3.2.....	17
TABELA 3.2 – Parâmetros estudados na otimização do sistema para a determinação e captopril em formulações farmacêuticas.....	25
TABELA 3.3 – Estudo de adição e recuperação de captopril em amostras farmacêuticas.....	29
TABELA 3.4 – Determinação de captopril em formulações comerciais pelo método quimiluminescente e pelo o método comparativo.....	29
TABELA 4.1 – Esquema de acionamento das válvulas solenóides para a determinação de dipirona, diagrama de fluxo Figura 4.2.....	37
TABELA 4.2 – Parâmetros estudados na otimização do sistema para a determinação e dipirona em formulações farmacêuticas.....	47
TABELA 4.3 – Estudo de adição e recuperação de dipirona em amostras farmacêuticas.....	50
TABELA 4.4 – Determinação de dipirona em produtos farmacêuticos empregando-se método quimiluminescente e pelo o método comparativo iodimétrico.....	50
TABELA 5.1 – Esquema de acionamento das válvulas solenóides para a determinação de paracetamol, diagrama de fluxo Figura 5.2.....	57
TABELA 5.2 – Parâmetros estudados na otimização do sistema para a determinação e paracetamol em formulações farmacêuticas.....	65
TABELA 5.3 – Estudo de adição e recuperação de paracetamol em amostras farmacêuticas.....	68
TABELA 5.4 – Determinação de paracetamol em produtos farmacêuticos comerciais pelo método quimiluminescente e pelo o método comparativo.....	68

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.1 – Exemplos de compostos que participam como substratos de reações quimiluminescentes: 1 – Lofina; 2 – Luminol; 3 – Lucigenina; 4 – Isoluminol; 5 – Etanodiato de bis (2,4,6-triclorofenila); 6 – Pirogalol; 7 – Luciferina.....2
- FIGURA 1.2 – Esquema do mecanismo de reação do luminol com H₂O₂ em meio alcalino, na presença de um metal de transição Mn⁺ como catalisador proposto por Albertin et al.⁹ Intermediários: (I) diazoquinona, (II) ânion do peróxido de hidrogênio, (III e IV) endo-peróxido e (V) 3-aminoftalato.....3
- FIGURA 2.1 – Formulário (tela) empregado para interface com o usuário.....9
- FIGURA 2.2 – Fotos da cela de fluxo (A e B) construídas, empregando tubo de polietileno (diâmetro interno de 0,8 mm) enrolado em espiral.....10
- FIGURA 2.3 – Fotos do módulo de detecção construído, empregando um fotodiodo de silício e a cela de medida de tubo de polietileno em espiral, para o monitoramento da radiação quimiluminescente.....11
- FIGURA 3.1 – Fórmula estrutural do captopril.....12
- FIGURA 3.2 – Diagrama de fluxos do sistema empregado para a determinação de captopril. C- transportador; A – soluções padrões de captopril e/ou amostras; R₁ – solução de ClO⁻; R₂ – solução de luminol; V₁ – V₄ – válvulas solenóides de 3 vias ; B – Percurso Analítico; D – Detector: luminômetro construído com fotodiodo de silício contendo uma cela de polietileno em espiral de 100 cm; W – descarte; X e Y – ponto de confluência.....16
- FIGURA 3.3 – Efeito da concentração da solução de hipoclorito de sódio (67 µL) sobre o sinal analítico, empregando 67 µL de solução de captopril 5,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ (V₂ = 2 s) e 67 µL de solução de luminol 1,0 mmol L⁻¹ (V₃ = 2 s).....19
- FIGURA 3.4 – Efeito da concentração de luminol sobre o sinal analítico.....20
- FIGURA 3.5 – Efeito do tempo de acionamento das válvulas das soluções de hipoclorito de sódio e captopril sobre o sinal analítico.....22
- FIGURA 3.6 – Efeito do tempo de acionamento da válvula solenóide (V₄) luminol, sobre o sinal analítico.....23
- FIGURA 3.7 – Efeito do comprimento do percurso analítico sobre o sinal analítico..24
- FIGURA 3.8 – Efeito da vazão da vazão das soluções, estudados simultaneamente na faixa de 1,4 a 3,0 mL min⁻¹25
- FIGURA 3.9 – Sinais transientes referentes às soluções padrões de captopril (A – G) de 7,5 x 10⁻⁶ a 1,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹26

FIGURA 3.10 – Curva analítica obtida para as soluções padrões de captopril de $7,5 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (1,63 a $21,7 \text{ mg L}^{-1}$).....	27
FIGURA 3.11 – Estudo da repetibilidade para a solução de hipoclorito de sódio (A) $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e solução de referência de captopril nas concentrações de (B) $2,5 \times 10^{-5}$ e (C) $7,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	28
FIGURA 4.1 – Estrutura molecular da dipirona.....	31
FIGURA 4.2 – Diagrama de fluxos do sistema empregado para a determinação dipirona. C- transportador; A – soluções padrões de dipirona e/ou amostras; R_1 – solução de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$; R_2 – solução de luminol; R_3 – solução de H_2O_2 ; V_1 – V_5 – válvulas solenóides de 3 vias ; B – Percurso Analítico; D – Detector: luminômetro construído com fotodiodo de silício contendo uma cela de polietileno em espiral de 100 cm; W – descarte; X e Y – ponto de confluência.....	36
FIGURA 4.3 – Efeito da concentração da solução de hexacianoferrato de potássio (53 μL) sobre o sinal analítico, empregando 53 μL de solução de dipirona $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($V_2 = 2 \text{ s}$), 53 μL de solução de luminol $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ($V_3 = 2 \text{ s}$) e 53 μL de solução de peróxido de sódio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	39
FIGURA 4.4 – Efeito da concentração de luminol sobre o sinal analítico.....	40
FIGURA 4.5 – Efeito da concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) sobre o sinal analítico.....	41
FIGURA 4.6 – Efeito do tempo de acionamento das válvulas das soluções de hexacianoferrato de potássio (III) e dipirona sobre o sinal analítico.....	43
FIGURA 4.7 – Efeito do tempo de acionamento das válvulas solenóides V_4 e V_5 do luminol e hexacianoferrato (III) respectivamente, sobre o sinal analítico.....	44
FIGURA 4.8 – Efeito do comprimento do percurso analítico sobre o sinal analítico.....	45
FIGURA 4.9 – Efeito da vazão da vazão das soluções, estudados simultaneamente na faixa de 1,1 a $2,4 \text{ mL min}^{-1}$	46
FIGURA 4.10 – Sinais transientes para as soluções padrões de dipirona de $1,0 \times 10^{-4}$ a $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (33,0 a $300,0 \text{ mg L}^{-1}$).....	47
FIGURA 4.11– Curva analítica obtida para as soluções padrões de dipirona de $1,0$ a $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (33,0 a $300,0 \text{ mg L}^{-1}$).....	48
FIGURA 4.12 – Estudo da repetibilidade para solução de hexacianoferrato (III) de potássio (A) 15 mmol L^{-1} e solução de referência de dipirona nas concentrações de (B) $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e (C) $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	49
FIGURA 5.1– Estrutura molecular do paracetamol.....	52

- FIGURA 5.2 – Diagrama de fluxos do sistema empregado para a determinação de paracetamol. C- transportador; A – soluções padrões de paracetamol e/ou amostras; R₁ – solução de hipoclorito de sódio; R₂ – solução de luminol; V₁ – V₄ – válvulas solenóides de 3 vias ; B – Percurso Analítico; D – Detector: luminômetro construído com fotodiodo de silício contendo uma cela de polietileno em espiral de 100 cm; W – descarte; X e Y – ponto de confluência.....56
- FIGURA 5.3 – Efeito da concentração da solução de hipoclorito de sódio (66 µL) sobre o sinal analítico, empregando 66 µL de solução de paracetamol $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($V_2 = 2 \text{ s}$), 133 µL de solução de luminol $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ($V_3 = 2 \text{ s}$) e 66 µL de solução de peróxido de sódio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$59
- FIGURA 5.4 – Efeito da concentração de luminol sobre o sinal analítico.....60
- FIGURA 5.5 – Efeito do tempo de acionamento das válvulas das soluções de hipoclorito de sódio e de paracetamol sobre o sinal analítico.....61
- FIGURA 5.6 – Efeito do tempo de acionamento das válvula da solução de luminol sobre o sinal analítico.....62
- FIGURA 5.7 – Efeito do comprimento do percurso analítico sobre o sinal analítico..63
- FIGURA 5.8 – Efeito da vazão das soluções, estudados simultaneamente na faixa de $1,4 \text{ a } 3,0 \text{ mL min}^{-1}$64
- FIGURA 5.9 – Sinais transientes obtida para as soluções padrões de paracetamol de $5,0 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,75 \text{ a } 7,5 \text{ mg L}^{-1}$).....65
- FIGURA 5.10 – Curva analítica obtida para as soluções padrões de paracetamol de $5,0 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,75 \text{ a } 7,5 \text{ mg L}^{-1}$).....66
- FIGURA 5.11 – Estudo da repetibilidade para solução de hipoclorito de sódio (A) $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$ e solução de referência de paracetamol na concentração de (B) $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e (C) $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$67

Resumo

DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTOS EM FLUXO PARA A DETERMINAÇÃO DE CAPTOPRIL, DAPIRONA E PARACETAMOL ENVOLVENDO MULTICOMUTAÇÃO E INIBIÇÃO DA QUIMILUMINÊSCENCIA

No presente trabalho, foram desenvolvidos procedimentos analíticos empregando o conceito de multicomutação e inibição da quimiluminescência para a determinação de fármacos, tais como, captopril, dipirona e paracetamol. Para o controle do módulo de análise e aquisições de dados foi empregado um microcomputador Pentium 233 MHz equipado com uma interface eletrônica (PCL – 711S), através de programas em linguagem Lab – View 7.0. O módulo de detecção consiste de uma célula de fluxo de polietileno (em espiral) de 100 cm, um fotodiodo de silício (OSD-50E) e um dispositivo eletrônico (modelo FAC 500), para o condicionamento e amplificação dos sinais quimiluminescentes. O procedimento analítico foi empregado para determinação de captopril em formulações farmacêuticas, o sistema baseia-se na inibição do sinal quimiluminescente, entre o luminol e o hipoclorito de sódio, ao inserir o fármaco no sistema. A curva analítica apresentou uma linearidade de entre $7,5 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e limite de detecção estimado em $9,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ com uma frequência analítica de 180 h⁻¹. O mesmo sistema foi empregado para determinação de dipirona, esse sistema baseia se na oxidação da dipirona pelo hexacianoferrato (III) de potássio, que é o catalisador da reação entre o luminol-H₂O₂ ocorrendo assim a diminuição do sinal quimiluminescente. A curva analítica apresentou um faixa linear de $1,0 \times 10^{-4}$ a $9,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $9,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ obtendo uma frequência analítica de 215 h⁻¹.

O procedimento analítico estudado, para a determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas baseia se no consumo do reagente em excesso de hipoclorito de sódio pelo fármaco, ocorrendo dessa forma à diminuição da magnitude do sinal analítico. Após a otimização do sistema obteve-se uma faixa linear de resposta de $5,0 \times 10^{-6}$ a $9,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $2,35 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e uma frequência de amostragem de 180 determinações por hora.

Nos procedimentos quimiluminescentes envolvendo sistema de multicomutação se destaca o baixo consumo de reagentes bem como uma boa frequência analítica.

Abstract**DEVELOPMENT OF PROCEDURES IN FLOW INJECTION FOR THE DETERMINATION OF CAPTOPRIL, DIPIRONA AND PARACETAMOL INVOLVING MULTICOMMUTATION AND INHIBITION OF CHEMILUMINESCENCIA**

In the present work, analytical procedures were developed using the multicomutação concept and inhibition of the chemiluminescence for the pharmaceuticals determination, such as, captopril, dipirona and paracetamol. For the control of the analysis module and acquisitions of data a microcomputer was used Pentium 233 MHz equipped with an electronic interface (PCL - 711S), through programs in language Lab - View 7.0. The detection module consists of a cell of flow of polyethylene (in spiral) of 100 cm, a silicon fotodiodo (OSD-50E) and an electronic device (I model FAC 500), for the conditioning and amplification of the signs chemiluminescents.

The analytical procedure was used for captopril determination in pharmaceutical formulations, the system bases on the inhibition of the sign chemiluminescence, between the luminol and the hypochlorite of sodium, when inserting the drug in the system. The analytical curve obtained was linear from $7,5 \times 10^{-6}$ to $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ and detection limit was $9,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ with an analytical frequency of 180 h⁻¹.

The same system was used for dipirona determination, that system bases on the oxidation of the dipirona for the hexacianoferrate (III) of potassium, that is the catalyst of the reaction among the luminol-H₂O₂ happening like this the decrease of the sign quimiluminescente. The analytical curve presented a lineal strip of $1,0 \times 10^{-4}$ to $9,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ with limit of detection of $9,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ obtaining an analytical frequency of 215 h⁻¹.

The studied analytical procedure, for the paracetamol determination in pharmaceutical formulations bases on the consumption of the reagent in excess of hypochlorite of sodium for the drugs, happening from that way to the decrease of the magnitude of the analytical sign. After the optimization of the system it was obtained a lineal strip of answer of $5,0 \times 10^{-6}$ to $9,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ with a limit of detection of $2,35 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ and a frequency of sampling of 180 determinations per hour.

In the procedures quimiluminescentes involving multicommutation system stands out the bass consumption of reagents as well as a good analytical frequency.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
CAPÍTULO I – Introdução Geral.....	1
1.1 Luminescência.....	1
1.2. Sistema de análises em fluxo e multicomutação.....	5
CAPÍTULO II – Parte Experimental.....	11
2.1. Descrição geral do sistema.....	12
2.1.2. Módulo de Análise de detecção.....	12
CAPÍTULO III – Determinação de Captopril.....	27
3.1 – Introdução.....	27
3.2 – Parte Experimental.....	27
3.2.1 – Equipamentos e Acessórios.....	27
3.2.2 – Reagentes e soluções empregados na otimização do procedimento em fluxo para a determinação de captopril.....	27
3.2.3 – Preparo das Amostras.....	28
3.2.4 – Diagrama de fluxos e procedimento.....	28
3.3 – Resultados e Discussão	28
3.3.1 – Efeito da concentração da solução de hipoclorito de sódio.....	28
3.3.2 – Efeito da concentração da solução de luminol.....	28
3.3.3 – Estudo do tempo de acionamento das válvulas para as soluções de hipoclorito de sódio e de captopril.....	28
3.3.4 – Estudo do tempo de acionamento da válvula solenóide para a solução	

de luminol.....	29
3.3.5 - Avaliação do comprimento do percurso analítico.....	29
3.3.6 - Estudo da vazão do sistema.....	30
3.3.7 - Curva analítica.....	30
3.3.8 - Estudo da repetibilidade e frequência analítica.....	30
3.3.9 - Estudo de adição e recuperação de captopril em formulações farmacêutica.....	30
3.3.10 – Determinação de captopril em amostras comerciais empregando o sistema em fluxo com detecção quimiluminescente.....	31
3.4 – Conclusões.....	32
CAPÍTULO IV – Determinação de Dipirona.....	36
4.1 – Introdução.....	37
4.2 – Parte Experimental.....	38
4.2.1 – Equipamentos e acessórios.....	38
4.2.2 – Reagentes e soluções empregados na otimização do procedimento em fluxo para a determinação de dipirona.....	38
4.2.3 – Preparo das amostras.....	38
4.2.4 – Diagrama de fluxos e procedimento.....	38
4.3 – Resultados e Discussão.....	39
4.3.1 – Efeito da concentração da solução de hexacianoferrato (III) de potássio.....	40
4.3.2 – Efeito da concentração da solução de luminol.....	40
4.3.3 – Efeito da concentração da solução de peróxido de hidrogênio.....	43
4.3.4 – Estudo do tempo de acionamento das válvulas solenóides para as soluções de hexacianoferrato (III) de potássio e de dipirona.....	48
4.3.5 – Estudo do tempo de acionamento das válvulas solenóides para as soluções de luminol e de peróxido de hidrogênio.....	48

4.3.6 – Avaliação do comprimento percurso analítico.....	49
4.3.7 - Estudo da vazão do sistema.....	50
4.3.8 – Curva analítica.....	51
4.3.9 – Estudo da repetibilidade e freqüência analítica.....	53
4.3.10 - Estudo de adição e recuperação de dipirona em formulações farmacêuticas.....	54
4.3.11 – Determinação de dipirona em amostras comerciais empregando o sistema em fluxo com detecção quimiluminescente.....	57
4. 4 - Conclusões.....	63
CAPÍTULO V – Determinação de Paracetamol.....	64
5.1 – Introdução.....	65
5.2 – Parte Experimental.....	66
5.2.1 – Equipamentos e acessórios.....	68
5.2.2 – Reagentes e soluções empregados na otimização do procedimento em fluxo para a determinação de paracetamol.....	71
5.2.3 – Preparo das amostras.....	75
5.2.4 – Diagrama de fluxos e procedimento.....	74
5.3 – Resultados e Discussão.....	76
5.3.1 – Efeito da concentração da solução de hipoclorito de sódio.....	42
5.3.2 – Efeito da concentração da solução de luminol.....	12
5.3.3 – Estudo do tempo de acionamento das válvulas para as soluções de hipoclorito de sódio e de paracetamol.....	
5.3.4 – Estudo do tempo de acionamento da válvula solenóide para a solução de luminol.....	78
5.3.5 - Avaliação do comprimento do percurso analítico.....	81
5.3.6 - Estudo da vazão do sistema.....	83
5.3.7 - Curva analítica.....	84
5.3.8 – Estudo da repetibilidade e freqüência analítica.....	84

5.3.9 – Estudo de adição e recuperação de paracetamol em formulações farmacêuticas.....	85
5.3.10 – Determinação de paracetamol em amostras comerciais empregando o sistema em fluxo com detecção quimiluminescente.....	12
5. 4 – Conclusões.....	13
CAPÍTULO VI – Referências Bibliográficas.....	32

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

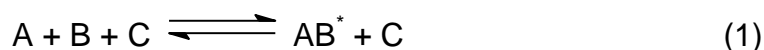
1 – Introdução

1.1 – Luminescência

Desde a antiguidade são conhecidos fenômenos de emissão de luz. Um dos primeiros compostos sintetizado foi a lofina em obtida em 1887 por Radziszewski¹. O termo luminescência descreve a emissão de luz que ocorre quando uma molécula no estado excitado decai para o estado fundamental. Existem alguns tipos de luminescência que se diferenciam pelo tipo de fonte de energia empregada para se obter o estado excitado, por exemplo quando a energia é fornecida na forma de radiação eletromagnética, chama-se fotoluminescência (fluorescência ou fosforescência), na forma de calor (piroluminescência), impacto de elétrons (catodoluminescência) ou por cristalização (cristaloluminescência) e a quimiluminescência, a energia de excitação é produzida por uma reação química.¹⁻⁴

As reações químicas que liberam este tipo de radiação em organismos vivos são conhecidas como bioluminescência. Processos químicos da quimiluminescência envolvem a absorção pelos reagentes, de energia suficiente para a geração de um complexo ativado, o qual se transforma em um produto eletronicamente excitado²⁻⁵. Se a espécie for emissiva, produz a radiação diretamente, caso contrário, pode ocorrer a transferência de energia do estado excitado formado para uma molécula aceptora apropriada, resultando na emissão indireta a radiação na região do UV, Vis e/ou infra-vermelho.

Uma maneira simples de representar as reações químicas são apresentadas pelas equações 1 e 2, sendo que **A** e **B** representam os reagentes, **AB*** o intermediário formado no estado excitado, **AB** o produto da reação, $h\nu$ a radiação luminosa emitida e **C** um catalisado⁵.



A emissão obtida é idêntica aquela do espectro de fluorescência do composto AB, no entanto, sem o emprego de radiação externa (fonte de excitação). Para que uma reação química produza luminescência, esta deverá satisfazer três

condições: a) a energia necessária para ocorrer a reação química deve ser suficiente para produzir um estado eletronicamente excitado; b) o caminho reacional deve favorecer a formação do estado eletronicamente excitado e c) o produto deve ser luminescente ou transferir sua energia para uma molécula luminescente.

Algumas substâncias tais como: lofina (1), luminol (2), lucigenina (3), isoluminol (4), etanodiato de bis (2,4,6-triclorofenila) (5), pirogalol (6) e a luciferina (7) são alguns substratos quimiluminescentes e suas fórmulas são apresentadas na Figura 1.1.¹

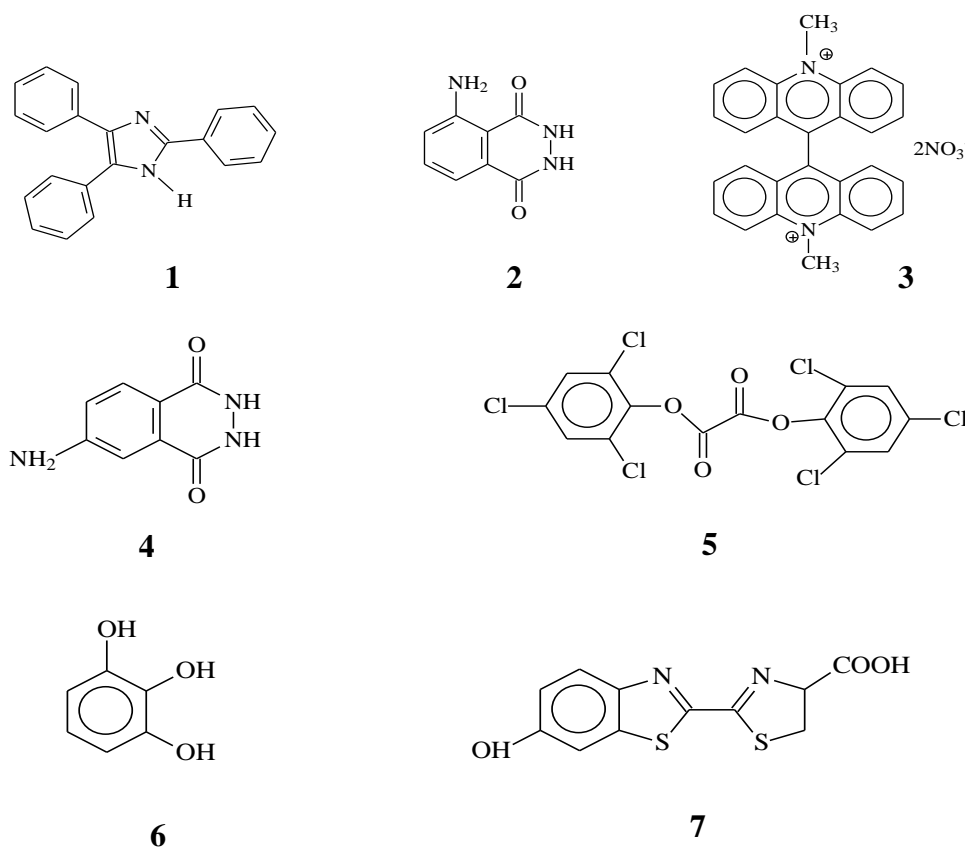


Figura 1.1- Exemplos de compostos que participam como substratos de reações quimiluminescentes: 1 – Lofina; 2 – Luminol; 3 – Lucigenina; 4 – Isoluminol; 5 – Etanodiato de bis (2,4,6-triclorofenila); 6 – Pirogalol; 7 – Luciferina.

Uma das reações mais conhecidas e exploradas em química analítica desde os anos 60 é a oxidação do luminol². Diversas outras espécies podem ser empregadas como oxidantes (eg. H_2O_2 , ClO^- , MnO_4^{2-} , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) ou catalisadores (eg. peroxidase, Cu^{2+} , Co^{2+} , Fe^{3+} , $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ etc).

Albrecht⁴ foi o pioneiro ao estudar o mecanismo da oxidação do luminol com peróxido de hidrogênio em meio alcalino, mas foi Albertin *et al.*⁵ que propôs o esquema para o mecanismo da reação luminescente do luminol com peróxido de

hidrogênio em meio alcalino na presença de um catalisador como mostra a Figura 1.2.

