



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DIELE APARECIDA GOUVEIA ARAÚJO

**Desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono a base de polidimetilsiloxano
aplicados para a quantificação de propranolol em formulações farmacêuticas**

UBERLÂNDIA
2018

DIELE APARECIDA GOUVEIA ARAÚJO

**Desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono a base de polidimetilsiloxano
aplicados para a quantificação de propranolol em formulações farmacêuticas**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de
Pós-graduação do Instituto de Química da Universidade
Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do
título de Mestre em Química.
Orientadora: Prof^a. Dra. Regina Massako Takeuchi

UBERLÂNDIA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

A659d
2018

Araújo, Diele Aparecida Gouveia, 1993-

Desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono a base de polidimetsiloxano aplicados para a quantificação de propranolol em formulações farmacêuticas / Diele Aparecida Gouveia Araújo. - 2018.

84 f. : il.

Orientadora: Regina Massako Takeuchi.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Química.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.152>

Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Voltametria - Teses. 3. Propranolol - Teses. 4.
Eletroquímica - Teses. I. Takeuchi, Regina Massako. II. Universidade
Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III.
Título.

CDU: 54

Rejâne Maria da Silva – CRB6/1925



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em
Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 273/PPQUI.

DATA: 16/02/2018

DISCENTE: Diele Aparecida Gouveia Araujo

MATRÍCULA: 11612QMI001

TÍTULO DO TRABALHO: Desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono a base de polidimetilsiloxano aplicados para a quantificação de propranolol em formulações farmacêuticas.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Eletroquímica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de sensores eletroquímicos para a análise de amostras de interesse ambiental da microrregião de Ituiutaba (Noroeste do Triângulo Mineiro) - MCTI/CNPq/Universal 14/2014 - processo 447668/2014-5

Às quatorze horas do dia dezesseis de fevereiro do ano dois mil e dezoito, no(a) Auditório 2 do Campus do Pontal, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelo Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter, Universidade Federal de Uberlândia, Prof. Dr. Sidney Xavier dos Santos, Universidade Federal de Viçosa e Prof^a Dra. Regina Massako Takeuchi, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas no Regulamento do Programa PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho

será

mantido _____

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 16 horas e 20 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter

Prof. Dr. Sidney Xavier dos Santos

Profª Dra. Regina Massako Takeuchi

DEDICATÓRIA

Dedico com carinho este trabalho....

À minha família, que não mediu esforços para que este sonho pudesse ser realizado!

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Deus Trino, por sempre me dar forças e me Guiar nesta caminhada. Obrigada Senhor por ser minha fonte de sabedoria e conhecimento.

Aos meus orientadores, Prof^a. Dra. Regina Massako Takeuchi e Prof. Dr. André Luiz dos Santos, pelas oportunidades oferecidas e principalmente por sempre acreditarem na minha capacidade. Obrigada pela orientação que recebi durante estes 4 anos de trabalhos desenvolvidos. Como gosto de dizer, vocês foram essenciais para o meu crescimento pessoal e profissional.

Aos bens mais preciosos que tenho, meus pais, Rosângela e Francisco, o meu amor, minha admiração e muito obrigada por tudo que sou e tenho.

Ao meu irmão Diego, pelo incentivo e apoio sempre.

Ao meu esposo Guilherme, por ter me amado sem medidas, pelo companheirismo e compreensão nos meus momentos de ausência durante o período do mestrado.

Agradeço aos meus amigos do GPMEI pela ajuda e amizade: Letícia, Natália, Ana Clara, Lauro e Leandro. Agradeço, de forma especial ao Lauro, irmão que a “Química” me deu, o qual contribuiu muito para o desenvolvimento deste trabalho. Ao mestre Leandro, que muito me ajudou e me acalentou nos meus momentos de desespero. Agradeço também a Aninha, pelas orações e intercessões, Deus te abençoe!

Aos meus amigos de caminhada na Fé (Equipe de Casais Nossa Senhora de Fátima e Equipe de Liturgia São Tarcísio), vocês me ajudaram a crescer espiritualmente, o que foi extremamente importante nestes últimos dias.

À FACIP/UFU pela infraestrutura concedida para a execução deste trabalho.

À CAPES pela bolsa de mestrado concedida.

Ao Prof. Dr. Anizio Márcio Faria, que cedeu gentilmente alguns materiais utilizados neste trabalho. Obrigada também pela sua dedicação em me ajudar sempre, você é meu exemplo de humildade.

À Prof^a. Dra. Renata Galvão de Lima pela amizade. Obrigada pelos momentos de discussões científicas, políticas e emocionais. Você fez com que nossas manhãs no A2 ficassem mais felizes e animadas.

Aos membros da Banca Examinadora, Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter e Prof. Dr. Sidney Xavier dos Santos, por aceitarem avaliar e contribuir com este trabalho.

EPÍGRAFE

*"Tomai, portanto, a Armadura de Deus, para que possais resistir nos dias maus e manter-vos
inabaláveis no cumprimento do vosso Dever".*

Efésios, 6, 13.

RESUMO

Este trabalho descreve o desenvolvimento de um método eletroanalítico para determinação de propranolol em formulações farmacêuticas. Inicialmente, eletrodos de pasta de carbono modificados com sílica funcionalizada com poli(dimetilsiloxano-co-alquilmetilsiloxano) – CPE/Si(PDAS) foram utilizados para detecção do fármaco por voltametria de redissolução anódica aplicando-se a técnica de pulso diferencial. Para fins de comparações analíticas, um eletrodo de pasta de carbono modificado com sílica não funcionalizada foi preparado - CPE/Si-Gel. Os eletrodos de pasta de carbono modificados com Si(PDAS) e Si-Gel não permitiram o desenvolvimento de um método eletroanalítico para determinação de propranolol, uma vez que não foi possível obter intervalos lineares reprodutíveis. Alternativamente, um eletrodo de pasta de carbono preparado com 80 % de pó de carbono e 20% de polidimetilsiloxano (PDMS) - CPE/PDMS, foi utilizado na determinação de propranolol e para comparação outro eletrodo foi preparado nas mesmas condições utilizando Nujol® como aglutinante- CPE/NUJOL. As curvas analíticas construídas para propranolol empregando ambos os eletrodos foram lineares no intervalo de 10 a 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com $R^2 = 0,997$ para o CPE/PDMS e $R^2 = 0,981$ CPE/ NUJOL. Os limites de detecção e quantificação obtidos para o CPE/PDMS foram de 3 e 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e, para o CPE/ NUJOL foram de 8 e 27 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Através das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura, verificou-se que a pasta preparada com PDMS apresentou morfologia menos rugosa, o que poderia explicar as menores correntes residuais e, consequentemente, a melhor detectabilidade deste eletrodo em relação à pasta preparada com Nujol®. O método proposto empregando o CPE/PDMS foi aplicado na determinação de propranolol em 4 diferentes amostras de medicamentos, as quais também foram analisadas por espectrofotometria na região UV-vis. As quantidades de PROP encontradas nas amostras de formulações farmacêuticas empregando ambos os métodos foram concordantes com o teor informado pelo fabricante. Além disso, não foram encontradas evidências de diferenças estatísticas entre o teor de PROP obtido pelo método voltamétrico proposto e o método espectrofotométrico UV-vis, uma vez que os valores de F e t calculados foram menores que os valores críticos. Dessa forma, o CPE/PDMS mostrou-se eficiente na determinação de propranolol em amostras de formulações farmacêuticas.

Palavras chave: pasta de carbono, voltametria, propranolol, polidimetilsiloxano.

ABSTRACT

An electroanalytical method for the determination of propranolol in pharmaceutical formulations is described. Initially, poly (dimethylsiloxane-co-alkylmethysiloxane functionalized silica-modified carbon paste electrodes - CPE/Si (PDAS) were used for drug detection by anodic stripping voltammetry using the differential pulse technique. For analytical comparisons, a non-functionalized silica modified carbon paste electrode was prepared - CPE / Si-Gel. Si(PDAS) and Si-Gel modified carbon paste electrodes did not allow the development of an electroanalytical method for determination of propranolol, since it was not possible to obtain reproducible linear range. Alternatively, a carbon paste electrode prepared with 80% carbon powder and 20% polydimethylsiloxane (PDMS) - CPE/PDMS was used in the determination of propranolol and for comparison another electrode was prepared under the same conditions using Nujol® as binder - CPE/NUJOL. The analytical curves constructed for propranolol using both electrodes were linear in the range of 10 to 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$, with $R^2 = 0.997$ for CPE/PDMS and $R^2 = 0.981$ for CPE/NUJOL. The limits of detection and quantification obtained for the CPE/PDMS were 3 and 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and for the CPE/NUJOL were 8 and 27 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. From the images obtained by scanning electron microscopy was verified that the paste prepared with PDMS showed a less rough morphology, which could explain the lower residual currents and, consequently, the better detectability of this electrode when compared to the paste prepared with Nujol®. The proposed method using the CPE/PDMS was applied in the determination of propranolol in 4 different drug samples, which were also analyzed by spectrophotometry in the UV-vis region. The amounts of PROP found in the samples of pharmaceutical formulations employing both methods were in agreement with the content reported by the manufacturer. Moreover, no evidence of statistical differences was found between the PROP content obtained by the proposed voltammetric method and the UV-vis spectrophotometric method, since the calculated F and t values were lower than the critical values. Thus, CPE/PDMS proved to be efficient to determine propranolol in samples of pharmaceutical formulations.

Keywords: carbon paste, voltammetry, propranolol, polydimethylsiloxane.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura química do propranolol.....	24
Figura 2. Esquema do eletrodo de pasta de carbono.	28
Figura 3. Esquema da célula eletroquímica utilizada.	30
Figura 4. Esquema do procedimento analítico proposto para os eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados com sílica (funcionalizada ou não funcionalizada).	31
Figura 5. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L ⁻¹ pH 2, após 5 min de pré-concentração em 44 µmol L ⁻¹ de PROP: (—) CPE; (—) CPE/30%SiPDAS. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s ⁻¹	34
Figura 6. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L ⁻¹ pH 2, após 5 min de pré-concentração em 44 µmol L ⁻¹ de PROP: (—) 1 ^a (—) 2 ^a ; (—) 3 ^a e (—) 4 ^a varredura. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s ⁻¹	35
Figura 7. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L ⁻¹ pH 2, após 5 min de pré-concentração em 44 µmol L ⁻¹ de PROP, medidas sucessivas com renovação da superfície eletródica a cada medida, (—) branco (—) 1°, (—) 2°, (—) 3°, (—) 4°, (—) 5°, (—) 6°. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s ⁻¹	36
Figura 8. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com CPE/Si(PDAS)30% na presença de 0,08 mmol L ⁻¹ de PROP em tampão B.R. 0,04 mol L ⁻¹ em diferentes pH: (—) 1 branco (—) 1, (—) 2, (—) 6, (—) 9, (—) 10. B) Variação de E_p e I_p em função do pH. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s ⁻¹	37
Figura 9. Reação de oxidação do PROP.	38
Figura 10. Voltamogramas de pulso diferencial registrados com CPE/Si(PDAS)30% em tampão B.R. 0,04 mol L ⁻¹ pH 2, empregando diferentes aglutinantes no preparo do eletrodo: (---) branco CPE/parafina, (---) branco CPE/Nujol®; (—) CPE/parafina; (—) CPE/Nujol® após 5 min de pré-	

concentração em 44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ 39

Figura 11. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} pH 2, após 5 min de pré-concentração em 44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP, empregando diferentes porcentagens de Si(PDAS): (—) 0, (—) 10, (—) 20, (—) 30% (m/m). B) Gráfico de I_p em função porcentagem de modificador. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ 40

Figura 12. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com CPE/Si(PDAS)30% em tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} pH 2, na presença de 44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP, após diferentes tempos de pré-concentração: (—) 1, (—) 3, (—) 5, (—) 8, (—) 15 min. B) Gráfico de I_p em função do tempo de pré-concentração. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ 41

Figura 13. Voltamogramas registrados com CPE/Si(PDAS)30% em tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP, em diferentes técnicas voltamétricas: (—) SWV; (—) DPV. Condições voltamétricas: SWV: $\Delta E = 50$ mV, $f = 25$ Hz, $\Delta E_s = 2$ mV. DPV: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ 42

Figura 14. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com CPE/Si(PDAS)30% em tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP, em diferentes ΔE_p : (—) 25, (—) 50, (—) 75, (—) 100 mV. B) Gráfico de I_p em função de ΔE_p . Condições voltamétricas: $t_p = 25$ ms, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ 43

Figura 15. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com CPE/Si(PDAS)30% em tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP em diferentes ΔE_s : (—) 2, (—) 4, (—) 6 mV. B) Gráfico de I_p vs. v . Condições voltamétricas: $t_p = 25$ ms, $\Delta E_p = 50$ mV 44

Figura 16. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com CPE/Si(PDAS)30% em tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP, em diferentes t_p : (—) 5, (—) 10, (—) 25, (—) 50, (—) 75 ms. B) Gráfico de I_p vs. t_p . Condições voltamétricas: $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $\Delta E_p = 50$ mV 45

Figura 17. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 µmol L⁻¹ de PROP empregando diferentes tipos de eletrodos (—) CPE/Si(PDAS)30%, (—) CPE/Si-Gel30%. B) Correção da linha de base: (—) CPE/Si(PDAS)30%, (—) CPE/Si-Gel30% Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.....46

Figura 18. Gráfico de I_p em função do pH da solução de pré-concentração empregando diferentes tipos de eletrodos (—) CPE/Si(PDAS)30%, (—) CPE/Si-Gel30%. Resultados obtidos em tampão B.R. pH 2, após 3 min de pré-concentração na presença de 44 µmol L⁻¹ de PROP. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.....48

Figura 19. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 µmol L⁻¹ de PROP pH 5, empregando CPE/Si(PDAS)30%. (—) 1^a medida, (---) após a etapa de limpeza; (—) 2^a medida, (---) após etapa de limpeza; (—) 3^a medida. B) Gráfico de barras da I_p em função dos diferentes tipos de limpezas da superfície. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹....49

Figura 20. Curva analítica obtida para PROP após 3 min de pré-concentração, utilizando CPE/Si(PDAS)30%, empregando diferentes procedimentos de limpeza: (■) Aplicação de $E = +1,5$ V durante 30 s; (■) polimento em papel sulfite. Inserido: ampliação da região entre 0 e 12 µmol L⁻¹. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.....50

Figura 21. Curva analítica obtida para PROP após 3 min de pré-concentração, utilizando CPE/Si-Gel30%, empregando diferentes procedimentos de limpeza: (■) Aplicação de $E = +1,5$ V durante 30 s; (■) polimento em papel sulfite A4. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.....52

Figura 22. Curva analítica obtida para PROP após 3 min de pré-concentração, utilizando CPE/Si-Gel30%, com aplicação de $E = +1,5$ V durante 30 s, em diferentes dias: (—) 1º; (—) 2º e (—) 3º dia. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.....53

Figura 23. Estrutura química do polímero polidimetilsiloxano. R refere-se aos grupos CH₃ e n refere-se ao número de unidades monoméricas.....54

Figura 24. Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes eletrólitos de suporte, A) KCl 1 mol L⁻¹, B) HCl 0,1 mol L⁻¹ + KCl 1mol L⁻¹ e C) NaOH 0,1 mol L⁻¹ + KCl 1mol L⁻¹: (—) CPE/Nujol® e (—) CPE/PDMS. Velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.....55

Figura 25. Voltamogramas cíclicos (ciclo 2) registrados em diferentes eletrólitos de suporte, A) KCl 1 mol L⁻¹ + 50% metanol, B) KCl 1 mol L⁻¹ + 50% etanol: (—) CPE/Nujol® e (—) CPE/PDMS. Velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.....56

Figura 26. Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1 mol L⁻¹ empregando CPE/PDMS: (—) ausência e (—) na presença de 1 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]⁴⁻. Velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹57

Figura 27. Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1 mol L⁻¹ na presença 1 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]⁴⁻ empregando diferentes eletrodos:(—) CPE/Nujol®; (—) CPE/PDMS. Velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹58

Figura 28. A) Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1 mol L⁻¹ na presença de 1 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]⁴⁻ empregando CPE/PDMS em diferentes velocidades de varredura: (—) 25, (—) 50, (—) 75, (—) 100, (—) 150, (—) 200 mV s⁻¹. B) Gráfico de I_p em função v^{1/2}.59

Figura 29. A) Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1 mol L⁻¹ empregando CPE/PDMS na presença de diferentes concentrações de [Fe(CN)₆]⁴⁻: (—) branco, (—) 0,2, (—) 0,4, (—) 0,6, (—) 0,8, (—) 1,0 mmol L⁻¹. B) Gráfico de I_p em função concentração de [Fe(CN)₆]⁴⁻. v = 100 mV s⁻¹60

Figura 30. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, empregando CPE/PDMS: (—) ausência de PROP; (—) 50 µmol L⁻¹ de PROP. Condições voltamétricas: ΔE_p = 50 mV, t_p= 25 ms, v = 10 mV s⁻¹61

Figura 31. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, empregando dois eletrodos A) CPE/Nujol®, B) CPE/PDMS, na presença de diferentes concentrações de PROP: (—) 10, (—) 20, (—) 30, (—) 50, (—) 60 µmol L⁻¹. C) Curva analítica obtida para PROP empregando eletrodos de pasta de carbono preparados com diferentes

aglutinantes: (—) Nujol®; (—) PDMS. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹ 63

Figura 32. Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com ampliação de 10 mil vezes para a pasta de carbono preparada com: A) PDMS e B) Nujol® 64

Figura 33. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, empregando CPE/PDMS em diferentes soluções: (—) resíduo, (—) extrato, (—) adição de 100 μ mol L⁻¹ de PROP no extrato. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹ 67

Figura 34. Gráfico da I_p em função dos diferentes cartuchos empregados na SPE. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹ 68

Figura 35. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, empregando CPE/PDMS após o procedimento a etapa de eluição do analito: (—) 1º eluição com metanol, (—) 2º eluição com metanol. Volume do eluente: 10 mL. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹ 69

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Considerações Gerais – Técnicas eletroanalíticas na determinação de fármacos.....	16
1.2	Eletrodos de pasta de carbono - CPE.....	17
1.3	Eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados - CMCPE	19
1.4	Técnicas voltamétricas e voltametria de redissolução adsortiva	22
1.5	Propranolol	23
2	OBJETIVOS.....	26
3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	27
3.1	Reagentes e soluções	27
3.2	Preparo dos CPEs	28
3.3	Instrumentação.....	29
3.4	Procedimentos analíticos	30
3.4.1	Eletrodos de pasta de carbono modificados com sílica	30
3.4.2	Eletrodos de pasta de carbono preparados com polidimetilsiloxano.	31
3.4.3	Caracterização do CPE/PDMS	32
3.5	Preparo das amostras	32
3.5.1	Análise das amostras por voltametria de pulso diferencial.....	32
3.5.2	Análise das amostras por espectrofometria de absorção molecular UV/vis	33
3.6	Preparo dos cartuchos utilizados na extração em fase sólida	33
3.7	Procedimento proposto para SPE	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1	Avaliação da capacidade de pré-concentração de PROP no CPE/30%SiPDAS	34
4.2	Otimização do pH do eletrólito de suporte	36
4.3	Otimização do Preparo do Eletrodo CPE/Si(PDAS)	38
4.3.1	Estudo do aglutinante	38
4.3.2	Otimização da porcentagem do modificador	39
4.4	Estudo do tempo de pré-concentração	41
4.5	Otimização da técnica voltamétrica	42

4.6 CPE preparado com sílica gel não funcionalizada.....	46
4.7 Estudo do pH da solução de pré-concentração	47
4.8 Otimização da regeneração da superfície eletródica	48
4.9 Construção da Curva Analítica empregando diferentes procedimentos de limpeza	50
4.9.1 Curva Analítica CPE/Si(PDAS)30%	50
4.9.2 Curva analítica CPE/Si-Gel30%	51
4.10 CPE utilizando PDMS como aglutinante	54
4.10.1 Caracterização eletroquímica.....	54
4.10.2 CPE/PDMS aplicados para a determinação de PROP	61
4.10.3 Curvas analíticas empregando CPE/PDMS e CPE/NUJOL	62
4.10.4 Determinação de PROP em formulações farmacêuticas	65
4.11. Estudos de extração em Fase Sólida	66
5 CONCLUSÃO	70
6 REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais – Técnicas eletroanalíticas na determinação de fármacos

A aplicação das técnicas eletroanalíticas na determinação de fármacos tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, uma vez que a maioria dos compostos farmacologicamente ativos apresentam centros eletroativos, os quais podem ser oxidados e/ou reduzidos na superfície de eletrodos, permitindo assim a aplicação destas técnicas [1]. Um rápido levantamento realizado na literatura com as palavras-chave “fármaco e eletroanalítica”, mostra que no ano de 2016 houve um aumento de aproximadamente 75% no número de publicações que utilizam as técnicas eletroanalíticas na análise de fármacos em relação ao ano de 2000¹.

As técnicas eletroanalíticas têm despertado o interesse de inúmeros pesquisadores devido à alta sensibilidade, baixo limite de detecção e custo instrumental moderado em relação às outras técnicas analíticas, como por exemplo as técnicas cromatográficas utilizadas para determinação de fármacos [2-4]. Além disso, são técnicas rápidas, que utilizam instrumentação simples e que são compatíveis com soluções coloridas e suspensões, o que minimiza os requisitos destas técnicas quanto aos procedimentos de preparo de amostras [1,2].

Dentre as técnicas eletroanalíticas, as voltamétricas são amplamente utilizadas na determinação de diferentes compostos farmacológicos. Além dos aspectos analíticos fornecidos, a voltametria ainda permite o conhecimento das propriedades eletroquímicas de um fármaco, sendo estas relevantes na compreensão de sua atividade farmacológica [5].

Existem na literatura [6-9] várias publicações que comprovam que as técnicas voltamétricas são métodos alternativos promissores para a determinação de compostos farmacêuticos. Nestes trabalhos, os métodos voltamétricos propostos foram validados e os resultados obtidos utilizando a voltametria como técnica analítica foram concordantes aos resultados obtidos pelos métodos descritos nas farmacopeias, os quais baseiam-se, em maior parte, em técnicas cromatográficas e/ou espectroscópicas.

Vários eletrodos constituídos de diferentes materiais têm sido empregados como eletrodos de trabalho para a determinação de fármacos, entre eles: eletrodos de mercúrio [10] e os eletrodos sólidos, tais como: carbono vítreo [11,12], platina [13], diamante dopado com boro [6], ouro [14], entre outros. Os eletrodos de mercúrio, como o eletrodo gotejante de mercúrio,

¹ Nota: Dados retirados da base Web of Science, 2017.

têm grande importância histórica, pois estiveram diretamente envolvidos no desenvolvimento da polarografia por Heyrovský, sendo esta precursora das técnicas voltamétricas atuais [15]. Entretanto, o uso deste eletrodo tem diminuído nos últimos anos, principalmente devido às questões ambientais. Por estas razões, os eletrodos sólidos vêm sendo amplamente utilizados.

1.2 Eletrodos de pasta de carbono - CPE

Dentre os diferentes tipos de eletrodos sólidos empregados em eletroanálise, os eletrodos de pasta de carbono (CPE, do inglês *Carbon Paste Electrode*) ocupam um lugar de destaque, pois apresentam características interessantes, como baixo custo, preparo relativamente rápido e fácil, superfícies totalmente renováveis, reduzindo a possibilidade de ocorrer o efeito memória, e ainda podem ser utilizados no estudo de diversas espécies orgânicas e inorgânicas presentes na água, solo, esgoto, minério e minerais, rejeitos industriais, controle de qualidade da indústria farmacêutica, entre outras utilizações [16].

O primeiro CPE foi desenvolvido por Ralph Norman Adams no ano de 1958 na Universidade de Kansas em Lawrence. Estes eletrodos foram preparados como alternativa aos eletrodos gotejantes de mercúrio, com uma vantagem de atingir potenciais mais positivos e possibilitar o estudo de reações de oxidação de compostos orgânicos, o que era limitado com o uso do mercúrio [17]. Inicialmente, Adams tentou produzir um eletrodo de carbono com características semelhantes aos eletrodos gotejantes de mercúrio desenvolvidos por Heyrovský. Diante do insucesso, depois de algum tempo, surgiu a ideia de se utilizar a dispersão de carbono para a construção de eletrodos sólidos. Após novos experimentos, um novo material eletródico à base de carbono foi produzido, sendo este denominado pasta de carbono devido à sua consistência [16]. Desde então, os CPE têm sido amplamente utilizados na determinação de compostos orgânicos e inorgânicos.