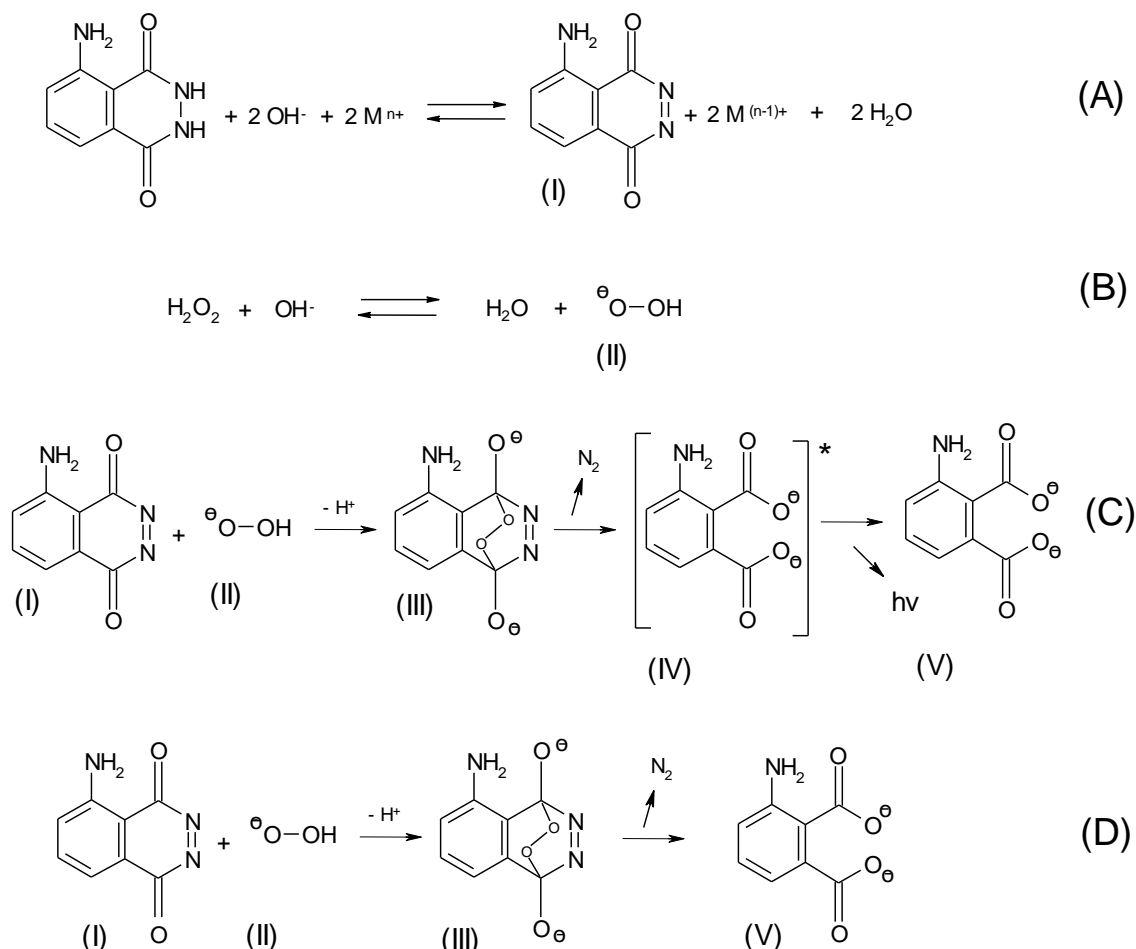


Figura 1.2 - Esquema do mecanismo de reação do luminol com H_2O_2 em meio alcalino, na presença de um metal de transição M^{n+} como catalisador proposto por Albertin *et al.*⁴ Intermediários: (I) diazoquinona, (II) ânion do peróxido de hidrogênio, (III e IV) endo-peróxido e (V) 3-aminofalato.

Na etapa de reação (A), pela ação do catalisador M^{n+} (íon de metal de transição), aparece o primeiro intermediário (I) diazoquinona. Na etapa de reação (B) ocorre a formação do ânion do peróxido de hidrogênio (II) em meio alcalino. Duas possíveis rotas de reação para os intermediários (I) e (II) são apresentadas nas etapas (C) e (D).

A etapa (C) mostra a reação entre diazoquinona (I) e ânion do peróxido de hidrogênio (II), gerando o 3-aminofalato (intermediário (V)) e $(h\nu)$ quimiluminescência. Na etapa (D) há reação entre os intermediários (I) e (II) produzindo apenas o 3-aminofalato e N_2 , sem produção de quimiluminescência.

Do ponto de vista analítico, provavelmente as etapas (A) e (B) são as mais importantes, além da etapa (C) (geração da luminescência). Nestas etapas, se determinam as concentrações das espécies que formam o intermediário responsável pela luminescência na etapa (C) que são responsáveis pela duração e intensidade de emissão.^{9,10} Porém, não se tem uma conclusão sobre a presença de metais de transição na reação quimiluminescente, e o intermediário endoperóxido (IV) ainda não foi detectado (presume-se que este intermediário se decomponha muito rapidamente), o que explica o fato de ainda não ter sido detectado.

O interesse analítico da quimiluminescência surge dos excelentes limites de detecção que podem ser atingidos e da simplicidade da instrumentação necessária para o monitoramento da radiação⁵⁻⁹. A sensibilidade obtida nas técnicas analíticas quimiluminescentes está associada a vários fatores, principalmente pela ausência da irradiação prévia (fonte de radiação), eliminando problemas devido à dispersão de luz, excitação não seletiva e instabilidade e/ou ruído da fonte de radiação. Em geral, a duração da radiação quimiluminescente, varia entre 1-30 s, portanto a escolha do sistema de detecção bem como a velocidade com que este monitora e processa os sinais é de extrema importância para estabelecer os procedimentos analíticos. Além disso, mudanças de parâmetros como pH, mistura dos reagentes, concentrações das espécies reacionais ou interferentes, podem modificar totalmente o tempo de emissão da radiação, chegando até extingui-la.⁷⁻¹³

1.2 - Sistemas de análises em fluxo e multicomutação

Os sistemas por injeção em fluxo têm como conceito básico a introdução da solução da amostra e fluido transportador, que transporta para o detector, sendo possível, ao longo do percurso analítico, receber(em) reagente(s) e, passar por etapas de processamentos, como: separações, diluições, extração líquido-líquido, pré-concentração, etc.^{14,13}. Um dos fatores básicos para garantir um bom desempenho dos sistemas FIA é a introdução reprodutível da alíquota da solução da amostra no fluido transportador. Nos primeiros trabalhos foi utilizada uma seringa hipodérmica e com a evolução do processo outros dispositivos foram propostos tais

como, injetor comutador, válvulas rotativas de 6 e 8 vias e válvulas solenóides de 3 vias.¹⁵

Desde a proposta do conceito de “Flow Injection Analysis” por RUZICKA e HANSEN¹⁴, vários procedimentos de automação/mecanização de procedimentos analíticos foram desenvolvidos. A fácil assimilação desta técnica, pela comunidade científica, deve-se à simplicidade da instrumentação, facilidade operacional e da implementação dos módulos de análise, utilizando em muitos casos, instrumentação de baixo custo.

Segundo a IUPAC¹⁶, União Internacional de Química Pura e Aplicada, a automação é definida, como o uso combinado de dispositivos mecânicos e instrumentais para substituir, refinar, ampliar ou suplementar o esforço e a inteligência humana, na execução de um dado processo, no qual pelo menos uma das operações é controlada sem a intervenção humana, por um sistema de realimentação (*feedback*). A definição para mecanização, também segundo a IUPAC, refere-se ao uso de dispositivos para substituir, refinar, ampliar ou suplementar o esforço humano, diferenciando da automação por não ser efetuada a realimentação em nenhuma parte do processo.

A disseminação dos procedimentos em fluxo, e a necessidade da adaptação destes procedimentos, nas mais variadas etapas que envolvem as análises químicas, provoca a necessidade do desenvolvimento de novos dispositivos eletrônicos e da automação da pesquisa, utilizando-se então conceitos de automação analítica como: sistema de análise em fluxo monossegmentado (MSFA)¹⁷ e multicomutação¹⁸⁻²⁰.

O conceito de multicomutação e amostragem binária é a inserção seqüencial, no percurso analítico, de pequenas alíquotas de amostra. O módulo de análise para implementar a amostragem binária, é constituído por um conjunto de válvulas solenóides de três vias, configuradas para efetuar a introdução da amostra e dos reagentes no percurso analítico, formando, a partir do ponto de inserção, uma seqüência binária. Pequenas frações das soluções da amostra e do reagente são inseridas, alternadamente, no processo analítico o tempo de acionamento determina o volume de cada alíquota. As válvulas solenóides de 3 vias, que são geralmente gerenciadas por um micro-computador. Assim, é possível interagir com o módulo de análise, sem a necessidade de modificar a estrutura física do módulo, alterando os parâmetros de um *software* de controle^{19,20}.

O processo de multicomutação apresenta uma grande versatilidade, permitindo sua exploração em diferentes procedimentos analíticos. Os módulos de análise propostos são simples e versáteis, devido ao controle independente dos dispositivos e à possibilidade de se efetuar a aquisições dos dados gerados. Sendo assim, conceitos de multicomutação e amostragem binária são convenientes, pois devido à adição intermitente, o consumo de reagentes é consideravelmente reduzido em relação aos procedimentos clássicos de análise em fluxo²¹⁻²⁵.

CAPÍTULO 2 – PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2 – Parte Experimental

2.1 - Descrição geral do sistema

O módulo de análise foi construído empregando-se válvulas solenóides de três vias (Nresearch 161T031), tubos de polietileno com 0,8 mm de diâmetro interno e conectores de acrílico (ponto de confluência). Uma interface de potência para o acionamento das válvulas solenóides também foi construída¹⁸.

O gerenciamento das válvulas solenóides foi realizado por um microcomputador, Pentium 233 MHz, equipado com uma interface eletrônica (Advantec Corp. PCL 711S). A propulsão das soluções no sistema em fluxo foi realizada por uma bomba peristáltica (Ismatec IPC-8), equipada com tubos de Tygon.

As medidas da quimiluminescência foram realizadas empregando-se um fotodiodo de silício com uma área sensível a radiação de 50 mm², adaptando-se uma cela de fluxo de polietileno com ca 500 µL. Para o condicionamento e amplificação da corrente gerada pelo fotodiodo de silício, foi empregado um dispositivo eletrônico (Amplificador) FAC modelo 500X. A montagem do módulo de análise é descrita com mais detalhes no item 2.1.2. A linguagem de programação utilizada para o gerenciamento do módulo de análise, foi escrita em Lab-View 7.0, e a interface com o usuário, formulário, é apresentada na Figura 2.1.

Esta interface permite a visualização dos sinais transientes provenientes do sistema de detecção, do controle do acionamento das válvulas solenóides e da bomba peristáltica. Empregando um arquivo de comandos, montado em forma de matriz, é possível programar vários eventos como a abertura e fechamento das válvulas solenóides, direção e velocidade da bomba, número de replicatas, entre outros.

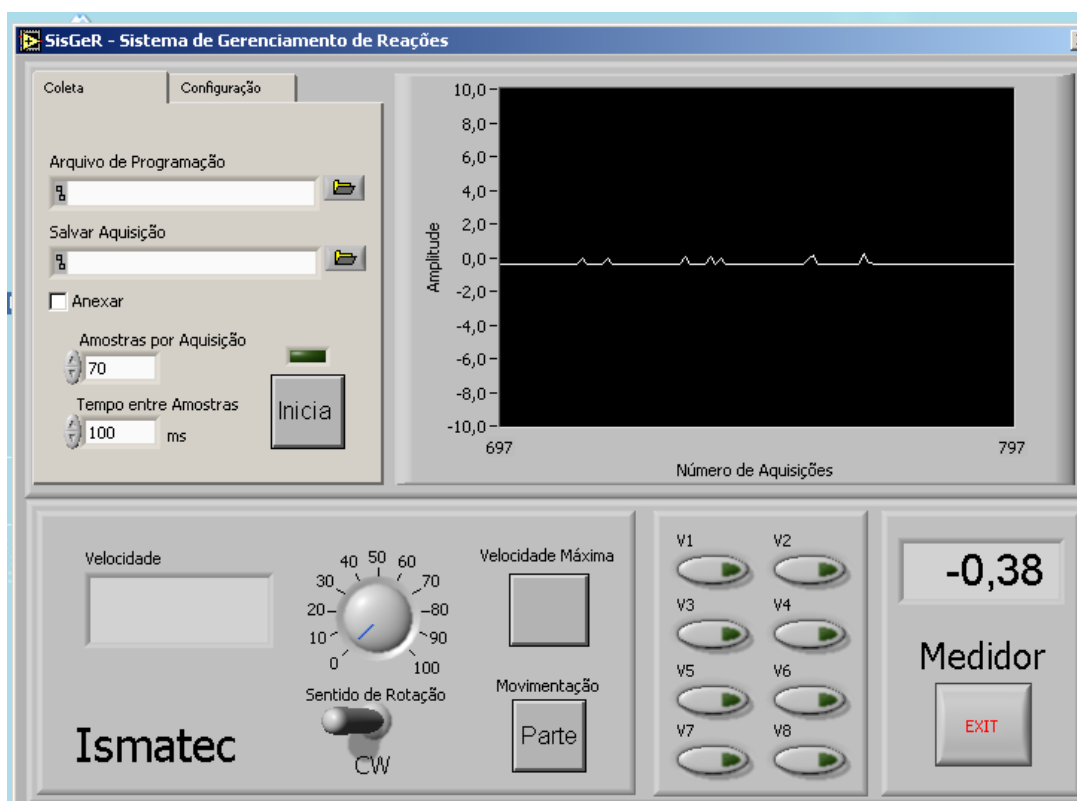


Figura 2.1 - Formulário (tela) empregada para interface com o usuário.

Após a aquisição de cada sinal transiente, os dados referentes às medidas da intensidade luminescente (mV) são salvos no arquivo previamente definido, em colunas independentes e o sinal transiente mostrado no espaço reservado no formulário. Assim, os valores de intensidade de luminescência em mV, são associados aos valores de tempo nos quais a aquisição foi efetuada, podendo-se trabalhar esses dados em programas gráficos como o Origin e Excel.

2.1.2 – Módulo de detecção

As celas de fluxo foi construída, empregando-se tubos de polietileno de 0,8 mm de diâmetro interno de comprimento de 100 cm enrolados em espiral dentro de uma tampa plástica de 30 mm de diâmetro, da maneira ilustrada na Figura 2.2.

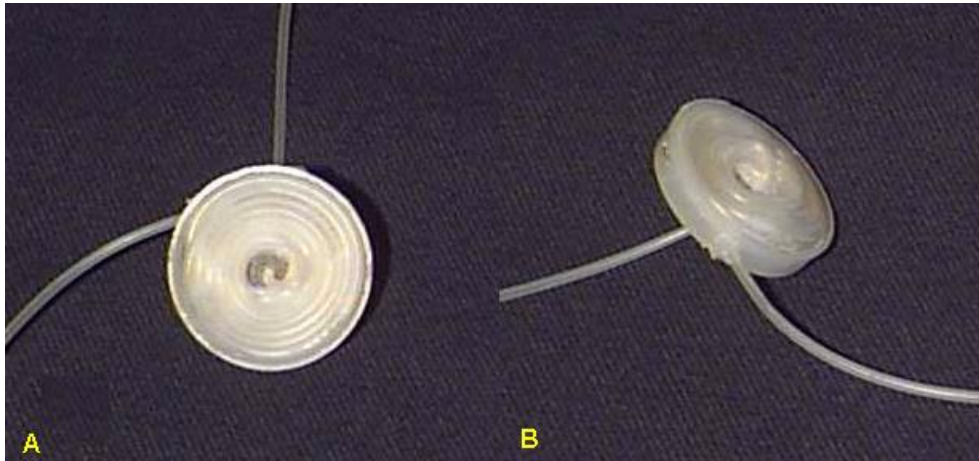


Figura 2.2 - Fotos da cela de fluxo (A e B) construídas, empregando tubo de polietileno (diâmetro interno de 0,8 mm) enrolado em espiral.

As medidas da radiação quimiluminescente foram realizadas empregando-se um fotodiodo de silício com área sensível de 50 mm² (OSD50-E, RS 846-711). Construiu-se, com o auxílio de espelhos de lâmpadas dicróicas, uma câmara refletora, onde de um lado foi afixado o detector e de outro a cela em espiral de polietileno (100 cm).

Um dispositivo eletrônico, modelo FAC 500X, foi empregado para o condicionamento e amplificação dos sinais gerados pelo fotodiodo. Este dispositivo foi colocado dentro de uma caixa plástica de 20 x 20 cm, onde do lado de fora foi acoplada a câmara de detecção. Na Figura 2.3 são apresentadas fotos do modelo de detecção construído.



Figura 2.3 – Fotos do módulo de detecção construído, empregando um fotodiodo de silício e a cela de medida de tubo de polietileno em espiral, para o monitoramento da radiação quimiluminescente.

CAPÍTULO 3 – DETERMINAÇÃO DE CAPTOPRIL

3. Determinação de captopril

Neste capítulo será apresentada uma revisão bibliográfica sobre os procedimentos analíticos tais como titulação potenciométrica, e análise em fluxo com detecção espectrofométrica e quimiluminescente para a determinação de captopril em produtos farmacêuticos. Na seqüência serão apresentados o estudo da otimização do sistema por injeção em fluxo com detecção quimiluminescente

3.1 - Introdução

O captopril, 1-[(2s)-3-mercaptopropionil]-L-prolina, Figura 3.1, é indicado para o tratamento de pacientes com hipertensão, insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio e nefropatia diabética. Essa droga foi o primeiro fármaco inibidor da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA), que é uma enzima carboxipeptidase responsável pela conversão de Angiotensina I (que é praticamente inativa) em Angiotensina II através da remoção de dois aminoácidos.

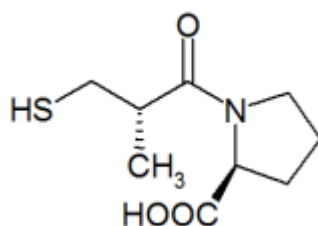


Figura 3.1 - Fórmula estrutural do captopril

O captopril, assim como os demais inibidores da ECA, afeta tanto a resistência quanto a capacitância dos vasos e, assim, reduzem tanto a pressão arterial quanto a carga cardíaca. Ao contrário de outros vasodilatadores, ele não afeta a contratilidade cardíaca, e, portanto, o débito cardíaco normalmente aumenta. O captopril age preferencialmente nos leitos vasculares sensíveis à angiotensina, que incluem aqueles dos rins, coração e cérebro. Esta seletividade pode ser importante para manter uma adequada perfusão destes órgãos vitais diante da redução de perfusão. Muitos métodos têm sido propostos para a determinação quantitativa de captopril em formulações farmacêuticas²⁶. Estes procedimentos incluem: cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)^{27,28}, potenciometria²⁹, quimiluminescência³⁰⁻³³ e espectrofotometria³⁴. O método potenciométrico oficial da

Farmacopéia Americana ³⁵ compreende a titulação de captopril em meio ácido e de iodeto de potássio com iodato de potássio, empregando amido como indicador.

A seguir são descritos alguns trabalhos da literatura sobre a determinação de captopril utilizando titulação potenciométrica e sistemas de análise por injeção em fluxo empregando reações quimiluminescentes e espectrofotométricas.

Ribeiro *et al.* ²⁹ desenvolveram um método potenciométrico simples, preciso, rápido e de baixo custo para a determinação de captopril. Utilizando-se da titulação potenciométrica, empregou-se como titulante uma solução aquosa de NaOH e um eletrodo combinado de vidro sensível a pH. A recuperação obtida para o captopril a partir de um estudo realizado com várias formulações farmacêuticas variou de 98,0 a 102,0%.

Du *et al.* ³⁰ apresentaram um sistema de análise por injeção em fluxo, para a determinação de captopril. Esse sistema baseia-se no aumento da quimiluminescência (sic) na reação do luminol com o hexacianoferrato (III) de potássio em meio alcalino na presença de captopril. A curva analítica apresentou uma linearidade de 0,1 a 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ para captopril, com desvio padrão relativo de 1,0% para uma concentração de captopril de 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 90 determinações por hora foram obtidas.

Economou *et al.* ³¹ desenvolveram um método em fluxo para a determinação de captopril baseando-se no aumento do sinal quimiluminescente na reação entre o luminol e peróxido de hidrogênio em meio alcalino. Neste sistema as soluções de luminol e de peróxido de hidrogênio em meio alcalino eram misturadas e a solução de captopril era injetada no sistema, sendo a mistura bombeada em uma cela de fluxo posicionada em frente a um tubo de uma fotomultiplicadora. O aumento na magnitude da quimiluminescência foi proporcional ao aumento da concentração de captopril. A curva analítica foi linear na faixa de 5-5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de captopril, com limite de detecção 2 $\mu\text{g L}^{-1}$. O desvio padrão relativo foi de 3,1% para uma concentração de captopril de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e uma frequência de amostragem de 180 determinações por hora foram obtidos.

Zhang *et al.* ³² desenvolveram um procedimento em fluxo para a determinação de captopril baseado na reação com cério(IV) em meio ácido. A curva

analítica apresentou uma linearidade de $1,0 \times 10^{-6}$ a $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $2,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e uma frequência de amostragem de 500 h⁻¹.

Themelis *et al.*³³ desenvolveram um sistema de análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica. Este método baseia-se na inibição do causada pelo captopril na formação do complexo entre Co(II) com 2,2-dipyridyl-2-pyridylhydrazone (DPPH), que foi então monitorado espectrofotometricamente em 480 nm. A curva analítica apresentou uma linearidade de 0–250 mg L⁻¹ de captopril com limite de detecção de 2,5 mg L⁻¹ e uma frequência de amostragem de 60 injeções por hora.

Suarez *et al.*³⁴ desenvolveram um procedimento por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica para a determinação de captopril em formulações farmacêuticas. Neste procedimento, captopril foi oxidado pelo ferro (III) e o ferro (II) formado, era então complexado com 1,10-fenantrolina, sendo esse complexo monitorado espectrofotometricamente em 540 nm. A curva analítica para captopril foi linear na faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-5}$ a $8,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. O desvio padrão relativo foi menor que 0,2 % para uma concentração de captopril de $4,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ (n = 10) sendo a frequência de amostragem de 60 h⁻¹.

3.2 - Parte Experimental

3.2.1 - Equipamentos e acessórios

Para a construção dos módulos de análises foram empregados tubos de polietileno (0,8 mm d.i) e confluências feitas de acrílico. A propulsão dos fluidos foi feita com uma bomba peristáltica Ismatec (IPC-8), equipada com tubos de propulsão de Tygon de diferentes diâmetros. O controle do módulo de análise aquisição dos dados do módulo de análise foi realizado empregando-se um microcomputador (Pentium 233 MHz), equipado com uma interface eletrônica (Advantec Corp., PCL-711S). A linguagem de programação utilizada foi escrita em LabVIEW 7.0. As medidas da radiação quimiluminescente (expressas em mV) foram feitas empregando-se um fotodetector OSD 50 e uma cela de medida de polietileno como descrito no item 2.1.2.

3.2.2 - Reagentes e soluções empregados na otimização do procedimento em fluxo para a determinação de captopril

As soluções foram preparadas empregando-se água desionizada e reagentes de grau analítico.

A solução de carbonato de sódio $0,6 \text{ mol L}^{-1}$, pH 11,0, foi preparada dissolvendo-se 41,463 g de K_2CO_3 (Synth) em água desionizada. O valor do pH foi ajustado com solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e o volume completado para 200 mL.

A solução estoque de luminol $9,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 320,0 mg de 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinediona (Sigma) em 200 mL de solução de carbonato de potássio $0,6 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 11,0). A solução foi preparada 3 dias antes do uso e armazenada em frasco âmbar mantida sob refrigeração. A solução de trabalho na concentração de $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de luminol foi preparada por diluição apropriada da solução estoque em solução de carbonato de sódio $0,6 \text{ mol L}^{-1}$.

A solução estoque de hipoclorito de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada diariamente a partir de uma solução de 6% v/v. A solução de trabalho na concentração de $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de hipoclorito de sódio foi preparada por diluição apropriada da solução estoque em água desionizada.

A solução estoque de captopril foi preparada dissolvendo-se 108,0 mg do fármaco (Sigma-Aldrich) em 50 mL de água desionizada. A solução de trabalho na concentração de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de captopril foi preparada por diluição apropriada da solução estoque em água desionizada.

3.2.3 – Preparo das amostras

Dez comprimidos de captopril foram pesados e triturados com auxílio de um almofariz e pistilo. Uma massa exatamente pesada de captopril foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e dissolvido com água deionizada. A solução foi filtrada. Uma alíquota dessa solução foi transferida para balão volumétrico de 25 mL. Essa solução obtida apresentava uma concentração dentro da faixa da curva analítica, sendo então empregada para a determinação de paracetamol com o sistema proposto.

3.2.4 - Diagrama de fluxos e procedimento

O diagrama de fluxo do módulo de análise inicialmente construído para a determinação do analito de interesse é apresentado na Figura 3.1. O módulo é constituído de 4 válvulas solenóides (V_1 , V_2 , V_3 e V_4), que gerenciam a inserção das soluções de reagentes e transportador no percurso analítico e pelo detector luminescente (D) contendo uma cela de polietileno, em espiral de 100 cm. A válvula solenóide é representada por um círculo com duas linhas que indicam os possíveis percursos das soluções e/ou transportador. A linha cheia, no caso do transportador, representa a passagem do transportador para o percurso analítico, enquanto que para as outras válvulas, as soluções estão circulando de volta para os respectivos reservatórios. Após o acionamento das válvulas, a linha tracejada indica o caminho das soluções.

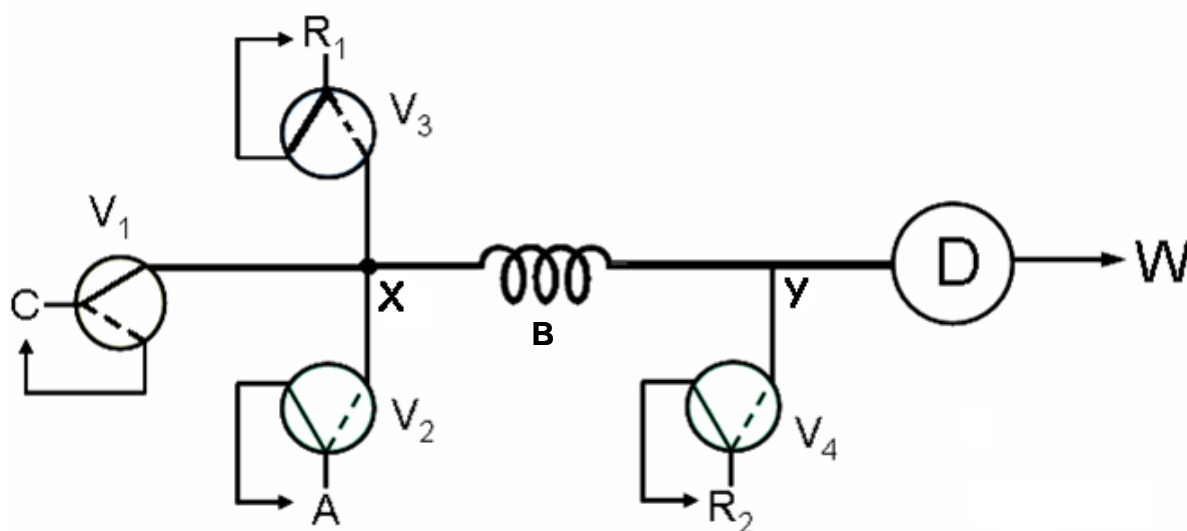


Figura 3.2 – Diagrama de fluxos do sistema empregado para a determinação de captopril. C- transportador; A – soluções padrões de captopril e/ou amostras; R_1 – solução de ClO^- ; R_2 – solução de luminol; $V_1 - V_4$ – válvulas solenóides de 3 vias ; B – Percurso Analítico; D – Detector: luminômetro construído com fotodiodo de silício contendo uma cela de polietileno em espiral de 100 cm; W – descarte; X e Y – ponto de confluência.

No módulo de análise apresentado na Fig. 3.2, a solução transportadora (H_2O) flui pelo percurso analítico (V_1), enquanto as demais soluções permanecem reciclando. A adição das soluções de reagentes e/ou amostras é efetuada pelo acionamento das válvulas solenóides (V_2 – padrão e/ou amostra, V_3 -

ClO^- e V_4 - luminol). Este módulo de análise foi proposto para determinar captopril, otimizar as melhores condições reacionais da reação quimiluminescente (luminol - ClO^- - captopril), determinar as características analíticas e na quantificação da concentração de captopril em amostras farmacêuticas, empregando-se o detector quimiluminescente construído com o fotodiodo de silício e a cela de fluxo de polietileno, respectivamente. Sendo assim, procedeu-se a otimização dos diferentes parâmetros químicos como concentração de luminol e hipoclorito de sódio e, físicos como volumes dos reagentes e/ou amostras, percurso analítico e vazão.

TABELA 3.1 – Esquema de acionamento das válvulas solenóides para a determinação de captopril, diagrama de fluxo Figura 3.2

Etapas	V_1	V_2	V_3	V_4	Bomba peristáltica		Tempo (s)
					(%)rotação	Direção	
1	0	0	0	0	15	CCW	5
2	0	0	1	0	15	CCW	2
3	0	0	0	0	15	CCW	1
4	0	0	0	1	15	CCW	4
5	0	0	0	0	15	CCW	10
* repetições (2-5)							
6	1	1	1	0	15	CCW	2
7	0	0	0	0	15	CCW	1
8	0	0	0	1	15	CCW	4
9	0	0	0	0	15	CCW	10
* repetições(6-10)							
10	0	0	0	0	0	CCW	0

0 = válvula solenóide desligada

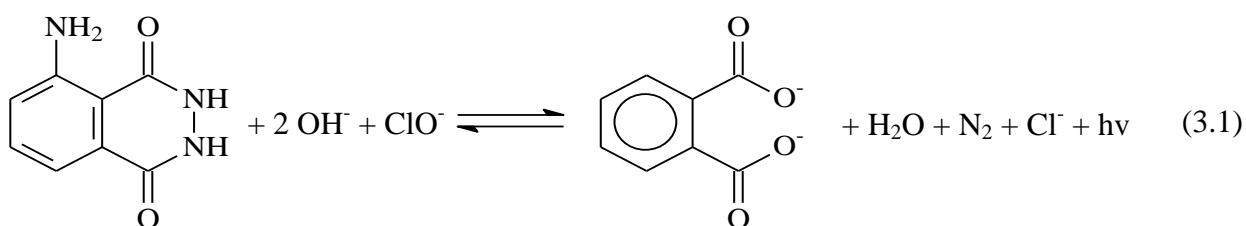
1= válvula solenóide acionada

ccw : direção de rotação da bomba peristáltica no sentido horário

* repetição em triplicata das etapas 2-5 (sinal do branco) e das etapas 6-9 (inibição do sinal)

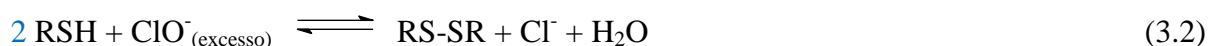
Inicialmente flui pelo sistema apenas o transportador (água), etapa 1, durante 5 s. Na etapa 2, é acionada a válvula (V_3), ocorre a inserção da solução de hipoclorito de sódio por 2 s e a solução transportadora(C) continua fluindo pelo sistema. Na etapa 3, em um tempo de acionamento de 1s, a mistura (ClO^- +Água MiliQ) é levada até a confluência Y e, ao chegar ao ponto Y, inicia-se a etapa 4, onde é acionada válvula (V_4) ocorrendo a inserção do volume de luminol por 4 s,

ocorrendo assim a oxidação desse reagente como mostrado na Equação 3.1, liberando energia em forma de luz, obtendo-se o sinal do branco.



Na etapa 5, as válvulas são desligadas e o transportador flui pelo sistema durante 10 s. As etapas de 2 a 5 são repetidas na seqüência, em triplicata.

Após medidas do sinal do branco inicia-se a adição da solução do padrão e/ou da amostra no lugar do transportador. Na etapa 6, as válvulas das soluções, transportadora, de hipoclorito de sódio e de padrão são acionadas por 2 s, nesse caso a solução transportadora retorna para o frasco, e as soluções de hipoclorito de sódio e amostra fluem para o sistema, consumindo o hipoclorito de sódio como mostrado na Equação 3.2. Na etapa 7, em um tempo de acionamento de 1 s, a mistura (ClO^- +Captopril) chega no ponto de confluência Y, sendo então, na etapa 8, acionada a válvula (V_4) ocorrendo a inserção do volume de luminol por 4 s, a concentração de hipoclorito de sódio não consumida pelo captopril, oxida o luminol Equação 3.1, obtendo-se desta maneira o sinal analítico de magnitude menor que a do branco.



As etapas de 6 a 9 são repetidas na seqüência, em triplicata. No final, na etapa 10, todas as válvulas estão desligadas, a porcentagem (%) zero (0) de rotação indica a parada da bomba peristáltica e, o tempo 0 finaliza a rotina do programa. No início da etapa 1, começa a ser realizada a aquisição de dados do luminômetro, e os resultados expressos em magnitude da luminescência (mV) *versus* tempo (s) são gravados em arquivos pré-estabelecidos

3.3 - Resultados e Discussão

3.3.1 – Efeito da concentração da solução de hipoclorito de sódio

Estudou-se o efeito da concentração de hipoclorito de sódio, no intervalo de concentração de $2,5 \times 10^{-4}$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, sobre o sinal analítico, utilizando o sistema mostrado na Figura 3.2 nas seguintes condições: transportador (água desionizada), $67 \mu\text{L}$ de solução de captopril $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($V_2 = 2\text{s}$), $67 \mu\text{L}$ de solução de hipoclorito de sódio $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ($V_3 = 2\text{s}$) e $67 \mu\text{L}$ de solução de Luminol $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ($V_4 = 2\text{s}$), percurso analítico de 50 cm , a uma de vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Todas as medidas foram feitas em triplicatas.

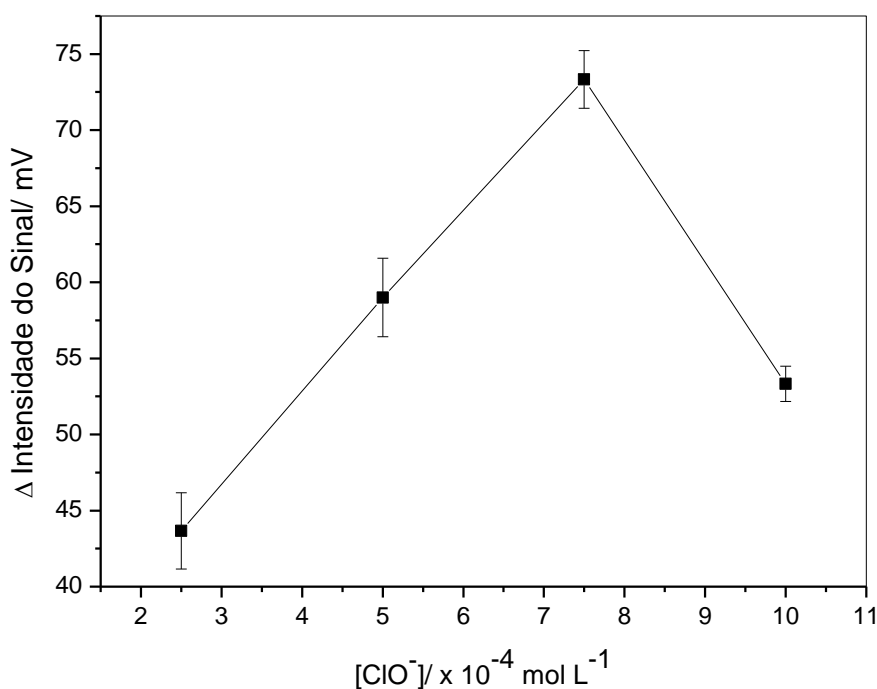


Figura 3.3 – Efeito da concentração da solução de hipoclorito de sódio ($67 \mu\text{L}$) sobre o sinal analítico, empregando $67 \mu\text{L}$ de solução de captopril $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($V_2 = 2\text{s}$) e $67 \mu\text{L}$ de solução de luminol $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ($V_3 = 2\text{s}$)

A Figura 3.3 apresenta os resultados obtidos no estudo do efeito da concentração da solução de hipoclorito de sódio variando de $2,5 \times 10^{-4}$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Como pode ser observado nesta figura, o sinal analítico aumentou até a concentração de hipoclorito de sódio $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Diminuindo em

concentrações superiores desse reagente. Sendo assim, selecionou-se a concentração de $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para os estudos posteriores.

3.3.2 – Efeito da concentração da solução de luminol

Estudou-se a influência da concentração da solução de luminol sobre o sinal analítico no intervalo de 0,5 a 4,0 mmol L^{-1} utilizando-se o sistema de fluxo nas seguintes condições: transportador água desionizada, 67 μL de solução de captopril $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($V_2 = 2 \text{ s}$), 67 μL de solução de hipoclorito de sódio $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($V_3 = 2 \text{ s}$) e 67 μL de solução de luminol $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ($V_3 = 2 \text{ s}$).

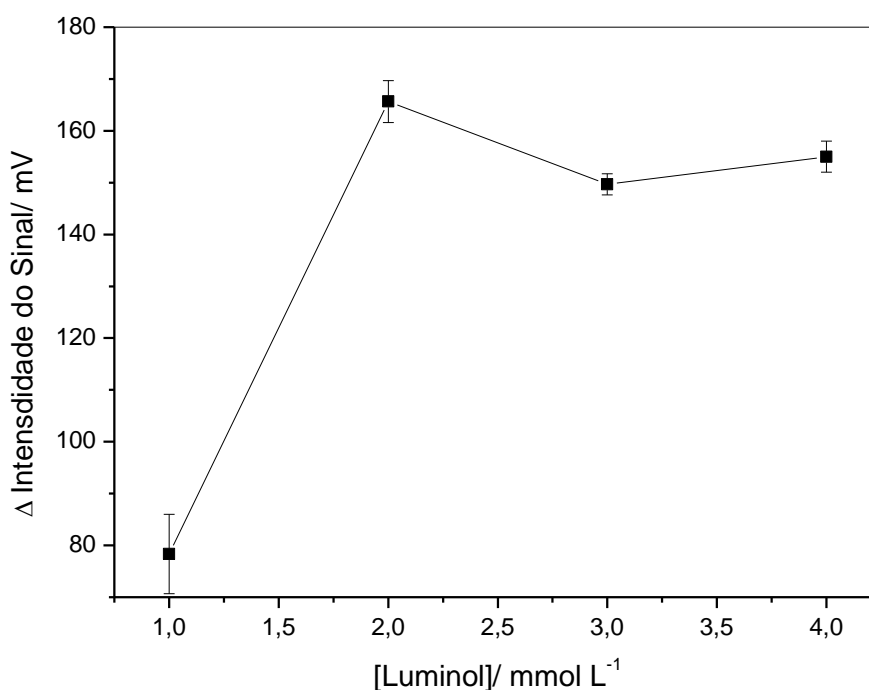


Figura 3.4 – Efeito da concentração de luminol sobre o sinal analítico

Um aumento significativo do sinal analítico foi observado até a concentração de luminol igual a $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Acima desta concentração, a variação do sinal analítico não se alterou significativamente (Figura 3.4). Desta forma, selecionou-se trabalhar com solução de luminol $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

3.3.3 – Estudo do tempo de acionamento das válvulas para as soluções de hipoclorito de sódio e de captopril

O estudo da inserção dos volumes no sistema apresentado na Figura 3.2 para as soluções de hipoclorito de sódio e captopril foram estudadas simultaneamente, variando-se o tempo de acionamento das válvulas solenóides de 1 a 4 s e vazão do sistema mantida constante em $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Os estudos foram realizados empregando-se como transportador água desionizada, solução de captopril $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $67 \text{ }\mu\text{L}$ de solução de hipoclorito de sódio $7,5 \times 10^{-4}$, luminol $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ($V_3 = 2 \text{ s}$), percurso analítico de 50 cm e vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$.

A Figura 3.5 apresenta os resultados obtidos. O sinal analítico aumentou com o tempo de acionamento das válvulas V_2 e V_3 até 2 s ($67 \text{ }\mu\text{L}$), mantendo-se constante nos tempos de acionamento superiores. O tempo de acionamento das válvulas solenóides selecionado foi de 2 s para os estudos posteriores.

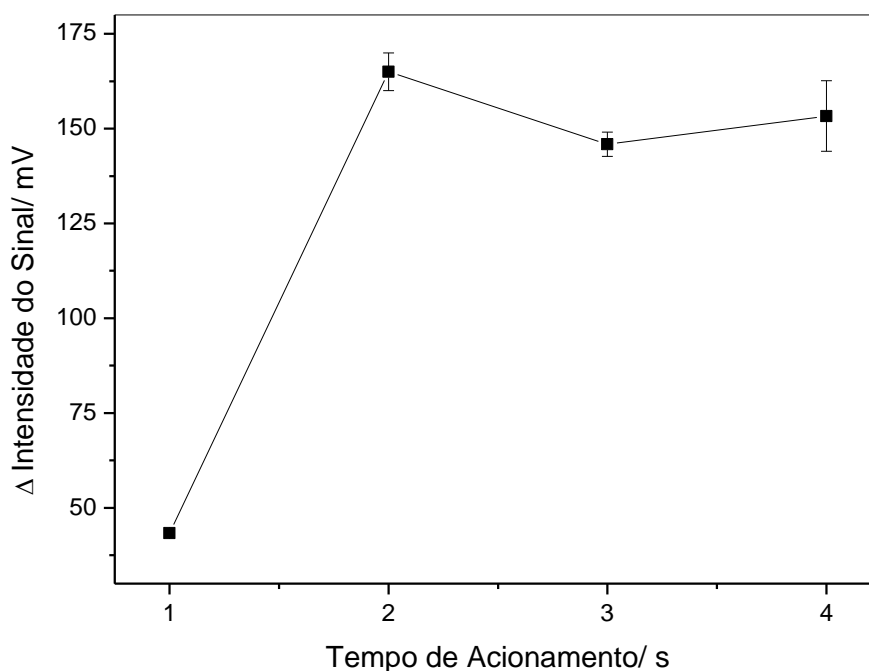


Figura 3.5 – Efeito do tempo de acionamento das válvulas das soluções de hipoclorito de sódio e captopril sobre o sinal analítico

3.3.4 – Estudo do tempo de acionamento da válvula solenóide para a solução de luminol

O estudo do efeito do tempo de acionamento da válvula V_4 (luminol) foi avaliado, variando-se o tempo acionamento da válvula solenóide entre 2 a 5 s (67 a 167 μ L). Os estudos foram realizados empregando-se o sistema de fluxo nas seguintes condições: transportador água desionizada; 67 μ L de solução de captopril $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (V_2), hipoclorito de sódio $7,5 \times 10^{-4}$ ($V_3 = 2 \text{ s}$), solução de luminol $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$, percurso analítico (B) de 50 cm e vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$

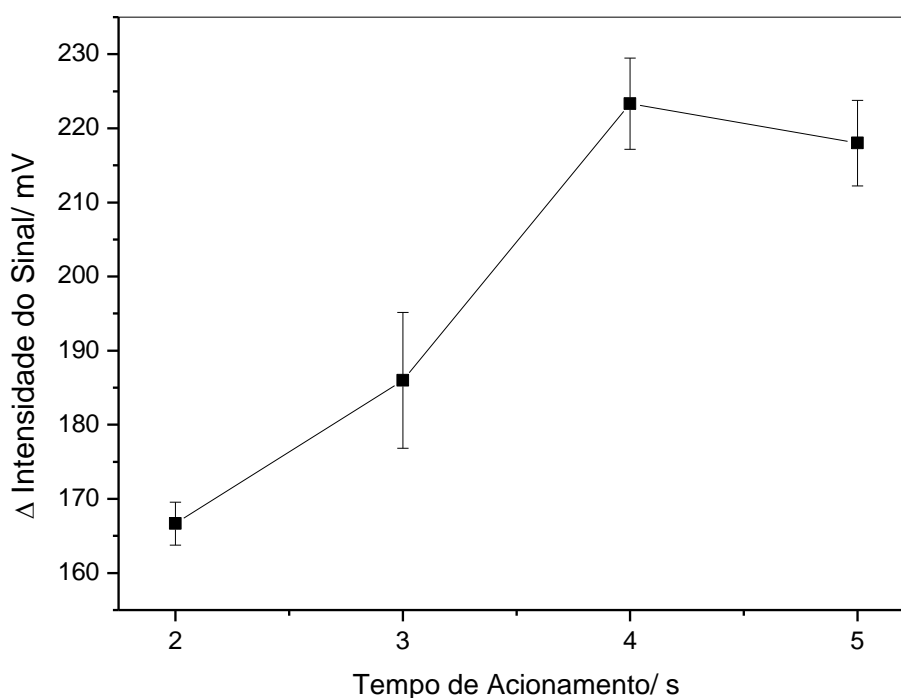


Figura 3.6 – Efeito do tempo de acionamento da válvula solenóide (V_4) luminol, sobre o sinal analítico.

Observa-se na Figura 3.6, o um aumento do sinal analítico entre 2 a 4 s de acionamento da válvula solenóide, acima de 4s (133 μ L) observa-se o decaimento do sinal analítico. Portanto, o tempo de acionamento de 4 s foi mantido nos estudos posteriores.

3.3.5 – Avaliação do comprimento do percurso analítico

Avaliou-se o efeito do comprimento do percurso analítico (B) de 25 a 100 cm. Nestes estudos, o sistema de análise em fluxo estava configurado nas seguintes condições: transportador, água desionizada; 67 μ L de solução de captopril $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} ($V_2 = 2$ s), hipoclorito de sódio $7,5 \times 10^{-4}$ ($V_3 = 2$ s), 133 μ L solução de luminol $2,0$ mmol L^{-1} percurso analítico (B) e vazão de $2,0$ mL min^{-1} .

Foi observado que o maior sinal analítico foi obtido em um comprimento do percurso analítico de 25 cm. Acima desse comprimento houve uma diminuição do sinal analítico indicando assim um aumento da dispersão da zona da amostra. Escolheu-se trabalhar com o comprimento de 25 cm.

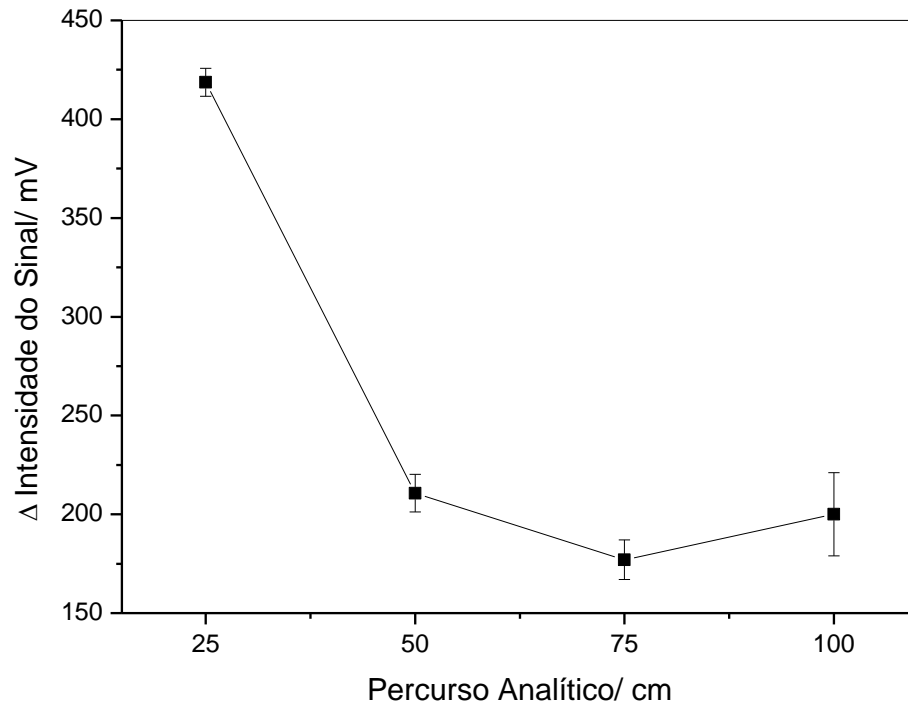


Figura 3.7 – Efeito do comprimento do percurso analítico sobre o sinal analítico.

3.3.6 – Estudo da vazão do sistema

O efeito da vazão das soluções foram estudadas simultaneamente para todas as soluções na faixa de 1,4 a 3,0 mL min⁻¹. Como mostra a Figura 3.8, foi verificado um aumento no sinal analítico com o aumento da vazão até 2,0 mL min⁻¹. Acima desta vazão observou-se um aumento na pressão hidrodinâmica do sistema. Sendo assim, a vazão de 2,0 mL min⁻¹ foi selecionada por apresentar uma boa variação do sinal analítico, boa reprodutibilidade, além de estabilidade da linha base.