Os CPE são constituídos por uma mistura entre pó de carbono (fase condutora) e um líquido orgânico imiscível em água (aglutinante), este último, tem como função juntar as partículas de carbono conferindo aos eletrodos uma consistência pastosa [18]. A construção dos CPEs é simples e rápida. A pasta obtida pela mistura carbono e aglutinante é introduzida e compactada no interior de um suporte polimérico inerte e com pequeno diâmetro, contendo em seu interior um êmbolo metálico para contato elétrico [19]. Além desta configuração, os CPE são facilmente miniaturizados, assumindo assim, diferentes tamanhos e formatos, podendo ainda ser empregados em diversos sistemas [20- 24].

O pó de carbono utilizado como fase condutora pode apresentar distintas formas alotrópicas, tais como: nanofibras de carbono, pó de carvão, nanotubos de carbono de paredes

simples ou múltiplas, microesferas de carbono, diamante natural ou sintético pulverizado e pó de carbono vítreo [19].

Inicialmente, os aglutinantes utilizados para a construção destes eletrodos eram derivados halogenados. Contudo, devido à alta toxicidade, estes foram substituídos por óleos minerais como Nujol® ou parafina líquida. Atualmente, diversos tipos de aglutinantes alternativos são utilizados no preparo dos CPE. Os líquidos iônicos [18] têm sido amplamente utilizados, estes aglutinantes contribuem com a condutividade do eletrodo, causando uma rápida transferência eletrônica. Entretanto, o alto valor na aquisição destes materiais é uma desvantagem, visto que o baixo custo é um dos atrativos oferecidos pelos CPE. Novos materiais aglutinantes ainda são altamente desejados. Moléculas orgânicas condutoras (fio molecular) [25] têm sido também empregadas como aglutinantes alternativos em CPE. Alguns polímeros, como por exemplo: resina epóxi [26], poliestireno [27], poliuretano [28], também são utilizados como aglutinantes no preparo de compósitos mais rígidos.

Borrachas de silicone têm sido largamente empregadas no preparo de eletrodos compósitos [9,29]. Os silicones são polímeros que contém grupos metilas em seus radicais, sendo assim denominados polidimetilsiloxano. Estes materiais podem ser apresentados nas formas fluidas, de resina ou elastômeros [30]. Os eletrodos compósitos empregando silicone em sua composição são preparados diferentemente dos eletrodos de CPE convencionais. Neste caso, geralmente uma etapa de cura é realizada (compressão mecânica ou aquecimento), tornando assim, o procedimento de preparo mais demorado em relação ao preparo dos CPE [31].

A aplicabilidade de métodos eletroanalíticos para a determinação de fármacos em formulações farmacêuticas empregando os CPEs é relatada em diversos trabalhos na literatura. Nestes trabalhos, os CPE mostraram-se eficientes para quantificação de diversos compostos farmacológicos [32-36].

Samiec e Navrátilová [33] empregaram um CPE para investigar o comportamento eletroquímico dos fármacos bromazepam e alprazolam, bem como quantificá-los em medicamentos. O intervalo linear encontrado foi de 0,8 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para ambos os fármacos, apresentando limite de quantificação de 0,38 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,42 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o bromazepam e alprazolam, respectivamente. O método voltamétrico desenvolvido foi capaz de quantificar estes compostos em formulações farmacêuticas apresentando baixos valores de desvio padrão relativo, 2,2 e 2,9% para bromazepam e alprazolam, respectivamente.

Franco *et al.* [35] demonstraram o bom desempenho de um CPE preparado com óleo mineral Nujol® na detecção amperométrica de Atenolol em formulações farmacêuticas contendo outros dois princípios ativos, clotarlidona e nifedipino. Para este estudo, foi utilizado

um sistema de injeção em fluxo com recirculação da solução carregadora, minimizando desta forma a quantidade de resíduo gerado. Neste trabalho, os autores verificaram uma resposta linear no intervalo de 50 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção 8 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O método analítico desenvolvido mostrou-se eficiente para a quantificação de Atenolol em 5 diferentes amostras de formulação farmacêutica.

Em outro trabalho [36], um CPE preparado com óleo mineral Nujol® foi utilizado para determinação simultânea de três diferentes fármacos da classe dos anti-inflamatórios: naproxeno, diclofenaco e acetominofeno. Neste estudo, foi demonstrado que o CPE apresenta capacidade para quantificação destes fármacos em formulações farmacêuticas, fornecendo limites de detecção de 19, 4,1 e 3,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para naproxeno, diclofenaco e acetominofeno, respectivamente. Assim, o CPE desenvolvido foi eficiente para a determinação destes compostos farmacológicos em medicamentos, uma vez que os resultados obtidos foram concordantes aos resultados encontrados empregando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência.

Além de todas as características destacadas anteriormente, uma propriedade extremamente atrativa dos CPEs é a facilidade com que outros materiais podem ser adicionados à pasta promovendo sua modificação como um todo, diferentemente do que ocorre com eletrodos sólidos convencionais, em que a modificação ocorre apenas na superfície do eletrodo. Nos últimos anos, as pesquisas em eletroanálise têm buscado obter novos materiais eletródicos baseados em pasta de carbono com desempenho analítico superior ao obtido com CPE convencionais, para determinação de vários compostos [37-40].

1.3 Eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados - CMCPe

A modificação química de um CPE visa transferir para este as propriedades químicas do modificador, de modo a estabelecer interações eletrodo-analito que se convertam em melhora do desempenho analítico do eletrodo, aumento de sensibilidade e/ou seletividade [41,42].

Inicialmente, a denominação eletrodo quimicamente modificado (CME, do inglês *Chemically Modified Electrode*) foi utilizada para referir-se de forma geral a eletrodos convencionais (mercúrio, ouro, carbono e platina) com espécies quimicamente ativas convenientemente imobilizadas em sua superfície [43].

O nome eletrodos de pasta de carbono eletroativos, foi empregado pela primeira vez em 1960, com a introdução de um líquido orgânico eletroativo à mistura pó de grafite/aglutinante [18]. Em 1981, surgiu o termo eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados

(CMCPE, do inglês *Chemically Modified Carbon Paste Electrode*), sendo estes preparados com a mistura direta do modificador à pasta de carbono [18]. Desde então, vários eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados vêm sendo desenvolvidos para a determinação de inúmeras espécies inorgânicas e orgânicas, nas mais diversificadas matrizes, de forma rápida, simples e sem risco de contaminações, uma vez que os materiais utilizados para constituição desses eletrodos não são tóxicos [18,44].

Diversas maneiras são empregadas para promover a modificação de eletrodos, entre elas: adsorção, ligação covalente e recobrimento com filmes poliméricos. Entretanto, para os CPE, a forma de modificação mais comum baseia-se na adição de diferentes classes de compostos à mistura de pó de carbono e aglutinante, resultando na formação de um compósito com características condutoras e propriedades particulares aplicado para diferentes finalidades [45].

Diferentes modificadores são utilizados para o preparo dos CMCPE empregados na determinação de fármacos em formulações farmacêuticas e fluídos biológicos. Dentre eles pode-se destacar: nanotubos de carbono de paredes múltiplas [46], nanopartículas de metais [47,48], zeólitas [49], óxido de grafeno [50], compostos inorgânicos [51], sílica funcionalizada [52], entre outros.

A determinação voltamétrica de pramipexol em amostras de formulações farmacêuticas e fluídos biológicos foi realizada empregando um CPE modificado com dióxido de titânio (TiO_2) [53]. O eletrodo modificado foi preparado através da mistura de 15% de nanopartículas de TiO_2 com 85% (m/m) de pasta de carbono. Estudos de adição e recuperação foram realizados, obtendo recuperações próximo a 100% para as amostras analisadas, comprovando assim, que o CPE modificado com TiO_2 pode ser aplicado para quantificação deste fármaco.

Shadjou *et al.* [42] conseguiram resultados satisfatórios para determinação de atenolol, carvedilol e propranolol em urina, utilizando um CMCPE com nanopartículas de óxido cobre. O eletrodo foi preparado pela mistura direta do modificador, pó de carbono e óleo mineral. Este eletrodo mostrou boa atividade eletrocatalítica, uma vez que os compostos estudados foram oxidados em potenciais menos positivos em relação a outros eletrodos avaliados.

A grande versatilidade de materiais a base de sílica associadas às propriedades químicas de sua superfície, tais como: elevada área superficial, alta capacidade de adsorção, elevada estabilidade química, insolubilidade em solventes orgânicos e possibilidade de funcionalização, torna-os excelentes agentes modificadores para a construção de CMCPEs [43,54]. Geralmente, a sílica é funcionalizada com alguns componentes, tais como: polímeros, óxidos metálicos ou espécies eletroativas, que apresentam afinidades específicas com o analito estudado [43,45].

Os agentes modificadores à base de sílica são empregados frequentemente para modificação de CPEs aplicados na determinação de metais em diversas matrizes [55-58]. Contudo, estes materiais podem ser utilizados na modificação de CPE para determinação de compostos orgânicos, especialmente fármacos os quais têm sido estudados nos últimos anos [59-62]. Geralmente, a sílica é funcionalizada e, em seguida, adicionada à pasta de carbono.

O comportamento eletroquímico da vitamina B6 e dopamina foi avaliado utilizando um CMCPE com sílica funcionalizada com complexos de níquel e cobalto [59]. Este eletrodo foi preparado pela mistura de 50% de pó de grafite e 50% da sílica funcionalizada, seguida pela adição de aglutinante - óleo mineral. Um aumento na resposta voltamétrica de dopamina e vitamina B6 foi registrado. Além disso, o CMCPE modificado proporcionou excelente estabilidade e reprodutibilidade, uma vez que as respostas voltamétricas obtidas empregando CMCPE não apresentaram mudanças significativas após longos períodos de uso.

Um sensor eletroquímico à base de pasta de carbono e modificado com sílica funcionalizada contendo polianilina e nanopartículas de ouro foi utilizado na determinação de ácido ascórbico. O CMCPE apresentou alta sensibilidade e seletividade, fornecendo limite de detecção de $0,97 \mu\text{mol L}^{-1}$ para determinação de ácido ascórbico na presença de ácido úrico e dopamina. O método eletroanalítico desenvolvido foi aplicado com êxito para a quantificação de ácido ascórbico em amostras de formulação farmacêutica. Além disso, os estudos realizados mostraram que o método desenvolvido apresentou capacidade para ser empregado na quantificação de ácido ascórbico em amostras biológicas [61].

Em 2015, foi descrito na literatura o preparo de um novo sorvente à base de sílica funcionalizada aplicado na extração em fase sólida de fármacos anti-hipertensivos β -bloqueadores [63]. Este sorvente foi preparado a partir da imobilização do poli(dimetilsiloxano-co-alquilmetilsiloxano) – PDAS sobre o suporte de sílica. Para avaliação da aplicabilidade deste material, três fármacos foram estudados: propranolol, metoprolol e atenolol. As análises foram realizadas empregando as técnicas de espectrometria de absorção molecular UV/vis e cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama. O material desenvolvido apresentou capacidade de recuperação dos fármacos satisfatória (94% - propranolol e metoprolol; 47% atenolol). Estes resultados indicam que esta sílica funcionalizada pode ser um material promissor para a modificação de eletrodos utilizados na determinação de fármacos propranolol e metoprolol.

1.4 Técnicas voltamétricas e voltametria de redissolução adsortiva

Nas técnicas voltamétricas, informações quantitativas de uma espécie eletroativa são obtidas por meio da medida da magnitude da corrente elétrica que flui entre os eletrodos de trabalho e auxiliar, durante uma aplicação de diferença de potencial entre os eletrodos de trabalho e de referência. Dessa forma, curvas de corrente-potencial, denominadas voltamogramas, são registradas. O eletrodo de trabalho é aquele no qual ocorre a reação de interesse (oxidação ou redução do analito, por exemplo). O eletrodo auxiliar, é responsável por “fechar” o circuito elétrico da célula eletroquímica, permitindo o fluxo de elétrons. O eletrodo de referência permite que o potencial do eletrodo de trabalho seja controlado e conhecido. As técnicas voltamétricas se subdividem em uma variedade de modalidades, que são classificadas de acordo com o tipo de perturbação potencial-tempo aplicada ao eletrodo de trabalho [4,15].

A voltametria cíclica (CV, do inglês *Cyclic Voltammetry*) é talvez a mais versátil técnica eletroquímica para o estudo de espécies eletroativas, pois permite localizar os potenciais nos quais o analito é oxidado e/ou reduzido. Nesta modalidade, o potencial varia linearmente com o tempo até um potencial máximo, no qual ocorre uma inversão no sentido de varredura e o potencial retorna ao seu valor inicial. A sua principal utilização se dá no objetivo de gerar informações qualitativas sobre processos eletroquímicos em diferentes condições. Além disso, permite também, avaliar a influência do eletrólito de suporte, pH, solvente, etc. sobre os processos redox da espécie química de interesse [64,65].

Dentre as técnicas voltamétricas, as que envolvem pulsos de potencial são as mais apropriadas para aplicações analíticas, pois são mais eficientes para discriminar a corrente faradaica da capacitiva, o que leva a menores limites de detecção [15].

Na voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês *Differential Pulse Voltammetry*), o potencial é aplicado na forma de pulsos sobrepostos à uma rampa de potencial crescente. O pulso aplicado é de pequena amplitude, e a corrente é amostrada em dois momentos, o primeiro momento é antes da aplicação do pulso e o segundo após a aplicação do pulso, o valor final da corrente é a diferença entre esses dois valores medidos. Desta forma, a corrente faradaica é discriminada da corrente capacitativa, o que leva a um aumento da detectabilidade da técnica. A DPV é uma técnica que permite a determinação quantitativa de várias espécies orgânicas e inorgânicas com limites de detecção que podem chegar na ordem de 10^{-7} mol L⁻¹ [4,15].

Na voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *Square Wave Voltammetry*), a imposição do potencial ocorre em pulsos de mesma amplitude, um no sentido direto e outro no reverso ao da varredura, durante um pequeno intervalo de tempo. Nesta técnica, a corrente é

medida em um primeiro momento após cessar o pulso de potencial direto e novamente após cessar o pulso de potencial reverso. Em virtude das correntes serem medidas nos instantes finais de cada pulso, a contribuição da corrente capacitiva para a corrente total é minimizada.

Os limites de detecção e quantificação das técnicas voltamétricas podem ser significativamente diminuídos se uma etapa de pré-concentração do analito na superfície do eletrodo é introduzida, o que dá origem às chamadas técnicas voltamétricas de redissolução. A voltametria de redissolução pode ser classificada de acordo com a etapa de pré-concentração do analito na superfície do eletrodo de trabalho. Na voltametria de redissolução adsorptiva (AdSV, do inglês *Adsorptive Stripping Voltammetry*), a espécie de interesse é acumulada na superfície do eletrodo por adsorção espontânea, sem necessidade de alteração do estado de oxidação do analito estudado [15]. As interações do analito com o material eletródico surgem a partir de atrações eletrostáticas, ligações covalentes ou de troca iônica [4], e a determinação seguirá por redissolução catódica ou anódica, dependendo da forma como a espécie de interesse foi pré-concentrada na superfície do eletrodo de trabalho.

Basicamente, as técnicas voltamétricas de redissolução adsorptiva envolvem duas etapas: a primeira é conhecida como uma etapa de pré-concentração, que tem como função acumular maiores quantidades do analito na superfície do eletrodo de trabalho, em condições hidrodinâmicas de transporte de massa rigorosamente controlado. A segunda etapa é o registro da medida do sinal através da redissolução das espécies químicas para o seio da solução, anteriormente acumuladas na superfície do eletrodo de trabalho. A redissolução é imposta mediante varredura em um intervalo de potenciais previamente estabelecida [15].

Uma grande vantagem das técnicas de redissolução associadas aos eletrodos CMCPE é que a pré-concentração pode ser realizada diretamente na amostra, uma vez que o eletrodo modificado apresenta afinidade específica pelo analito de interesse.

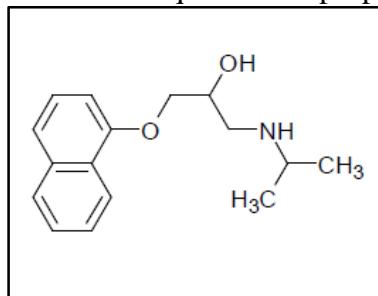
Os métodos de redissolução têm como principal vantagem proporcionar um aumento na sensibilidade e seletividade. Vários estudos [66,67] têm demonstrado a utilização da técnica de AdSV na análise de diversos compostos. Para análise de fármacos, a AdSV é muito utilizada, pois baixos limites de detecção são obtidos a partir da acumulação do analito na superfície do eletrodo seguido de um processo de redissolução [68-70].

1.5 Propranolol

Propranolol (PROP), denominado quimicamente como (1-(isopropilamino)-3-(1-nafitilox) -2-(propranolol), cuja fórmula estrutural é apresentada na Figura 1, é um fármaco da

classe dos β -bloqueadores frequentemente utilizado no tratamento de doenças cardiovasculares, tais como: hipertensão, arritmias cardíacas, angina de peito e infarto do miocárdio [34,71,72].

Figura 1. Estrutura química do propranolol.



Diferentes métodos analíticos têm sido relatados na literatura para a determinação de PROP em amostras de formulações farmacêuticas e fluídos biológicos. Estes métodos utilizam geralmente as técnicas de espectrofotometria [73], cromatografia líquida [74,75], eletroforese capilar [76,77], colorimetria [78], entre outros [72,79]. No entanto, a maioria destes métodos de análise requer equipamentos e reagentes relativamente caros. Além disso, os procedimentos analíticos adotados são demorados, necessitando muitas vezes de etapas de separação [80].

Por outro lado, os métodos eletroanalíticos têm sido muito aplicados na análise de formulações farmacêuticas, uma vez que maioria destas amostras não requer procedimentos de pré-tratamento. A detecção de PROP foi descrita na literatura empregando eletrodo de pasta de carbono [34,81], carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono [71,82], diamante dopado com boro [83], entre outros.

Gimenes *et al.* [77] relataram a determinação simultânea de propranolol e hidroclorotiazida em formulações farmacêuticas empregando dois métodos, sendo o primeiro baseado na análise por injeção em batelada com detecção amperométrica e outro empregando a eletroforese capilar. Ambos os métodos forneceram resultados precisos, rápidos e com baixos limites de detecção.

Em outro trabalho, um eletrodo compósito preparado com 70% de nanotubos de carbono e 30% silicone foi utilizado na determinação de PROP em formulações farmacêuticas [84]. A AdSV foi empregada na modalidade de onda quadrada em tampão B.R. pH 7. A resposta foi linear no intervalo de 0,3 a 5,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o limite de detecção de 78 nmol L^{-1} foi encontrado. O eletrodo compósito mostrou-se robusto e reproduzível, recuperações entre 98 e 102% foram obtidas. Os resultados foram comparáveis aos resultados obtidos pelo método oficial para determinação de PROP em formulações farmacêuticas, descrito na farmacopeia americana.

Radi *et al.* [34] estudaram a oxidação de PROP em produtos farmacêuticos utilizando um eletrodo de pasta de carbono. O efeito do pH na resposta voltamétrica do fármaco foi estudado. Um pico anódico em aproximadamente +1 V *vs.* Ag/AgCl_{sat} foi obtido, as medidas foram realizadas utilizando tampão B.R. pH 2 como eletrólito de suporte. Um intervalo linear de trabalho de 0,6 a 50 µmol L⁻¹ e um limite de detecção de 0,2 µmol L⁻¹ foram obtidos. Os resultados apresentados neste trabalho foram concordantes aos obtidos pelo método espectrofotométrico.

Neste contexto, o presente trabalho descreve o preparo simples de um CPE utilizado no desenvolvimento de um método eletroanalítico rápido, preciso e com custo moderado, para quantificação de PROP em formulações farmacêuticas, visto que as técnicas eletroanalíticas são promissoras para determinação de fármacos em diferentes matrizes.

2 OBJETIVOS

O objetivo inicial deste trabalho foi utilizar a sílica funcionalizada com poli(dimetil-co-alquilmetilsiloxano) na modificação de eletrodos de pasta de carbono e empregá-los como eletrodo de trabalho em um método eletroanalítico desenvolvido para determinação de propranolol, baseado na técnica de AdSV.

Posteriormente, outra estratégia adotada foi preparar um eletrodo de pasta de carbono empregando polidimetilsiloxano (PDMS) como aglutinante e utilizá-lo como eletrodo de trabalho no desenvolvimento de um método eletroanalítico rápido, preciso e com custo moderado para a determinação de propranolol em formulações farmacêuticas.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Todas as soluções utilizadas neste trabalho foram preparadas com água de alta pureza (ASTM tipo I, com resistividade $\geq 18,3 \text{ M}\Omega \text{ cm}$), obtida a partir de um sistema de ultrapurificação Megapurity® (Billerica, EUA). Os reagentes utilizados no preparo das soluções e no preparo dos eletrodos foram de pureza analítica e não passaram por qualquer procedimento de purificação adicional.

Para o preparo do eletrólito de suporte tampão Britton-Robinson (B.R.), ácido acético glacial, ácido bórico e di-hidrogenofosfato de potássio foram empregados, resultando em uma solução com concentração final de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de cada componente. Soluções de hidróxido de potássio (KOH) e ácido clorídrico (HCl), ambas 6 mol L^{-1} , foram utilizadas para ajustar o pH do tampão B.R. no valor desejado. Todos esses reagentes foram adquiridos da empresa Vetec (Rio de Janeiro, Brasil).

A solução estoque de PROP $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada diretamente pela dissolução do padrão de cloridrato de propranolol em água, adquirido em uma indústria de manipulação farmacêutica - Farmácia Cruzeiro, na cidade de Ituiutaba - MG. As soluções estoque foram preparadas diariamente.

Os CPE foram preparados utilizando como material condutor o pó de grafite com partículas menores que $20 \mu\text{m}$ (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). Como aglutinante foram empregados, parafina sólida (Synth, São Paulo, Brasil), óleo mineral Nujol® (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) e polidimetilsiloxano – PDMS (Petrarch Systems Inc., Bistrol, Pensilvânia).

A caracterização eletroquímica do eletrodo de pasta de carbono preparado com PDMS como aglutinante foi realizada 10 mL de KCl (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) 1 mol L^{-1} empregando $1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), e em meio misto contendo 50% de solvente orgânico, metanol ou etanol.

Os modificadores utilizados neste trabalho foram gentilmente cedidos pelo Grupo de Pesquisas em Cromatografia, coordenado pelo professor Dr. Anizio Márcio de Faria, da Faculdade de Ciências Integradas do Pontal da Universidade Federal de Uberlândia. A sílica utilizada foi sílica gel 60 (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA), de partículas irregulares com diâmetro de 40 a $63 \mu\text{m}$, o polímero poli(dimetilsiloxano-co-alquilmetilsiloxano) - PDAS, foi obtido da Aldrich. A incorporação do polímero na sílica foi realizada seguindo o procedimento descrito na literatura [63]; a sílica funcionalizada com o polímero foi denominada de Si(PDAS) neste trabalho.

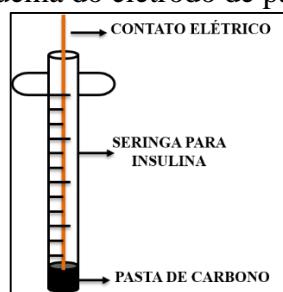
O metanol utilizado para eluição nos estudos de extração em fase sólida, foi de grau espectroscópico da marca J. T. BAKER (Estado do México, México).

3.2 Preparo dos CPEs

Para a modificação dos CPE com Si(PDAS), CPE/Si(PDAS)%, as proporções em massa de 10, 20 e 30% de modificador foram estudadas. A porcentagem de aglutinante óleo mineral Nujol® foi fixada em 20% e o pó de grafite foi substituído sistematicamente pelo modificador até obtenção das proporções desejadas. Inicialmente, o pó de carbono e o modificador foram misturados em um almofariz por aproximadamente 10 min e, posteriormente esta mistura foi transferida para um bêquer contendo 20% de Nujol® pesado anteriormente, sendo a mistura final homogeneizada até a obtenção de uma pasta uniforme.

Com a finalidade de avaliar o efeito do aglutinante, parafina sólida também foi empregada no preparo do CPE/Si(PDAS)30%, a mesma foi previamente fundida em banho aquecido. Após a fusão da parafina, a mistura de 50% de pó de carbono e 30% modificador (m/m) foi adicionada lentamente à parafina fundida. A mistura completa (pó de carbono, Si(PDAS) e parafina) foi então homogeneizada, em banho aquecido, por 10 min, tempo necessário para se obter uma mistura uniforme. Em seguida, cada pasta de carbono foi introduzida e compactada em um suporte cilíndrico do tipo seringa para insulina, com capacidade de 1 mL e 5 mm de diâmetro, contendo um êmbolo de cobre como contato elétrico. A Figura 2 mostra o esquema de um CPE montado.

Figura 2. Esquema do eletrodo de pasta de carbono.



Para efeito de comparação, foi preparado um eletrodo de pasta de carbono não modificado, CPE e um outro eletrodo modificado com sílica não funcionalizada, CPE/Si-Gel30%. Para o CPE constituído de Nujol® e pó de carbono, as proporções de 20 e 80% (m/m) foram empregadas, respectivamente. O CPE/Si-Gel30% foi preparado pela substituição Si(PDAS) por sílica gel não funcionalizada, seguindo o procedimento descrito anteriormente.

Em ambos os casos, a pasta foi compactada em um tubo cilíndrico, como apresentado na Figura 2.

O eletrodo de pasta de carbono contendo PDMS como aglutinante foi constituído de 80% de pó de grafite e 20% de PDMS (m/m), sendo denominado CPE/PDMS. Este eletrodo foi preparado apenas misturando-se o pó de carbono e o aglutinante por aproximadamente 10 min, até a obtenção de uma mistura uniforme, a qual foi compactada em suporte cilíndrico, conforme o esquema apresentado na Figura 2

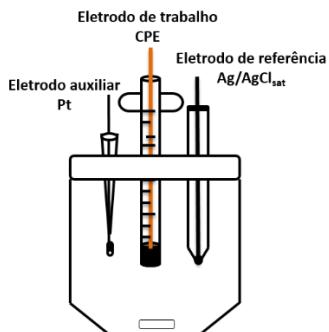
Antes da utilização dos eletrodos e quando necessária a renovação da superfície, a pasta foi removida do tubo cilíndrico, pressionando-se o êmbolo, sendo o excesso de pasta retirado e a superfície polida sobre papel sulfite A4 e, posteriormente em papel impermeável, ambos fixados em placa vítreia plana e lisa, até a obtenção de uma superfície lisa e uniforme.

3.3 Instrumentação

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potencioscômetro/galvômetro modelo μAutolab tipo III (EcoChemie, Utrecht, Holanda), acoplado a um microcomputador, gerenciado pelo software GPES versão 4.9 ou pelo software Nova versão 2.0. Para correção da linha de base de alguns voltamogramas, a opção “*moving average*” em ambos os softwares foi selecionada.

Uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos, com capacidade 10 mL foi utilizada. O eletrodo de referência foi o de Ag/AgCl_{sat} imerso em solução saturada de KCl. Como eletrodo auxiliar foi empregado um fio de platina com 0,5 mm de diâmetro em espiral. Como eletrodo de trabalho foram utilizados CPEs. A Figura 3 ilustra a célula eletroquímica e os eletrodos utilizados neste trabalho.

Figura 3. Esquema da célula eletroquímica utilizada.



Medidas de pH da solução tampão foram realizadas utilizando um pHmetro modelo HI 3221 (HANNA) conectado a um eletrodo de vidro combinado.

Para o preenchimento das seringas com sorvente Si(PDAS) uma centrífuga (Celm® combate, São Paulo, Brasil) foi utilizada. Os estudos de extração em fase sólida foram realizados utilizando um sistema *manifold* Resprep™ à vácuo (Restek, Bellefonte, EUA).

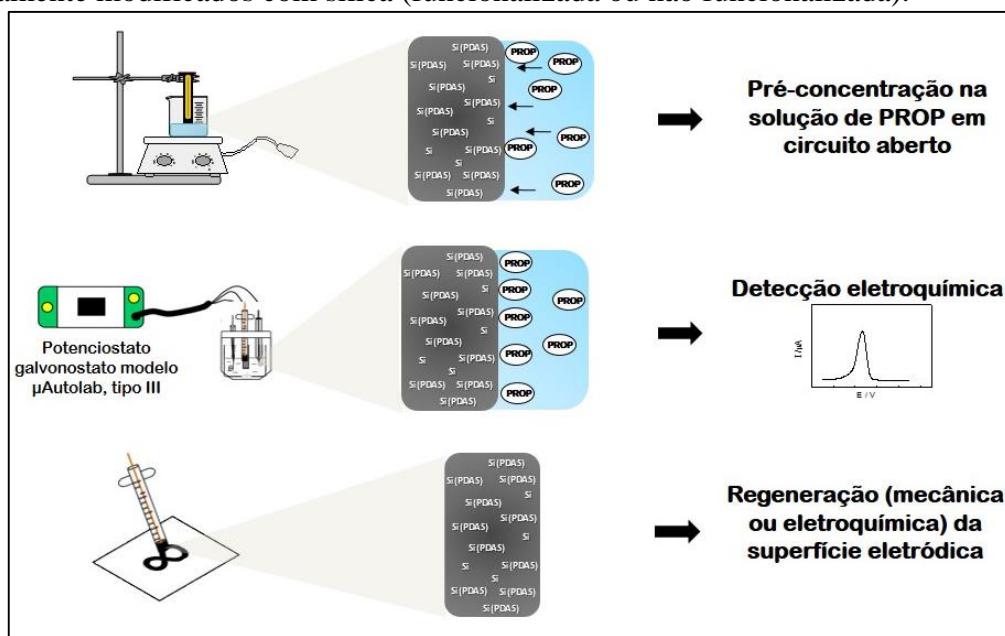
As medidas de absorbância de PROP foram realizadas empregando um espectrofotômetro de absorção molecular UV/vis (PerkinElmer Lambda 25 UV/vis, Shelton, EUA).

3.4 Procedimentos analíticos

3.4.1 Eletrodos de pasta de carbono modificados com sílica

O procedimento analítico envolveu uma etapa de pré-concentração *ex-situ*, em circuito aberto, realizada pela imersão do eletrodo de trabalho em 10 mL de solução PROP durante tempo determinado. Em seguida, o eletrodo foi transferido para célula eletroquímica contendo tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, para registro do voltamograma. O esquema do procedimento analítico proposto é mostrado na Figura 4.

Figura 4. Esquema do procedimento analítico proposto para os eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados com sílica (funcionalizada ou não funcionalizada).



A pré-concentração foi realizada sob agitação constante. Após a etapa de pré-concentração, o eletrodo foi lavado com água ultrapura e transferido para célula eletroquímica. Posteriormente, foi realizada a detecção voltamétrica de PROP através do monitoramento da intensidade de seu pico de oxidação.

Após cada medida eletroquímica, a superfície dos eletrodos foi renovada mecanicamente, através do polimento. Alternativamente, foi empregada a regeneração eletroquímica da superfície eletródica, submetendo o eletrodo de trabalho a um potencial de +1,5 V vs. Ag/AgCl_{sat} na célula eletroquímica.

3.4.2 Eletrodos de pasta de carbono preparados com polidimetilsiloxano

A detecção eletroquímica de PROP empregando o CPE/PDMS como eletrodo de trabalho, foi realizada diretamente na célula eletroquímica contendo tampão B.R. pH 2, neste caso, nenhum procedimento de pré-concentração foi empregado. Após cada medida eletroquímica, a renovação da superfície eletródica foi realizada através do polimento mecânico em papel sulfite A4, seguido pelo polimento em papel impermeável, ambos fixados em placa vítreia lisa.

3.4.3 Caracterização do CPE/PDMS

Os experimentos voltamétricos foram realizados em KCl 1 mol L⁻¹ na presença de hexacianoferrato (II) de potássio como espécie eletroativa. Os parâmetros que influenciam a corrente de pico (I_p), como velocidade de varredura e concentração da espécie eletroativa, foram estudados nos intervalos de 25 a 200 mV s⁻¹ e de 0,1 a 1 mmol L⁻¹, respectivamente. Os valores de I_p e de potencial de pico (E_p) anódico e catódico foram calculados pelo software NOVA 2.0. Soluções de HCl e NaOH 0,1 mol L⁻¹ preparadas em KCl 1 mol L⁻¹ e soluções mistas contendo 50% de metanol ou etanol também preparadas em KCl 1 mol L⁻¹, foram empregadas no estudo de caracterização do CPE/PDMS.

3.5 Preparo das amostras

3.5.1 Análise das amostras por voltametria de pulso diferencial

As amostras de formulações farmacêuticas contendo o princípio ativo PROP foram adquiridas em farmácias da cidade de Ituiutaba - MG. Para a determinação do princípio ativo nos medicamentos, seguiu-se o procedimento descrito pela Farmacopeia brasileira para o preparo das amostras, as quais apresentam na forma de comprimidos [85]. Para isto, 20 comprimidos de cada medicamento analisado foram pesados em balança analítica ($\pm 0,1$ mg) e macerados utilizando um almofariz e pistilo de porcelana. Foram preparadas soluções estoque dos medicamentos em eletrólito de suporte pesando-se a quantidade do sólido macerado suficiente (Tabela 1) para se obter soluções de PROP à 0,5 mmol L⁻¹. Para a determinação de PROP nas amostras, uma alíquota da solução estoque foi adicionada na célula eletroquímica, de forma que a concentração de PROP na mesma estivesse em 25 μ mol L⁻¹, valor contido no intervalo linear do método proposto.

Tabela 1. Massa dos medicamentos comerciais utilizadas no preparo das soluções estoque.

Amostras	Teor de PROP (mg/comprimido)	Massa média comprimido (mg)	Massa da amostrada pesada (mg)
A	40	195	36,1
B	40	200	36,9
C	40	148	27,3
D	40	182	33,6

3.5.2 Análise das amostras por espectrofometria de absorção molecular UV/vis

As amostras também foram analisadas empregando a técnica de espectrofometria de absorção molecular na região do UV-vis, fixando-se o comprimento de onda em 290 nm, sendo este o comprimento de onda com máxima absorbância. Para o preparo das amostras, 20 comprimidos de cada medicamento analisado foram pesados em balança analítica ($\pm 0,1$ mg) e macerados utilizando um almofariz e pistilo de porcelana. Foram preparadas soluções estoque dos medicamentos em eletrólito de suporte (tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2), pesando-se a quantidade do sólido macerado suficiente (Tabela 1) para se obter soluções de PROP à 0,5 mmol L⁻¹. Esta solução foi filtrada a vácuo empregando uma membrana de náilon de 45 µm, o filtrado foi utilizado para preparar 5 mL de uma solução 25 µmol L⁻¹ de acordo com as informações do fabricante, por fim a medida de absorbância desta solução foi registrada.

3.6 Preparo dos cartuchos utilizados na extração em fase sólida

Para o preparo dos cartuchos empregados nos estudos de extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*), seguiu-se o procedimento proposto por Novaes *et al.* [63]. Seringas de polipropileno com capacidade de 3 mL foram preenchidas com suspensões de 500 mg (± 10) do sorvente Si(PDAS) em mistura metanol:água (1:1, v/v). Filtros de politetrafluoretileno foram utilizados para reter o sorvente no interior da seringa, todos recheios foram compactados nos cartuchos por centrifugação a 2500 rpm por 5 min.

3.7 Procedimento proposto para SPE

Para avaliar a pré-concentração de PROP nos cartuchos, 50 mL de uma solução de PROP 2,0 µmol L⁻¹ foram eluídas pelos cartuchos contendo o sorvente Si(PDAS), previamente ativados com a passagem de água ultrapura. Para a limpeza dos extratos, 10 mL de metanol foram eluídos pelos cartuchos e recolhidos em frascos de 10 mL. Após a evaporação do solvente, os analitos foram recuperados em 5 mL de eletrólito de suporte, tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH = 2, seguido do registro de voltamogramas de pulso diferencial. Antes de cada pré-concentração, 10 mL de metanol foram eluídos pelos cartuchos para remoção dos possíveis resíduos do fármaco que não foram recuperados da fase sólida. Para o voltamograma registrado no resíduo, solução restante após a pré-concentração, o eletrólito de suporte tampão B.R. pH 2 foi preparado utilizando esta solução como solvente.

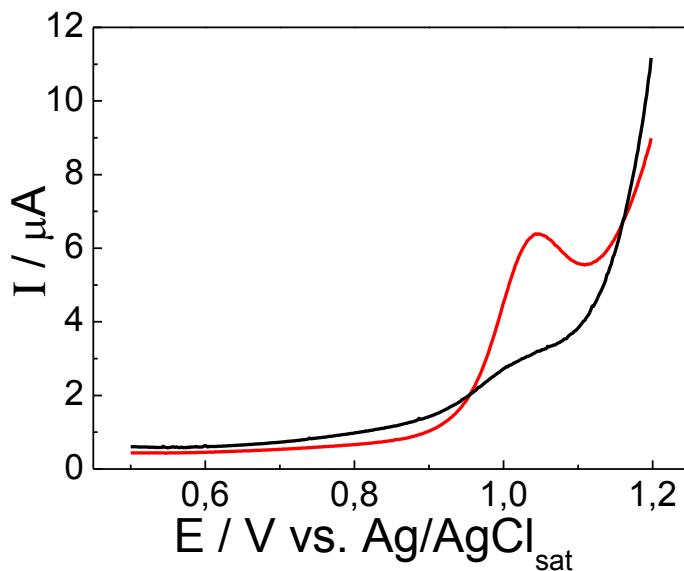
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da capacidade de pré-concentração de PROP no CPE/30%SiPDAS

O objetivo inicial deste trabalho era quantificar PROP em formulações farmacêuticas e em águas residuais, através de um método voltamétrico desenvolvido utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado com Si(PDAS), uma vez que este material apresenta capacidade de retenção do PROP por meio de interações hidrofílicas com o suporte de sílica e hidrofóbicas com a camada polimérica [63].

Estudos preliminares envolveram a avaliação da capacidade de pré-concentração de PROP no CPE modificado com Si(PDAS). A etapa de pré-concentração em condições hidrodinâmicas acumula maiores quantidades do analito na superfície do eletrodo de trabalho, diminuindo assim os limites de detecção e limite de quantificação. Tal estratégia é adotada em diversos métodos descritos na literatura para a determinação de fármacos em amostras de formulações farmacêuticas e fluidos biológicos, sendo este tema revisado na literatura por Gupta *et al.* [86]. A Figura 5 mostra os voltamogramas de pulso diferencial obtidos após 5 min de pré-concentração realizada em circuito aberto sob condições hidrodinâmicas, em uma solução de PROP $44 \mu\text{mol L}^{-1}$, empregando um CPE não modificado e um modificado com Si(PDAS), ambos preparados utilizando Nujol® como aglutinante.

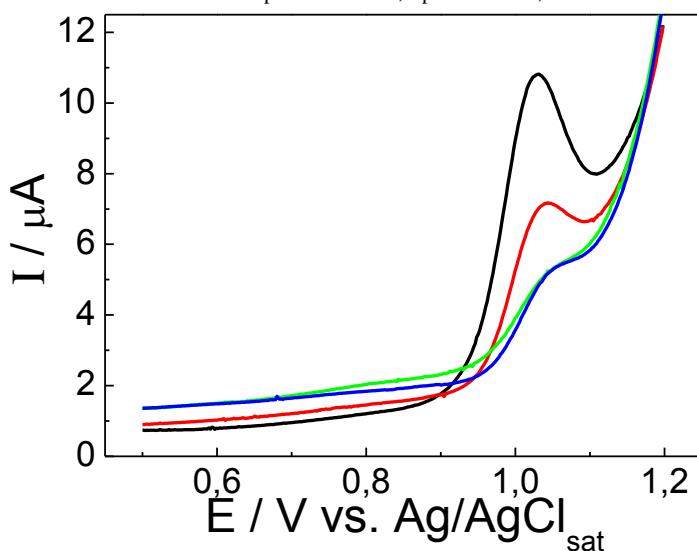
Figura 5. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2, após 5 min de pré-concentração em $44 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP: (—) CPE; (—) CPE/30%SiPDAS. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $t_p = 25 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.



A Figura 5 mostra que o PROP apresenta um processo anódico em aproximadamente 1,05 V, correspondendo a oxidação do álcool secundário presente na molécula do fármaco [83]. Para o CPE/30%Si(PDAS) foi observado um aumento significativo na intensidade de corrente, comprovando que o eletrodo é capaz de pré-concentrar eficientemente PROP em relação ao CPE não modificado, que não forneceu resposta satisfatória para pré-concentração do fármaco. A maior intensidade de corrente obtida para oxidação de PROP empregando o CPE/30%Si(PDAS), deve-se aos tipos de interações estabelecidas entre o analito e o modificador presente no eletrodo durante a etapa de pré-concentração.

Para verificar se todo o PROP adsorvido na Si(PDAS) presente na superfície do eletrodo era oxidado na primeira varredura de potencial, foram registrados voltamogramas sucessivos após a etapa de pré-concentração. A Figura 6 mostra os voltamogramas de pulso diferencial obtidos após 5 min de pré-concentração em $44 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP.

Figura 6. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2, após 5 min de pré-concentração em $44 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP: (—) 1^a; (—) 2^a; (—) 3^a e (—) 4^a varredura. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $t_p = 25 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.

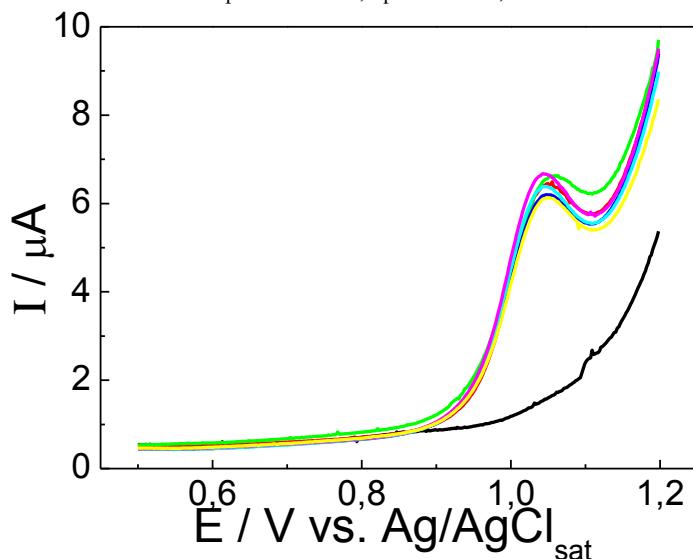


Uma resposta voltamétrica referente à oxidação de PROP ainda foi registrada após realizar quatro voltamogramas de pulso diferencial sucessivos. Este resultado mostra que o fármaco adsorvido na Si(PDAS) presente na superfície do eletrodo não é totalmente oxidado durante a 1^a varredura. Ou seja, parte do fármaco ainda fica retida no eletrodo, o que afeta medidas posteriores realizadas sem a renovação/regeneração da superfície eletródica. Por este motivo, após cada voltamograma de pulso diferencial registrado, a regeneração da superfície eletródica foi realizada a partir do polimento mecânico. Na literatura [68,69] é possível encontrar métodos para determinação de compostos orgânicos que relatam a necessidade do

polimento mecânico após cada registro do voltamograma, principalmente, quando a voltametria de redissolução adsorptiva é empregada.

Com o objetivo de avaliar a repetitividade das medidas obtidas empregando este novo procedimento (pré-concentração, redissolução anódica e renovação da superfície), foram registrados 6 voltamogramas, como mostrado na Figura 7.

Figura 7. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, após 5 min de pré-concentração em 44 µmol L⁻¹ de PROP, medidas sucessivas com renovação da superfície eletródica a cada medida, (—) branco (—) 1°, (—) 2°, (—) 3°, (—) 4°, (—) 5°, (—) 6°. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.



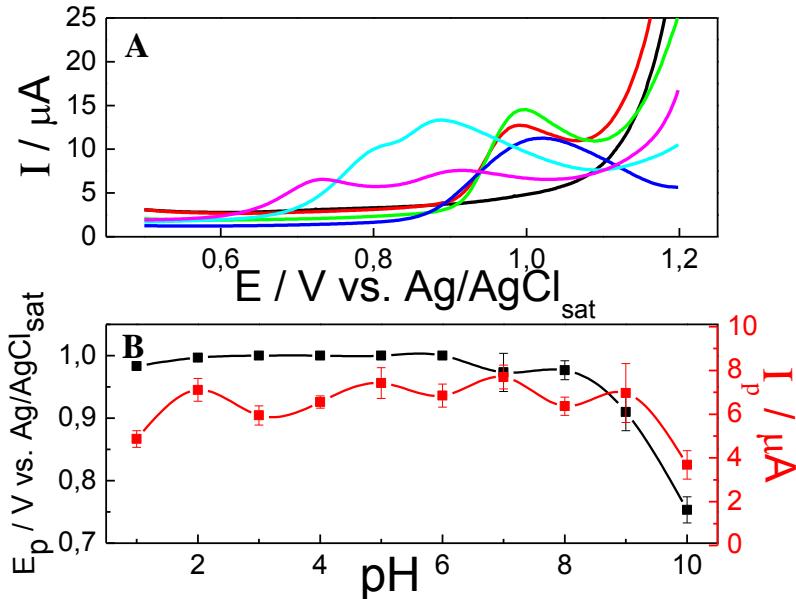
A Figura 7 mostra que as intensidades de corrente atribuídas à oxidação de PROP obtidas com diferentes superfícies eletródicas foram equivalentes, apresentando um valor de desvio padrão relativo (RSD) para os valores de corrente de pico igual a 4% para N = 6, sendo este valor aceitável quando CPE são empregados em eletroanálise. Portanto, este resultado mostra que o polimento mecânico pode ser empregado para obtenção de uma nova superfície ativa, uma vez que o novo procedimento mostrou-se eficiente na regeneração da superfície eletródica, apresentando boa repetitividade entre as medidas.

4.2 Otimização do pH do eletrólito de suporte

A influência do pH sobre o perfil voltamétrico da oxidação do PROP foi avaliada no intervalo de 1 a 10. Para este estudo, a etapa de pré-concentração não foi realizada e as medidas foram registradas na presença de 0,08 mmol L⁻¹ de PROP contidos na célula eletroquímica. A Figura 8A mostra os voltamogramas obtidos em diferentes valores de pH e a Figura 8B mostra

a influência do pH do eletrólito de suporte sobre E_p e I_p . Cada ponto no gráfico refere-se a média e desvio padrão de 3 medidas realizadas com diferentes superfícies eletródicas.

Figura 8. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com CPE/Si(PDAS)30% na presença de 0,08 mmol L⁻¹ de PROP em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ em diferentes pH: (—) 1 branco, (—) 1, (—) 2, (—) 6, (—) 9, (—) 10. **B)** Variação de E_p e I_p em função do pH. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.

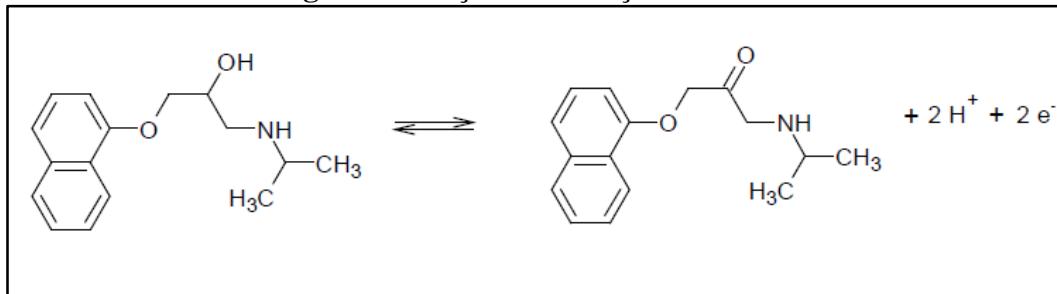


As respostas voltamétricas obtidas em soluções de tampão B.R. em diferentes valores de pH apresentadas na Figura 8A, mostram que o perfil voltamétrico referente à oxidação de PROP depende do pH do eletrólito de suporte. Para valores acima de 6, os picos anódicos tendem a alargar e/ou duplicar-se. Essa dependência do perfil voltamétrico em relação ao pH do eletrólito de suporte também foi observada por Santos *et al.* [84], os quais relataram dois picos anódicos quando soluções de eletrólito de suporte com valores de pH ≥ 8 são empregadas. Dessa forma, o mecanismo de oxidação eletroquímica de PROP é dependente do pH, uma vez que houve um deslocamento no E_p para valores menos positivos em soluções com pH superiores a 6 [84,87].

O deslocamento do potencial de oxidação de PROP para valores menos positivos com o aumento do pH do eletrólito de suporte, pode ser atribuído ao valor de pKa deste fármaco ($pK_a = 9,3$). Com o aumento do pH, diminui-se a concentração de H^+ livre em solução, consequentemente mais moléculas do fármaco encontram-se desprotonadas, assim a oxidação de PROP se torna energeticamente favorável, registrando menores potenciais de pico [35]. Em relação a intensidade da corrente de pico, não foi possível observar alterações significativas, conforme observado na Figura 8B, que apresenta os valores de I_p obtidos para os diferentes pH.