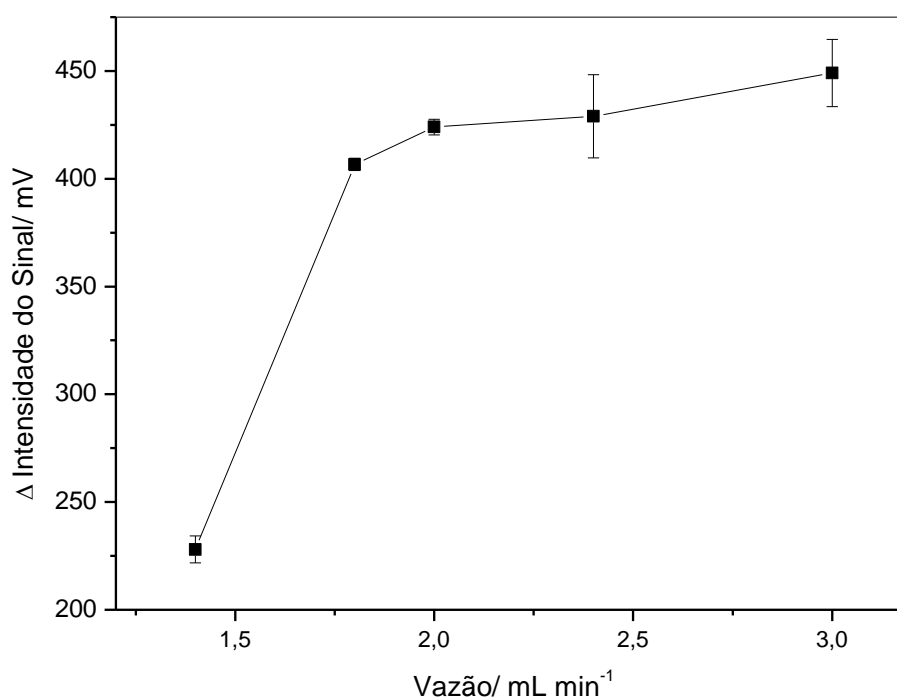


Figura – 3.8 - Efeito da vazão da vazão das soluções, estudados simultaneamente na faixa de 1,4 a 3,0 mL min⁻¹.

3.3.7 – Curva analítica

Os sinais transientes e a curva analítica obtida para as soluções de referência de captopril são apresentados nas Figuras 3.9 e 3.10 respectivamente. As condições utilizadas para a obtenção da curva analítica são apresentadas na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Parâmetros estudados na otimização do sistema para a determinação e captopril em formulações farmacêuticas.

Parâmetro	Faixa estudada	Valor selecionado
[Hipoclorito de Sódio]/ x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	2,5 a 10,0	7,5
[Luminol]/ mmol L ⁻¹	1,0 a 4,0	2,0
Tempo de acionamento das válvulas solenóides (ClO ⁻ e padrão)/ s)	1 a 4	2
Tempo de acionamento da válvula solenóide (luminol)/ s	2 a 5	4
Percurso analítico/ cm	25 a 100	25
Vazão/ mL min ⁻¹	1,4 a 3,0	2,0

A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de $7,5 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($1,63$ a $21,7 \text{ mg L}^{-1}$) de captopril descrita pela equação: Intensidade (mV) = $0,02 + 65916 [\text{Captopril}] (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,998$, com limite de detecção de $9,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

A Figura 3.9 apresenta os sinais transientes referentes à solução do branco (A) e das soluções de referência de captopril nas concentrações de $7,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (B); $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (C); $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (D); $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (E); $7,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (F) e $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (G).

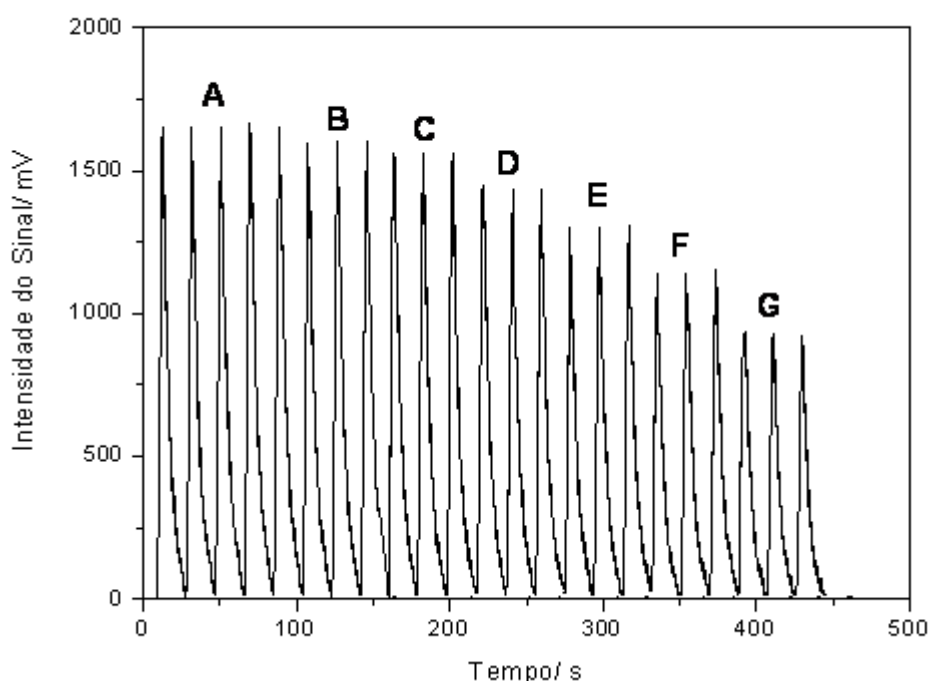


Figura 3.9 – Sinais transientes referentes às soluções do branco (A) e das soluções de referência de captopril (B – G) variando de $7,5 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($1,63$ a $21,7 \text{ mg L}^{-1}$)

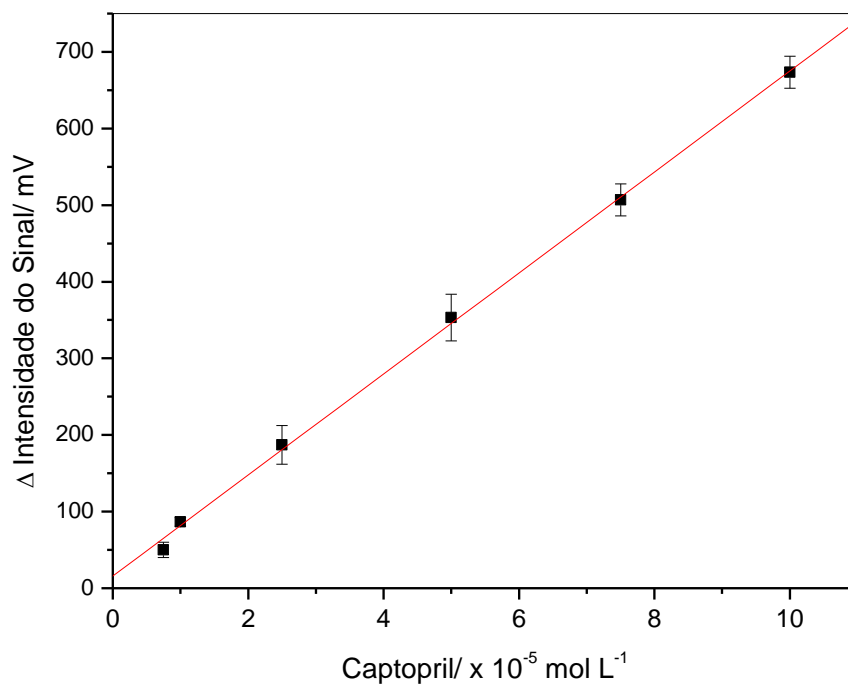


Figura 3.10 – Curva analítica obtida para as soluções padrões de captopril de $7,5 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ (1,63 a 21,7 mg L⁻¹).

3.3.8 – Estudo da repetibilidade e freqüência de amostragem

Estudou-se a repetibilidade da resposta do procedimento analítico. A Figura 3.11 apresenta os sinais transientes obtidos. O coeficiente de variação (desvio padrão relativo) foi estimado em 1,2; 1,60 e 1,76%, respectivamente para 10 medidas correspondentes ao branco e a duas concentrações de captopril de $2,5 \times 10^{-5}$ e $7,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. A freqüência de amostragem obtida foi de 180 h⁻¹.

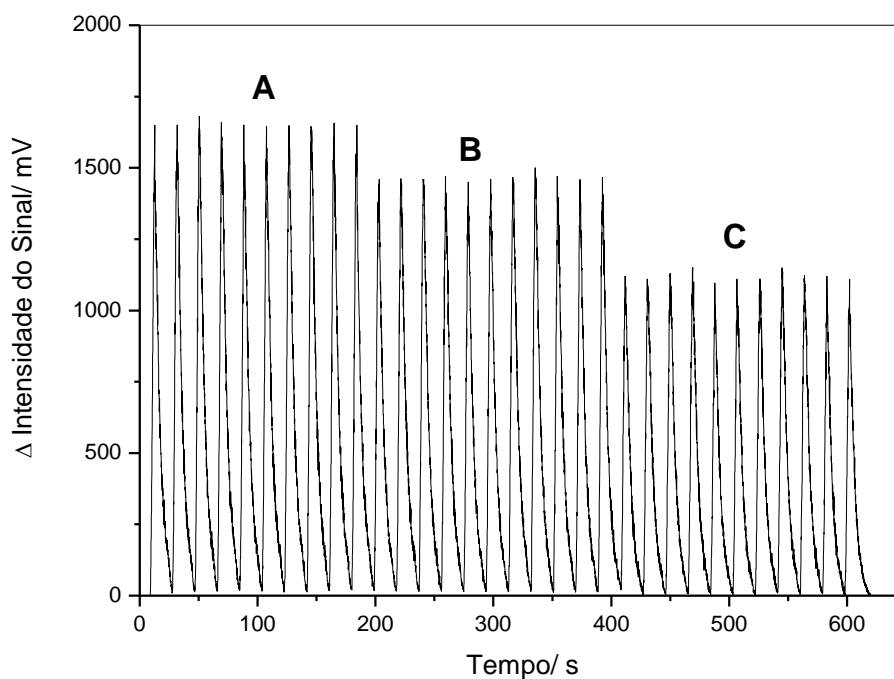


Figura 3.11 – Estudo da repetibilidade para a solução de hipoclorito de sódio (A) $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e solução de referência de captopril nas concentrações de (B) $2,5 \times 10^{-5}$ e (C) $7,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

3.3.9 - Estudo de adição e recuperação de captopril em formulações farmacêuticas.

Depois de determinadas às figuras de mérito do procedimento proposto, este foi empregado para a determinação de captopril em formulações farmacêuticas. Inicialmente foi realizado um estudo de recuperação de captopril nestas amostras. Nestes estudos, duas concentrações diferentes de captopril ($2,5$ e 10 mg L^{-1}) foram adicionadas nas amostras de captopril (A, B e C). Os resultados obtidos foram comparados com as concentrações adicionadas. Os resultados das recuperações obtidas são mostrados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 – Estudo de adição e recuperação de captopril em amostras farmacêuticas.

Amostras	Adicionado/ mg L ⁻¹	Recuperado/ mg L ⁻¹	% Recuperação
A	2,50	2,54	101
	10,0	10,1	101
B	2,50	2,48	99,2
	10,0	10,3	103
C	2,50	2,50	100
	10,0	9,90	99,0

Os resultados obtidos nos estudos de adição e recuperação nas três amostras farmacêuticas de captopril apresentam valores de recuperação que variam de 99 a 103 %. Os resultados obtidos indicam que não houve efeito das matrizes das amostras na determinação de captopril nestas três amostras.

3.3.10 – Determinação de captopril em amostras comerciais empregando o sistema em fluxo com detecção quimiluminescente

O procedimento analítico desenvolvido foi aplicado para a determinação de captopril em amostras comerciais. Os resultados obtidos empregando-se o método proposto foram comparados com aqueles obtidos empregando-se o método oficial da Farmacopéia Americana ³⁵ (titulação iodométrica). A Tabela 3.4 apresenta os resultados obtidos empregando-se o método proposto e o comparativo.

TABELA 3.4 – Determinação de captopril em formulações comerciais pelo método quimiluminescente e pelo o método comparativo.

Amostras	Captopril/ mg g ⁻¹		E _r (%)
	Comparativo	Proposto	
A	25,0±0,5	24,9±0,4	-0,4
B	25,5 ±0,6	25,2±0,6	-1,2
C	25,1±0,5	25,3±0,2	+0,8

n = 3

Os resultados obtidos dos teores de captopril nos produtos farmacêuticos estão em boa concordância com aqueles obtidos empregando-se o método da Farmacopéia Americana ³⁵ dentro de um intervalo de confiança de 95 % .

3.4 – Conclusões

O procedimento em fluxo envolvendo multicomutação e quimiluminescência para a determinação de captopril em produtos farmacêuticos foi preciso, exato, apresentou alta frequência de amostragem e baixo volume e/ou concentração de resíduos, característicos de sistema em fluxo com multicomutação. Considerando a relativa simplicidade do sistema analítico proposto e as vantagens assinaladas, pode-se sugerir a sua implementação em laboratórios de controle de qualidade deste analito que necessitam de um número de determinações elevada.

CAPÍTULO 4 – DETERMINAÇÃO DE DAPIRONA

4 – Determinação de dipirona

Neste capítulo será apresentada uma revisão bibliográfica sobre os procedimentos analíticos em fluxo para determinação de dipirona em produtos farmacêuticos. Na seqüência, serão apresentados o estudo da otimização do procedimento de análise por injeção em fluxo com detecção quimiluminescente.

4.1 – Introdução

Metamizol sódico ou dipirona sódica é uma droga antiinflamatória não-estereoidal (AINE) que é utilizada principalmente como analgésico e antitérmico. Sua utilização, no entanto, se encontra restrita a alguns países, sendo extremamente popular no Brasil onde efetivamente é um dos analgésicos mais populares, ao lado do ácido acetilsalicílico. Quimicamente é o [(2,3-diidro-1,5-dimetil-3-oxo-2-fenil-1*H*-pirazol-4-il)metilamino] metanossulfonato sódico (ou 1-fenil-2,3-dimetil-5-pirazolona-4-metilaminometano sulfonato de sódio), Figura 4.1.

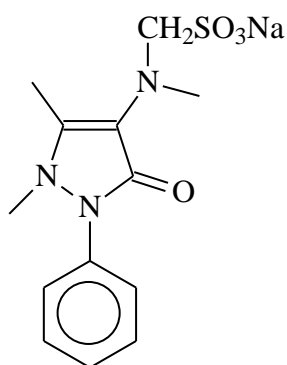


Figura 4.1 – Estrutura molecular da dipirona

O metamizol foi sintetizado pela primeira vez na Alemanha em 1920 pela companhia Hoechst AG, e em 1922 foi iniciada sua produção em massa. A droga permaneceu disponível mundialmente até a década de 70 quando foi descoberto que havia risco de causar agranulocitose — uma doença muito perigosa e potencialmente fatal. Estudos recentes indicam que a taxa de incidência de agranulocitose causada pelo metamizol está entre 0,2 e 2 casos por milhão de pessoas, contando com aproximadamente 7% dos casos fatais (sendo que todos os pacientes tiveram acesso a cuidados médicos urgentes). O metamizol foi banido na

Suíça em 1974 e nos Estados Unidos em 1977; mais de trinta países incluindo Japão, Austrália e a maioria dos países integrantes da União Européia tomaram a mesma decisão. Nesses países a droga ainda é utilizada como medicamento veterinário. Algumas companhias farmacêuticas, particularmente a Hoechst e Merck continuam produzindo drogas que contenham o metamizol e as comercializam em alguns países ³⁶.

A Farmacopéia Brasileira ³⁷ preconiza a iodimetria para a determinação quantitativa da dipirona sódica. A seguir são apresentados alguns artigos encontrados na literatura sobre determinação em fluxo de dipirona.

Pereira *et al*, ³⁸ desenvolveram um procedimento em fluxo com detecção espectrofotométrica para determinar dipirona em formulações farmacêuticas. Esse sistema baseia-se na geração de íons triiodeto em linha, que ao reagirem com a dipirona, oxidam o grupo metanossulfônico do fármaco a sulfato. O consumo de íons I_3^- pela dipirona diminui a formação do complexo triiodeto-amido provocando assim um decréscimo da absorbância, sendo esse complexo monitorado espectrofotometricamente em 580 nm. A curva analítica foi linear de $1,4 \times 10^{-4}$ a $4,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $6,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. No estudo da repetibilidade, um desvio padrão relativo de 0,45 % (n = 10) para uma solução de dipirona de $4,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e uma frequência de amostragem de 60 determinações por hora foram obtidas.

Medeiros *et al* ³⁹ desenvolveram um método por injeção em fluxo com detecção biamperométrica para a determinação de dipirona em formulações farmacêuticas. Nesse sistema foram estudados dois sistemas redox, Fe(III)/Fe(II) e I_2/I^- , sendo que o sistema redox Fe(III)/Fe(II) apresentou um melhor desempenho. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de 10 a 50 mg L⁻¹ de dipirona. Um desvio padrão relativo de 1,6 % (n=8) para uma solução de dipirona de 14 mg L⁻¹ e uma frequência de amostragem de 71 determinações por hora foram obtidos.

Marcolino-Jr *et al*. ⁴⁰ desenvolveram um procedimento em fluxo turbidimétrico para a determinação de dipirona. Esse sistema consiste em um reator em fase sólida contendo cloreto de prata imobilizada em uma resina de poliéster, sendo que a dipirona é oxidada pelo Ag^+ , reduzindo-se a Ag^0 , sendo a suspensão coloidal de Ag^0 monitorada turbidimetricamente em 425 nm. A curva analítica para dipirona foi linear na faixa de concentração de dipirona de $5,0 \times 10^{-4}$ a $2,5 \times 10^{-3}$ mol

L⁻¹ com limite de detecção de $1,3 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e uma frequência de amostragem de 45 determinações por hora.

Esse mesmo grupo de pesquisadores ⁴¹ desenvolveu um procedimento em fluxo com detecção espectrofotométrica para a determinação de dipirona. O método baseia-se na reação da dipirona com molibdato de amônio em meio ácido formando um produto de coloração azul, sendo esse cromóforo monitorado espectrofotometricamente em 620 nm. A curva analítica apresentou uma linearidade de $5,0 \times 10^{-4}$ a $8,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $9,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e uma frequência de amostragem de 60 h⁻¹.

4.2 – Parte Experimental

4.2. – Equipamentos e acessórios

Para a construção dos módulos de análises foram empregados tubos de polietileno (0,8 mm d.i) e confluências feitas de acrílico. A propulsão dos fluidos foi feita com uma bomba peristáltica Ismatec (IPC-8), equipada com tubos de propulsão de Tygon de diferentes diâmetros. O controle do módulo de análise aquisição dos dados do módulo de análise foram realizados empregando-se um microcomputador (Pentium 233 MHz), equipado com uma interface eletrônica (Advantec Corp., PCL-711S). A linguagem de programação utilizada foi escrita em LabVIEW 7.0. As medidas da radiação quimiluminescente (expressas em mV) foram feitas empregando-se um fotodetector OSD 50 e uma cela de medida de polietileno como descrito no item 2.1.2.

4.2.2 – Reagentes e soluções empregados na otimização do procedimento em fluxo para a determinação de dipirona

As soluções foram preparadas empregando-se água desionizada e reagentes de grau analítico.

A solução de carbonato de sódio (Synth) $0,6 \text{ mol L}^{-1}$, pH 11,0, foi preparada dissolvendo-se 41,463 g de K_2CO_3 (Synth) em água desionizada. O valor do pH foi ajustado com solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e o volume completado para 200 mL.

A solução estoque de luminol $9,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 318,0 mg de 5-amino-2,3-diidro-1,4 ftalazinadiona (Sigma) em 200 mL de solução de carbonato de potássio $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,1 a 11,0). A solução foi preparada 3 dias antes do uso e armazenada em frasco âmbar mantida sob refrigeração. Soluções de trabalho em concentrações variando de 1,0 a $6,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de luminol foram preparadas por diluições da solução em tampão carbonato de potássio.

A solução estoque de dipirona foram preparadas dissolvendo-se 167,0 mg do fármaco (Sigma-Aldrich) em 50 mL de água desionizada. A solução de trabalho na concentração de $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de dipirona foi preparada por diluição apropriada da solução estoque com água desionizada.

A solução estoque de hexacianoferrato (III) de potássio $50,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 4,125 g do sal (Reagen) em 500 mL de água desionizada. Soluções de trabalho em concentrações variando de 1,0 a $50,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de hexacianoferrato (III) de potássio foram preparadas por diluições da solução estoque com água desionizada.

Soluções estoque de peróxido de hidrogênio $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foram preparadas diariamente a partir de uma solução 30% (m/m) e padronizadas volumetricamente com permanganato de potássio. Soluções de referência de peróxido de hidrogênio em concentrações variando de 0,5 a $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foram preparadas por diluições da solução estoque.

4.2.3 – Preparo das amostras

Dez comprimidos de dipirona sódica foram exatamente pesados e triturados com auxílio de um almofariz e pistilo. Uma massa exatamente pesada de dipirona foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e dissolvido com água deionizada. A solução foi filtrada. Uma alíquota dessa solução foi transferida para balão volumétrico de 25 mL. Essa solução obtida apresentava uma concentração dentro da faixa da curva analítica, sendo então empregada para a determinação de dipirona com o sistema proposto.

4.2.4 – Diagrama de fluxos e procedimento

O diagrama de fluxos do módulo de análise inicialmente construído para determinação do analito de interesse é apresentado na Figura 4.2. O módulo é constituído de 5 válvulas solenóides (V_1 , V_2 , V_3 , V_4 e V_5), que gerenciam a inserção das soluções de reagentes, amostras e/ou padrão o transportador no percurso analítico e pelo detector luminescente (D) contendo uma cela de polietileno, em espiral de 100 cm. A válvula solenóide é representada por um círculo com duas linhas que indicam os possíveis percursos das soluções e/ou transportador. A linha cheia, no caso do transportador, representa a passagem do transportador para o percurso analítico, enquanto que para as outras válvulas, as soluções estão circulando de volta para os respectivos reservatórios. Após o acionamento das válvulas, a linha tracejada indica o caminho das soluções.

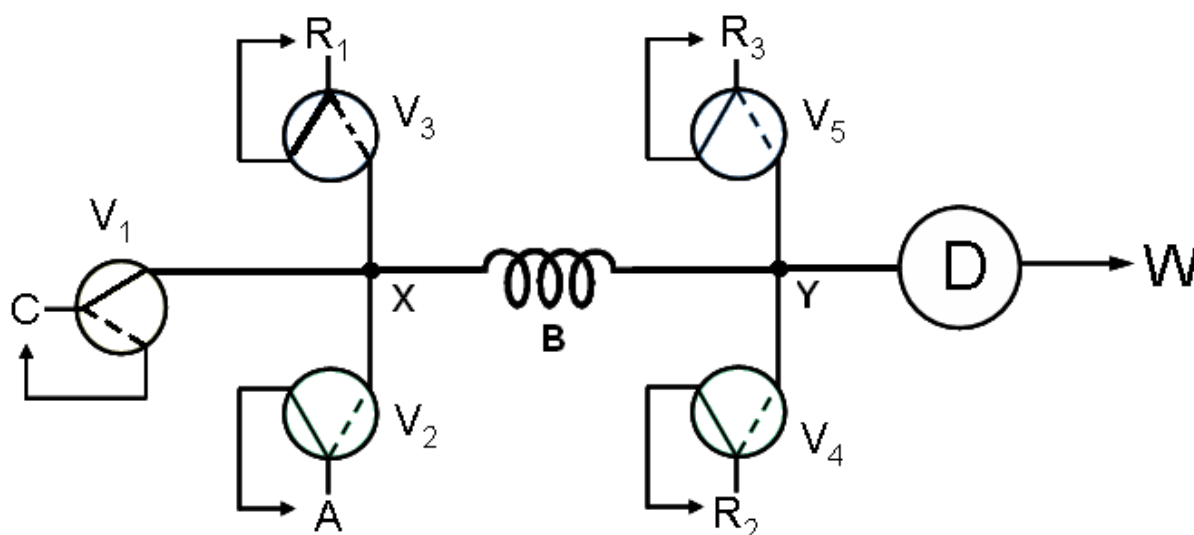


Figura 4.2 – Diagrama de fluxos do sistema empregado para a determinação de dipirona. C- transportador; A – soluções padrões de dipirona e/ou amostras; R_1 – solução de $Fe(CN)_6^{3-}$; R_2 – solução de luminol; R_3 – solução de H_2O_2 ; $V_1 - V_5$ – válvulas solenóides de 3 vias ; B – Percurso Analítico; D – Detector: luminômetro construído com fotodiodo de silício contendo uma cela de polietileno em espiral de 100 cm; W – descarte; X e Y – ponto de confluência.