Dois possíveis mecanismos para oxidação de PROP são propostos na literatura [9]. Radi *et al.* [34] propõe que a oxidação de PROP ocorre no grupo amino secundário e envolve o mesmo número de prótons e elétrons. Em outro estudo, Bishop e Hussein [88] afirmam que a oxidação de PROP ocorre na hidroxila secundária, promovendo a liberação de dois prótons e dois elétrons, como apresentado na Figura 9. Em ambos os casos, a oxidação ocorre em potenciais relativamente positivos, variando entre +0,9 a +1,3 V *vs.* Ag/AgCl_{sat} [34,88].

Figura 9. Reação de oxidação do PROP.



A reação apresentada na Figura 9 é a mais utilizado por pesquisadores para descrever a oxidação de PROP [42,79]. Um mecanismo envolvendo a oxidação da hidroxila secundária é o mais provável, uma vez que um produto cetônico foi obtido a partir da oxidação eletroquímica de Atenolol [89], fármaco com estrutura semelhante ao PROP.

Para estudos posteriores, o tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2 foi utilizado como eletrólito de suporte, uma vez que nestas condições foram obtidos picos anódicos para PROP intensos e repetitivos, fornecendo um RSD = 7%, para três diferentes superfícies eletródicas. Outros trabalhos apresentados na literatura [71,82,83] também utilizaram eletrólitos de suporte em condições ácidas para análise de PROP.

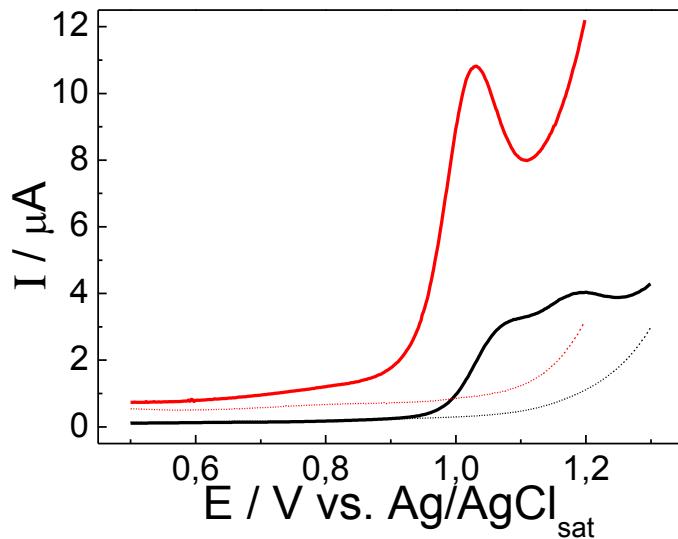
4.3 Otimização do Preparo do Eletrodo CPE/Si(PDAS)

4.3.1 Estudo do aglutinante

Após o estudo e escolha do melhor pH do eletrólito de suporte, avaliou-se a influência do aglutinante na resposta voltamétrica para oxidação de PROP. Para o preparo dos eletrodos, dois diferentes aglutinantes foram estudados, parafina sólida e óleo mineral Nujol®, ambos com porcentagem em massa fixada em 20%, uma vez que em maior porcentagem o eletrodo apresenta alta resistividade e baixa resistência mecânica, sendo assim, inviável para aplicação. A Figura 10 apresenta os voltamogramas obtidos para os eletrodos de CPE/Si(PDAS)30%

preparados com os dois aglutinantes estudados, após a etapa de pré-concentração em 44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP.

Figura 10. Voltamogramas de pulso diferencial registrados com CPE/Si(PDAS)30% em tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} pH 2, empregando diferentes aglutinantes no preparo do eletrodo: (---) branco CPE/parafina, (---) branco CPE/Nujol[®]; (—) CPE/parafina; (—) CPE/Nujol[®] após 5 min de pré-concentração em 44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $t_p = 25 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.



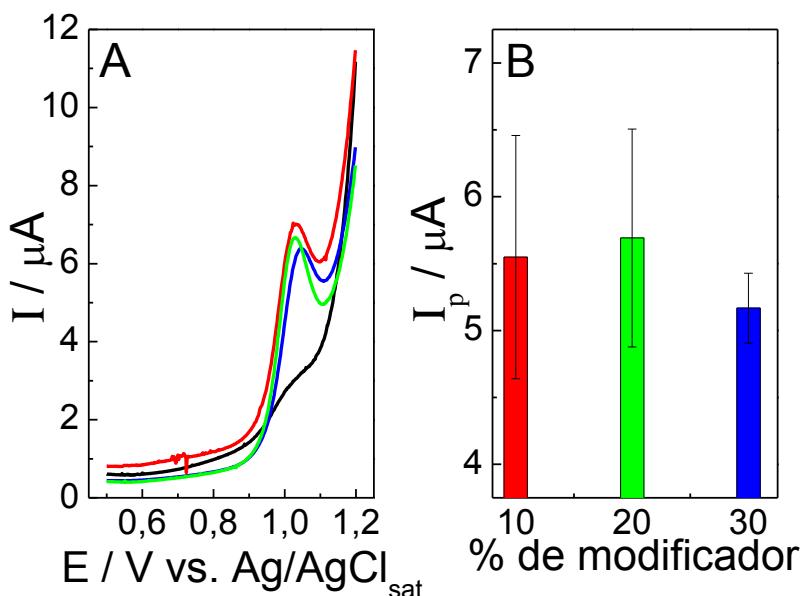
Com estes resultados, é possível verificar que o eletrodo preparado com óleo mineral Nujol[®] apresenta melhor resposta voltamétrica para oxidação de PROP, fornecendo pico voltamétrico mais intenso e definido em relação ao eletrodo preparado com parafina. A pasta preparada com parafina é mais compacta e rígida, além disso, apresenta maior hidrofobicidade em relação a pasta preparada com Nujol[®], dificultando o contato eletrodo-analito, resultando assim em um pico com baixa intensidade [55]. O bom desempenho de CPE preparados com óleo mineral Nujol[®] para a análise e determinação de fármacos, especialmente os da classe de β -bloqueadores, é relatado em algumas publicações [35,42]. Desta forma, óleo mineral Nujol[®] foi escolhido como aglutinante para o preparo dos eletrodos de pasta de carbono modificados.

4.3.2 Otimização da porcentagem do modificador

A porcentagem de modificador contida na pasta de carbono tem influência significativa sobre a resposta analítica e, portanto, deve ser avaliada. Desta forma, estudos da composição do modificador na CMCPE foram realizados. Para estes estudos, a porcentagem de óleo mineral Nujol[®] foi fixada em 20% e o pó de carbono foi sistematicamente substituído pelo modificador Si(PDAS), variando-se a composição de Si(PDAS) em 10, 20 e 30 %. A Figura 11A apresenta

os voltamogramas obtidos para as três diferentes proporções estudadas e o gráfico que mostra a influência da porcentagem de modificador -Si(PDAS) na intensidade da resposta voltamétrica é apresentado na Figura 11B. Cada barra do gráfico refere-se à média e desvio padrão obtidos para 3 superfícies eletródicas diferentes.

Figura 11. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, após 5 min de pré-concentração em 44 μmol L⁻¹ de PROP, empregando diferentes porcentagens de Si(PDAS): (—) 0, (—) 10, (—) 20, (—) 30% (m/m). B) Gráfico de I_p em função porcentagem de modificador. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.



Os voltamogramas obtidos empregando eletrodos quimicamente modificados com Si(PDAS) mostram que as intensidades de I_p não diferem significativamente com o aumento da porcentagem de modificador na pasta de carbono, no intervalo de composição de 10 a 20%. Para quantidades de modificador superiores a 20 % ocorre um pequeno decréscimo do sinal, o qual deve estar associado a um aumento da resistência elétrica da pasta e, consequente, diminuição na condutividade do eletrodo modificado, resultando em menor intensidade de sinal [18,49,90].

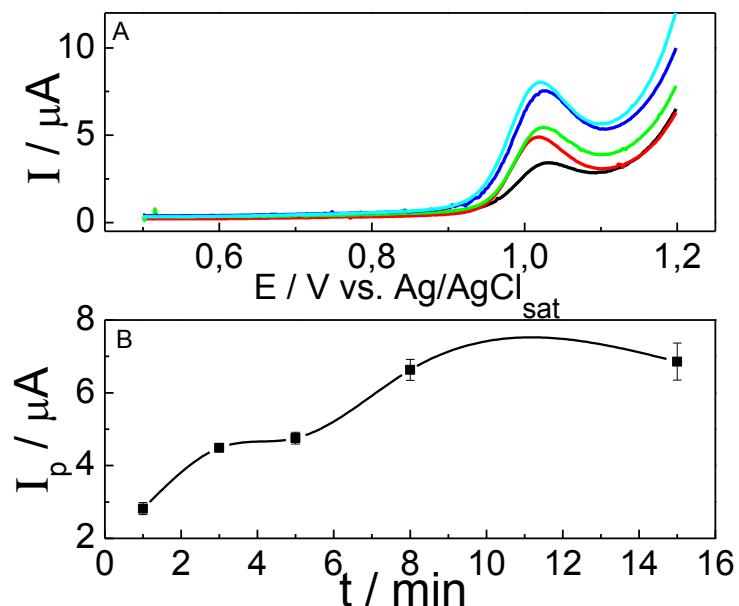
O gráfico de barra apresentado na Figura 11B mostra que a máxima intensidade de corrente foi obtida utilizando o CPE/Si(PDAS)20%, porém baixa repetitividade nestas condições foi encontrada ($\text{RSD} = 14\%$), a qual está relacionada à dificuldade de reproduzir uma superfície semelhante a cada polimento. Para os estudos subsequentes, 30% do modificador – Si(PDAS) foi escolhido para o preparo dos eletrodos de pasta quimicamente modificados uma vez que a repetitividade nesta condição foi satisfatória, com um $\text{RSD} = 4\%$. Esta melhor

repetitividade pode ser atribuída a maior quantidade de modificador, o que facilita a reprodução da superfície eletródica a cada polimento.

4.4 Estudo do tempo de pré-concentração

A influência do tempo de pré-concentração sobre a resposta voltamétrica foi avaliada no intervalo de 1 a 15 min. Estes estudos foram realizados utilizando o eletrodo com as condições de preparo otimizadas. A Figura 12A apresenta os voltamogramas obtidos para os diferentes tempos estudados e a Figura 12B mostra a variação da I_p com o aumento do tempo de pré-concentração. Cada ponto do gráfico refere-se à média e desvio padrão de 3 medidas.

Figura 12. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com CPE/Si(PDAS)30% em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, na presença de 44 μmol L⁻¹ de PROP, após diferentes tempos de pré-concentração: (—) 1, (—) 3, (—) 5, (—) 8, (—) 15 min. B) Gráfico de I_p em função do tempo de pré-concentração. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.

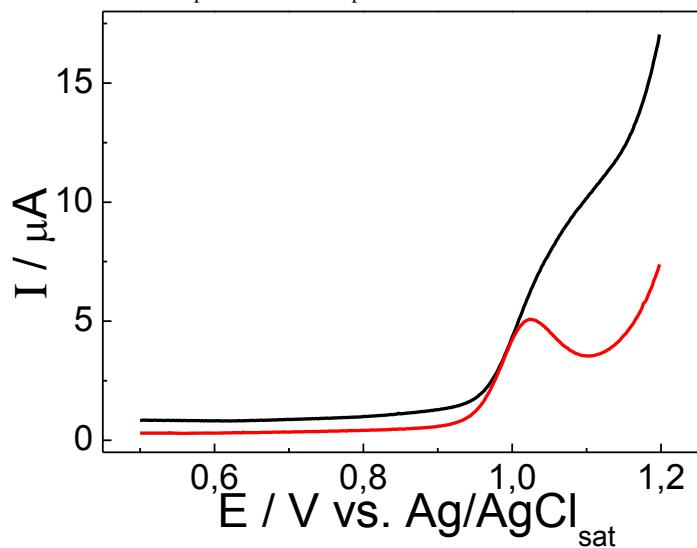


Um aumento na resposta voltamétrica de PROP foi registrado com o aumento do tempo de pré-concentração no intervalo de 1 a 8 min, indicando que maiores quantidades de fármaco são adsorvidas na superfície do eletrodo. Porém, a partir deste tempo, não foi possível observar aumento significativo na intensidade de corrente anódica. Este comportamento é atribuído à saturação dos sítios disponíveis em que ocorrem a pré-concentração de PROP na superfície do eletrodo [69,80,87]. Considerando a intensidade do sinal voltamétrico, bem como a repetitividade da medida e a frequência analítica, o tempo de 3 min para a pré-concentração foi escolhido como tempo ótimo para prosseguir os estudos.

4.5 Otimização da técnica voltamétrica

Com o objetivo de avaliar o efeito da técnica voltamétrica no perfil de oxidação de PROP, foram registrados voltamogramas em meio de tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, empregando duas técnicas voltamétricas: DPV e SWV. A SWV difere-se da técnica de DPV pelo modo de perturbação potencial-tempo aplicada ao eletrodo de trabalho e pela forma com que a corrente é amostrada [91]. Os voltamogramas foram registrados após 3 min de pré-concentração em 44 μmol L⁻¹ de PROP utilizando o CPE/Si(PDAS)30%. A Figura 13 apresenta os voltamogramas obtidos para as duas técnicas voltamétricas utilizadas.

Figura 13. Voltamogramas registrados com CPE/Si(PDAS)30% em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 μmol L⁻¹ de PROP, em diferentes técnicas voltamétricas: (—) SWV; (—) DPV. Condições voltamétricas: SWV: ΔE = 50mV, f = 25 Hz, ΔE_s = 2 mV. DPV: ΔE_p = 50 mV, t_p = 25 ms, v = 10 mV s⁻¹.



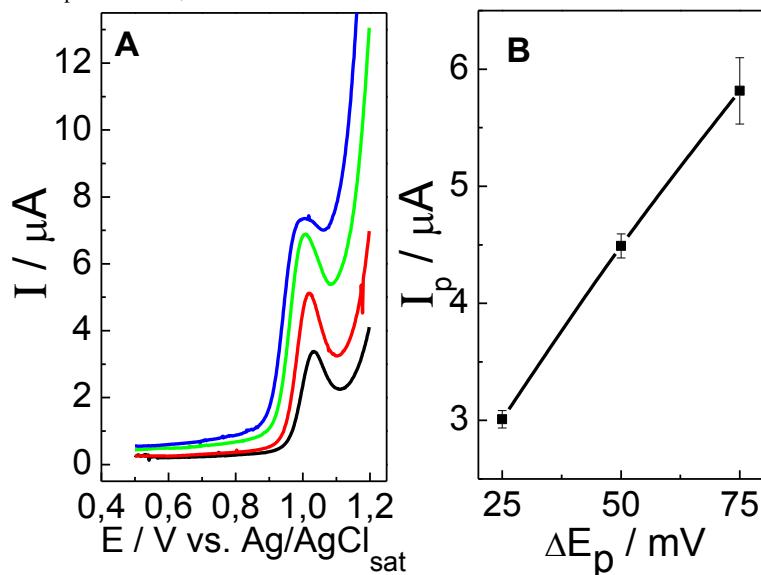
A DPV apresentou melhor perfil voltamétrico em relação à técnica de SWV. Este comportamento pode estar relacionando com a baixa velocidade da transferência eletrônica na oxidação de PROP, além de ser um processo irreversível. A SWV apresenta maior sensibilidade para sistemas reversíveis, uma vez que durante a subtração entre as correntes direta e reversa, que possuem sinais contrários, ocorre uma soma das intensidades dos sinais direto e reverso. Além disso, as velocidades normalmente utilizadas para aquisição de dados em SWV é mais alta que na DPV, portanto para processos com coeficiente de transferência eletrônica baixo, pode ser observada uma diminuição significativa da corrente de pico quando utilizada a técnica de SWV [91]. Para eletrodos modificados que tem em sua composição modificadores não

condutores, a DPV é usualmente empregada [49,52]. Em uma revisão bibliográfica [86] são encontrados diversos métodos eletroanalíticos que relatam a utilização da DPV para análise e determinação de compostos orgânicos de interesse farmacêutico. Com base nestes resultados, a técnica de DPV foi escolhida para os estudos posteriores.

Após a escolha da melhor técnica voltamétrica, foi realizada a otimização dos parâmetros da DPV a fim de proporcionar melhor perfil voltamétrico, bem como maior sensibilidade, a fim de obter resultados satisfatórios para a quantificação do analito de interesse. Neste estudo variou-se a velocidade de varredura (v), amplitude de pulso (ΔE_p) e o tempo de pulso (t_p), mantendo-se duas delas fixa e alterando-se a outra. Cada ponto do gráfico refere-se à média e desvio padrão de 3 medidas.

Incialmente, a amplitude de pulso foi variada de 25 a 100 mV, para a amplitude de pulso acima de 75 mV medidas em triplicata não foram realizadas, visto que o pico voltamétrico não apresentou definição suficiente para os cálculos de I_p . A Figura 14 mostra os voltamogramas obtidos e o gráfico da variação da I_p com o aumento de ΔE_p .

Figura 14. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com CPE/Si(PDAS)30% em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 μmol L⁻¹ de PROP, em diferentes ΔE_p : (—) 25, (—) 50, (—) 75, (—) 100 mV. **B)** Gráfico de I_p em função. ΔE_p . Condições voltamétricas: $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.



Como observado na Figura 14B, a intensidade da I_p aumenta linearmente com o aumento do ΔE_p , é notório que para $\Delta E_p \geq 75$ mV o perfil do pico anódico é prejudicado. De modo geral, para processos de oxidação que envolvem dois elétrons, os valores típicos de ΔE_p utilizados são de 50 mV [15]. Para os estudos posteriores, o valor de $\Delta E_p = 50$ mV foi escolhido,

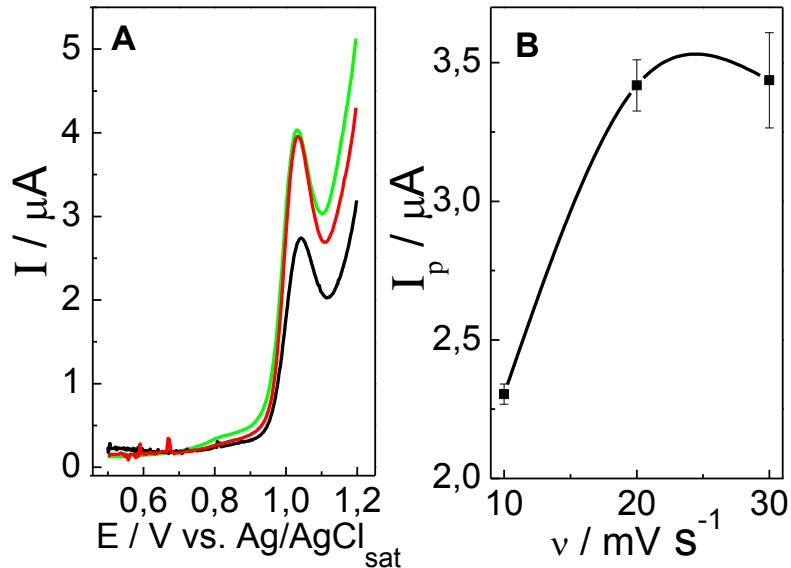
pois este apresentou I_p com intensidade moderada, boa definição do pico bem como, repetitividade da medida satisfatória, com RSD = 2% (N=3).

Após a escolha do melhor valor para amplitude de pulso, a v foi otimizada. A velocidade de varredura (v) é dada pela razão entre o incremento de varredura (ΔE_s) e o intervalo de tempo (τ), como mostrado na Equação 1:

$$v = \frac{\Delta E_s}{\tau} \quad \text{Equação 1}$$

De acordo com a Equação 1, v é diretamente proporcional a ΔE_s , e inversamente proporcional ao τ . É importante ressaltar que para os estudos de v realizados no presente trabalho, τ foi fixado em 200 ms e ΔE_s variado no intervalo de 2 a 6 mV. A Figura 15 mostra os voltamogramas obtidos para os diferentes valores de v e o gráfico da influência da v sobre I_p .

Figura 15. **A)** Voltamogramas de pulso diferencial registrados com CPE/Si(PDAS)30% em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 μmol L⁻¹ de PROP em diferentes ΔE_s : (—) 2, (—) 4, (—) 6 mV. **B)** Gráfico de I_p vs. v . Condições voltamétricas: $t_p = 25$ ms, $\Delta E_p = 50$ mV.

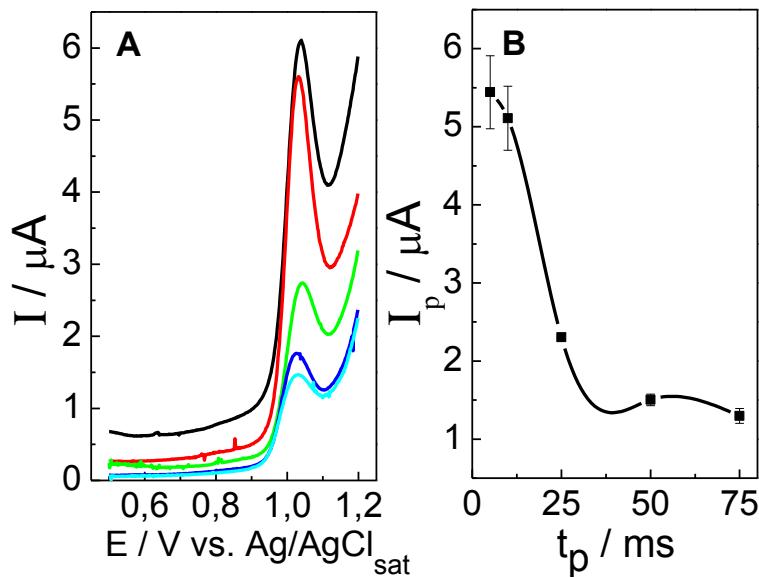


A Figura 15A mostra que o perfil voltamétrico de PROP não apresenta alterações significativas com a mudança da velocidade de varredura. O aumento da v resulta em uma maior intensidade na corrente de pico anódica de PROP, entretanto, para velocidades superiores a 20 mV s⁻¹, o sinal voltamétrico começa a estabilizar. A repetitividade da medida diminui com o aumento v ; velocidades superiores a 10 mV s⁻¹ não são adequadas para o estudo da oxidação

de PROP, v de 5 a 10 mV s $^{-1}$ são usualmente empregadas quando a DPV é utilizada [15]. Portanto, $v = 10$ mV s $^{-1}$ foi escolhida como apropriada para os demais estudos.

O tempo de pulso foi avaliado no intervalo de 5 a 75 ms. A Figura 16 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para os diferentes t_p estudados e o gráfico da variação de I_p com o aumento do tempo de pulso.

Figura 16. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados com CPE/Si(PDAS)30% em tampão B.R. 0,04 mol L $^{-1}$ pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 μ mol L $^{-1}$ de PROP, em diferentes t_p : (—) 5, (—) 10, (—) 25, (—) 50, (—) 75 ms. B) Gráfico de I_p vs. t_p . Condições voltamétricas: $v = 10$ mV s $^{-1}$, $\Delta E_p = 50$ mV.



Os resultados apresentados na Figura 16 demonstram que ocorre um decréscimo da intensidade de I_p com o aumento do tempo de pulso até 50 ms, ocorrendo uma estabilização após este valor. Este comportamento pode estar relacionado com a forma que ocorre o decréscimo das correntes (capacitiva e faradaica). Mesmo que o decréscimo da corrente capacitativa seja exponencial em função do tempo de pulso de um potencial e a faradaica decresce com a raiz quadrada do tempo [4,91], ao empregar intervalo de tempo de pulso relativamente longo, ambas as correntes decaem significativamente, assim a corrente total registrada apresentará menor intensidade. Portanto, a fim de proporcionar intensidade de correntes moderadas, o t_p igual a 25 ms foi escolhido para prosseguir os estudos.

A Tabela 2 apresenta os parâmetros da DPV avaliados no estudo de otimização e os valores escolhidos para cada parâmetro.

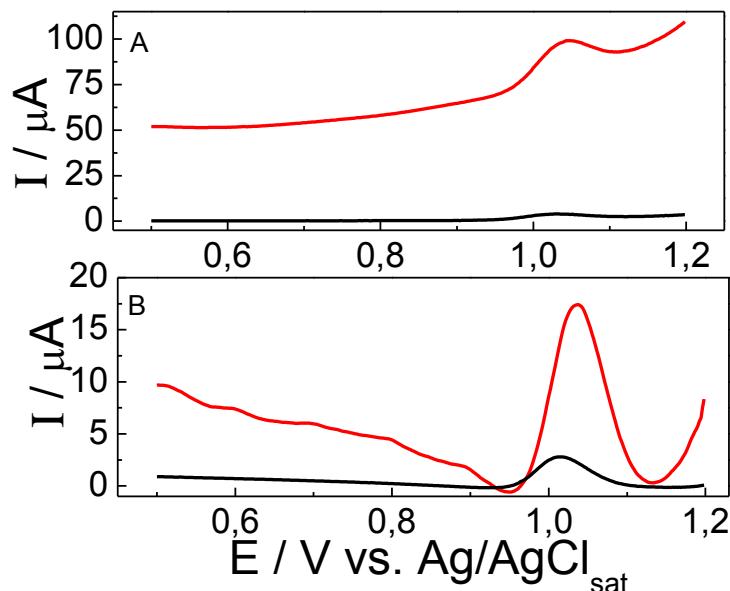
Tabela 2. Parâmetros da DPV avaliados no estudo de otimização empregando o CPE/Si(PDAS)30%.

Parâmetro	Intervalo avaliado	Escolhido
Velocidade de varredura	10 - 30 mV s ⁻¹	10 mV s ⁻¹
Amplitude de pulso	25 - 100 mV	50 mV
Tempo de pulso	5 – 75 ms	25 ms

4.6 CPE preparado com sílica gel não funcionalizada

Para comparação e avaliação da capacidade de pré-concentração de PROP sobre a sílica gel não funcionalizada (Si-Gel), ou seja, sem a imobilização do polímero orgânico PDAS, um CPE foi preparado utilizando este material como modificador. Para o preparo deste eletrodo foram empregadas as condições otimizadas anteriormente, substituindo apenas a Si(PDAS) por Si-Gel. As medidas voltamétricas foram realizadas em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 µmol L⁻¹ de PROP. A Figura 17 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para os dois tipos de eletrodos estudados: CPE/Si(PDAS)30% e CPE/Si-Gel30%.

Figura 17. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 µmol L⁻¹ de PROP empregando diferentes tipos de eletrodos (—) CPE/Si(PDAS)30%, (—) CPE/Si-Gel30%. B) Correção da linha de base: (—) CPE/Si(PDAS)30%, (—) CPE/Si-Gel30% Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.



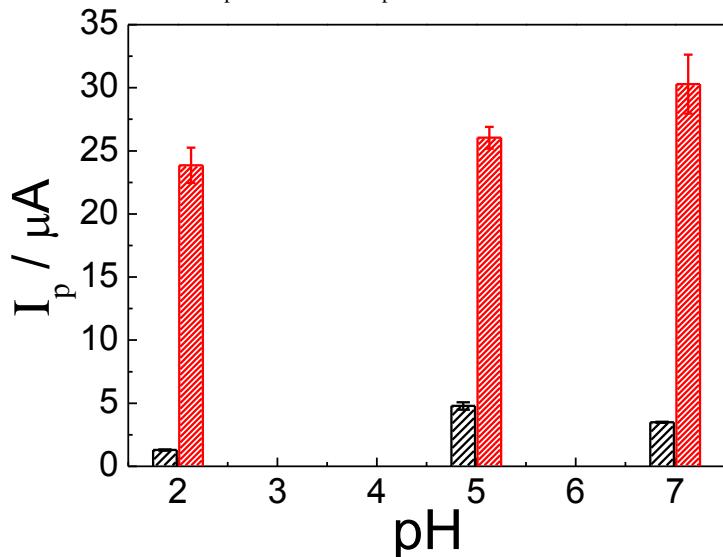
Para o CPE/30%Si-Gel, um aumento considerável na corrente capacitiva foi registrado, comportamento atribuído a elevada área superficial da Si-Gel. A imobilização física do polímero PDAS na superfície da Si-Gel diminui a área superficial deste material e, consequentemente menor área superficial do CPE/Si(PDAS)30% é obtida, resultando em menores valores de corrente capacitiva em relação ao CPE/30%Si-Gel. Normalmente, CPE modificados com materiais não condutores apresentam aumento na corrente residual [61].

Devido à diferença da corrente capacitiva apresentada entre os dois eletrodos estudados e para fins de comparação entre eles, a correção da linha de base se fez necessária. A Figura 17B apresenta os voltamogramas após o tratamento da linha de base realizada pelos dois softwares utilizados, GPES 4.9 e NOVA 2.0. Os voltamogramas de pulso diferencial apresentados na Figura 17 mostram que os dois tipos de sílica empregadas como modificadores são capazes de pré-concentrar PROP na superfície eletródica. Para as medidas realizadas com CPE/Si-Gel30% o pico anódico para PROP é consideravelmente maior, indicando que maior quantidade de PROP pode ser adsorvida na superfície eletródica em relação ao CPE/Si(PDAS)30%. Estes resultados mostram que os grupos silanóis apresentam maior contribuição na pré-concentração de PROP, além disso, a área superficial da sílica gel não funcionalizada é maior em relação a sílica funcionalizada, o que também contribui com a melhora do sinal analítico. Novais *et al.* [6363] relatam que a superfície da sílica não é totalmente recoberta durante a funcionalização pela camada polimérica e alguns grupos silanóis permanecem livres, por este motivo, é possível observar picos de oxidação quando o CPE/Si(PDAS)30% é empregado na pré-concentração.

4.7 Estudo do pH da solução de pré-concentração

O efeito do pH da solução de pré-concentração sobre a resposta voltamétrica de PROP foi avaliado. Soluções de pré-concentração com pH menor que 2 e maior que 7 não foram estudadas, uma vez que a sílica não apresenta estabilidade nestas condições [92]. O gráfico apresentado na Figura 18 mostra a média e desvio padrão para três medidas realizadas em cada pH, utilizando o CPE/Si(PDAS)30% e CPE/Si-Gel30%. As medidas foram registradas após 3 min de pré-concentração em solução de $44 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP, empregando três diferentes superfícies eletródicas.

Figura 18. Gráfico de I_p em função do pH da solução de pré-concentração empregando diferentes tipos de eletrodos (—) CPE/Si(PDAS)30%, (—) CPE/Si-Gel30%. Resultados obtidos em tampão B.R. pH 2, após 3 min de pré-concentração na presença de $44 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $t_p = 25 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.



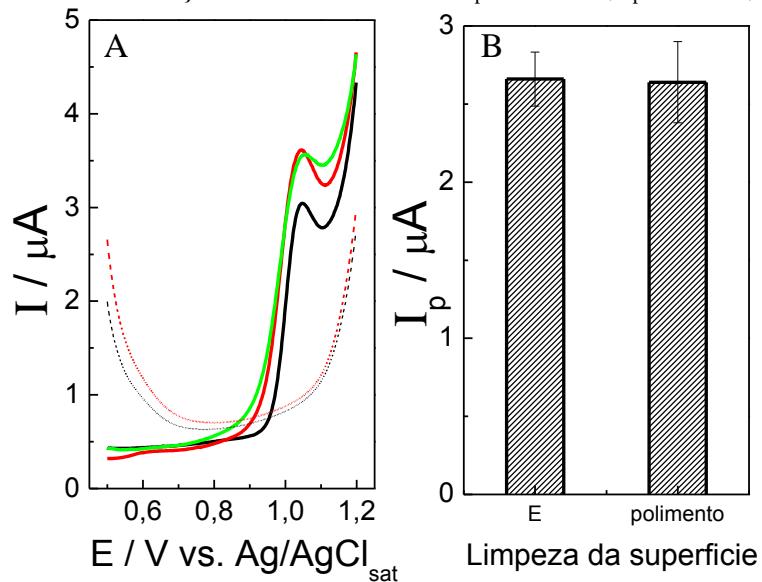
As intensidades de corrente pico anódica não alteram significativamente com a mudança do pH da solução de pré-concentração. Um leve aumento na I_p pode ser observado em pH 7, quando o CPE/Si-Gel30% foi utilizado. Para o eletrodo CPE/Si(PDAS)30%, um aumento na intensidade da resposta voltamétrica foi observado ao alterar o pH da solução de pré-concentração de 2 para 5. Dessa forma, solução de pré-concentração com pH = 5 foi escolhida para os próximos estudos, uma vez que as intensidades de corrente e repetitividade foram satisfatórias para os dois eletrodos empregados nestas condições.

4.8 Otimização da regeneração da superfície eletródica

Visando desenvolver um procedimento eletroquímico de regeneração da superfície eletródica, a fim de aumentar a frequência analítica do método, o eletrodo foi submetido a uma etapa de oxidação eletroquímica, aplicando-se um potencial positivo por 30 s. O objetivo deste estudo é promover uma limpeza eletroquímica da superfície do eletrodo, garantindo que a superfície eletródica esteja sempre nas mesmas condições antes de se iniciar uma nova pré-concentração. Dessa forma, espera-se que a aplicação do potencial positivo cause total oxidação do fármaco adsorvido e assim uma superfície regenerada seria obtida. Para este procedimento, após o registro do voltamograma de pulso diferencial em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2, foi aplicado um $E = +1,5 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{sat}}$ durante 30 s, seguido do registro de outro voltamograma de pulso diferencial. Geralmente, a etapa de limpeza com aplicação de potencial produz

medidas mais repetitivas que a limpeza efetuada a partir do polimento, visto que, a cada vez que o eletrodo é polido uma nova superfície é obtida, diminuindo assim a repetitividade. A Figura 19A apresenta os voltamogramas de pulso diferencial registrados com o CPE/Si(PDAS)30% após a etapa de pré-concentração e regeneração da superfície com aplicação de potencial, representados em linha sólida e linha tracejada, respectivamente. O gráfico de I_p em função dos diferentes procedimentos de regeneração da superfície eletródica estudados está apresentado na Figura 19B.

Figura 19. A) Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, após 3 min de pré-concentração em 44 μmol L⁻¹ de PROP pH 5, empregando CPE/Si(PDAS)30%. (—) 1^a medida, (---) após a etapa de limpeza; (—) 2^a medida, (---) após etapa de limpeza; (—) 3^a medida. **B)** Gráfico de barras da I_p em função dos diferentes tipos de limpezas da superfície. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.



Os voltamogramas de pulso diferencial obtidos após a etapa de limpeza eletroquímica, indicam que, ocorre a completa regeneração da superfície eletródica, uma vez que nenhum pico de oxidação foi observado durante o registro do voltamograma de pulso diferencial obtido após esta etapa. A Figura 19B, mostra que a intensidade das repostas voltamétricas para oxidação de PROP empregando diferentes procedimentos de limpeza não diferem. No entanto, maior dispersão das medidas pode ser observada quando o polimento é utilizado. O teste F (Anexo A) foi realizado para fins de comparação estatística entre os SD obtidos para os diferentes métodos de limpeza estudados. O valor de F calculado (2,33) foi menor que o valor de F crítico (9,605) para 4 graus de liberdade, indicando que ambos os métodos fornecem precisão estaticamente equivalentes.

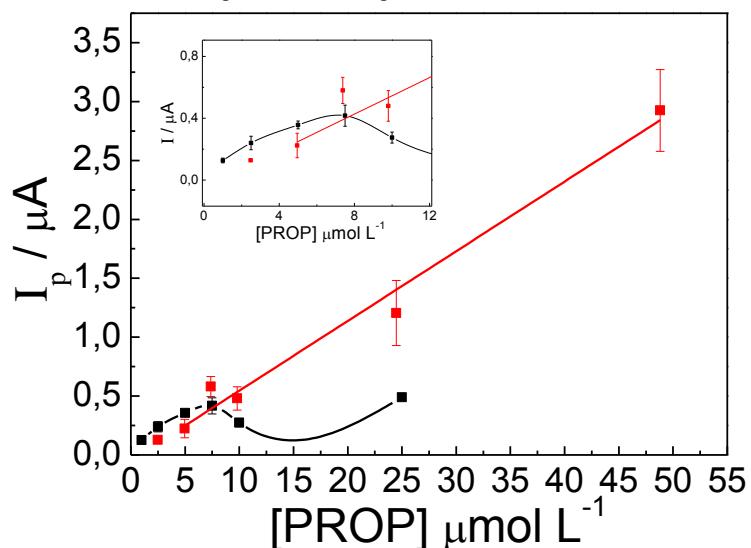
4.9 Construção da Curva Analítica empregando diferentes procedimentos de limpeza

Foram construídas curvas analíticas para cada eletrodo modificado, sendo uma para o CPE/Si(PDAS)30% e a outra CPE/Si-Gel30%. As curvas analíticas foram obtidas utilizando as condições experimentais de análise e os parâmetros operacionais da técnica otimizados anteriormente. Para as curvas obtidas com ambos os eletrodos, dois procedimentos de regeneração da superfície eletródica foram empregados. Estes resultados serão apresentados em duas seções, 4.9.1 e 4.9.2.

4.9.1 Curva Analítica CPE/Si(PDAS)30%

Duas curvas analíticas foram construídas utilizando dois diferentes procedimentos para regeneração da superfície eletródica: polimento mecânico e regeneração eletroquímica. Todas as pré-concentrações foram realizadas durante 3 min em solução de PROP pH 5 e as medidas voltamétricas foram registradas em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2. A Figura 20 mostra as curvas analíticas construídas utilizando a intensidade da corrente de pico como sinal analítico; cada ponto do gráfico corresponde à média e o desvio padrão para 3 pré-concentrações realizadas.

Figura 20. Curva analítica obtida para PROP após 3 min de pré-concentração, utilizando CPE/Si(PDAS)30%, empregando diferentes procedimentos de limpeza: (■) Aplicação de E = +1,5 V durante 30 s; (■) polimento em papel sulfite. Inserido: ampliação da região entre 0 e 12 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$, $t_p = 25 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.



Dois procedimentos de regeneração da superfície eletródica foram estudados a fim de verificar possíveis diferenças nos parâmetros obtidos na curva analítica, tais como: intervalo de concentração linear, sensibilidade e detectabilidade. Para a curva obtida com a regeneração eletroquímica da superfície eletródica, não foi possível observar nenhuma relação linear entre I_p e a concentração de PROP, como pode ser verificado na Figura 20. Além disso, o eletrodo deixou de responder durante a construção da curva analítica. Para comprovar a desativação do eletrodo, este foi então submetido a uma regeneração mecânica da superfície eletródica. Novas pré-concentrações foram realizadas e nenhum pico para oxidação de PROP foi observado (não mostrado). Este comportamento foi notado somente para o CPE/Si(PDAS), indicando assim, que possivelmente o polímero utilizado para funcionalização da sílica pode formar algum produto com aplicação de potencial positivo, podendo este produto ser responsável pela desativação da pasta contida no eletrodo. Além disso, alguns compostos que constituem a pasta do eletrodo podem ser oxidados durante aplicação de potenciais extremamente positivos, contribuindo para desativação da pasta. Experimentos posteriores utilizando as mesmas condições foram realizados e demonstraram que após um período de aplicação de potencial positivo a pasta pertencente ao eletrodo deixa de responder. Assim, este procedimento de limpeza não foi utilizado nos estudos seguintes.

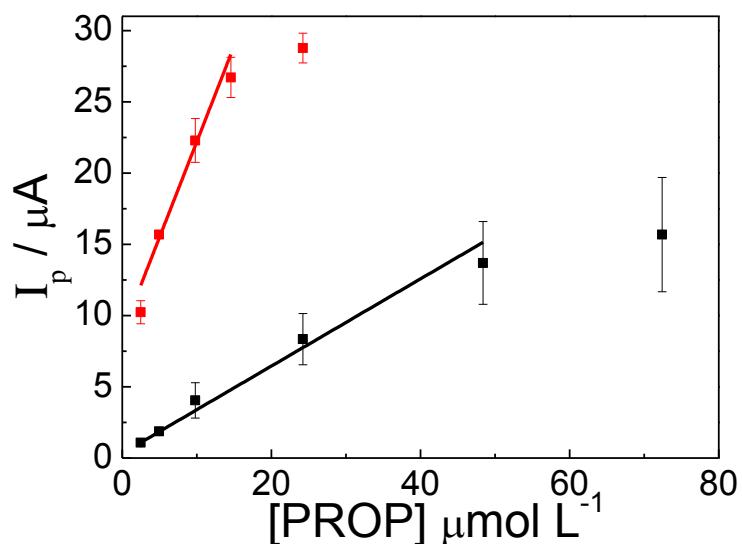
A curva analítica construída utilizando o polimento como procedimento de regeneração da superfície eletródica, apresentou desvios de linearidade para o intervalo completo de concentrações estudado, resultado mais pronunciado nos intervalos iniciais da curva (entre 2,5 a 7,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Mesmo com a existência de intervalos com tendência à linearização, conforme apresentado na Figura 20, nestas condições obteve-se $R^2 = 0,976$, não apresentando viabilidade para determinação de PROP. Segundo a ANVISA, uma curva de calibração aceitável para métodos analíticos deve proporcionar um coeficiente de correlação linear igual ou superior a 0,99 [93]. Este mesmo estudo foi repetido por diversas vezes e nenhum intervalo linear coerente e repetitivo foi obtido. Estes resultados indicam que o método desenvolvido utilizando o CPE/Si(PDAS)30% não é aplicável para determinação de PROP. Nestas condições, este eletrodo não foi mais utilizado para estudos posteriores.

4.9.2 Curva analítica CPE/Si-Gel30%

Duas curvas analíticas foram construídas para o CPE/Si-Gel30% empregando os dois métodos de regeneração da superfície eletródica (eletroquímico e polimento mecânico). Estes estudos foram realizados a fim de verificar também, qual o efeito da limpeza da superfície do eletrodo sobre a curva analítica. Para a curva obtida a partir do polimento mecânico, o CPE/Si-

Gel30% foi polido em papel sulfite comum A4, após o registro de cada voltamograma. Para a regeneração eletroquímica da superfície eletródica, utilizou-se uma célula eletroquímica contendo tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2 e aplicou-se um potencial de +1,5 V por 30 s. Para ambos os métodos, a pré-concentração foi realizada pela imersão do eletrodo de trabalho em solução de PROP pH 5 durante 3 min. A Figura 21 apresenta as curvas analíticas construídas para os dois métodos de limpeza utilizados.

Figura 21. Curva analítica obtida para PROP após 3 min de pré-concentração, utilizando CPE/Si-Gel30%, empregando diferentes procedimentos de limpeza: (■) Aplicação de E = +1,5 V durante 30 s; (■) polimento em papel sulfite A4. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.



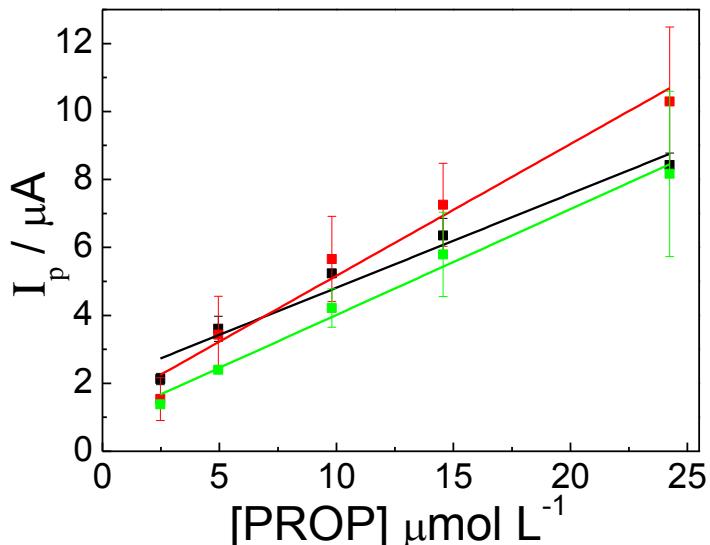
Diferentes intervalos de concentração foram empregados para a construção da curva devido aos diferentes comportamentos obtidos com a mudança do método de regeneração da superfície eletródica. Para a curva analítica construída a partir do polimento mecânico, grande desvio de linearidade neste intervalo estudado foi encontrado ($R^2 = 0,907$), como apresentado na Figura 21. Problemas com a repetitividade podem estar associados à obtenção de superfícies eletródicas com diferentes números de sítios para a pré-concentração de PROP. Vários estudos utilizando este procedimento foram realizados, apesar disso, não foi possível observar nenhum intervalo linear repetitivo para este método. Nestas condições, este procedimento de limpeza não apresentou viabilidade para ser empregado na quantificação de PROP.

Um comportamento diferente foi obtido para a curva analítica construída aplicando-se o método eletroquímico de regeneração da superfície para o CPE/Si-Gel30%. Neste caso, não foi possível observar nenhuma desativação da pasta contida no eletrodo com a aplicação de potencial positivo. Ao contrário, intervalos com maior tendência a linearidade foram obtidos

para faixa de concentrações estudada. A repetitividade da medida foi dificultada para maiores concentrações de PROP e um desvio de linearidade ($R^2 = 0,939$) foi obtido nestas condições.

Visto a linearidade para menores concentrações, optou-se por construir uma nova curva analítica no intervalo de concentrações de 2,5 a 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A Figura 22 mostra curvas analíticas construídas em diferentes dias, utilizando a aplicação de potencial como método de regeneração da superfície eletródica

Figura 22. Curva analítica obtida para PROP após 3 min de pré-concentração, utilizando CPE/Si-Gel30%, com aplicação de $E = +1,5$ V durante 30 s, em diferentes dias: (—) 1º; (—) 2º e (—) 3º dia. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.



Para a construção da curva analítica manteve-se o intervalo de concentração entre 2,5 a 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ constante. Os resultados obtidos para os diferentes dias, mostram dispersão entre as medidas, principalmente para maiores concentrações, com RSD para última concentração estudada de 4, 22 e 29%, para as curvas obtidas no 1º, 2º e 3º dia, respectivamente. Além disso, desvios de linearidades e diferenças nas sensibilidades foram registrados. Para todas as curvas analíticas construídas empregando-se o mesmo procedimento de regeneração da superfície eletródica, os valores de R^2 calculados foram menores que 0,99 valor este determinado pela ANVISA para aceitação de um método analítico [93].

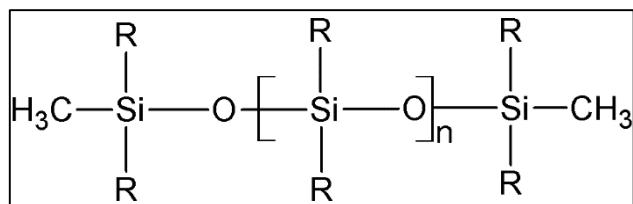
Desta forma, os métodos eletroanalíticos desenvolvidos empregando eletrodos modificados com sílica gel e sílica funcionalizada com PDAS não forneceram bons resultados para a determinação de PROP, limitando sua aplicação em amostras reais.

4.10 CPE utilizando PDMS como aglutinante

4.10.1 Caracterização eletroquímica

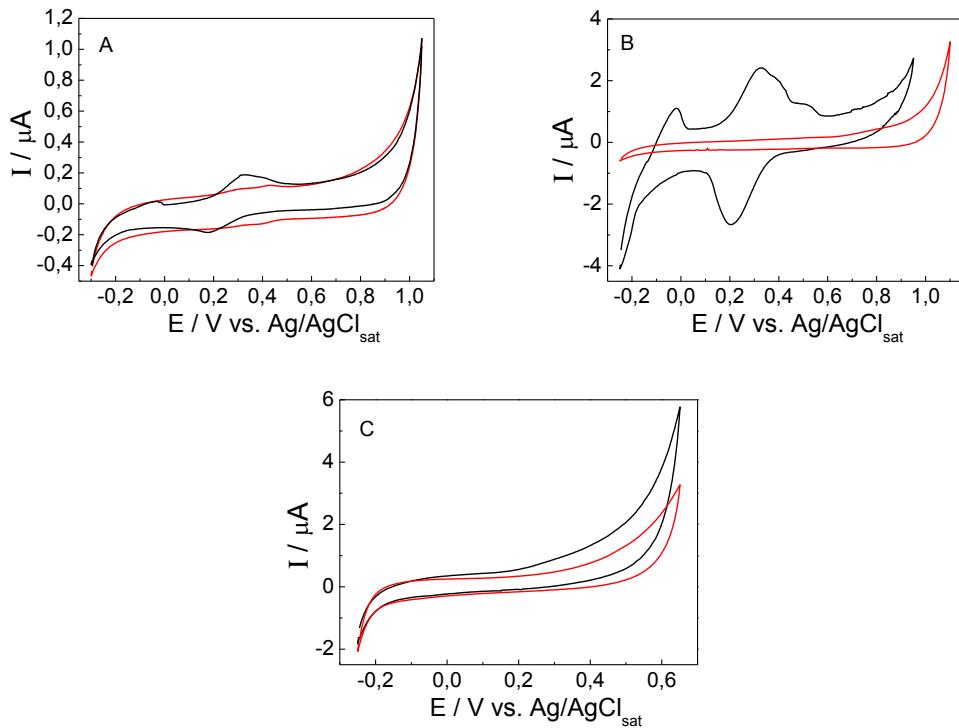
Com base nos resultados não satisfatórios obtidos anteriormente para os eletrodos quimicamente modificados com sílica, um novo eletrodo de pasta de carbono foi preparado. Neste caso nenhum modificador foi empregado e o aglutinante óleo mineral Nujol® foi substituído pelo polímero PDMS, cuja eficiência como aditivo para aumentar a resistência mecânica de pastas de carbono já foi demonstrada na literatura [20]. Este polímero é um silicone cuja sua fórmula estrutural é apresentada na Figura 23.