No módulo de análise apresentado na Fig. 4.2, a solução transportadora (H_2O) flui pelo percurso analítico (V_1), enquanto as demais soluções permanecem reciclando. A adição das soluções reagentes e/ou amostras é efetuada pelo acionamento das válvulas solenóides (V_2 – padrão e/ou amostra, V_3 - $Fe(CN)_6^{3-}$, V_4 - Luminol e V_5 - H_2O_2).

Este módulo de análise foi proposto para determinar dipirona. Sendo assim, procedeu-se a otimização dos diferentes parâmetros químicos como concentração de hexacianoferrato (III) de potássio, peróxido de hidrogênio e luminol e físicos como volume dos reagentes, percurso analítico e vazão.

TABELA 4.1 – Esquema de acionamento das válvulas solenóides para a determinação de dipirona, diagrama de fluxo Figura 4.2

Etapas	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅	Bomba peristáltica		Tempo (s)
						(%)rotação	Direção	
1	0	0	0	0	0	15	CCW	5
2	0	0	1	0	0	15	CCW	3
3	0	0	0	0	0	15	CCW	6
4	0	0	0	1	1	15	CCW	3
5	0	0	0	0	0	15	CCW	15
* repetições (2-5)								
6	1	1	1	0	0	15	CCW	3
7	0	0	0	0	0	15	CCW	6
8	0	0	0	1	1	15	CCW	3
9	0	0	0	0	0	15	CCW	15
* repetições(6-10)								
10	0	0	0	0	0	0	CCW	0

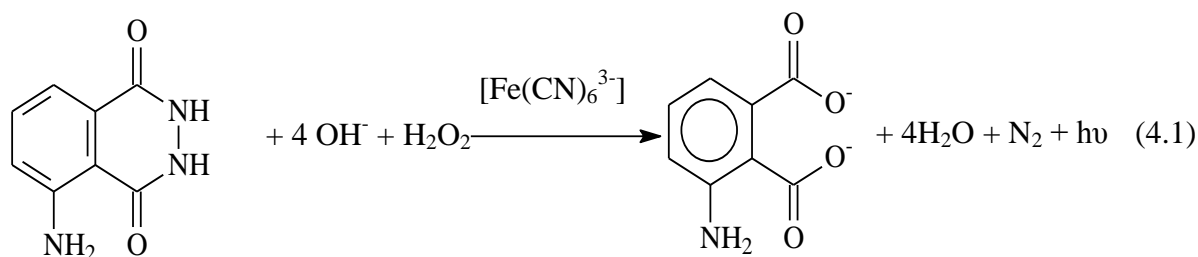
0 = válvula solenóides desligada

1= válvula solenóides acionada

CCW: direção de rotação da bomba peristáltica, sentido horário

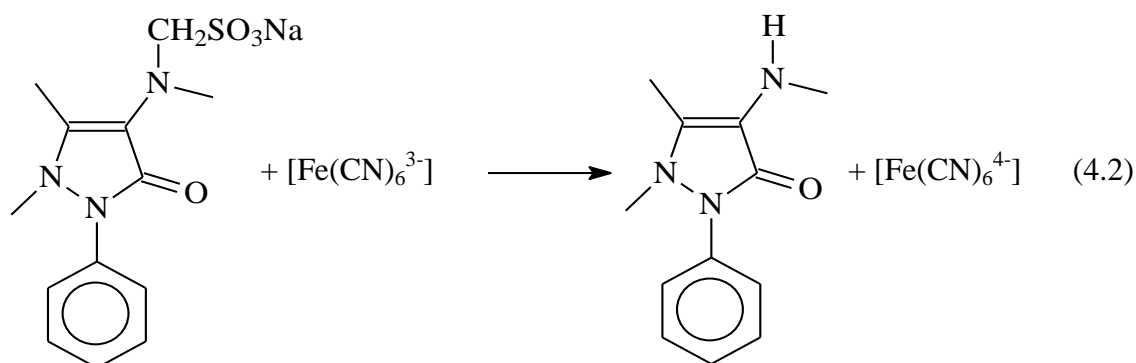
* repetição em triplicata das etapas 2-5 (sinal do Branco) e das etapas 6-9 (inibição do sinal)

Inicialmente flui pelo sistema apenas o transportador (água), etapa 1, durante 5 s. Na etapa 2, é acionada a válvula (V₃), ocorre a inserção da solução de Fe(CN)₆³⁻ por 3 s e a solução transportadora(C) continua fluindo pelo sistema. Na etapa 3, em um tempo de acionamento de 6 s, a mistura (Fe(CN)₆³⁻ + água desionizada) é levada até a confluência Y e, ao chegar ao ponto Y, inicia-se a etapa 4, onde são acionadas as válvulas V₄ e V₅ ocorrendo a inserção do volume de luminol e H₂O₂ por 3 s, ocorrendo assim a oxidação desse reagente como mostrado na Equação 3.1, liberando energia em forma de luz, obtendo-se o sinal do branco.



Na etapa 5, as válvulas são desligadas e o transportador flui pelo sistema durante 15 s. As etapas de 2 a 5 são repetidas na seqüência, em triplicata.

Após medidas do sinal do branco, inicia-se a adição da solução do padrão e/ou da amostra no lugar do transportador. Na etapa 6, as válvulas das soluções transportadora, de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ e de padrão são acionadas por 3 s, nesse caso a solução transportadora retorna para o frasco, e as soluções de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ e amostra fluem para o sistema, a dipirona reduz o $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ a $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ como mostrado na Equação 4.2. Na etapa 7, em um tempo de acionamento de 6 s, a mistura ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ + dipirona) chega no ponto de confluência Y, sendo então, na etapa 8, acionadas as válvulas V_4 e V_5 ocorrendo a inserção do volume de luminol e H_2O_2 por 3 s, a concentração de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ que não foi reduzida catalisa a reação entre o luminol e H_2O_2 obtendo-se desta maneira o sinal analítico de magnitude menor que a do branco.



As etapas de 6 a 9 são repetidas na seqüência, em triplicata. No final, na etapa 10, todas as válvulas estão desligadas, a porcentagem (%) zero (0) de rotação indica a parada da bomba peristáltica e, o tempo 0 finaliza a rotina do programa. No início da etapa 1, começa a ser realizada a aquisição de dados do luminômetro, e os resultados expressos em magnitude da luminescência (mV) *versus* tempo (s) são gravados em arquivos pré-estabelecidos.

4.3 – Resultados e Discussão

4.3.1 – Efeito da concentração da solução de hexacianoferrato (III) de potássio

Estudou-se o efeito da concentração de hexacianoferrato (III) de potássio, no intervalo de concentração de 2,5 a 20 mmol L⁻¹, sobre o sinal analítico, utilizando o sistema mostrado na Figura 4.2 nas seguintes condições: transportador (água desionizada), 53 μL de solução de dipirona 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ (V₂ = 2s), 53 μL de solução de hexacianoferrato (III) de potássio 10,0 mmol L⁻¹ (V₃ = 2s) e 53 μL de solução de luminol 1,0 mmol L⁻¹ (V₄ = 2s) e 53 μL de solução de peróxido de hidrogênio 1,0 mmol L⁻¹ (V₅ = 2s), percurso analítico de 50 cm, a uma de vazão 1,6 mL min⁻¹. Todas as medidas foram feitas em triplicata

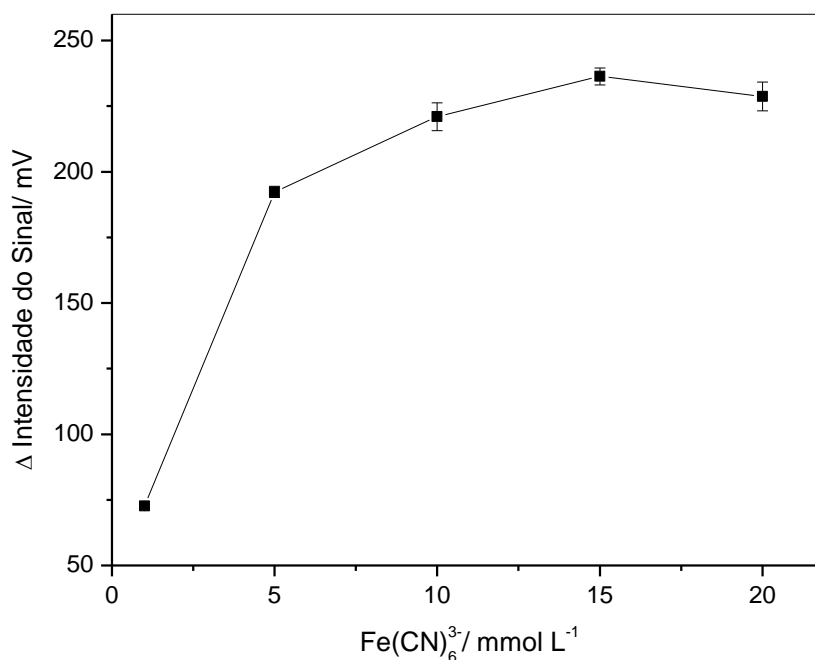


Figura 4.3 – Efeito da concentração da solução de hexacianoferrato de potássio (53 μL) sobre o sinal analítico, empregando 53 μL de solução de dipirona 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ (V₂ = 2 s), 53 μL de solução de luminol 1,0 mmol L⁻¹ (V₃ = 2 s) e 53 μL de solução de peróxido de sódio 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹.

A Figura 4.3 apresenta os resultados obtidos no estudo do efeito da concentração da solução de hexacianoferrato (III) de potássio variando de 2,5 a 20,0 mmol L⁻¹ sobre o sinal analítico.

Observou-se um aumento do sinal analítico nas concentrações entre 2,5 a 15 mmol L⁻¹ sendo que em concentrações superiores, a variação do sinal analítico permaneceu praticamente constante. Então a concentração selecionada deste catalisador para os posteriores estudos foi de 15 mmol L⁻¹.

4.3.2 – Efeito da concentração da solução de luminol

Estudou-se a influência da concentração da solução de luminol sobre o sinal analítico no intervalo de 0,5 a 4,0 mmol L⁻¹ utilizando-se o sistema de fluxo nas seguintes condições: transportador água desionizada, 53 μL de solução de dipirona 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ (V₂ = 2 s), 53 μL de solução de hexacianoferrato (III) de potássio 15,0 mmol L⁻¹ (V₃ = 2 s), 53 μL de solução de luminol (V₄ = 2 s), 53 μL de solução de peróxido de hidrogênio 1,0 mmol L⁻¹ (V₅ = 2 s), percurso analítico de 50 cm e uma de vazão 1,6 mL min⁻¹. Todas as medidas foram feitas em triplicata

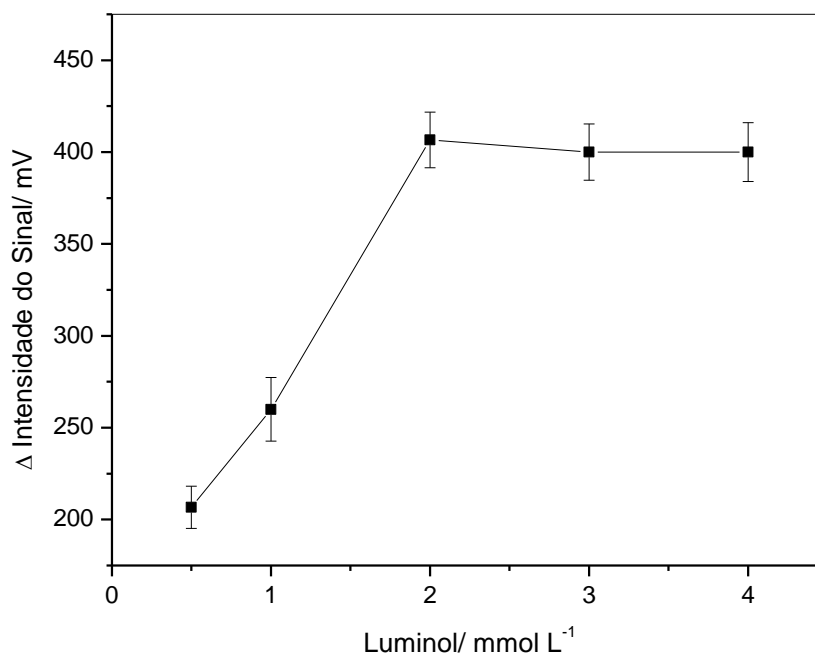


Figura 4.4 – Efeito da concentração de luminol sobre o sinal analítico

Um aumento significativo do sinal analítico foi observado até a concentração de luminol igual a $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Acima desta concentração a variação do sinal analítico não se alterou significativamente como mostra a Figura 4.4. Desta forma selecionou-se trabalhar com solução de luminol $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

4.3.3 – Efeito da concentração da solução de peróxido de hidrogênio

Estudou-se a influência da concentração da solução do peróxido de hidrogênio sobre o sinal analítico no intervalo de $0,5$ a $4,0 \text{ mmol L}^{-1}$ utilizando-se o sistema de fluxo nas seguintes condições: transportador água desionizada, $53 \text{ }\mu\text{L}$ de solução de dipirona $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($V_2 = 2 \text{ s}$), $53 \text{ }\mu\text{L}$ de solução de hexacianoferrato (III) de potássio $15,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ($V_3 = 2 \text{ s}$), $53 \text{ }\mu\text{L}$ de solução de luminol ($V_4 = 2 \text{ s}$), $53 \text{ }\mu\text{L}$ de solução de peróxido de hidrogênio ($V_5 = 2 \text{ s}$), percurso analítico de 50 cm e a uma de vazão $1,6 \text{ mL min}^{-1}$. Todas as medidas foram feitas em triplicata

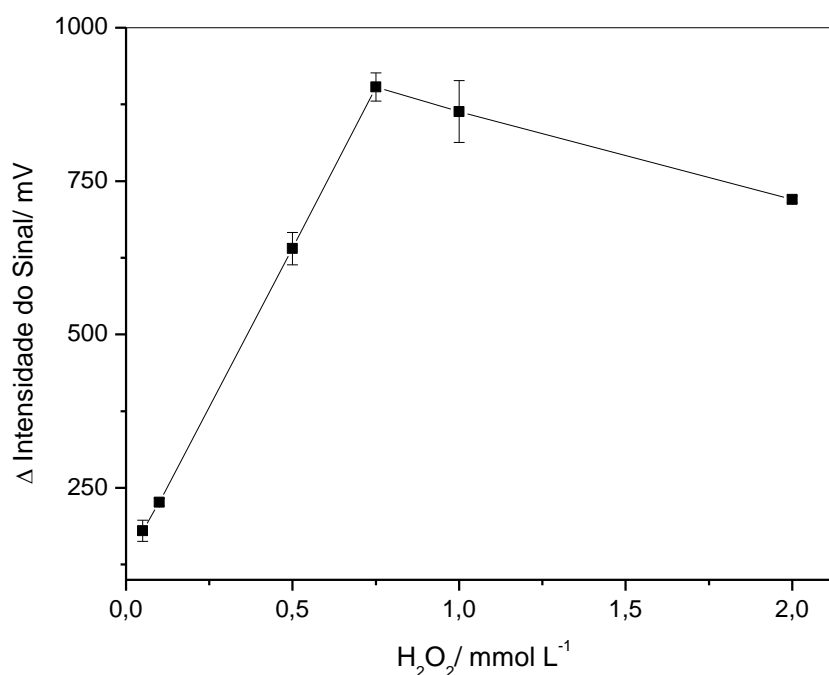


Figura 4.5 – Efeito da concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) sobre o sinal analítico

Um aumento significativo do sinal analítico foi observado até a concentração de peróxido de hidrogênio igual a $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$, acima desta concentração houve uma diminuição gradativa do sinal analítico como mostra a Figura 4.5. Desta forma selecionou-se trabalhar com solução de peróxido de hidrogênio $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$ para os estudos posteriores.

4.3.4 – Estudo do tempo de acionamento das válvulas solenóides para as soluções de hexacianoferrato (III) de potássio e de dipirona

O estudo da inserção dos volumes das soluções de hexacianoferrato (III) de potássio e dipirona foram estudada simultaneamente, variando-se o tempo de acionamento das válvulas solenóides de 2 a 5 s e vazão do sistema mantida constante em $1,6 \text{ mL min}^{-1}$. Os estudos foram realizados empregando-se como transportador água desionizada, solução de dipirona $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, hexacianoferrato de potássio (III) $15,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $53 \mu\text{L}$ de solução de luminol ($V_4 = 2 \text{ s}$), $53 \mu\text{L}$ de solução de peróxido de hidrogênio $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$ ($V_5 = 2 \text{ s}$), percurso analítico de 50 cm.

A Figura 4.6 apresenta os resultados obtidos. O sinal analítico aumentou com o tempo de acionamento das válvulas V_2 e V_3 até 3 s ($80 \mu\text{L}$), mantendo-se constante nos tempos de acionamento superiores, sendo assim esse tempo de acionamento foi selecionado para os estudos posteriores.

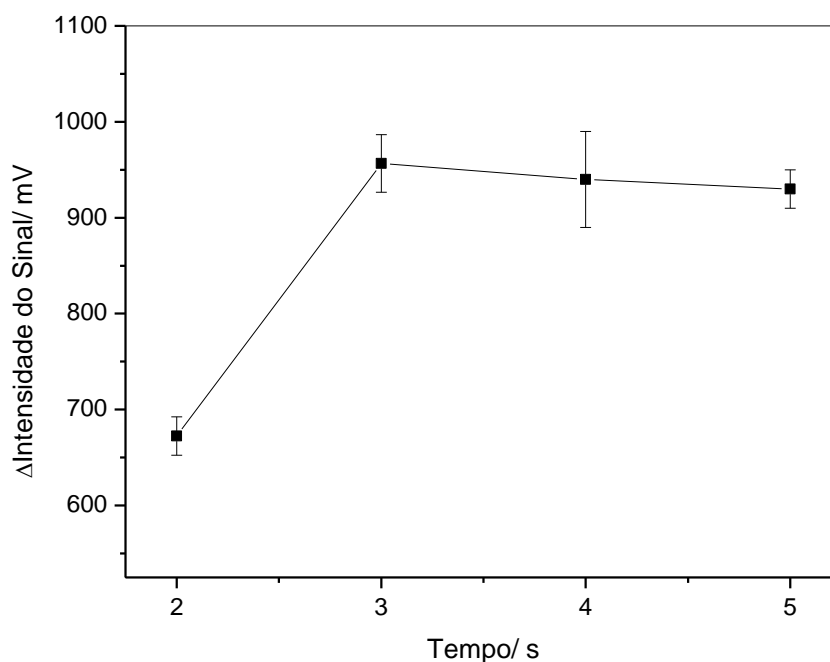


Figura 4.6 – Efeito do tempo de acionamento das válvulas das soluções de hexacianoferrato de potássio (III) e dipirona sobre o sinal analítico

4.3.5 – Estudo do tempo de acionamento das válvulas solenóides para as soluções de luminol e de peróxido de hidrogênio

O efeito do tempo de acionamento das válvulas V_4 (luminol) e V_5 (peróxido de hidrogênio) foram avaliados, variando-se simultaneamente o acionamento das válvulas solenóides entre 2 a 5 s (53 a 133 μL). Os estudos foram realizados empregando o sistema de fluxo nas seguintes condições: transportador água desionizada; 80 μL solução de dipirona $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, 80 μL de hexacianoferrato de potássio (III) 15 mmol L^{-1} , solução de luminol $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$, solução de peróxido de hidrogênio $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$, percurso analítico de 50 cm.

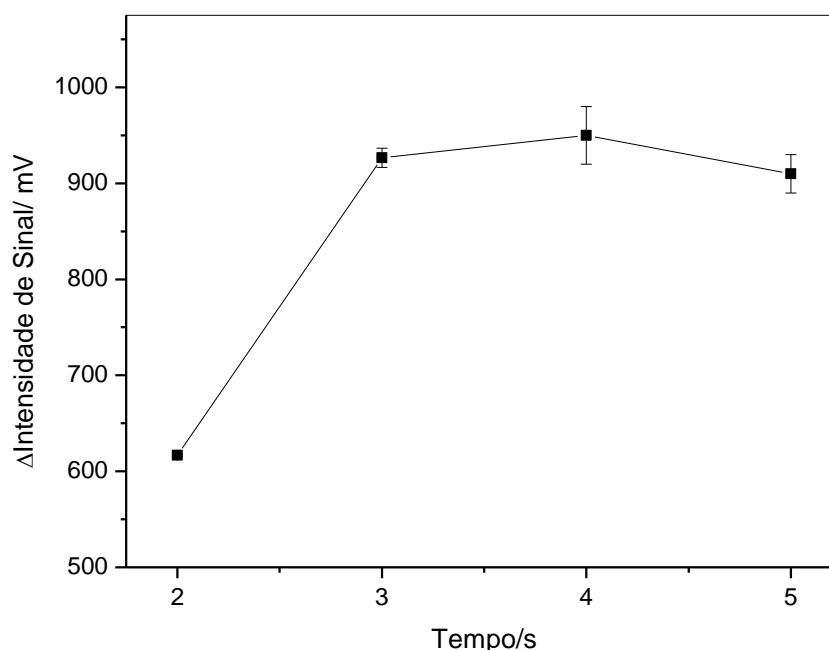


Figura 4.7 – Efeito do tempo de acionamento das válvulas solenóides V_4 e V_5 do luminol e hexacianoferrato (III) respectivamente, sobre o sinal analítico.

Observa-se na Figura 4.7, que há um aumento do sinal analítico entre 2 a 3 s, de acionamento das válvulas solenóides. Nos tempos de acionamento das válvulas solenóides superiores o sinal analítico manteve-se praticamente constante, sendo o tempo de 3 s escolhido nos estudos posteriores.

4.3.6 – Avaliação do comprimento do percurso analítico

Avaliou-se o efeito do comprimento do percurso analítico (B) de 25 a 100 cm. Nestes estudos, o sistema de análise em fluxo estava configurado nas seguintes condições: transportador água desionizada; 80 μL solução de dipirona $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, 80 μL de hexacianoferrato de potássio (III) 15 mmol L^{-1} , 80 μL solução de luminol $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$, 80 μL solução de peróxido de hidrogênio $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$, e a uma vazão de $1,6 \text{ mL min}^{-1}$.

Neste estudo, observou-se que o maior sinal analítico foi obtido em um comprimento do percurso analítico de 25 cm. Acima desse comprimento houve uma diminuição do sinal, indicando assim o aumento da dispersão da zona de amostra. Escolheu-se trabalhar com o comprimento de 25 cm.

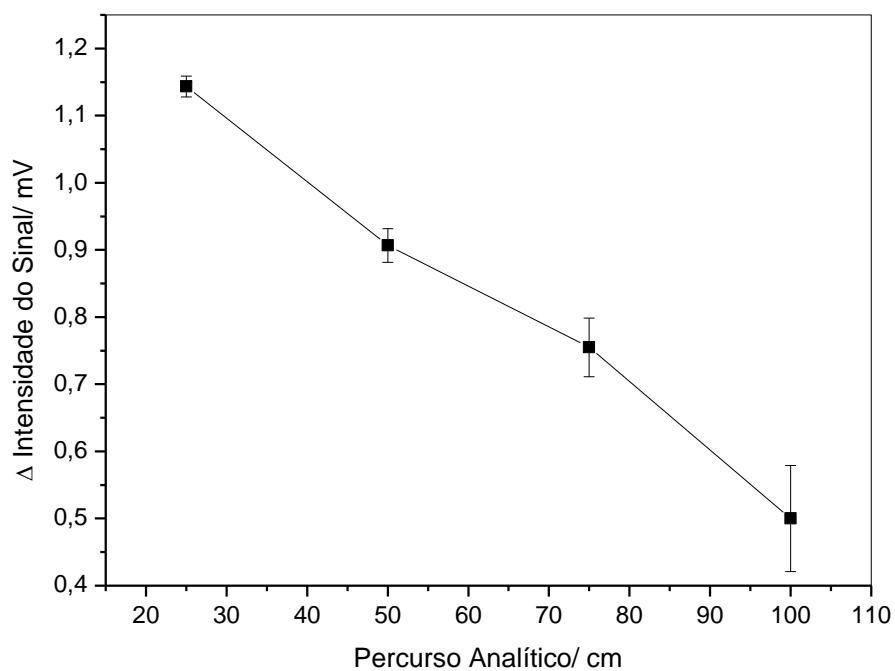


Figura 4.8 – Efeito do comprimento do percurso analítico sobre o sinal analítico.