Figura 23. Estrutura química do polímero polidimetilsiloxano. R refere-se aos grupos CH₃ e n refere-se ao número de unidades monoméricas.



O CPE foi preparado nas proporções em massa de 80% pó de grafite e 20% aglutinante PDMS, neste caso nenhuma etapa de cura foi realizada. O desempenho do eletrodo de pasta de carbono preparado a partir do aglutinante PDMS - CPE/PDMS foi comparado ao de um CPE convencional preparado com Nujol® como aglutinante. Inicialmente, o CPE/PDMS foi avaliado em meio aquoso ácido, neutro e alcalino. As soluções ácidas e alcalinas utilizadas foram preparadas pela adição do ácido concentrado ou da base a uma solução 1 mol L⁻¹ de KCl. A Figura 24 apresenta os voltamogramas cíclicos registrados em diferentes eletrólitos de suporte empregando os eletrodos de pasta de carbono preparados com PDMS e Nujol®.

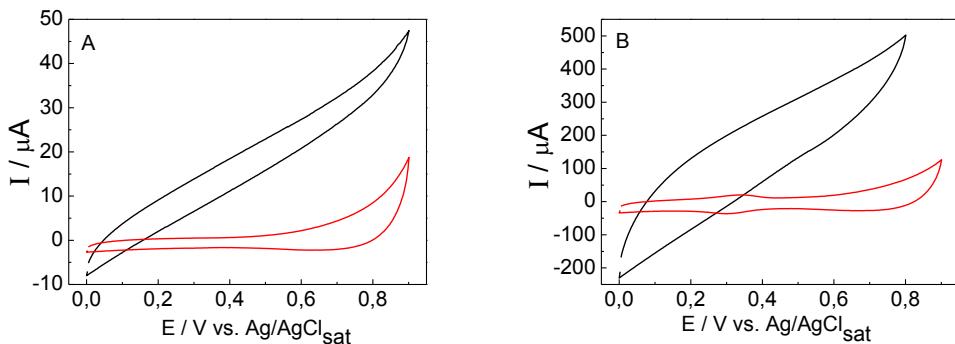
Figura 24. Voltamogramas cílicos registrados em diferentes eletrólitos de suporte, **A)** KCl 1 mol L⁻¹, **B)** HCl 0,1 mol L⁻¹ + KCl 1 mol L⁻¹ e **C)** NaOH 0,1 mol L⁻¹ + KCl 1 mol L⁻¹: (—) CPE/Nujol® e (—) CPE/PDMS. Velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.



Os resultados apresentados na Figura 24 mostram que para todos os eletrólitos de suporte estudados a corrente residual para o CPE/PDMS foi menor em comparação ao CPE/Nujol® e, ainda nenhum processo redox foi registrado. Nenhuma mudança significativa na corrente residual para ambos os eletrodos após vinte ciclos contínuos de potencial foi observada, apresentando assim boa estabilidade. O intervalo útil de potencial foi semelhante para os dois eletrodos, porém em meio ácido o CPE/PDMS apresentou um intervalo ligeiramente maior.

Estudos em meios mistos contendo 50% de água e 50% de um solvente orgânico (metanol ou etanol) também foram realizados com o objetivo de verificar a aplicabilidade do CPE/PDMS nestes meios, uma vez que o CPE/Nujol® apresenta limitações para ser aplicado nesta condição [94]. A Figura 25 apresenta os voltamogramas cílicos registrados em soluções de KCl 1 mol L⁻¹ com 50% de diferentes solventes orgânicos.

Figura 25. Voltamogramas cíclicos (ciclo 2) registrados em diferentes eletrólitos de suporte, **A)** KCl 1 mol L⁻¹ + 50% metanol, **B)** KCl 1 mol L⁻¹ + 50% etanol: (—) CPE/Nujol® e (—) CPE/PDMS. Velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.

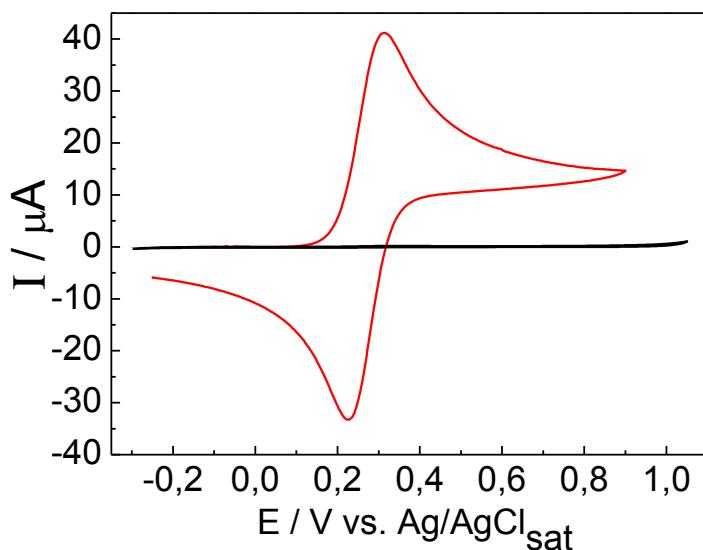


Os voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 25 mostram que para as soluções com 50% de solvente orgânico o CPE/PDMS também apresentou menor corrente residual em relação ao CPE/Nujol®, indicando melhor estabilidade neste meio. Contudo, foi observado para ambos os eletrodos um aumento gradativo da corrente residual durante ciclos contínuos de potencial, mostrando que estabilidade neste meio é menor em relação ao meio aquoso.

De forma geral, os resultados apresentados mostram que o CPE/PDMS apresenta melhor desempenho em relação ao CPE/Nujol®, uma vez que menores correntes residuais e intervalos úteis de potenciais similares aos obtidos para o CPE/Nujol® foram observados.

A próxima etapa de caracterização realizada foi a avaliação do desempenho do CPE/PDMS empregando K₄[Fe(CN)₆]. Esta espécie eletroativa possui comportamento eletroquímico bem estabelecido, sendo geralmente empregada como analito “modelo” nos estudos de caracterização eletroquímica. A Figura 26 apresenta o estudo voltamétrico realizado em 1 mol L⁻¹ de KCl na ausência e na presença de 1 mmol L⁻¹ de K₄[Fe(CN)₆].

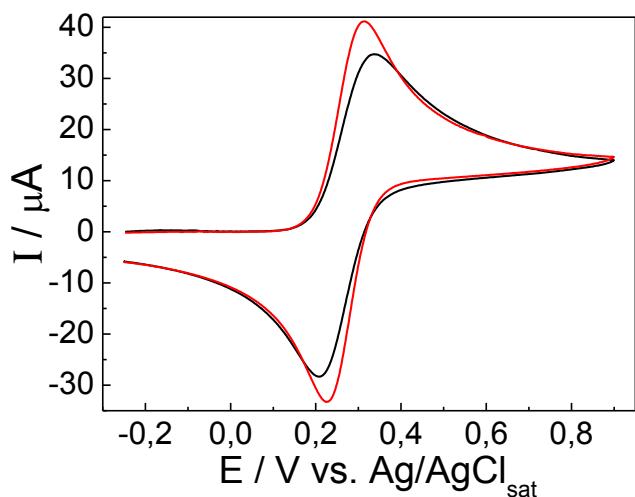
Figura 26. Voltamogramas cílicos registrados em KCl 1 mol L⁻¹ empregando CPE/PDMS: (—) ausência e (—) presença de 1 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]⁴⁻. Velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.



As respostas voltamétricas apresentadas na Figura 26 mostram que o voltamograma cíclico registrado em eletrólito de suporte possui baixa corrente residual e nenhum processo redox foi observado, indicando a ausência de impurezas eletroativas na superfície eletródica. Na presença de [Fe(CN)₆]⁴⁻ foram observados dois picos definidos, atribuídos ao par redox [Fe(CN)₆]⁴⁻/ [Fe(CN)₆]³⁻, indicando que o CPE preparado com PDMS apresenta capacidade para ser empregado no estudo de compostos eletroativos.

A resposta voltamétrica do par redox [Fe(CN)₆]⁴⁻/ [Fe(CN)₆]³⁻ também foi avaliada no CPE/Nujol® e os resultados foram comparados aos obtidos com o CPE/PDMS. A Figura 27 apresenta os voltamogramas registrados na presença de [Fe(CN)₆]⁴⁻ empregando os dois diferentes eletrodos de pasta de carbono preparados.

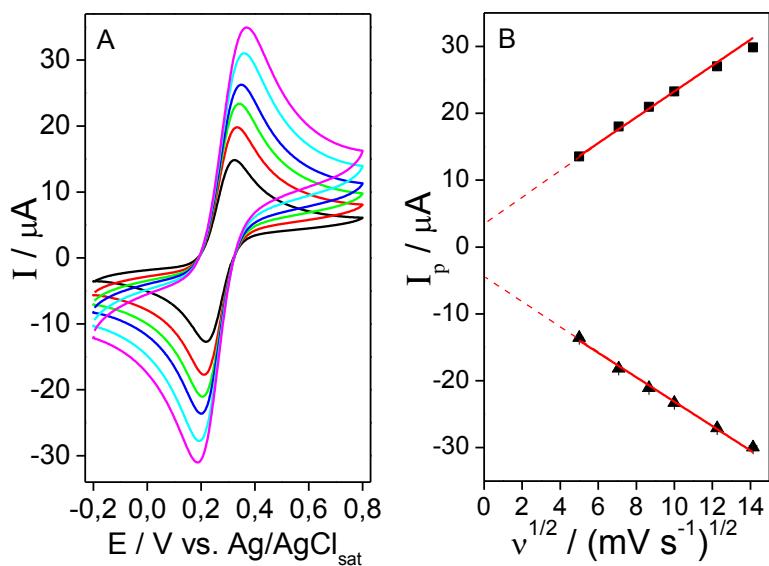
Figura 27. Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1 mol L⁻¹ na presença 1 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]⁴⁻ empregando diferentes eletrodos: (—) CPE/Nujol®; (—) CPE/PDMS. Velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.



As respostas voltamétricas mostram que o CPE/PDMS apresenta uma melhor resposta voltamétrica, uma vez que picos mais intensos atribuídos ao par redox [Fe(CN)₆]⁴⁻/[Fe(CN)₆]³⁻ foram registrados. Além disso, a diferença de potencial de pico (ΔE_p) foi menor para CPE/PDMS (86 mV) em relação ao CPE/Nujol® (125 mV), demonstrando assim, que este apresenta melhor desempenho. A partir destes resultados, os próximos estudos de caracterização eletroquímica foram realizados empregando apenas o CPE/PDMS.

Outro parâmetro avaliado para verificar o desempenho do eletrodo foi a velocidade de varredura (v). Voltamogramas cíclicos foram realizados em KCl 1 mol L⁻¹ na presença de 1 mmol L⁻¹ [Fe(CN)₆]⁴⁻ empregando diferentes velocidades de varredura no intervalo de 25 a 200 mV s⁻¹, estes resultados são apresentados na Figura 28.

Figura 28. A) Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1 mol L⁻¹ na presença de 1 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]⁴⁻ empregando CPE/PDMS em diferentes velocidades de varredura: (—) 25, (—) 50, (—) 75, (—) 100, (—) 150, (—) 200 mV s⁻¹. B) Gráfico de I_p em função v^{1/2}.



Um aumento na intensidade da corrente de pico anódica e catódica foi registrado com o aumento da velocidade de varredura. Uma relação linear entre a I_p e a v^{1/2} foi obtida como previsto pela equação de Randles-Sevcik para uma reação reversível controlada por difusão [95]. As seguintes equações da reta foram obtidas para as correntes anódicas e catódicas: I_{pa}(μA) = 1,92 (μA mV⁻¹ s) v^{1/2} (mV s⁻¹)^{1/2} + 3,94 (μA), R² = 0,995 e I_{pc}(μA) = -1,82 (μA mV⁻¹ s) v^{1/2} (mV s⁻¹)^{1/2} - 4,86 (μA), R² = 0,997, respectivamente. Os valores de coeficientes angulares obtidos dos gráficos de I_{pa} vs. v^{1/2} e I_{pc} vs. v^{1/2} são muito próximos, levando a uma razão próxima a 1.

A Tabela 3 apresenta alguns parâmetros voltamétricos determinados em diferentes valores de v.

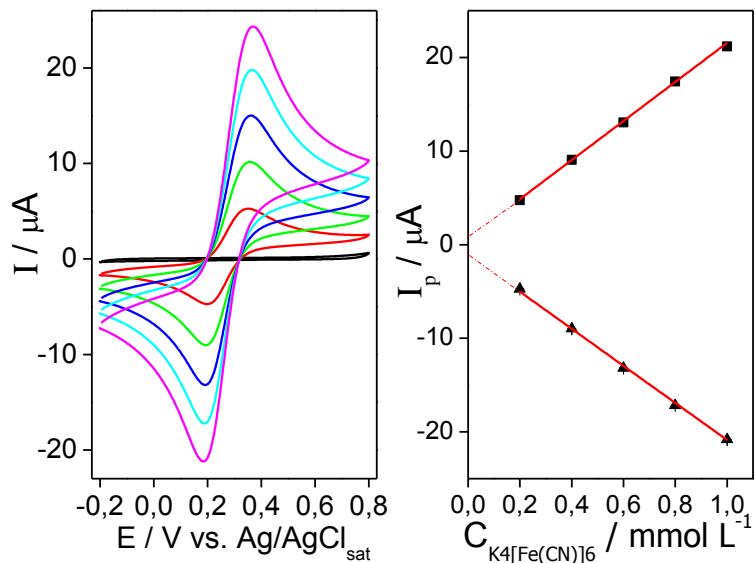
Tabela 3. Parâmetros voltamétricos obtidos para 1 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]^{4-/3-} em 1 mol L⁻¹ de KCl empregando CPE/PDMS.

v (mV s ⁻¹)	E _{pa} (mV)	E _{pc} (mV)	ΔE _p (mV)	I _{pa} /I _{pc}
25	319	222	97	0,99
50	329	217	112	0,98
75	337	210	127	0,99
100	341	207	134	0,99
150	354	200	154	0,99
200	361	195	166	1,00

Os valores de ΔE_p variaram de 97 a 160 mV com o aumento da velocidade de varredura. Segundo a literatura [95], processos reversíveis que envolvem a transferência de 1 elétron, como é o caso do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, devem possuir ΔE_p próximo a 59 mV. Contudo, para os CPE e CMCPE os valores de ΔE_p são maiores que o previsto [20,37,96] pois estes eletrodos, são formados por partículas condutoras de pó de grafite e um líquido aglutinante normalmente não condutor, produzindo um material menos condutor que os eletrodos metálicos ou de carbono vítreo. Esta menor condutividade manifesta-se como uma limitação cinética à reação de transferência eletrônica, o que leva a um aumento de ΔE_p e a uma dependência deste parâmetro com a velocidade de varredura. A razão entre I_{pa} e I_{pc} foi aproximadamente 1, uma vez que para sistemas reversíveis a intensidade da I_{pa} e I_{pc} são próximas em valores absolutos, mas com sinais diferentes [97].

Visando avaliar a dependência da I_p com a concentração de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ empregando CPE/PDMS, medidas voltamétricas foram feitas no intervalo de potencial de -0,2 a +0,8 V vs. $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$ em solução de KCl 1 mol L⁻¹ em diferentes concentrações de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. Na Figura 29 são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos nas diferentes concentrações e as curvas de I_p em função da concentração.

Figura 29. A) Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1 mol L⁻¹ empregando CPE/PDMS na presença de diferentes concentrações de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$: (—) branco, (—) 0,2, (—) 0,4, (—) 0,6, (—) 0,8, (—) 1,0 mmol L⁻¹. **B)** Gráfico de I_p em função concentração de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.



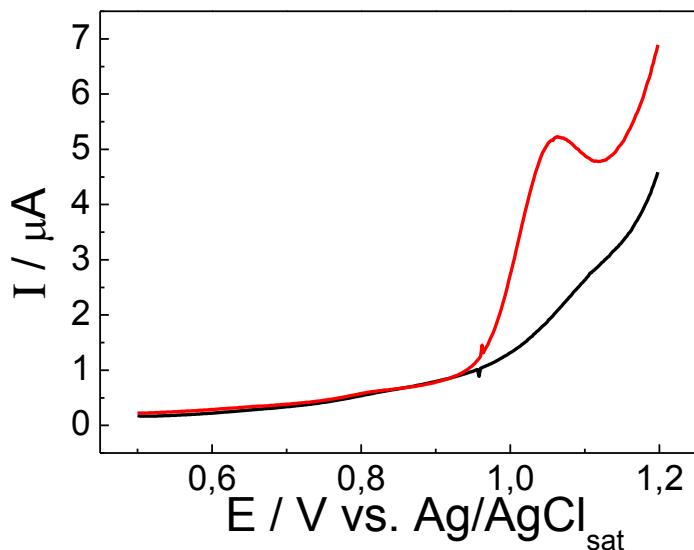
Os resultados apresentados na Figura 29 mostram que tanto a I_{pa} quanto a I_{pc} aumentam linearmente com o aumento da concentração de hexacyanoferrato (II) de potássio no intervalo de 0,2 a 1 mmol L⁻¹. Para este estudo foram obtidas as seguintes equações lineares:

I_{pa} (μ A) = 20,86 (μ A mmol $^{-1}$ L) $C_{K4[Fe(CN)6]}$ (mmol L $^{-1}$) + 0,69 (μ A), R^2 = 0,999 e I_{pc} (μ A) = -19,80 (μ A mmol $^{-1}$ L) $C_{K4[Fe(CN)6]}$ (mmol L $^{-1}$) - 1,06 (μ A), R^2 = 0,999. A boa correlação obtida entre os coeficientes lineares mostra que não ocorre nenhum processo de passivação na superfície do eletrodo. Dessa forma, os resultados obtidos demostram que o CPE/PDMS apresenta potencialidade para aplicações analíticas.

4.10.2 CPE/PDMS aplicados para a determinação de PROP

Diante da potencialidade do eletrodo, a resposta voltamétrica do PROP foi avaliada utilizando o CPE/PDMS. Para as medidas voltamétricas foram utilizados os parâmetros operacionais da técnica otimizados para o CPE/Si(PDAS)30%. Os voltamogramas de pulso diferencial registrados na presença de PROP foram obtidos diretamente na célula eletroquímica contendo 10 mL de tampão B.R. 0,04 mol L $^{-1}$ pH 2, sem realizar qualquer etapa de pré-concentração. A Figura 30 mostra os voltamogramas obtidos na ausência e na presença de PROP.

Figura 30. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L $^{-1}$ pH 2, empregando CPE/PDMS: (—) ausência de PROP; (—) 50 μ mol L $^{-1}$ de PROP. Condições voltamétricas: ΔE_p = 50 mV, t_p = 25 ms, v = 10 mV s $^{-1}$.



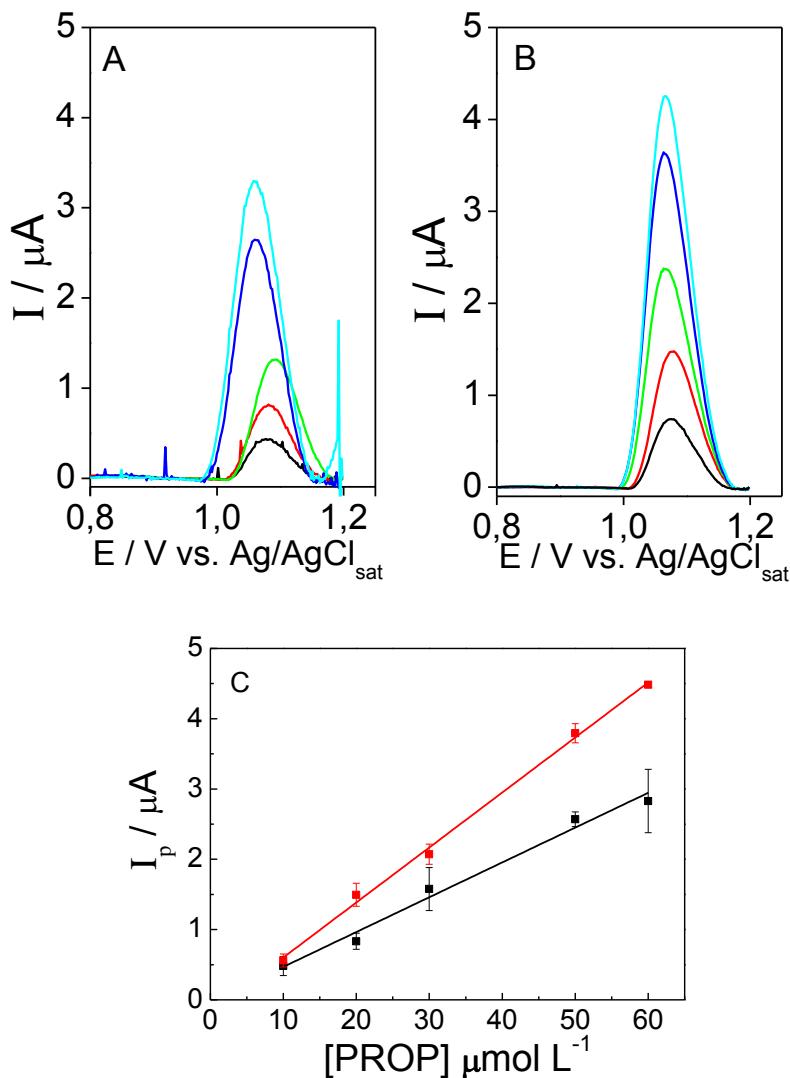
O voltamograma de pulso diferencial registrado na presença de 50 μ mol L $^{-1}$ PROP apresentou um pico anódico em aproximadamente 1,05 V, resposta voltamétrica característica da oxidação deste fármaco [83]. Sucessivos voltamogramas de pulso diferencial, sem executar qualquer procedimento de regeneração da superfície eletródica, foram realizados. Notou-se então, que a intensidade da I_p para oxidação de PROP decrescia a cada medida, indicando que

algum produto formado na oxidação do fármaco promove a passivação da superfície eletródica. Dessa forma, foi necessário realizar a regeneração da superfície através do polimento mecânico. O polimento mecânico foi escolhido como método para a regeneração da superfície eletródica uma vez que com os estudos realizados anteriormente, notou-se que pasta preparada com a sílica funcionalizada com polímero PDAS desativa com a aplicação de potencial positivo. Com o objetivo de avaliar a repetitividade das medidas, 6 voltamogramas de pulso diferencial foram registrados em $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PROP, realizando a regeneração mecânica da superfície eletródica a cada medida. Um valor de RSD = 3% foi obtido para 6 diferentes superfícies eletródicas. Estes resultados demonstram que esta etapa de limpeza pode ser realizada com êxito sem prejudicar a precisão das medidas.

4.10.3 Curvas analíticas empregando CPE/PDMS e CPE/NUJOL

Utilizando as condições voltamétricas otimizadas para o CPE/Si(PDAS)30%, foi construída uma curva analítica empregando o CPE/PDMS. Os voltamogramas de pulso diferencial foram realizados em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2, variando-se a concentração de PROP. Paralelamente, foi construída uma curva analítica para o CPE preparado com 20% em massa de óleo mineral Nujol®, seguindo as mesmas condições empregadas para curva construída com CPE/PDMS. É importante ressaltar que para ambos os eletrodos as medidas voltamétricas na presença de PROP foram realizadas diretamente na célula eletroquímica, sem qualquer etapa de pré-concentração. Concentrações menores de PROP foram estudadas, porém somente obteve-se resposta voltamétrica a partir de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$. A Figura 31 apresenta os voltamogramas e as curvas analíticas construídas, sendo cada ponto das curvas correspondente à média e o desvio padrão obtido para três medidas com diferentes superfícies eletródicas. O cálculo da I_p foi realizado a partir da correção de linha de base no software NOVA 2.0.

Figura 31. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, empregando dois eletrodos **A)** CPE/Nujol®, **B)** CPE/PDMS, na presença de diferentes concentrações de PROP: (—) 10, (—) 20, (—) 30, (—) 50, (—) 60 μmol L⁻¹. **C)** Curva analítica obtida para PROP empregando eletrodos de pasta de carbono preparados com diferentes aglutinantes: (—) Nujol®; (—) PDMS. Condições voltamétricas: ΔE_p = 50 mV, t_p = 25 ms, v = 10 mV s⁻¹.