4.3.7 – Estudo da vazão do sistema

O efeito da vazão das soluções foram estudadas simultaneamente para todas as soluções na faixa de 1,1 a 2,4 mL min⁻¹. Como mostra a Figura 4.9, foi verificado um aumento no sinal analítico com o aumento da vazão até 1,6 mL min⁻¹. Acima desta vazão, observou-se um aumento na pressão hidrodinâmica e uma diminuição acentuada do sinal analítico. Sendo assim, a vazão selecionada de 1,6 mL min⁻¹ foi selecionada por apresentar boa variação no sinal analítico, estabilidade da linha base e boa reprodutibilidade.

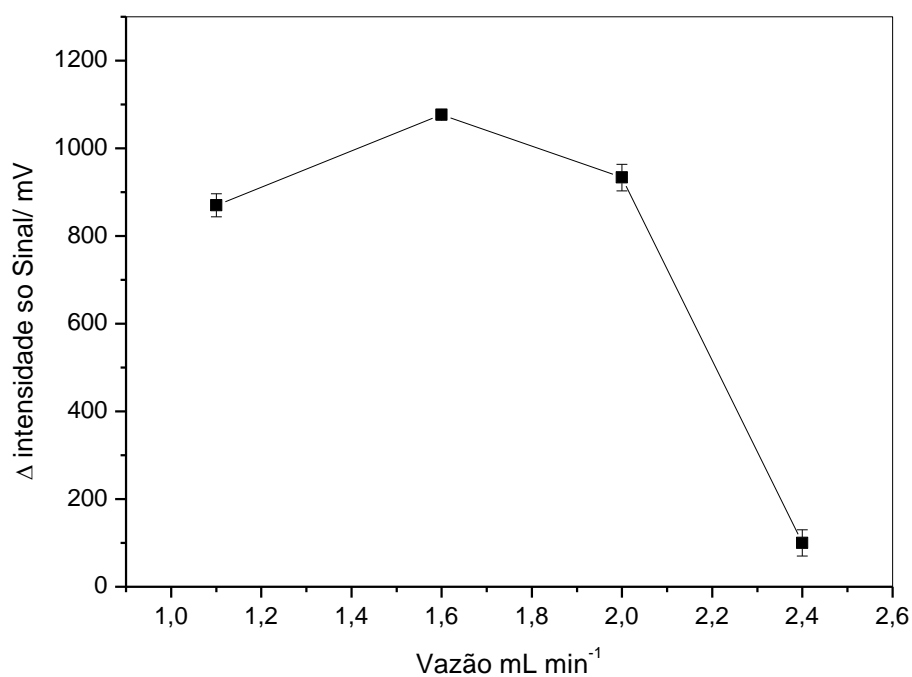


Figura 4.9 – Efeito da vazão das soluções, estudados simultaneamente na intervalo de 1,1 a 2,4 mL min⁻¹.

4.3.8 – Curva analítica

Os sinais transientes e a curva analítica obtida para as soluções de referência de dipirona são apresentados nas Figuras 4.10 e 4.11 respectivamente. As condições utilizadas para obtenção da curva analítica são apresentadas na Tabela 4.2. Nesta tabela são apresentados a faixa de cada parâmetros experimental e o valor selecionado.

Tabela 4.2 – Parâmetros estudados na otimização do sistema para a determinação e dipirona em formulações farmacêuticas.

Parâmetro	Faixa estudada	Valor selecionado
$[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}] / \text{x m mol L}^{-1}$	2,5 a 20	15
$[\text{Luminol}] / \text{mmol L}^{-1}$	0,5 a 4,0	2
$[\text{H}_2\text{O}_2] / \text{mmol L}^{-1}$	0,5 a 2,0	0,75
Tempo de acionamento ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ e Padrão)/ s	1 a 4	3
Tempo de acionamento (Luminol e H_2O_2) / s	2 a 5	3
Percurso Analítico/ cm	25 a 75	25
Vazão/ mL min^{-1}	1,4 a 2,4	1,6

A curva analítica, Figura 4.11, foi linear no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-4}$ a $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (33 a 300 mg L^{-1}) de dipirona descrita pela equação: Intensidade (mV) = $0,15 + 3551 [\text{Dipirona}] (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,999$ e com um limite de detecção de $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

A Figura 4.10 apresenta os sinais transientes referentes à solução do branco (A) e das soluções de referência de dipirona nas concentrações de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (B); $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (C); $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (D); $7,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (E) e $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (F).

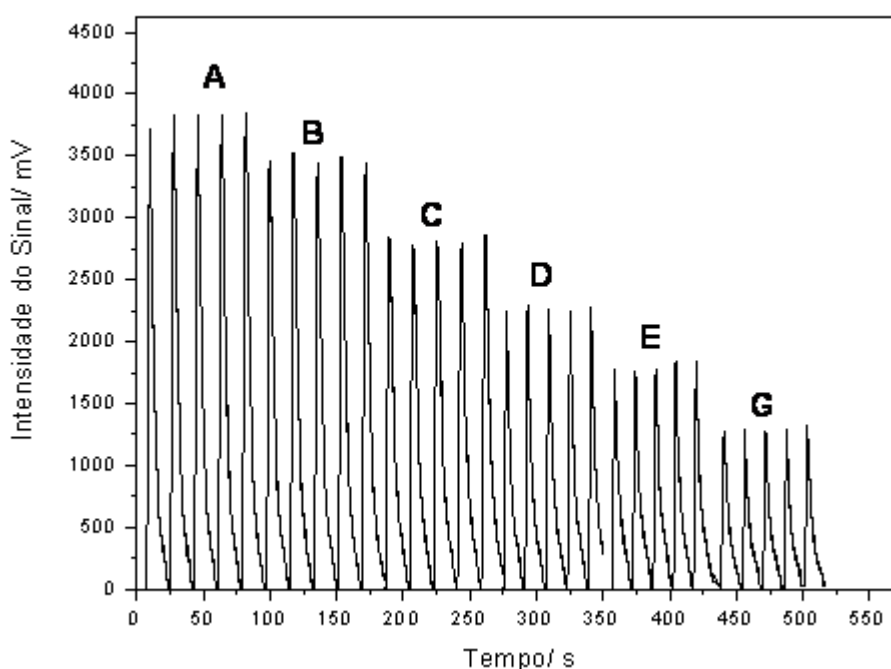


Figura 4.10 – Sinais transientes para as soluções padrões de dipirona de $1,0 \times 10^{-4}$ a $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (33,0 a $300,0 \text{ mg L}^{-1}$).

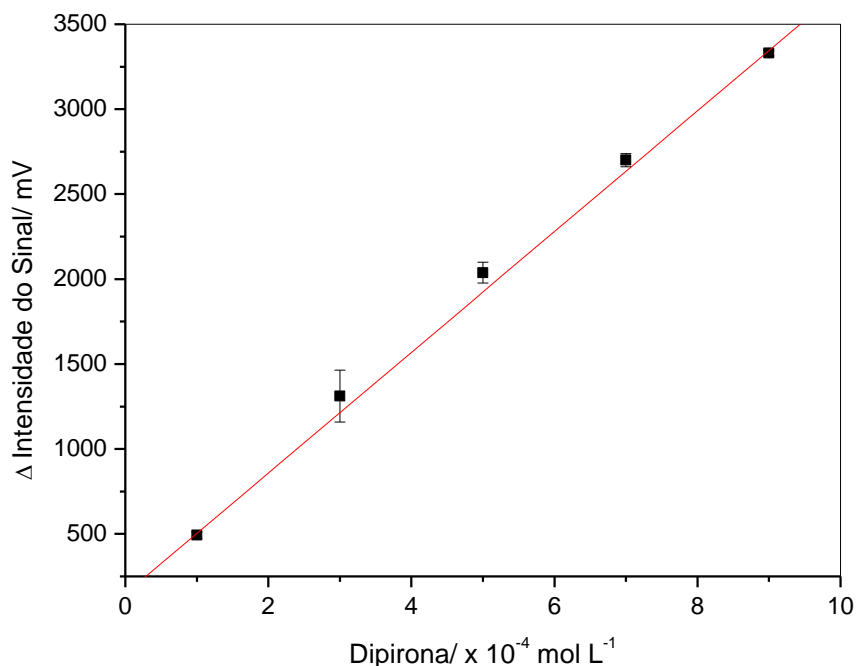


Figura 4.11 – Curva analítica obtida para as soluções padrões de dipirona de $1,0 \times 10^{-4}$ a $9,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ (33,0 a 300,0 mg L⁻¹).

4.3.9 - Estudo da repetibilidade e frequência analítica

Avaliou-se a repetibilidade de resposta do procedimento analítico proposto. Os sinais transientes obtidos são mostrados na Figura 4.12. O coeficiente de variação (desvio padrão relativo) foi estimado em 0,5; 0,8 e 0,5 %, respectivamente para 10 medidas correspondentes ao branco hexacianoferrato (III) de potássio e solução de dipirona $3,0 \times 10^{-4}$ e $6,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ obtendo uma frequência de amostragem de 215 h⁻¹.

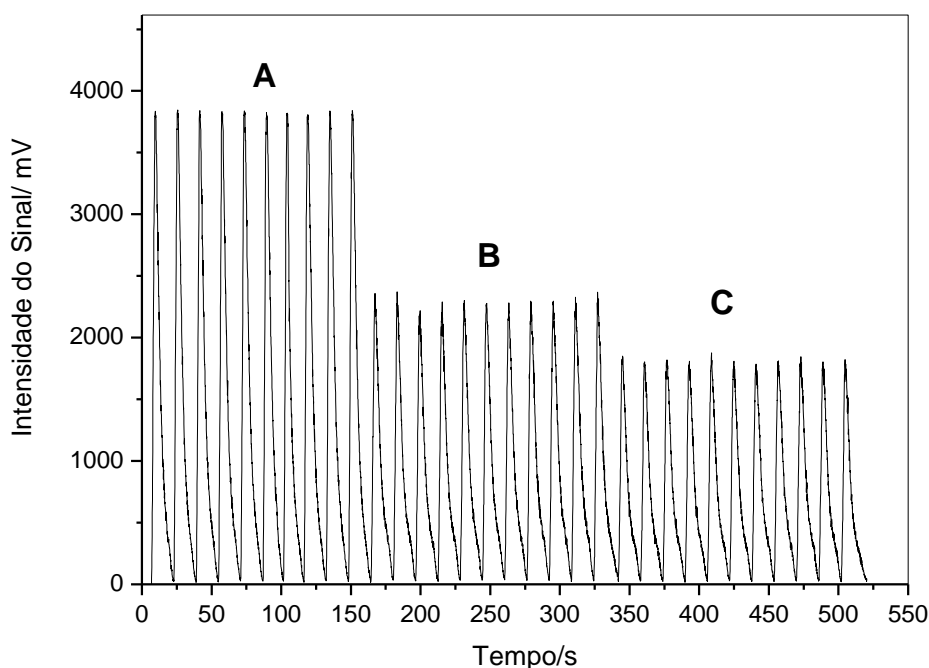


Figura 4.12 – Estudo da repetibilidade para solução de hexacianoferrato (III) de potássio (A) 15 mmol L^{-1} e solução de referência de dipirona nas concentrações de (B) $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e (C) $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

4.3.10 - Estudo de adição e recuperação de dipirona em formulações farmacêuticas

Depois estudos de otimização do procedimento proposto, este foi empregado na determinação de amostras de dipirona em formulações farmacêuticas. Foi realizado o estudo de adição e recuperação de dipirona nestas amostras. Nestes estudos, duas concentrações diferentes de dipirona $2,5 \times 10^{-4}$ e $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionadas nas amostras de dipirona (A, B e C), e os resultados obtidos foram comparados com as concentrações adicionadas. Os resultados das recuperações obtidas são mostrados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Estudo de adição e recuperação de dipirona em amostras farmacêuticas.

Amostras	Adicionado (x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹)	Recuperado (x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹)	Recuperação (%)
A	2,50	2,55 ± 0,04	102
	5,00	5,10 ± 0,03	102
B	2,50	2,50 ± 0,02	100
	5,00	5,20 ± 0,04	104
C	2,50	2,46 ± 0,02	98,4
	5,00	4,90 ± 0,04	98

n=3

Os resultados obtidos nos estudos de adição e recuperação nas três amostras farmacêuticas de dipirona apresentam valores de recuperação que variam de 98,4 a 102%. Indicando assim que não houve interferências das matrizes dessas amostras no procedimento analítico proposto.

4.3.11 – Determinação de dipirona em amostras comerciais empregando o sistema em fluxo com detecção quimiluminescente.

O procedimento analítico desenvolvido foi aplicado na determinação de dipirona em amostras comerciais. Os resultados obtidos pelo método proposto foram comparados com aqueles obtidos pelo método oficial da Farmacopéia Brasileira ^{ref}, que consiste na titulação iodimétrica. A Tabela 4.4 apresenta os resultados obtidos empregando-se o método proposto e o método comparativo.

TABELA 4.4 – Determinação de dipirona em produtos farmacêuticos empregando-se método quimiluminescente e pelo o método comparativo iodimétrico³⁷.

Amostras	Dipirona/ mg g ⁻¹			E _r (%)
	Rotulado	Comparativo	Proposto	
A	500	502±7	501±4	-0,2
B	500	499±5	500±3	+0,2
C	500	502±5	502±4	0,0

n=3

Os resultados obtidos dos teores de dipirona nos produtos farmacêuticos estão em boa concordância com aqueles obtidos empregando-se o método da Farmacopéia Brasileira dentro de um intervalo de confiança de 95 %.

4. 4 - Conclusões

O procedimento analítico em fluxo proposto envolvendo a inibição do sinal quimiluminescente para a determinação de dipirona em formulações farmacêuticas apresentou uma curva analítica linear no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-4}$ a $9,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ (33 a 300 mg L⁻¹) mol L⁻¹, com um limite de detecção de $9,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Foram obtidos desvios padrão relativos estimados em 0,5; 0,8 e 0,5 %, respectivamente para 10 medidas correspondentes ao branco (hexacianoferrato (III)) de potássio e solução de dipirona $3,0 \times 10^{-4}$ e $6,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e uma frequência de amostragem de 215 h⁻¹. O procedimento em fluxo envolvendo multicomutação e quimiluminescência para a determinação de dipirona em produtos farmacêuticos foi preciso, exato, apresentou alta frequência de amostragem e baixo volume e/ou concentração de resíduos, característicos de sistema em fluxo com multicomutação. O procedimento proposto apresenta relativa simplicidade do sistema analítico proposto e com base nas vantagens assinaladas, pode-se sugerir a sua implementação em laboratórios de controle de qualidade deste analito que necessitam de um número de determinações elevada.

CAPÍTULO 5 – DETERMINAÇÃO DE PARACETAMOL

5 – Determinação de Paracetamol

Neste capítulo será apresentada uma revisão bibliográfica sobre os procedimentos analíticos em fluxo para determinação de paracetamol em produtos farmacêuticos. Na seqüência serão apresentados o estudo da otimização do sistema por injeção em fluxo com detecção quimiluminescente.

5.1 – Introdução

Paracetamol é um fármaco com propriedades analgésicas, mas sem propriedades antiinflamatórias clinicamente significativas. Ele atua por inibição da síntese das prostaglandinas, mediadores celulares responsáveis pelo aparecimento da dor. Esta substância tem também efeitos antipiréticos. Faz parte da composição de uma série de medicamentos usados contra a constipação comum e gripe. As doses recomendadas são bastante seguras, mas o seu baixo preço e a sua grande facilidade de aquisição pelos doentes tem provocado o aparecimento de alguns casos de sobredosagem, embora em pequeno número⁴². Nas doses indicadas, o paracetamol não afeta a mucosa gástrica, não altera a coagulação sanguínea e não ataca os rins. Desde 1993, a IUPAC¹⁶ recomenda para este composto o nome sistemático *N*-(4-hidroxifenil)etanamida.

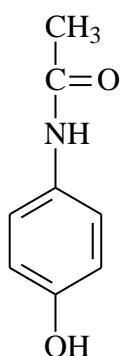


Figura 5.1 - Estrutura molecular do paracetamol

Há na literatura vários procedimentos descritos para a determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas e em fluídos biológicos, empregando técnicas cromatografias^{43,42}, voltamétrica⁴⁵, espectrofotométricas^{46,47}, para determinação de paracetamol.

A seguir são descritos alguns trabalhos publicados para a determinação deste analito empregando-se análise por injeção em fluxo.

Um sistema de análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica empregando 2-iodilbenzoato como agente oxidante foi proposto por VERNA *et. al.* ⁴⁸. Nesse método, o cromóforo formado na reação, N-acetil-1,4-benzoquinona imina, foi monitorado em 445 nm. A curva analítica apresentou uma linearidade 0,8 a 100 mg mL⁻¹. O desvio padrão relativo variou entre 0,5 a 2 % e uma frequência de amostragem de 360 amostras por hora foram obtidos. No estudo da recuperação do analito as recuperações variaram entre 96,3 a 105,2% nas amostras analisadas foram obtidas.

Suarez *et. al.* ⁴⁹ propuseram um sistema de análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica. O ácido nitroso gerado em linha reage com o paracetamol formando um produto cromogênico, monitorado em 430 nm. A curva analítica apresentou uma faixa linear de concentração de paracetamol variando entre $9,7 \times 10^{-5}$ a $6,2 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ com um limite de detecção de $2,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Os desvios padrão relativos foram menores que 2 % para soluções contendo $1,2 \times 10^{-4}$ e $2,8 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de paracetamol (n=10) com uma frequência de amostragem de 60 determinações por hora foi obtida.

Aniceto *et al.* ⁵⁰ desenvolveram um sistema de análise por injeção em fluxo com determinação espectrofotométrica para a determinação de paracetamol. Neste sistema, o paracetamol foi oxidado pelo hipoclorito de sódio, formando o N acetil-p-benzoquinonaimina que reage com salicilato de sódio em solução básica produzindo um composto indofenólico (N-[phidroxifenil]-p-benzoquinonaimina) com intensa absorção em 640 nm. A curva analítica apresentou uma linearidade de $3,3 \times 10^{-6}$ a $6,6 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com um limite de detecção de $1,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. O desvio padrão relativo para as soluções de paracetamol $1,65 \times 10^{-4}$, $3,30 \times 10^{-4}$ e $4,95 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ foram menores que 1% (n=12) e uma frequência de amostragem de 80 determinações por hora foi obtida. A faixa de recuperação obtida com o procedimento desenvolvido variou entre 98 a 103,6% nas amostras analisadas.

ALAPONT *et al.* ⁵¹ desenvolveram um sistema de análise por injeção em fluxo para a determinação indireta de paracetamol empregando o sistema quimiluminescente luminol-H₂O₂-[Fe(CN)₆³⁻], cuja radiação emitida foi proporcional à concentração de paracetamol na amostra. O paracetamol foi oxidado pelo hexacianoferrato (III) e o excesso do reagente foi determinado pelo aumento da

magnitude da quimiluminescência da reação entre H_2O_2 , luminol e $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ do qual participa como catalisador. A curva analítica apresentou uma faixa linear entre $2,5\text{--}12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e um limite de detecção de $2,1 \mu\text{g mL}^{-1}$. O desvio padrão relativo para uma solução de paracetamol contendo $7,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ foi de 2,2% ($n=25$) e uma frequência de amostragem de 87 determinações por hora foi obtida.

Em outro sistema quimiluminescente Easwaramoorthy *et al.*⁵² desenvolveram um sistema empregando permanganato de potássio como agente oxidante. O paracetamol foi consumido pelo oxidante e seu excesso foi monitorado pela reação com luminol. Dessa maneira, a queda do sinal quimiluminescente foi proporcional à concentração do paracetamol em solução. A curva analítica apresentou uma faixa linear de $2,5 \times 10^{-8}$ a $2,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. O desvio padrão relativo para uma solução de paracetamol contendo $1,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ foi de 2,3% ($n=12$). A faixa de recuperação obtida com o procedimento desenvolvido variou entre 98,2 a 104,4% nas amostras analisadas.

5.2 – Parte Experimental

5.2.1 – Equipamentos e acessórios

Para a construção dos módulos de análises foram empregados tubos de polietileno (0,8 mm d.i) e confluências feitas de acrílico. A propulsão dos fluidos foi feita com uma bomba peristáltica Ismatec (IPC-8), equipada com tubos de propulsão de Tygon de diferentes diâmetros. O controle do módulo de análise aquisição dos dados do módulo de análise foram realizados empregando-se um microcomputador (Pentium 233 MHz), equipado com uma interface eletrônica (Advantec Corp., PCL-711S). A linguagem de programação utilizada foi escrita em LabVIEW 7.0. As medidas da radiação quimiluminescente (expressas em mV) foram feitas empregando-se um fotodetector OSD 50 e uma cela de medida de polietileno como descrito no item 2.1.2.

5.2.2 - Reagentes e soluções empregados na otimização do procedimento em fluxo para a determinação de paracetamol

As soluções foram preparadas empregando-se água desionizada e reagentes de grau analítico.

A solução de carbonato de sódio $0,6 \text{ mol L}^{-1}$, pH 11,0, foi preparada dissolvendo-se 41,463 g de K_2CO_3 (Synth) em água desionizada. O valor do pH foi ajustado com solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e o volume completado para 200 mL.

A solução estoque de luminol $9,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 320,0 mg de 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinediona (Sigma) em 200 mL de solução de carbonato de potássio $0,6 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 11,0). A solução foi preparada 3 dias antes do uso e armazenada em frasco âmbar mantida sob refrigeração. A solução de trabalho na concentração de $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de luminol foi preparada por diluição apropriada da solução estoque em solução de carbonato de sódio $0,6 \text{ mol L}^{-1}$.

A solução estoque de hipoclorito de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada diariamente a partir de uma solução de 6 % v/v. A solução de trabalho na concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de hipoclorito de sódio foi preparada por diluição apropriada da solução estoque em água desionizada.

A solução estoque de paracetamol foi preparada dissolvendo-se 152,0 mg do fármaco (Sigma-Aldrich) em 100 mL de água desionizada. A solução de trabalho na concentração de $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de paracetamol foi preparada por diluição apropriada da solução estoque em água desionizada.

5.2.3 – Preparo das amostras

Dez comprimidos foram exatamente pesados e triturados com auxílio de um almofariz e pistilo. Uma massa exatamente pesada de paracetamol foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e dissolvido com água deionizada. A solução foi filtrada. Uma alíquota dessa solução foi transferida para balão volumétrico de 25 mL. A solução obtida apresentava uma concentração dentro da

faixa da curva analítica, sendo então empregada para a determinação de paracetamol com o sistema proposto.

5.2.4 - Diagrama de fluxo e procedimento

O diagrama de fluxos do módulo de análise inicialmente construído para a determinação do analito de interesse é apresentado na Figura 5.2. O módulo é constituído de 4 válvulas solenóides (V_1 , V_2 , V_3 e V_4), que gerenciam a inserção das soluções de reagentes, amostras e/ou padrão, transportador no percurso analítico e pelo detector luminescente (D) contendo uma cela de polietileno, em espiral de 100 cm. A válvula solenóide é representada por um círculo com duas linhas que indicam os possíveis percursos das soluções e/ou transportador. A linha cheia, no caso do transportador, representa a passagem do transportador para o percurso analítico, enquanto que para as outras válvulas, as soluções estão circulando de volta para os respectivos reservatórios. Após o acionamento das válvulas, a linha tracejada indica o caminho das soluções.