As curvas analíticas obtidas para ambos os eletrodos foram lineares no intervalo de 10 a 60 μmol L⁻¹, acima deste valor de concentração desvios de linearidade foram observados. As seguintes equações da reta foram obtidas para as curvas analíticas: I_p (μA) = 0,078 ($\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{L}$) C_{PROP} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) - 0,180(μA), R^2 = 0,997 e I_p (μA) = 0,049 ($\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{L}$) C_{PROP} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) - 0,026 (μA), R^2 = 0,981, para o CPE/PDMS e CPE/NUJOL®, respectivamente. A inclinação da curva obtida para o CPE/PDMS é maior em relação à inclinação da curva analítica para CPE/Nujol®, indicando maior sensibilidade para o CPE/PDMS. Os valores de limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram determinados pelas Equações 3 e 4.

$$LD = \frac{3SD_B}{S} \text{ Equação 2}$$

$$LQ = \frac{10SD_B}{S} \text{ Equação 3}$$

Onde, SD_B o desvio padrão do intercepto da curva analítica e o S o coeficiente angular da curva analítica.

A Tabela 4 mostra os valores de LD e LQ obtidos para os diferentes eletrodos.

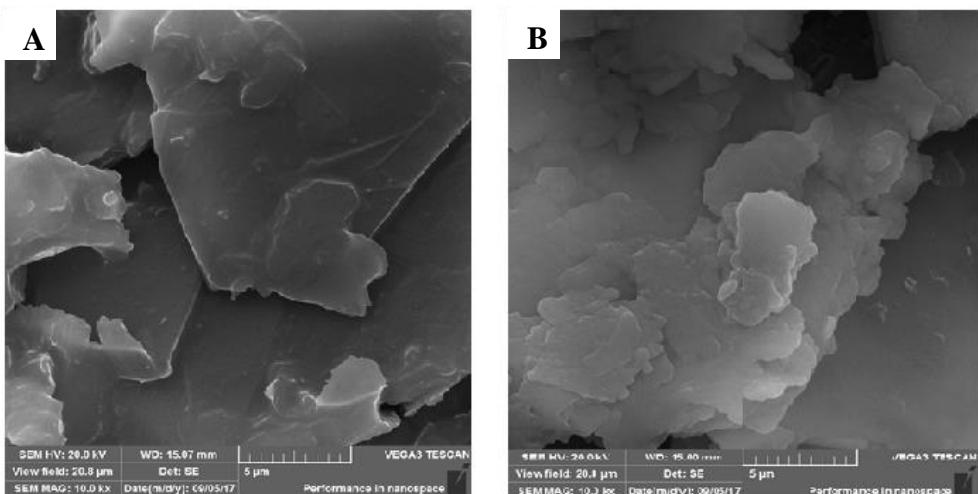
Tabela 4. Parâmetros analíticos obtidos para as curvas analíticas empregando os dois eletrodos.

Eletrodo	Intervalo Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$)
CPE/PDMS	10 a 60	3	10	0,078
CPE/Nujol®	10 a 60	8	27	0,049

Os resultados apresentados na Tabela 4 mostram que método analítico desenvolvido neste trabalho empregando o CPE/PDMS apresenta menores LD e LQ. Além disso, a sensibilidade obtida para este eletrodo foi 38% maior que a sensibilidade obtida com o CPE/Nujol®.

A fim de caracterizar a morfologia dos eletrodos estudados, a técnica de microscopia eletrônica de varredura (SEM, do inglês *Scanning Electron Microscopy*) foi empregada. A caracterização foi realizada com a pasta de carbono preparada para a construção de cada eletrodo, CPE/PDMS e CPE/Nujol®. A Figura 32 apresenta os resultados obtidos para as diferentes pastas preparadas.

Figura 32. Imagens obtidas por SEM com ampliação de 10 mil vezes para a pasta de carbono preparada com: **A)** PDMS e **B)** Nujol®.



Conforme pode ser observado na Figura 32, o aglutinante utilizado no preparo da pasta de carbono afeta fortemente a morfologia. A pasta preparada com PDMS apresenta uma morfologia com menor rugosidade em relação a pasta preparada com Nujol®. Este comportamento é coerente com o fato de o CPE/PDMS ter apresentado melhor desempenho voltamétrico para a oxidação de PROP. Os resultados apresentados nesta seção associados a robustez do CPE/PDMS, são satisfatórios [93] e justificam sua aplicação na quantificação de PROP em formulações farmacêuticas.

4.10.4 Determinação de PROP em formulações farmacêuticas

Para avaliar o método analítico desenvolvido empregando CPE/PDMS, amostras de formulações farmacêuticas foram analisadas seguindo o procedimento descrito na seção 3.5. A concentração de PROP na amostra foi determinada através da equação da reta obtida pela curva analítica construída. Como método comparativo, as amostras também foram analisadas pela técnica de espectroscopia com absorbância molecular na região do UV-vis, sendo esta uma das técnicas descritas pela farmacopeia brasileira para análise de PROP [85]. Os teores de PROP determinados nas quatro amostras de formulações farmacêuticas estudadas são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Resultados analíticos para determinação de Cloridrato de Propranolol em formulações farmacêuticas.

Amostra	Teor nominal (mg/comp.)	PROP encontrado (mg/comp.) *	PROP encontrado (mg/comp.) * pelo método de UV-vis	F**	t***
A		41 ± 2	40 ± 1	4	1,0
B		38 ± 3	40 ± 1	9	1,3
C	40	39 ± 1	38 ± 1	1	0,2
D		40 ± 1	40 ± 1	1	1,1

*Valor apresentado como (valor médio ± desvio padrão); **F_{2/2} = 39. ***t = 2,78 (P = 0,05 e 4 graus de liberdade)
Fonte: Referência para os cálculos de F e t [97].

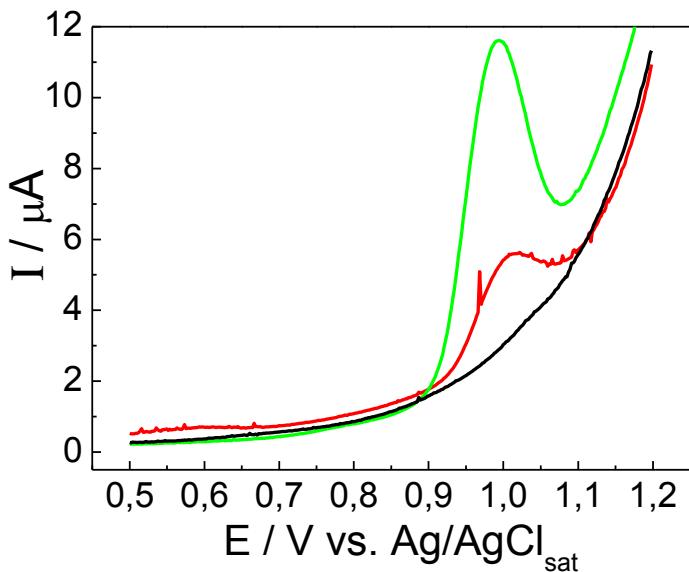
As quantidades de PROP encontradas nas amostras de formulações farmacêuticas empregando ambos os métodos (DPV e UV-vis) estão de acordo com o teor informado pelo fabricante, indicando que o método desenvolvido pode ser aplicado na quantificação de PROP nestas amostras. Além disso, a Tabela 5 mostra que não existem diferenças estatísticas entre o teor de PROP obtido pelo método voltamétrico proposto e o método UV-vis, uma vez que os valores de F e t calculados são menores que os valores críticos (Anexo A). Portanto, esses resultados demonstram que a exatidão e precisão apresentadas pelo método proposto são

satisfatórias e que o mesmo pode ser empregado para a determinação de PROP em amostras de formulações farmacêuticas.

4.11. Estudos de extração em Fase Sólida

Após verificar que o método analítico desenvolvido empregando o CPE/PDMS foi satisfatório para quantificação de PROP em formulações farmacêuticas, este eletrodo foi avaliado para a detecção voltamétrica de PROP após estudos de extração em fase sólida. Como sorvente foi empregado o material desenvolvido por Novais *et al.* [63], o qual foi utilizado na modificação dos eletrodos de pasta de carbono descritos na primeira seção desta dissertação, Si(PDAS). A técnica de extração por fase sólida tem como finalidade extrair as espécies da matriz que estão sendo analisadas e concentrá-las utilizando, posteriormente, um solvente para eluir o analito do sorvente. Na metodologia proposta por Novais *et al.* [63], foram utilizados cartuchos de extração em fase sólida contendo o sorvente Si(PDAS) para determinar PROP através da técnica de cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama. No presente trabalho, a detecção cromatográfica do fármaco foi substituída pela detecção voltamétrica empregando CPE/PDMS. Para isso, 50 mL de uma solução aquosa de PROP 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram eluídos pelos cartuchos contendo o Si(PDAS), posteriormente 10 mL de metanol foram utilizados para extraer o fármaco, após a extração o solvente foi totalmente evaporado e o PROP foi recuperado em 5 mL de eletrólito de suporte. A Figura 33 mostra os voltamogramas registrados no resíduo (solução restante após a etapa de pré-concentração) e no extrato dos fármacos (após a eluição do analito).

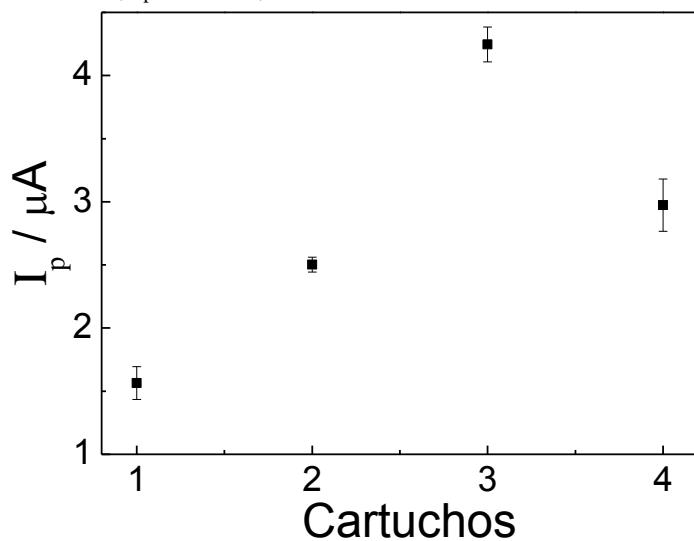
Figura 33. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, empregando CPE/PDMS em diferentes soluções: (—) resíduo, (—) extrato, (—) adição de 100 µmol L⁻¹ de PROP no extrato. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.



Conforme observado na Figura 33 nenhum pico anódico referente a oxidação de PROP pode ser observado no voltamograma registrado na solução do resíduo, indicando assim, que todo o fármaco permaneceu adsorvido na fase sólida contida no cartucho. O voltamograma registrado no extrato apresenta um pico voltamétrico em aproximadamente 1 V, o qual pode ser atribuído à oxidação do PROP. Para comprovar que este pico anódico era referente a oxidação do fármaco, 100 µmol L⁻¹ do padrão de PROP foram adicionados na célula eletroquímica e, então um voltamograma de pulso diferencial foi registrado. Nestas condições, um pico anódico mais intenso foi observado em aproximadamente 1 V, confirmando assim que o fármaco pré-concentrado em Si(PDAS) foi eluído com metanol.

Após verificar que CPE/PDMS poderia ser aplicado na detecção de PROP após o procedimento de SPE, novos cartuchos foram preparados nas mesmas condições e testados. A Figura 34 mostra o gráfico da intensidade de corrente de pico obtida para oxidação de PROP após a SPE empregando quatro diferentes cartuchos, cada ponto no gráfico corresponde à média e o desvio padrão de 3 medidas realizadas no mesmo extrato.

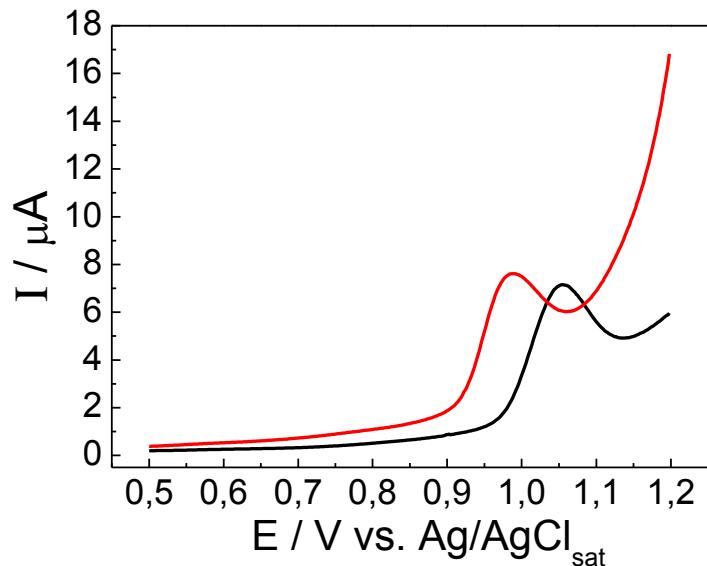
Figura 34. Gráfico da I_p em função dos diferentes cartuchos empregados na SPE. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s $^{-1}$.



As intensidades de corrente de pico para oxidação de PROP variaram significativamente ao empregar diferentes cartuchos no procedimento de SPE. Estes resultados sugerem que quantidades diferentes de PROP podem ser eluídas da fase sólida. Estes resultados corroboram para interpretação da dificuldade de reproduzibilidade obtida no eletrodo de pasta de carbono modificado com este material.

Com o objetivo de verificar se o PROP pré-concentrado estava sendo completamente extraído, os cartuchos utilizados anteriormente foram submetidos a uma nova etapa de eluição. Para isso, 10 mL de metanol foram novamente eluídos pelos cartuchos e recolhidos. Após a completa evaporação, 5 mL de eletrólito de suporte foram adicionados nestes recipientes e voltamogramas de pulso diferencial foram registrados. A Figura 35 apresenta os voltamogramas obtidos após a primeira e segunda etapa de eluição com 10 mL de metanol.

Figura 35. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹ pH 2, empregando CPE/PDMS após o procedimento a etapa de eluição do analito: (—) 1º eluição com metanol, (—) 2º eluição com metanol. Volume do eluente: 10 mL. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50$ mV, $t_p = 25$ ms, $v = 10$ mV s⁻¹.



Os voltamogramas apresentados na Figura 35 mostram que mesmo após duas etapas de eluição com metanol, sem realizar uma nova pré-concentração de PROP, um pico anódico referente a oxidação do fármaco ainda foi registrado, demonstrando, assim, que uma fração do fármaco fica ainda adsorvida na fase sólida após eluir 10 mL de metanol pelos cartuchos. Na maioria dos estudos que empregam a SPE, os cartuchos geralmente são utilizados uma única vez, além disso, é relatada uma baixa reprodutibilidade entre diferentes cartuchos [98]. Desta forma, devido a baixa reprodutibilidade dos cartuchos empregados e devido a ineficiência do metanol em eluir completamente o PROP dos cartuchos, optou-se pelo não prosseguimento destes estudos.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram que o CPE/Si(PDAS) é capaz de pré-concentrar PROP. O CPE/Si-Gel também apresenta capacidade para pré-concentrar PROP e uma maior intensidade na corrente de pico anódica de PROP é obtida, indicando que os grupos silanóis presentes na sílica apresentam maior contribuição na pré-concentração do fármaco. Entretanto, com nenhum deles foi possível o desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para determinação de PROP, uma vez que não apresentaram estabilidade e reprodutibilidade apropriada. Os estudos de extração em fase sólida realizados comprovaram a baixa reprodutibilidade do material empregado como modificador.

O método eletroanalítico desenvolvido empregando o CPE/PDMS como eletrodo de trabalho apresentou um intervalo linear de 10 a 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LD de 3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LQ de 10 $\mu\text{mol L}$. Além disso, este eletrodo mostrou um melhor desempenho em relação ao CPE/NUJOL para diferentes meios estudados. Através das imagens obtidas por SEM, verificou-se que o aglutinante afeta a morfologia da pasta de carbono. A pasta preparada com PDMS apresentou morfologia menos rugosa, o que é coerente com o melhor desempenho voltamétrico obtido para este eletrodo. O CPE/PDMS foi aplicado na quantificação de PROP em 4 amostras de formulações farmacêuticas. As quantidades de PROP encontradas nas amostras de formulações farmacêuticas empregando o CPE/PDMS foram concordantes com o teor informado pelo fabricante. Além disso, os resultados apresentados mostraram que não existem diferenças estatísticas entre o teor de PROP obtido pelo método voltamétrico proposto e o método UV-vis, uma vez que os valores de F e t calculados são menores que os valores críticos. Estes resultados indicam que o método eletroanalítico proposto neste trabalho é preciso e exato, podendo ser empregado com êxito para determinação de PROP em amostras de formulações farmacêuticas.

Estudos de extração em fase sólida empregando a detecção voltamétrica mostram que o CPE/PDMS pode ser empregado na detecção de PROP após a extração. Contudo, algumas otimizações no processo de pré-concentração e eluição do analito precisam ser realizadas. Devido ao prazo de defesa desta dissertação estes estudos serão realizados posteriormente.

6 REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 SIDDIQUI, M. R.; ALOTHMAN, Z. A.; RAHMAN, N. Analytical techniques in pharmaceutical analysis: a review. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. 1409-1421, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.04.016>
- 2 USLU, B.; OZKAN, S. A. Electroanalytical methods for the determination of pharmaceuticals: a review of recent trends and developments. **Electrochemistry**, v. 44, p. 2644-2702, 2011. <https://doi.org/10.1080/00032719.2011.553010>
- 3 SANTOS, A. L.; TAKEUCHI, R. M.; STRADIOTTO, N. R. Electrochemical, spectrophotometric and liquid chromatographic approaches for analysis of tropical disease drugs. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 5, n. 1, p. 69-88, 2009. <https://doi.org/10.2174/157341209787314927>
- 4 PACHECO, W. F.; SEMAAN, F. S.; ALMEIDA, V. G. K.; RITTA, A. G. S. L.; AUCÉLIO, R. Q. Voltametrias: uma breve revisão sobre conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, p. 516-537, 2013.
- 5 OZKAN, S. A.; USLU, B.; ABOUL-ENEIN, H. Y. Analysis of pharmaceuticals and biological fluids using modern electroanalytical techniques. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 33, p. 155-181, 2003. <https://doi.org/10.1080/713609162>
- 6 OLIVEIRA, S. N.; RIBEIRO, F. W. P.; SOUSA, C. P.; SOARES, J. E. S.; SUFFREDINI, H. B.; BECKER, H.; LIMA-NETO, P.; CORREIA, A. N. Imipramine sensing in pharmaceutical formulations using boron-doped diamond electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 788, p. 118-124, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.01.067>
- 7 FARIA, E. O.; LOPES JUNIOR, A. C. V.; SOUTO, D. E. P.; LEITE, F. R. F.; LUZ, R. C. S.; SANTOS, A. S.; FRANCO, D. L.; SANTOS, W. T. P. Simultaneous determination of caffeine and acetylsalicylic acid in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond film electrode by differential pulse voltammetry. **Electroanalysis**, v. 24, p. 1141-1146, 2012. <https://doi.org/10.1002/elan.201200018>
- 8 TAMMARI, E.; NEZHADALI, A.; LOTFI, S.; VEISI, H. Fabrication of an electrochemical sensor based on magnetic nanocomposite Fe₃O₄/β-alanine/Pd modified glassy carbon electrode for determination of nanomolar level of clozapine in biological model and pharmaceutical samples. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 241, p. 879-886, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.11.014>
- 9 SANTOS, S. X.; CAVALHEIRO, E. T. G. The potentialities of using a graphite-silicone rubber composite electrode in the determination of propranolol. **Analytical Letters**, v. 44, p. 850-862, 2011. <https://doi.org/10.1080/00032711003789991>
- 10 ACAR, E. T. O.; ONAR, A. N. Square wave voltammetric determination of valproic acid in pharmaceutical preparations. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 40, p. 106-116, 2016. <https://doi.org/10.3906/kim-1504-81>

-
- 11 NIGOVIC, B.; SIMUNIC, B. Determination of 5-aminosalicylic acid in pharmaceutical formulation by differential pulse voltammetry, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 31, p. 169-174, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(02\)00469-7](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(02)00469-7)
- 12 MACHINI, W. B. S.; BRETT, A. M. O. Cyclic lipopeptide antibiotic daptomycin electrochemical oxidation at a glassy carbon electrode. **Electroanalysis**, v. 29, p. 1490-1496, 2017. <https://doi.org/10.1002/elan.201700037>
- 13 SCOTT, D. E.; WILLIS, S. D.; GABBERT, S.; JOHNSON, D.; NAYLOR, E.; JANLE, E. M.; KRICHESKY, J. E.; LUNT, C. E.; LUNTE, S. M. Development of an on-animal separation-based sensor for monitoring drug metabolism in freely roaming sheep. **Analyst**, v. 140, p. 3820-3829, 2015. <https://doi.org/10.1039/C4AN01928H>
- 14 ABBAR, J. C.; METI, M. D.; NANDIBEWOOR, S. T. Anodic voltammetric behavior of lincomycin and its electroanalytical determination in pharmaceutical dosage form and urine at gold electrode. **International Journal of Research in Physical Chemistry and Chemical Physics**, v. 231, p. 957-970, 2017. <https://doi.org/10.1515/zpch-2015-0745>
- 15 ALEIXO, L. M. **Voltametria:** Conceitos e Técnicas. Disponível em: <<http://chemkeys.com.br/2003/03/25/voltametria-conceitos-e-tecnicas/>>. Acesso em: Julho de 2017.
- 16 SVANCARA, I.; VYTRAS, K.; KALCHER, K.; WALCARIUS, A.; WANG, J. Carbon paste electrodes in facts, numbers, and notes: a review on the occasion of the 50-years Jubilee of carbon paste in electrochemistry and electroanalysis. **Electroanalysis**, v. 21, p. 7-28, 2009. <https://doi.org/10.1002/elan.200804340>
- 17 ADAMS, R. N. Carbon paste electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 30, p. 1576-1576, 1958. <https://doi.org/10.1021/ac60141a600>
- 18 SVANCARA, I.; KALCHER, K.; WALCARIUS, A.; VYTRAS, K. **Electroanalysis with carbon paste electrodes**. New York: CRC Press, 2012. p. 11-19.
- 19 SVANCARA, I.; WALCARIUS, A.; KALCHER, K.; VYTRAS, K.; Carbon paste electrodes in the new millennium. **Central European Journal of Chemistry**, v. 7, p. 598-656, 2009. <https://doi.org/10.2478/s11532-009-0097-9>
- 20 SAMEENOI, Y.; MEGHAN M. MENSACK, M. M.; BOONSONG, K.; REBECCA EWING, R.; DUNGCHAI, W.; CHAILAPAKUL, O.; CROPEKE, D. M.; HENRY, C. S. Poly(dimethylsiloxane) cross-linked carbon paste electrodes for microfluidic electrochemical sensing. **Analyst**, v. 136, p. 3177-3184, 2001. <https://doi.org/10.1039/c1an15335h>
- 21 MORRIN, A.; KILLARD, A. J.; SMYTH, M. R. Electrochemical characterization of commercial and home-made screen-printed carbon electrodes. **Analytical Letters**, v. 36, p. 2021-2039, 2003. <https://doi.org/10.1081/AL-120023627>
- 22 OSBOURN, D. M.; LUNTE, C. E. On-column electrochemical detection for microchip capillary electrophoresis. **Analytical Chemistry**, v. 75, p. 2710-2714, 2003. <https://doi.org/10.1021/ac0263541>

-
- 23 VYTRAS, K.; ŠVANCARA, I.; METELKA, R. Carbon paste electrodes in electroanalytical chemistry. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 74, p. 1021-1033, 2009. <https://doi.org/10.2298/JSC0910021V>
- 24 MARTIN, R. S.; GAWRON, A. J.; FOGARTY, B. A.; REGAN, F. B.; DEMPSEY, E.; LUNTE, S. M. Carbon paste-based electrochemical detectors for microchip capillary electrophoresis/electrochemistry. **Analyst**, v. 126, p. 277-280. 2001. <https://doi.org/10.1039/b009827m>
- 25 SAFAVI, A.; MALEKI, N.; HONARASA, F.; TAJABADI, F. Molecular wires as a new class of binders in carbon composite electrodes. **Electrochemistry Communications**, v. 11, p. 1113-1115, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2009.03.019>
- 26 CALIXTO, C. M. F.; SANTOS, S. X.; CAVALHEIRO, E. T. G. Eletrodo compósito à base de grafite-Araldite®: aplicações didáticas - parte II. **Química Nova**, v. 37, p. 367-372, 2014. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140061>
- 27 MANEA, F.; RADOVAN, C.; CORB, I.; POP, A.; BURTICA, G.; MALCHEV, P.; PICKEN, S.; SCHOOONMAN, J. Electrochemical oxidation and determination of oxalic acid at an exfoliated graphite-polystyrene composite electrode. **Sensors**, v. 7, p. 615-627, 2007. <https://doi.org/10.3390/s7040615>
- 28 MENDES, R. K.; CLARO-NETO, S.; CAVALHEIRO, E. T. G. Evaluation of a new rigid carbon–castor oil polyurethane composite as an electrode material. **Talanta**, v. 57, p. 909-917, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(02\)00122-4](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00122-4)
- 29 OLIVEIRA, A. C.; SANTOS, S.X.; CAVALHEIRO, E. T. G. Graphite-silicone rubber composite electrode: Preparation and possibilities of analytical application. **Talanta**, v. 74, p. 1043-1049, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.06.033>
- 30 GARCIA, M. H. F.; FARIA, S. B.; FERREIRA, B. G. Determinação quantitativa da concentração de silicone em antiespumantes por espectroscopia FT-IR / ATR e calibração multivariada. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 14, p. 322-325, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282004000500009>
- 31 CÉSPEDES, F.; MARTINEZ-FÀBREGAS, E. ALEGRET, S. New materials for electrochemical sensing I. Rigid conducting composites. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 15, p. 296-304, 1996. [https://doi.org/10.1016/0165-9936\(96\)00042-8](https://doi.org/10.1016/0165-9936(96)00042-8)
- 32 ZIMI, J.; SVANCARA, I.; BAREK, J.; VYTRAS, K. Recent advances in electroanalysis of organic compounds at carbon paste electrodes. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 34, p. 204-277, 2009. <https://doi.org/10.1080/10408340903011853>
- 33 SAMIEC, P.; NAVRÁTILOVA, Z. Electrochemical behaviour of bromazepam and alprazolam and their determination in the pharmaceutical tablets Lexaurin and Xanax on carbon paste electrode. **Monatshefte Fur Chemie- Chemical Monthly**, v. 148, p. 449-455, 2017. <https://doi.org/10.1007/s00706-016-1859-7>
- 34 RADI, A.; WASSEL, A. A.; EL-RIES, M. A. Adsorptive behaviour voltammetric analysis of propranolol at carbon paste electrode. **Chemia Analityczna**, v. 49, p. 51-58, 2004.