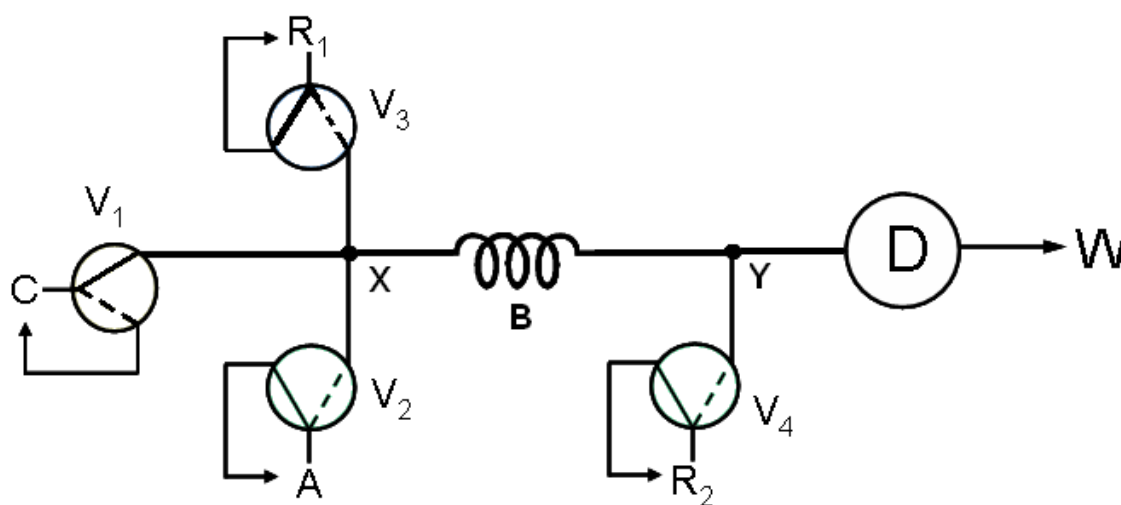


Figura 5.2 – Diagrama de fluxos do sistema empregado para a determinação de paracetamol. C- transportador; A – soluções padrões de paracetamol e/ou amostras; R_1 – solução de hipoclorito de sódio; R_2 – solução de luminol; V_1 – V_4 – válvulas solenóides de 3 vias ; B – Percurso Analítico; D – Detector: luminômetro construído com fotodiodo de silício contendo uma cela de polietileno em espiral de 100 cm; W – descarte; X e Y – ponto de confluência.

No módulo de análises apresentado na Fig. 5.2, a solução transportadora (H_2O) flui pelo percurso analítico (V_1), enquanto as demais soluções

permanecem reciclando. A adição das soluções reagentes e/ou amostras é efetuada pelo acionamento das válvulas solenóides (V_2 – padrão e/ou amostra, V_3 – ClO^- e V_4 - Luminol).

Este módulo de análise foi proposto para determinar paracetamol. Através desse sistema, procedeu-se a otimização dos diferentes parâmetros químicos e físicos. A tabela 5.2 mostra o esquema de acionamento das válvulas solenóides para determinação de paracetamol.

TABELA 5.1 – Esquema de acionamento das válvulas solenóides para a determinação de paracetamol, diagrama de fluxo Figura 5.2

Etapas	V_1	V_2	V_3	V_4	Bomba peristáltica		Tempo (s)
					(%)rotação	Direção	
1	0	0	0	0	15	CCW	5
2	0	0	1	0	15	CCW	2
3	0	0	0	0	15	CCW	1
4	0	0	0	1	15	CCW	4
5	0	0	0	0	15	CCW	10
* repetições (2-5)							
6	1	1	1	0	15	CCW	2
7	0	0	0	0	15	CCW	1
8	0	0	0	1	15	CCW	4
9	0	0	0	0	15	CCW	10
* repetições(6-10)							
10	0	0	0	0	0	CCW	0

0 = válvula solenóides desligada

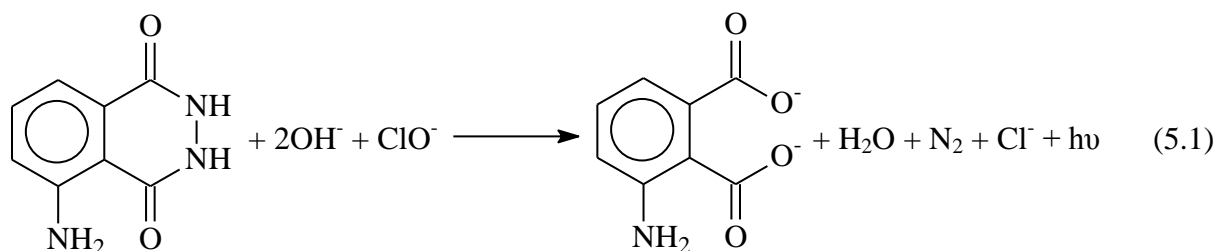
1= válvula solenóides acionada

CCW: direção de rotação da bomba peristáltica, sentido horário

* repetição em triplicata das etapas 2-5 (sinal do Branco) e das etapas 6-9 (inibição do sinal)

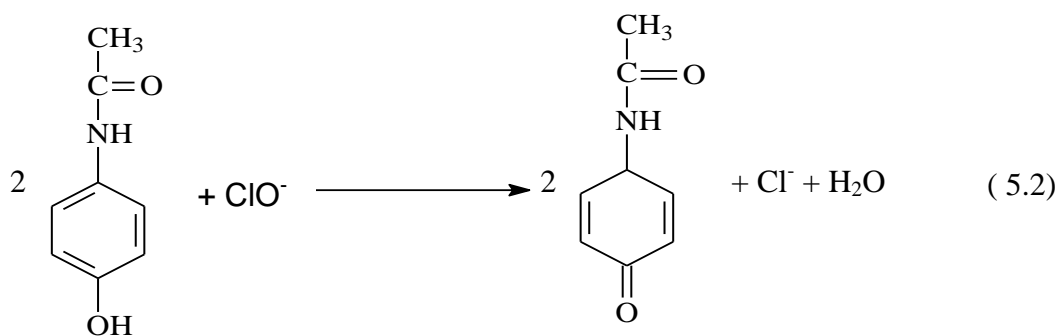
Inicialmente flui pelo sistema apenas o transportador (água desionizada), etapa 1, durante 5 s. Na etapa 2, é acionada a válvula (V_3), ocorre a inserção da solução de ClO^- por 2 s e a solução transportadora(C) continua fluindo pelo sistema. Na etapa 3, em um tempo de acionamento de 1 s, a mistura (ClO^- + água desionizada) é levada até a confluência Y e, ao chegar ao ponto Y, inicia-se a etapa 4, onde são acionadas as válvula (V_4) ocorrendo a inserção do volume de

luminol por 4 s, ocorrendo assim a oxidação desse reagente como mostrado na Equação 5.1, liberando energia em forma de luz, obtendo-se o sinal do branco.



Na etapa 5, as válvulas são desligadas e o transportador flui pelo sistema durante 10 s. As etapas de 2 a 5 são repetidas na seqüência, em triplicata.

Após medidas do sinal do branco inicia-se a adição da solução do padrão e/ou da amostra no lugar do transportador. Na etapa 6, as válvulas das soluções transportadora, de ClO^- e de padrão são acionadas por 2 s, nesse caso a solução transportadora retorna para o frasco, e as soluções de ClO^- e amostra fluem para o sistema, o paracetamol reduz o ClO^- a Cl^- como mostrado na Equação 5.2. Na etapa 7, em um tempo de acionamento de 1 s, a mistura (ClO^- + paracetamol) chega no ponto de confluência Y, sendo então, na etapa 8, acionada a válvula (V_4) ocorrendo a inserção do volume de luminol por 4 s, a concentração de ClO^- que não foi reduzida, oxida o luminol, obtendo-se desta maneira o sinal analítico de magnitude menor que a do branco.



As etapas de 6 a 9 são repetidas na seqüência, em triplicata. No final, na etapa 10, todas as válvulas estão desligadas, a porcentagem (%) zero (0) de rotação indica a parada da bomba peristáltica e, o tempo 0 finaliza a rotina do programa. No início da etapa 1, começa a ser realizada a aquisição de dados do

luminômetro, e os resultados expressos em tempo *versus* magnitude de luminescência (mV) são gravados em arquivos pré-estabelecidos.

5.3 - Resultados e Discussão

5.3.1 – Efeito da concentração da solução de hipoclorito de sódio

Estudou-se o efeito da concentração do hipoclorito de sódio, no intervalo de concentração de 0,5 a 2,5 mmol L⁻¹ sobre o sinal analítico, utilizando o sistema mostrado na Figura 5.2, nas seguintes condições: transportador água desionizada, 53 µL de solução de paracetamol 1,5 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ (V₂ = 2 s), 53 µL de solução de hipoclorito de sódio (V₃ = 2 s) e 53 µL de solução de luminol 1,0 mmol L⁻¹ (V₄ = 2 s), percurso analítico de 25 cm e a uma de vazão de 2,0 mL min⁻¹. Todas as medidas foram feitas em triplicatas.

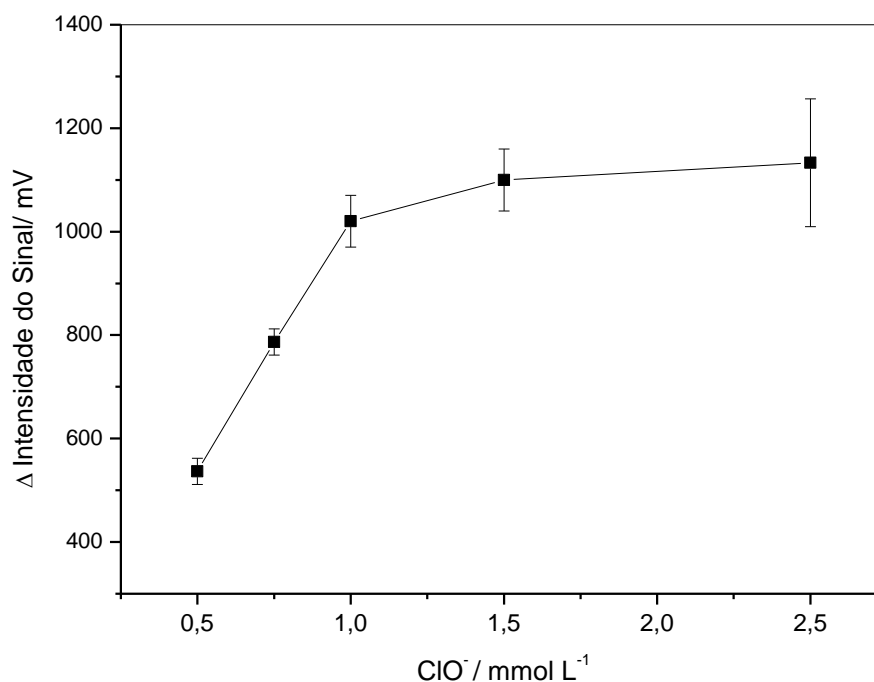


Figura 5.3 – Efeito da concentração da solução de hipoclorito de sódio (66 µL) sobre o sinal analítico, empregando 66 µL de solução de paracetamol 1,5 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ (V₂ = 2 s), 133 µL de solução de luminol 1,0 mmol L⁻¹ (V₃ = 2 s) e 66 µL de solução de peróxido de sódio 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹.

A Figura 5.3 apresenta os resultados obtidos do estudo da variação da concentração da solução de hipoclorito de sódio sobre o sinal analítico. Observou-se

um aumento do sinal analítico nas concentrações entre 0,5 a 1,5 mmol L⁻¹. Acima dessa concentração não houve um aumento significativo da variação do sinal, então a concentração selecionada de hipoclorito de sódio foi de 1,0 mmol L⁻¹.

5.3.2 – Efeito da concentração da solução de luminol

Estudou-se a influência da concentração da solução de luminol sobre o sinal analítico no intervalo de 0,5 a 4,0 mmol L⁻¹ utilizando-se o sistema descrito na Figura 5.2, nas seguintes condições: transportador água desionizada, 66 µL de solução de paracetamol 1,5 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ (V₂ = 2 s), 66 µL de solução hipoclorito de sódio 1,0 mmol L⁻¹ (V₃ = 2 s) e 133 µL de solução de luminol (V₄ = 2s), percurso analítico de 25 cm e a uma de vazão 2,0 mL min⁻¹. Todas as medidas foram feitas em triplicata.

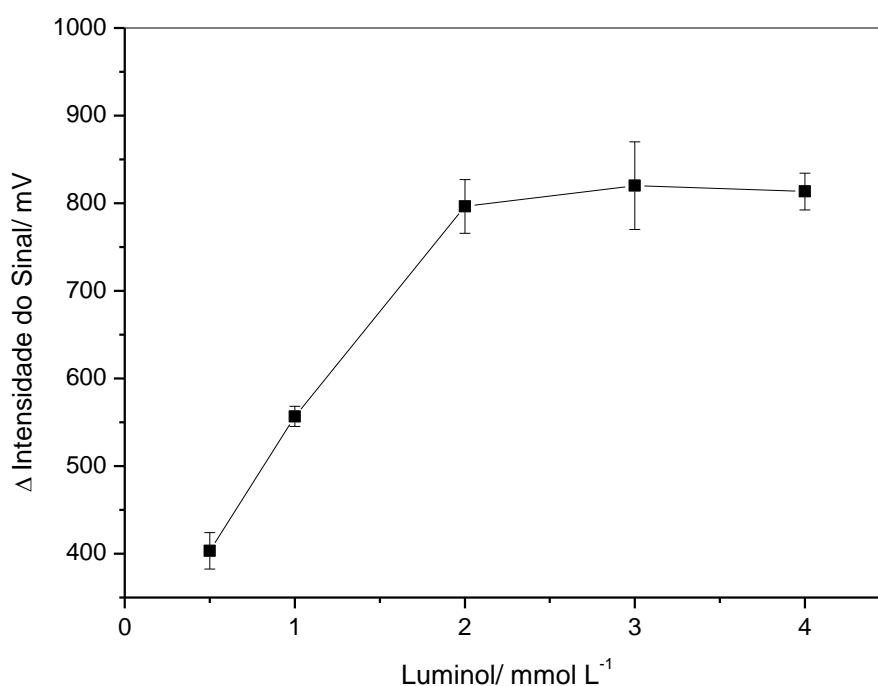


Figura 5.4 – Efeito da concentração de luminol sobre o sinal analítico

Um aumento significativo do sinal analítico foi observado até a concentração de luminol igual a 2,0 mmol L⁻¹. Acima desta concentração a variação do sinal analítico não se alterou significativamente como mostra a Figura 5.6. Desta

forma selecionou-se trabalhar com solução de luminol $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ para os estudos futuros.

5.3.3 – Estudo do tempo de acionamento das válvulas das soluções de hipoclorito de sódio e paracetamol

O estudo da inserção dos volumes no sistema é apresentado na Figura 5.5. Nestes estudos, as soluções de hipoclorito de sódio e de paracetamol foram estudadas simultaneamente, variando-se o tempo de acionamento das válvulas solenóides de 2 a 5 s, para uma vazão do sistema mantida constante em $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Os estudos foram realizados empregando-se como transportador água desionizada, solução de paracetamol $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, hipoclorito de sódio $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $133 \mu\text{L}$ de solução de luminol ($V_4 = 2 \text{ s}$), percurso analítico de 25 cm .

O sinal analítico aumentou com o tempo de acionamento das válvulas V_2 e V_3 até 3 s, mantendo-se constante nos tempos de acionamento superiores. Então selecionou se o tempo de 3s de acionamento das válvulas para os estudos posteriores.

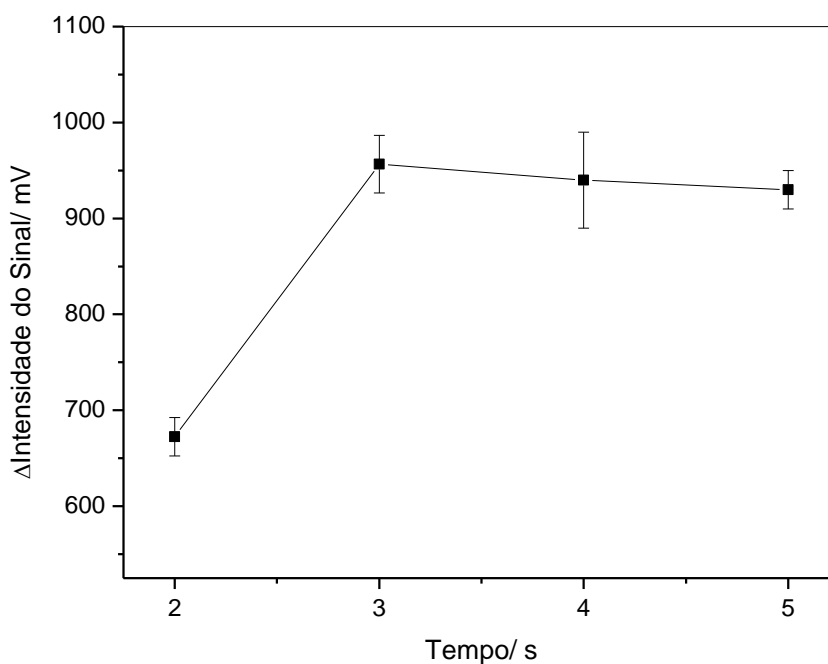


Figura 5.5 – Efeito do tempo de acionamento das válvulas das soluções de hipoclorito de sódio e de paracetamol sobre o sinal analítico

5.3.4 – Estudo do tempo de acionamento da válvula da solução de luminol

O efeito do tempo de acionamento da válvula V_4 (luminol) foi avaliado, variando-se o tempo de acionamento da válvula solenóide entre 2 a 5 s (66 a 166 μL). Os estudos foram realizados empregando-se o sistema de fluxo nas seguintes condições: transportador água deionizada; 66 μL solução de paracetamol $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, 66 μL hipoclorito de sódio $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, solução de luminol $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$, percurso analítico de 25 cm.

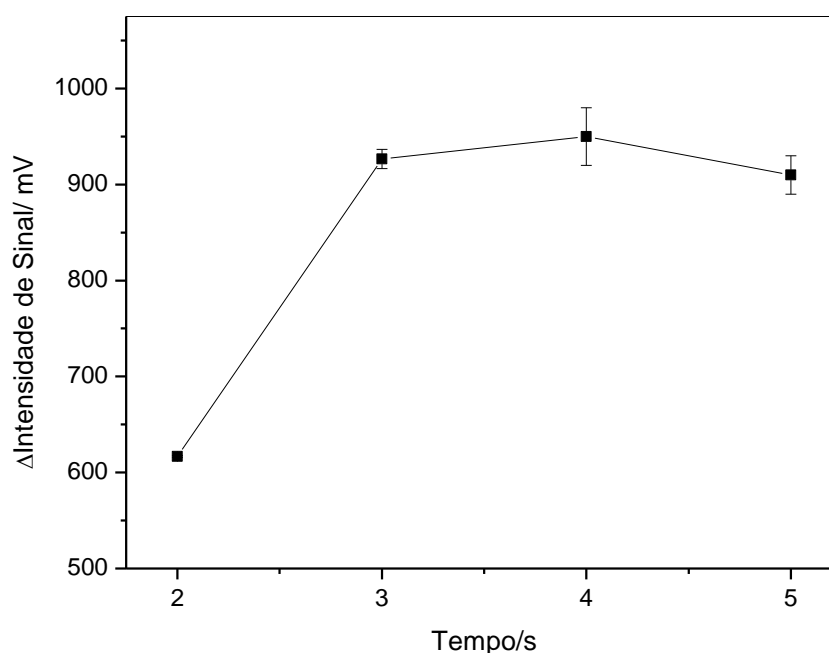


Figura 5.6 – Efeito do tempo de acionamento da válvula solenóides V_4 sobre o sinal analítico.

Observa-se na Figura 5.6, que há um aumento do sinal analítico entre 2 a 3 s, de acionamento da válvula solenóide. Acima de 3s (100 μL) o sinal analítico praticamente manteve-se constante, sendo assim selecionado o tempo de 3 s para o tempo de acionamento da válvula V_4 .

5.3.5 - Avaliação do comprimento percurso analítico

Avaliou-se o efeito do comprimento do percurso analítico (B) de 25 a 100 cm. Nestes estudos, o sistema de análises em fluxo estava configurado nas seguintes condições: transportador água desionizada; 66 μL solução de paracetamol $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, 66 μL hipoclorito de sódio $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, 100 μL solução de luminol $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e a uma vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$

Neste estudo, observou-se que o maior sinal analítico foi obtido em um comprimento de 25 cm, Figura 5.7. Acima desse comprimento houve uma diminuição do sinal analítico indicando um aumento na dispersão da zona de amostra. Escolheu-se trabalhar com o comprimento de 25 cm.

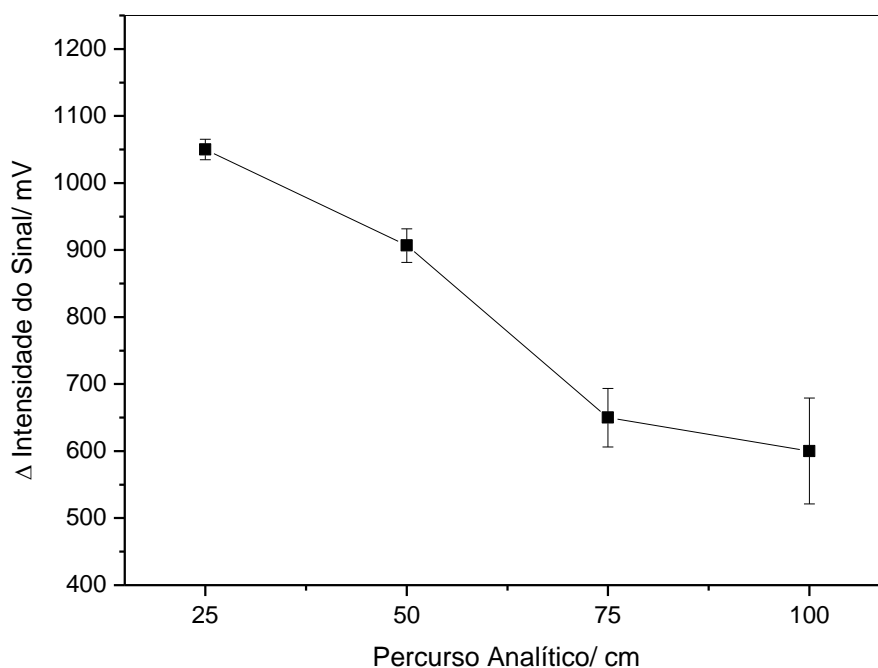


Figura 5.7 – Efeito do comprimento do percurso analítico sobre o sinal analítico.

5.3.6 - Estudo da vazão do sistema

O efeito da vazão das soluções foram estudadas simultaneamente para todas as soluções na faixa de $1,4$ a $3,0 \text{ mL min}^{-1}$. Como mostra a Figura 5.8, foi

verificado um aumento no sinal analítico com o aumento da vazão até $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Acima desta vazão observou-se um aumento na pressão do sistema além de não obter sinais reprodutíveis, então foi selecionada a vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ por apresentar uma boa estabilidade e repetibilidade nos sinais transientes obtidos.

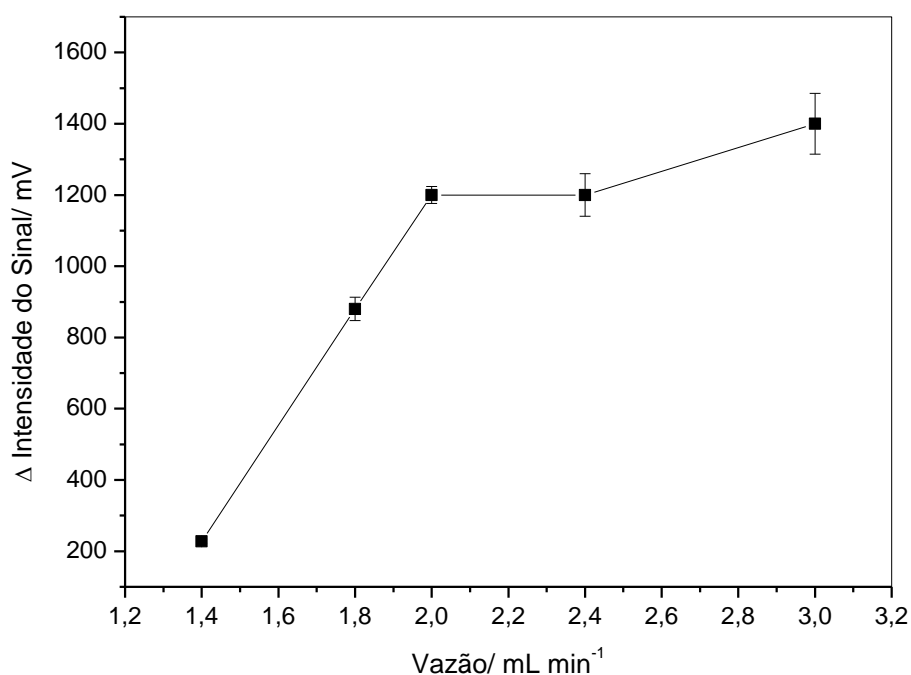


Figura 5.8 - Efeito da vazão das soluções, estudados simultaneamente na faixa de $1,4$ a $3,0 \text{ mL min}^{-1}$.

5.3.7 - Curva analítica

Os sinais transientes e a curva analítica obtidos para as soluções de referência de paracetamol são apresentados nas Figuras 5.9 e 5.10 respectivamente. As condições utilizadas para obtenção da curva analítica, são apresentadas na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Parâmetros estudados na otimização do sistema para a determinação e paracetamol em formulações farmacêuticas.

Parâmetro	Faixa estudada	Valor selecionado
[ClO ⁻]/ x mmol L ⁻¹	0,5 a 2,5	1
[Luminol]/ mmol L ⁻¹	0,5 a 4,0	2
Tempo de Amostragem (ClO ⁻ e Padrão)/ s	1 a 4	2
Tempo de Amostragem (Luminol)/s	2 a 5	3
Percurso Analítico/ cm	25 a 100	25
Vazão/ mL min ⁻¹	1,4 a 3,0	2,0

A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de $5,0 \times 10^{-6}$ a $9,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (0,75 a 7,5 mg L⁻¹) de paracetamol descrita pela equação: Intensidade (mV) = 0,047 + 16389 [Paracetamol] (mol L⁻¹), (r = 0,999) com um limite de detecção de $2,35 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

A Figura 5.9 apresenta os sinais transientes referentes a solução do branco (A) e da soluções de referência de paracetamol nas concentrações de $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (B); $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (C); $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (D); $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (E); $4,0,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹(F) e $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (G).

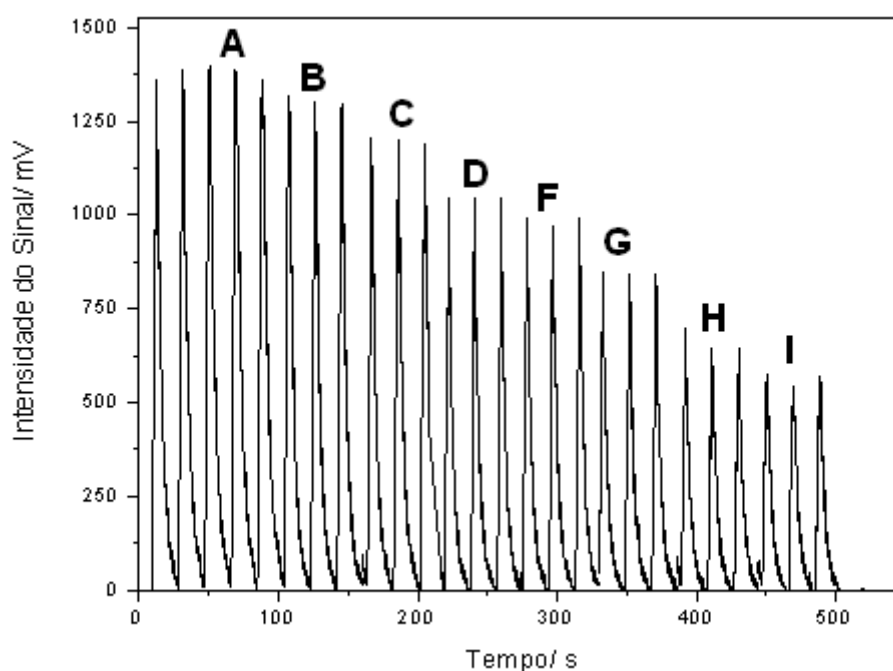


Figura 5.9 – Sinais transientes obtida para as soluções padrões de paracetamol de $5,0 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ (0,75 a 7,5 mg L⁻¹).

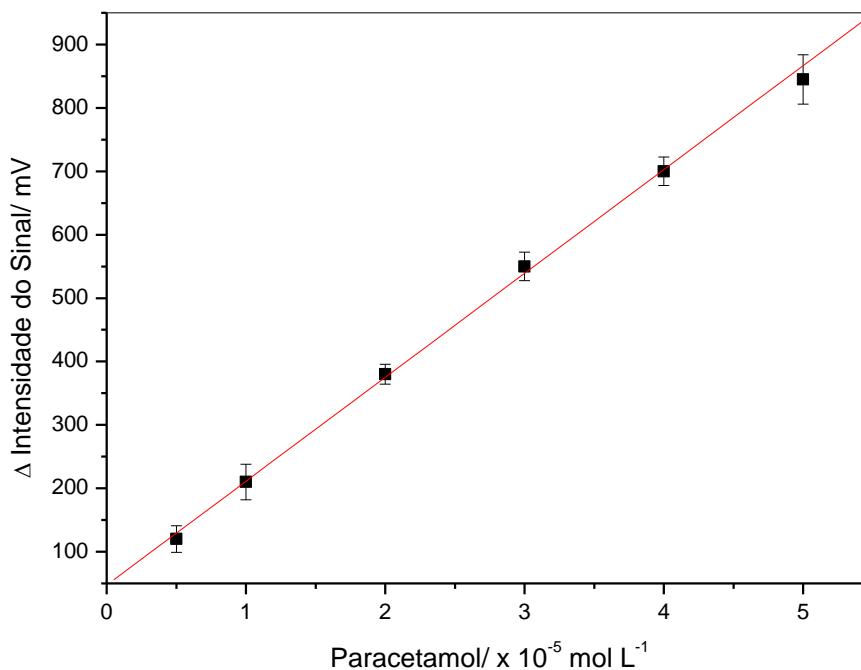


Figura 5.10 – Curva analítica obtida para as soluções padrões de paracetamol de $5,0 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ (0,75 a 7,5 mg L⁻¹).

5.3.8 - Estudo da repetibilidade e frequência analítica

Estudou-se a repetibilidade da resposta do procedimento analítico. A Figura 5.11 apresenta os sinais transientes obtidos. O coeficiente de variação (desvio padrão relativo) foi estimado em 1,8; 2,0 e 1,2 %, respectivamente para 10 medidas (Figura 5.12) correspondentes ao branco e soluções de referência de paracetamol $2,0 \times 10^{-5}$ e $4,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Uma frequência de amostragem de 180 h⁻¹ foi obtida neste sistema em fluxo.

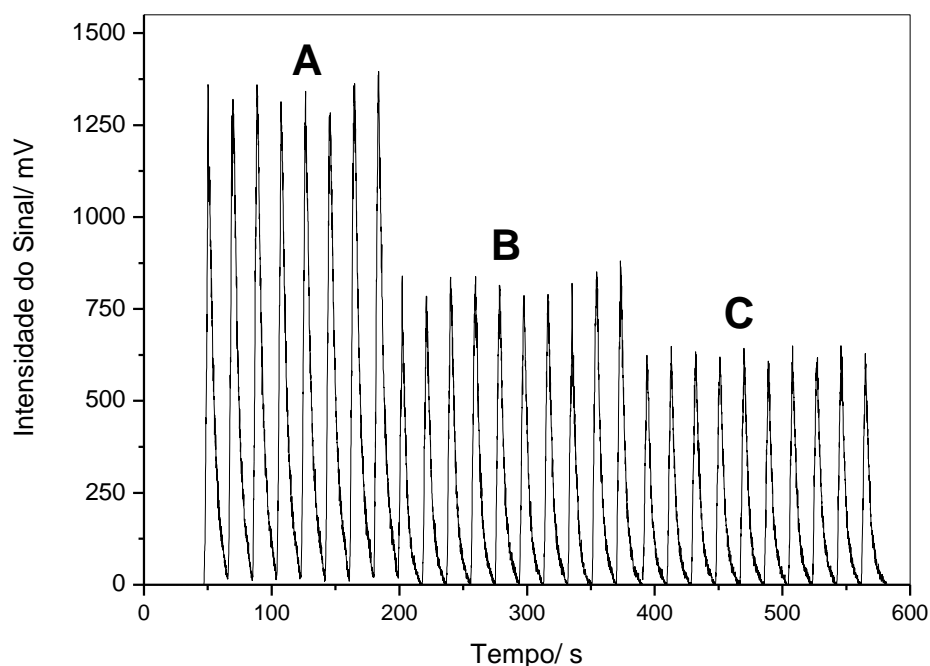


Figura 5.11 – Estudo da repetibilidade para solução de hipoclorito de sódio (A) $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$ e solução de referência de paracetamol na concentração de (B) $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e (C) $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

5.3.9 - Estudo de adição e recuperação de paracetamol em formulações farmacêuticas.

Depois de obtidas às figuras de mérito do procedimento proposto, este foi empregado na determinação de amostras de paracetamol em formulações farmacêuticas. Inicialmente foi realizado um estudo de recuperação de paracetamol nestas amostras. Nestes estudos, duas concentrações diferentes de paracetamol ($1,0 \times 10^{-4}$ e $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) foram adicionadas nas amostras de paracetamol (A, B e C), e os resultados obtidos foram comparados com as concentrações adicionadas. Os resultados das recuperações obtidas são mostrados na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Estudo de adição e recuperação de paracetamol em amostras farmacêuticas.

Amostras	Adicionado (x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹)	Recuperado (x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹)	Recuperação (%)
A	1,00	1,02 ± 0,03	101
	3,00	3,00 ± 0,05	100
B	1,00	1,00 ± 0,02	100
	3,00	3,00 ± 0,05	100
C	1,00	1,03 ± 0,02	103
	3,00	2,94 ± 0,07	98,0

Os resultados obtidos nos estudos de adição e recuperação nas três amostras farmacêuticas de paracetamol apresentam valores de recuperação que variam de 98,4 a 104%, analisando os resultados obtidos verifica-se que o sistema proposto para a determinação de paracetamol apresenta bom desempenho para determinação desse analito. Não houve efeitos significativos de interferentes.

5.3.10 – Determinação de paracetamol em amostras comerciais empregando o sistema em fluxo com detecção quimiluminescente.

As amostras foram analisadas pelo método espectrofotométrico de determinação direta de paracetamol baseado na absorção do paracetamol em 243 nm como descrita na Farmacopéia Americana ³⁵. A Tabela 5.4 apresenta os resultados obtidos empregando-se o método proposto e o comparativo.

Tabela 5.4 - Determinação de paracetamol em produtos farmacêuticos comerciais pelo método quimiluminescente e pelo o método comparativo.

Amostras	Paracetamol/ mg g ⁻¹			E _r (%)
	Valor rotulado	Comparativo*	Proposto	
A	750	750±5	749±3	-0,2
B	750	751±6	750±2	-0,1
C	750	750±5	751±4	+0,1

n = 3

Os resultados obtidos dos teores de paracetamol nos produtos farmacêuticos estão em boa concordância com aqueles obtidos empregando-se o método da Farmacopéia Americana dentro de um intervalo de confiança de 95 %.

5. 5 – Conclusões

O procedimento analítico em fluxo com detecção quimiluminescente proposto para a determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas apresentou-se preciso na quantificação do mesmo. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de $5,0 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (0,75 a 7,5 mg L⁻¹) de paracetamol com um limite de detecção de $2,35 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Foram obtidos desvios padrão relativos de 1,8; 2,0 e 1,2 %, respectivamente para 10 medidas correspondentes ao branco e soluções de referência de paracetamol $2,0 \times 10^{-5}$ e $4,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e uma frequência de amostragem de 180 h⁻¹.

Os resultados obtidos neste procedimento foram concordantes com o método comparativo. Com o emprego das válvulas solenóides para o gerenciamento das soluções no sistema envolvendo multicomutação, verificaram-se um baixo consumo de reagentes, boas sensibilidade e linearidade de resposta e uma alta frequência de amostragem.

CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

6 – Conclusões gerais e perspectivas futuras

A implementação do conceito de multicomutação nos procedimentos analíticos em fluxo para a determinação de compostos farmacêuticos, se destaca pelo baixo consumo de reagentes e conseqüentemente baixa formação de resíduos.

Há uma tendência observada em Química Analítica que consiste no desenvolvimento de “métodos limpos”, o qual os reagentes utilizados são de baixa toxicidade e na redução de resíduos tóxicos. Os métodos propostos de um modo geral seguem essa linha de pensamento, pois os reagentes utilizados são de baixa toxicidade e há uma baixa geração de resíduos em relação aos métodos em batelada. Sistemas quimiluminescentes apresentam boa sensibilidade, alta freqüência de amostragem e também observa-se pouca interferência das matrizes.

Em continuidade aos trabalhos propostos sugere-se a construção de uma célula em fluxo, de acordo com a Figura 2.2, com o reagente luminol imobilizado, para a determinação dos fármacos de interesse. Há ainda outros agentes oxidantes a serem estudados nestes sistemas em fluxo envolvendo multicomutação e quimiluminescência, tais como: cério (IV), periodato de sódio entre outros, para determinação desses ou de outros produtos farmacêuticos.

7 – Referências Bibliográficas

1. FERREIRA, C. E.; ROSSI, A. V. "A quimiluminescência como ferramenta analítica: mecanismos e aplicações da reação luminol em métodos cinéticos de análises", *Quim. Nova*, **25**(6): 1003, 2002.
2. DODEIGNE, C; THUNUS, L.; LEJEUNE, R. "Chemiluminescence as a diagnostic tool. A review". *Talanta*, **51**: 415, 1999.
3. MOTTOLA H. A. *Chemical Analysis- Kinetics Aspects of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, New York, 1988 p. 438.
4. ALBRECHT, H. O. "Chemiluminescence of aminophthalic hydrazide". *Z. Physik Chem.*, **135**: 321, 1928.
5. LEITE, O. D.; FATIBELLO-FILHO, O. "Um experimento de análise em fluxo envolvendo reações enzimáticas e quimiluminescência" *Quim. Nova*, **27**(2): 337-341, 2004.
6. ALBERTIN, R.; ARRIBAS, M.A.G.; BASTOS, E. L.; ROPKES, S.; SAKAI, P. N.; SANCHES, A. M. M.; STEVANI, C. V.; UMEZU, I. S.; YU, J. ; BAADER, W. J. "Quimiluminescência orgânica: alguns experimentos de demonstração para a sala de aula". *Quim Nova*. **21**(6):772, 1998.
7. JIMENEZ, A. M.; NAVAS, M. J.; GALAN, G. "Chemiluminescence Methods in Agrochemical analysis." *Crit. Rev. Anal Chem.*, **27**: 291, 1997.
8. ROBARDS, K.; WORSFOLD, P. J." Analytical applications of liquid-phase chemiluminescence". *Anal. Chim. Acta*, **266**: 147, 1992.
9. GUNDERMAN, K. D.; MCCAPRA, F. *Chemiluminescence in Organic Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin, 1987.
10. FLETCHER, P.; ANDREW, K. N.; CALOKERINOS, A. C.; FORBES, S.; WORSFOLD, P. J. " Analytical applications of flow injection with chemiluminescence detection- a review". *Luminescence*, **16**:1, 2001.
11. ROSE, A. L; WAITE, T. D. " Chemiluminescence of luminol in the presence of iron(II) and oxygen: oxidation mechanism and implications for its analytical use". *Anal. Chem.* **73**(24): 5909, 2001.
12. MER`WNYI, G.; LIND, J.; ERIKSEN, T.E. "Oxidation potential of luminol – Is the autoxidation of singlet organic-molecules an outer-sphere electron transfer". *J. Phys. Chem.* **94**: 748, 1990.
13. FERREIRA, E. C. Aplicações Analíticas do Estudo da Reação Quimiluminescente de Luminol, Campinas, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP, 2001, Dissertação de mestrado, 169p.
14. RUZICKA, J. & HANSEN, E. H." Flow injection analysis. Part 1. A new concept of fast continuous flow analysis". *Anal. Chim. Acta*, **78**: 145, 1975.

15. KRONKA, E. A. M.; REIS, B. F.; VIEIRA, J. A.; BLANCO, T. & GERVASIO, A. P.G. "Multicomutação e amostragem binária em análise química em fluxo. Determinação espectrofotométrica de ortofosfato em águas naturais". *Quim. Nova*, **20**(4): 372, 1997.
16. KINGSTON, H. M. & KINGSTON, M. L. "Nomenclature in laboratory robotics and automation". *J. Autom. Chem.*, **16**: 43, 1994.
17. PASQUINI, C. & OLIVEIRA, W. A. "Monosegmented system for continuous flow analysis. Spectrophotometric determination of chromium (VI), ammonia, and phosphorus". *Anal. Chem.*, **57**: 2575, 1985.
18. RUZICKA, J. & MARSHALL, G. D. "Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays". *Anal. Chim. Acta*, **237**: 329, 1990.
19. REIS, B. F.; GINÉ, M. F.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C. & LAPA, R. A. "Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plants digests". *Anal. Chim. Acta*, **293**:129, 1994.
20. ROCHA, F. R. P. "Determinações seqüenciais em sistemas de injeção em fluxo empregando multicomutação e multidetecção", São Carlos, Universidade Federal de São Carlos-UFSCar, 2000, Tese de doutorado 177p.
21. MARTELLI, P. B.; REIS, B. F.; KRONKA, E. A. M.; BERGAMIN FILHO, H.; KORN, M.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C. & ARAUJO, A. N. "Multicommutation in flow analysis. Part 2. Binary sampling for spectrophotometric determination of nickel, iron and chromium in acid solution of steel alloys". *Anal. Chim. Acta*, **308**: 397, 1995.
22. ICARDO, M.C.; MATEO, J.V.G.; CALATALAYUD, J.M. "Multicommutation as a powerful new analytical tool". *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, **21**(5): 366-378, 2002.
23. ROCHA, F. R. P.; REIS, B. F.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA, R. A.; SANTOS, J. L. M. "Multicommutation in flow analysis: concepts, applications and trends". *Anal. Chim. Acta*, **468**: 119, 2002.
24. ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, "Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit". *Analyst*, **112**(2) 199, 1987.
25. ROCHA, F. R. P.; RÓDENAS-TORRALBA, E.; REIS, B. F.; MORALES-RÚBIO, A.; de la GUARDIA, M.; "A portable and low cost equipment for flow injection chemiluminescence measurements." *Talanta*, 2005.
26. <http://pt.wikipedia.org/wiki/Captopril> acessado 20/12/2007
27. KUSMIEREK, K.; BALD, E. "A simple liquid chromatography method for the determination of captopril in urine" *Chromatografia*, **66**(1-2), 71, 2007,

28. BAHRAMI, G.; MOHAMMADI, B." Determination of clarithromycin in human serum by high-performance liquid chromatography after pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate: Application to a bioequivalence study" *J. Chromatog. B.*, **850**(1-2), 2007.
29. RIBEIRO, P.R.S.; SANTINI, A. O.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L." Potentiometric determination of captopril in pharmaceutical formulations" *Eclética Química*, **28**, 39, 2003.
30. DU, J.; LI, Y.; LU J." Flow injection chemiluminescence determination of captopril base don its enhancing effect on the luminol – ferricyanide/ ferrocyanide reaction", *Luminescence*, **17**, 165, 2002.
31. ECONOMOU, A.; THEMELIS, D. G.; THEODORIS, G.; TZANAVRAS " Sensitive of captopril by flow injection analysis with chemiluminescence detection base don the enhancement of the luminol reaction", *Anal. Chim. Acta*, **463**, 249-255, 2002
32. ZHANG X. R.; BAEYENS W. R. G.; VANDERWEKEN G.; CALOKERINOS A.C; NAKASHIMA K."Chemiluminescence determination of captopril based on a rhodamine-b sensitized cerium(iv) method" *Anal. Chim. Acta*, **546**, 60, 2005.
33. THEMELIS, D. G.; TZANAVARAS P. D.; ECONOMOU, A.; THEODORIDIS G." Flow and sequencial inejction manifolds for the spectrophotometric determination of captopril based on its oxidation by Fé(III)" *Microchimica Acta*, **142**, 55, 2003.
34. SUAREZ, W.T.; MADI, A. A.; DE FIGUEIREDO, L. C S.; FATIBELLO, O. "Flow-injection spectrophotometric system for captopril determination in pharmaceuticals". *JOURNAL OF THE BRAZILIAN CHEMICAL SOCIETY*, **18**, 1215, 2007.
35. USP, United states pharmacopeial XXII. 1990, Rockville, MD: U.S Pharmacopeial Convention
36. <http://pt.wikipedia.org/wiki/Metamizol> acessado 10/11/2008
37. Farmacopéia Brasileira, 3ª ed., Atheneu Ed.; São Paulo, 1977.
38. PEREIRA, A. V.; PENCKOWSKI, L.; VOSGERAU M.; SASSÁ, M., F."Determinação espectrofotométrica de dipirona em produtos farmacêuticos por injeção em fluxo pela geração de íons triiodeto" *Quim. Nova*, **25**(4), 553-557, 2002.
39. MEDEIROS, E. P.; CASTRO S. L.; FORMIGA, F. M.; SANTOS, S. R.B.; ARAÚJO, M. C. U.; NASCIMENTO, V. B. "A flow injection method for biamperometric determination of dipyrone in pharmaceuticals", *Microchemical Journal*, **78**, 91, 2004.
40. MARCOLINO-JR, L. H.; SOUSA, R. A.; FATIBELLO, O. F; MORAES, F. C."Flow-Injection Spectrophotometric Determination of Dipyrone in Pharmaceutical

- Formulations Using Ammonium Molybdate as Chromogenic Reagent" *Anal. Letters*, **38**, 2315, 2005.
41. MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; BONIFÁCIO, V. G.; FATIBELLO-FILHO, O. "Determinação turbidimétrica de dipirona em fluxo utilizando um reator contendo cloreto de prata imobilizado em resina poliéster" *Quim. Nova*, **28**(5), 783, 2005
 42. <http://pt.wikipedia.org/wiki/Paracetamol>
 43. BUDIMIR, N.; WESTON, D. J.; CREASER, C. S; "Analysis of pharmaceutical formulations using atmospheric pressure ion mobility spectrometry combined with liquid chromatography and nano-electrospray ionisation". *Analyst*, **132**, 34, 2007.
 44. NEBOT, C.; GIBB, S. W.; BOYD, K. G. "Quantification of human pharmaceuticals in water samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **598**, 87, 2007.
 45. LI, M. Q.; JING, L.H. "Electrochemical behavior of acetaminophen and its detection on the PANI-MWCNTs composite modified electrode". *Eletrochim. Acta*, **52**(9), 3250, 2007.
 46. AFKHAMI, A.; SARLAK, N.; ZAREI, A. R. "Spectrophotometric determination of salicylamide and paracetamol in biological samples and pharmaceutical formulations by a differential kinetic method". *Acta Chim. Slovenica*, **53**(3), 357, 2006.
 47. JAIN, A.; VYAS, V.; SUBEDAR, N.; GUPTA, A. "Simultaneous estimation of aceclofenac and paracetamol in tablet dosage form by UV spectroscopy". *Asian J. Chemistry*, **19**(6), 4920, 2007.
 48. VERMA, K.K.; JAIN, A.; STEWART, K.K., "Flow-Injection Spectrophotometric Determination of Acetaminophen in Drug Formulations". *Anal. Chim. Acta*, **261** (1-2), 1992.
 49. SUAREZ, W. T.; VIEIRA, H. J.; FATIBELLO-FILHO, O. "Determinação de paracetamol em produtos farmacêuticos empregando um sistema de análise por injeção em fluxo com geração de ácido nítrico". *Eclet. Quím.*, **30**, 21, 2005
 50. ANICETO, C.; FATIBELLO-FILHO, O. "Determinação espectrofotométrica por injeção em fluxo de paracetamol (acetaminofeno) em formulações farmacêuticas" *Quim. Nova*, **25**(3), 387, 2002.
 51. ALPONT, A. G.; ZAMORA, L. L.; CALATAYUD, J. M. "Indirect determination of paracetamol in pharmaceutical formulations by inhibition of the system luminol-H₂O₂-Fe(CN)₆³⁻ - chemiluminescence" *J. of Pharm. and Biomedical Analysis*, **21**, 311, 1999.

52. EASWARAMOORTHY, D.; YU, Y. C.; HUANG, H. J. "Chemiluminescence detection of paracetamol by a luminol-permanganate based reaction" *Anal. Chim. Acta*, **439**, 95, 2001.