- 35 FRANCO, M. A.; ARAÚJO, D. A. G.; OLIVEIRA, L. H.; TRINDADE, M. A. G.; TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, A. L. An amperometric FIA system with carrier recycling an environmentally friendly approach for atenolol determination in pharmaceutical formulations. **Analytical Methods**, v. 8, p. 8420-8426, 2016. <https://doi.org/10.1039/C6AY02725C>
- 36 GUZMAN-HERNANDEZ, D. S.; MARTINEZ-CRUZ, M. A.; RAMIREZ-SILVA, M. T.; ROMERO-ROMO, M.; CORONA-AVENDANO, S.; MENDOZA-HUIZAR, L. H.; PALOMAR-PARDAVÉ, M. Simultaneous electrochemical quantification of naproxen, acetaminophen and diclofenac using a bare carbon paste electrode. **Analytical Methods**, v. 8, p. 7869-7872, 2016. <https://doi.org/10.1039/C6AY02691E>
- 37 SILVEIRA, J. P. S.; PIOVESAN, J. V.; SPINELLI, A. Carbon paste electrode modified with ferrimagnetic nanoparticles for voltammetric detection of the hormone estriol. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 22-30, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.010>
- 38 NOSUHI, M.; NEZAMZADEH-EJHIEH, A. Comprehensive study on the electrocatalytic effect of copper – doped nano-clinoptilolite towards amoxicillin at the modified carbon paste electrode – solution interface. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 497, p. 66–72, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.02.055>
- 39 LIANGA, Z.; ZHAI, H.; CHENB, Z.; WANGA, S.; WANGA, H.; WANG, S. A sensitive electrochemical sensor for flavonoids based on a multi-walled carbon paste electrode modified by cetyltrimethylammonium bromide-carboxylic multi-walled carbon nanotubes. **Sensors and Actuators B**, v. 244, p. 897–906, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.12.108>
- 40 BENVIDI, A.; NAFAR, M. T.; JAHANBANI, S.; TEZERJANI, M. D.; REZAEINASAB, M.; DALIRNASAB, S. Developing an electrochemical sensor based on a carbon paste electrode modified with nano-composite of reduced graphene oxide and CuFe₂O₄ nanoparticles for determination of hydrogen peroxide. **Materials Science and Engineering C**, v. 75, p.1435–1447, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.062>
- 41 RAJABZADEH, N.; BENVIDI, A.; MAZLOUM-ARDAKANI, M.; FIROUZABADI, A. D.; VAFAZADEH, R. A highly sensitive sensor based on reduced graphene oxide, carbon nanotube and a Co(II) complex modified carbon paste electrode: simultaneous determination of isoprenaline, captopril and tryptophan. **Electroanalysis**, v. 27, p. 2792-2799, 2015. <https://doi.org/10.1002/elan.201500236>
- 42 SHADJOU, N.; HASANZADEH, M.; SAGHATFOROUSH, L.; MEHDIZADEH, R.; JOUYBAN, A. Electrochemical behavior of atenolol, carvedilol and propranolol on copper-oxide nanoparticles. **Electrochimica Acta**, v. 58, p. 336-347, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2011.09.055>
- 43 MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**, v. 47, p. 1882-1886, 1975. <https://doi.org/10.1021/ac60362a043>
- 44 CRESPILO, F. N.; REZENDE, M. O. O. Eletrodos de pasta de carbono modificados com ácidos húmicos: estudo e determinação de metais em meio aquoso. **Química Nova**, v. 27, p. 964-969, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000600022>

-
- 45 PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v. 25, p. 1012-1021, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000600019>
- 46 RIZK, M.; SULTAN, M. A.; TAHA, E. A.; ATTIAH, A. K.; ABDALLAH, Y. M. Sensitive validated voltammetric determination of apixaban using a multi-walled carbon nanotube-modified carbon paste electrode: application to a drug product and biological sample. **Analytical Methods**, v. 9, p. 2523-2534, 2017. <https://doi.org/10.1039/C7AY00244K>
- 47 KHALILZADEH, M. A.; BORZOO, M. Green synthesis of silver nanoparticles using onion extract and their application for the preparation of a modified electrode for determination of ascorbic acid. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 24, p. 796-803, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.05.004>
- 48 ATTA, N. F.; GALAL, A.; ABU-ATTIAA, F. M.; AZAB, S. M. Simultaneous determination of paracetamol and neurotransmitters in biological fluids using a carbon paste sensor modified with gold nanoparticles. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, p. 13015-13024, 2011. <https://doi.org/10.1039/c1jm11795e>
- 49 ARVAND, M.; VAZIRI, M.; VEJDANI, M. Electrochemical study of atenolol at a carbon paste electrode modified with mordenite type zeolite. **Materials Science and Engineering C**, v. 20, p. 709-714, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2010.03.002>
- 50 MOHAMMADI, S. Z.; BEITOLLAHI, H.; MOUSAVI, M. Determination of hydroxylamine using a carbon paste electrode modified with graphene oxide nano sheets. **Russian Journal of Electrochemistry**, v. 53, p. 374-379, 2017. <https://doi.org/10.1134/S1023193517040097>
- 51 SANTOS, A. L.; BATISTA, E. A.; GONÇALVES, L. M.; SOTOMAYOR, M. P. T. Modified carbon paste electrode for the electrochemical sensing of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 97, p. 159-167, 2017. <https://doi.org/10.1080/03067319.2017.1291809>
- 52 SALAMA, N. N.; ZAAZAA, H. E.; AZAB, S. M.; ATTY, S. A.; EL-KOSY, N. M.; SALEM, M. Y. Utility of gold nanoparticles/silica modified electrode for rapid selective determination of mebeverine in micellar medium: comparative discussion and application in human serum. **Ionics**, v. 22, p. 957-966, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11581-015-1602-0>
- 53 HASSANINEJAD-DARZI, S. K.; SHAJIE, F. A Sensitive voltammetric determination of anti-Parkinson drug pramipexole using titanium dioxide nanoparticles modified carbon paste electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, p. 529-539, 2017. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20160192>
- 54 WALCARIUS, A. Analytical applications of silica-modified electrodes – a comprehensive review. **Electroanalysis**, v. 10, p. 1217-1235, 1998. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4109\(199812\)10:18<1217::AID-ELAN1217>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4109(199812)10:18<1217::AID-ELAN1217>3.0.CO;2-X)
- 55 SILVA, D. H.; COSTA, D. A.; TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, A. L. fast and simultaneous determination of Pb²⁺ and Cu²⁺ in water samples using a solid paraffin-based carbon paste electrode chemically modified with 2-aminothiazole-silica-gel. **Journal of the Brazilian**

Chemical Society, v. 22, p. 1727-1735, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011000900015>

56 DIVASAR, F.; ISAPOUR, N.; KEFAYATI, H.; BADIEI, A.; NEZHADALI, A.; EASAPOUR, S.; YADAVI, M. Fluorene functionalized nanoporous SBA-15 incorporated into carbon paste electrode for trace copper determination. **Journal of Porous Materials**, v. 22, p. 1655-1661, 2015. <https://doi.org/10.1007/s10934-015-0049-z>

57 WALCARIUS, A.; SIBOTTIER, E. Electrochemically-induced deposition of amine-functionalized silica films on gold electrodes and application to Cu(II) detection in (hydro)alcoholic medium. **Electroanalysis**, v. 17, p. 1716-1726, 2005.
<https://doi.org/10.1002/elan.200503300>

58 WALCARIUS, A. Electroanalysis with pure, chemically modified and sol-gel-derived silica-based materials. **Electroanalysis**, v. 13, p. 701-718, 2001. [https://doi.org/10.1002/1521-4109\(200105\)13:8<701::AID-ELAN701>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1521-4109(200105)13:8<701::AID-ELAN701>3.0.CO;2-6)

59 CAZULA, B. B.; LAZARIN, A. M. Development of chemically modified carbon paste electrodes with transition metal complexes anchored on silica gel. **Materials Chemistry and Physics**, v. 186, p. 470-477, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2016.11.021>

60 DEHDASHTIAN, S.; ABDIPUR, Z. Fabrication of an ultrasensitive electrochemical sensor based on a mesoporous silica material functionalized by copper ion (SBA - 15 - Cu(II)) modified carbon paste electrode for determination of antibiotic ceftazidime and its application in pharmaceutical and biological samples. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 14, p. 1699-1709, 2017. <https://doi.org/10.1007/s13738-017-1111-3>

61 HSUA, S. C.; CHENGA, H. T.; WUA, P. X.; WENGA, C. J.; SANTIAGOB, K. S.; YEHA, J. M. Electrochemical sensor constructed using a carbon paste electrode modified with mesoporous silica encapsulating PANI chains decorated with GNPs for detection of ascorbic acid. **Electrochimica Acta**, v. 238, p. 246–256, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.04.021>

62 HASANZADEH, M.; SHADJOU, N.; POURNAGHI-AZAR, M. H.; JOUYBAN, A. Magnetic mesoporous silica: a novel nano-material towards electrochemical sensing. **Journal of Electroceramics**, v. 37, p. 85-91, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10832-016-0033-2>

63 NOVAIS, A. S.; FILHO RIBEIRO, J. F.; AMARAL, E. M. F.; FARIA, A. M. Novo sorvente de hidrofobicidade reduzida para extração em fase sólida: preparação e caracterização. **Química Nova**, v. 38, p.274-279, 2015. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140312>

64 BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. **Electroquímica - Princípios, Métodos e Aplicações**. Coimbra: Oxford University Press, 1996, Cap. 6 e 9.

65 SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5^a ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. Cap. 22.

66 EL-MAALI, N. A. Voltammetric analysis of drugs. **Bioelectrochemistry**, v. 64, p. 99-107, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2004.03.003>

-
- 67 ZUHRI, A. Z. A.; VOELTER, W. Applications of adsorptive stripping voltammetry for the trace analysis of metals, pharmaceuticals and biomolecules. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 360, p. 1-9, 1998. <https://doi.org/10.1007/s002160050633>
- 68 NISSIM, R.; COMPTON, R. G. Absorptive stripping voltammetry for cannabis detection. **Chemistry Central Journal**, v. 9, p. 1-7, 2015. <https://doi.org/10.1186/s13065-015-0117-0>
- 69 NISSIM, R.; COMPTON, R. G. Introducing absorptive stripping voltammetry: wide concentration range voltammetric phenol detection. **Analyst**, v. 139, p. 5911–5918, 2014. <https://doi.org/10.1039/C4AN01417K>
- 70 DERYŁO-MARCZEWSKA, A.; ZIENKIEWICZ-STRZAŁKA, M.; SKRZYPCZYNSKA, K.; SWIATKOWSKI, A.; KUSMIREK, K. Evaluation of the SBA-15 materials ability to accumulation of 4-chlorophenol on carbon paste electrode. **Adsorption**, v. 22, p. 801-812, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10450-016-9779-8>
- 71 BARANOWSKA, I.; KOPER, M. Electrochemical behavior of propranolol and its major metabolites, 4'-hydroxypropranolol and 4'-hydroxypropranolol sulfate, on glassy carbon electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 1601-1609, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011000800025>
- 72 KUN, Z.; SHUAI, Y.; DONGMEI, T.; YUYANG, Z. Electrochemical behavior of propranolol hydrochloride in neutral solution on calixarene/multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 709, p. 99-105, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2013.09.032>
- 73 EL-EMAM, A. A.; BELAL, F. F.; MOUSTAFA, M. A.; ELASHRY, S. M.; EL-SHERBINY, D. T.; HANSEN, S. H. Spectrophotometric determination of propranolol in formulations via oxidative coupling with 3-methylbenzothiazoline-2-one hydrazine. **II Farmaco**, v. 58, p. 1179-1186, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0014-827X\(03\)00199-X](https://doi.org/10.1016/S0014-827X(03)00199-X)
- 74 EL-SAHARTY, Y.S.; Simultaneous high-performance liquid chromatographic assay of furosemide and propranolol HCl and its application in a pharmacokinetic study. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 33, p. 699-709, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(03\)00229-2](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(03)00229-2)
- 75 PARTANI, P.; MODHAVE, Y.; GURULE, S.; KHUROO, A.; MONIF, T. Simultaneous determination of propranolol and 4-hydroxy propranolol in human plasma by solid phase extraction and liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 50, p. 966–976, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.06.050>
- 76 XU, L.; GUO, Q.; YU, H.; HUANG, J.; YOU, T. Simultaneous determination of three b-blockers at a carbon nanofiber paste electrode by capillary electrophoresis coupled with amperometric detection. **Talanta**, v. 97, p. 462-467, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.04.063>
- 77 GIMENES, D. T.; MARRA, M. C.; MUÑOZ, R. A. A.; ANGLES, L.; RICHTER, E. M. Determination of propranolol and hydrochlorothiazide by batch injection analysis with amperometric detection and capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. **Analytical Methods**, v. 6, p. 3261-3267, 2014. <https://doi.org/10.1039/C4AY00272E>

-
- 78 IDOWU, O. S; ADEGOKE, O. A.; OLANIYI, A. A. Colorimetric assay of propranolol tablets by derivatization: Novel application of diazotized 4-amino-3,5-dinitrobenzoic acid (ADBA). **Journal of AOAC International**, v. 87, p. 573-578, 2004.
- 79 KUN, Z.; HONGTAO, C.; YUE, Y.; ZHIHONG, B.; FANGZHENG, L.; SANMING, L. Platinum nanoparticle-doped multiwalled carbon-nanotube-modified glassy carbon electrode as a sensor for simultaneous determination of atenolol and propranolol in neutral solution. **International Journal of Ionics The Science and Technology of Ionic Motion**, v. 21, p. 1129-1140, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11581-014-1266-1>
- 80 ASADPOUR-ZEYNALI, K.; MOLLARASOULI, F. Novel electrochemical biosensor based on PVP capped CoFe₂O₄@CdSe core-shell nanoparticles modified electrode for ultra-trace level determination of rifampicin by square wave adsorptive stripping voltammetry. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 92, p. 509-516. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.10.071>
- 81 GAICHORE, R. R.; SRIVASTAVA, A. K. Electrocatalytic determination of propranolol hydrochloride at carbon paste electrode based on multiwalled carbon-nanotubes and c-cyclodextrin. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 78, p. 78-195, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10847-013-0288-z>
- 82 OLIVEIRA, G. G.; AZZI, D. C.; VICENTINI, F. C.; SARTORI, E. R.; FATIBELLO-FILHO, O. Voltammetric determination of verapamil and propranolol using a glassy carbon electrode modified with functionalized multiwalled carbon nanotubes within a poly(allylamine hydrochloride) film. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 708, p. 73–79, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2013.09.016>
- 83 SARTORI, E. R.; MEDEIROS, R. A.; ROCHA, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Square-wave voltammetric determination of propranolol and atenolol in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode. **Talanta**, v. 81, p. 1418–1424, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.02.046>
- 84 SANTOS, S. X.; CAVALHEIRO, E. T. G.; BRETT, C. M. A. Analytical potentialities of carbon nanotube/silicone rubber composite electrodes: determination of propranolol. **Electroanalysis**, v. 22, p. 2776-2783, 2010. <https://doi.org/10.1002/elan.201000262>
- 85 FARMACOPEIA Brasileira. 5^oed. Volume 2. São Paulo, Brasília, 2010, p. 859.
- 86 GUPTA, V. K.; JAIN, R.; RADHAPYARI, K.; JADON, N.; AGARWAL, S. Voltammetric techniques for the assay of pharmaceuticals - a review. **Analytical Biochemistry**, v. 408, p. 179–196, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.09.027>
- 87 NIGOVIC, B.; MARUSIC, M.; JURIC, S. A highly sensitive method for determination of β-blocker drugs using a Nafion-coated glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 72-78, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2011.09.017>
- 88 BISHOP, E.; HUSSEIN, W. Electroanalytical studies of beta-adrenergic blocking agents; N-isopropylethanolamine derivatives; procainamide. **Analyst**, v. 109, p. 65-71, 1984. <https://doi.org/10.1039/an9840900065>

-
- 89 HEDGE, R. N.; SWAMY, B. E. K.; SHERIGARA, B. S.; NANDIBEWOOR, S. T. Electro-oxidation of atenolol at a glassy carbon electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 3, p. 302-314, 2008.
- 90 SKRZYP CZYNSKA, K.; KUSMIREK, K.; SWIATKOWSKI, A. Carbon paste electrodes modified with various carbonaceous materials for the determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by differential pulse voltammetry, **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 766, p. 8–15, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.01.025>
- 91 SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, p. 81-89, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000100015>
- 92 COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006, Cap. 3.
- 93 ANVISA, Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Resolução – RE nº 899, de 29 maio de 2003**, Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2003.
- 94 TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, A. L.; PADILHA, P. M.; STRADIOTTO, N. R. A solid paraffin-based carbon paste electrode modified with 2-aminothiazole organofunctionalized silica for differential pulse adsorptive stripping analysis of nickel in ethanol fuel. **Analytica Chimica Acta**, v. 19, p. 295-301, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.11.069>
- 95 BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. Potential Sweep Methods. In: _____. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**, 2. Ed., John Wiley & Sons: New York, 2001, Cap. 6.
- 96 ZHANG, Y.; LI, F.; LIU, X.; LU, J.; ZHANG, G. Promoting influence of activated carbon used in carbon paste electrode on platinum nanoparticles efficiency in methanol electrooxidation. **Electrochimica Acta**, v. 242, p. 165–172, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.05.020>
- 97 KISSINGER, P. T.; HEINEMAN, W. R. Cyclic voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 60, p. 702-706, 1983. <https://doi.org/10.1021/ed060p702>
- 97 MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Estadística y Quimiometría para Química Analítica**. 4. ed. Madrid: Prentice Hall, 2002. Cap. 3.
- 98 BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, E.C.; QUEIROZ, M. E. C. **Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: LCT, 2015. Cap. 8.

ANEXO A – Tratamento Estatístico: Transcrição das equações e tabelas empregadas neste trabalho.

1 - Equação para o cálculo da média aritmética, ou simplesmente, média (\bar{X}):

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Onde: $\sum x_i$ = soma de todo o conjunto de medidas; n = número de medidas.

Fonte: Referência [97]

2 - Equação para o cálculo do desvio padrão (sd , do inglês *standard deviation*):

$$sd = \sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2 / (n - 1)}$$

Onde: x_i = conjunto de medidas; \bar{x} = média aritmética das medidas e n = número de medidas.

Fonte: Referência [97]

3 – Equação para o cálculo do desvio padrão relativo (RSD, do inglês *Relative Standard Deviation*) ou CV (coeficiente de variação), utilizado para comparar a precisão de resultados de diferentes magnitudes, com objetivo de avaliar a propagação de erros:

$$RSD = 100 \frac{sd}{\bar{x}} \%$$

Onde: sd = desvio padrão e \bar{x} = média aritmética das medidas.

Fonte: Referência [97]

4 - Equação para o cálculo do $t_{\text{crítico}}$, para decidir se a diferença entre as duas medidas experimentais \bar{x}_1 e \bar{x}_2 é significativa, tomando como hipótese nula que os dois métodos proporcionem o mesmo resultado, ou seja, $H_0: \mu_1 = \mu_2$ (para comparação de médias e detecção de erros sistemáticos):

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Onde:

\bar{x}_1 = média do método 1;

\bar{x}_2 = média do método 2;

n_1 = número de medidas do método 1;

n_2 = número de medidas do método 2;

s = estimativa conjunta do desvio padrão, a partir dos desvios padrão individuais, sd_1 e sd_2 , respectivamente, do método 1 e do método 2, que não sejam significativamente diferentes.

Fonte: Referência [97]

5 – Equação para o cálculo de s (desvio padrão conjunto):

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1)sd_1^2 + (n_2 - 1)sd_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}$$

Onde:

n_1 = número de medidas do método 1;

n_2 = número de medidas do método 2;

sd_1 = desvio padrão das medidas do método 1;

sd_2 = desvio padrão das medidas do método 2;

O grau de liberdade é dado por: $(n_1 + n_2 - 2)$. Neste trabalho $n_1 = n_2 = 3$, portanto o grau de liberdade foi: $(3 + 3 - 2 = 4)$. Também foi utilizado um $t_{crítico}$ com 4 graus de liberdade e $P = 0,05$ bilateral igual a 2,78. Fonte: Referência [97]].

6 – Equação utilizada para o teste F (para comparação do desvio padrão de dois métodos e informar se existem erros aleatórios em um conjunto de dados. Neste trabalho, o teste F foi utilizado para informar se existiu diferenças na precisão entre dois métodos diferentes, ou seja, um contraste bicaudal ou bilateral):

$$F = \frac{sd_1^2}{sd_2^2}$$

Fonte: Referência [97].

Tabela A.1. – A distribuição t .

Valor de t para um intervalo de confiança de:	90%	95 %	98 %	99 %
Valor crítico de $ t $ para valores de P de números de grau de liberdade:	0,10	0,05	0,02	0,01
1	6,31	12,71	31,82	63,66
2	2,92	4,30	6,96	9,92
3	2,35	3,18	4,54	5,84
4	2,13	2,78	3,75	4,60
5	2,02	2,57	3,36	4,03
6	1,94	2,45	3,14	3,71
7	1,89	2,36	3,00	3,50
8	1,86	2,31	2,90	3,36
9	1,83	2,26	2,82	3,25
10	1,81	2,23	2,76	3,17
12	1,78	2,18	2,68	3,05
14	1,76	2,14	2,62	2,98
16	1,75	2,12	2,58	2,92
18	1,73	2,10	2,55	2,88
20	1,72	2,09	2,53	2,85
30	1,70	2,04	2,46	2,75
50	1,68	2,01	2,40	2,68
∞	1,64	1,96	2,33	2,58

Os valores críticos de $|t|$ são adequados para um contraste bicaudal. Para contraste unicaudal o valor da coluna considerada é o que corresponde a duas vezes o P desejado. Ex: Para um contraste unicaudal, para $P = 0,05$, e 5 graus de liberdade, o valor de t crítico deve ser lido na coluna de $P = 0,10$ e é igual a 2,02.

Fonte: Referência [97]

Tabela A.2. - Valores críticos de F para um contraste bicaudal / bilateral ($P = 0,05$)

v_2	v_1												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	647,8	799,5	864,2	899,6	921,8	937,1	948,2	956,7	963,3	968,6	976,7	984,9	993,1
2	38,51	39,00	39,17	39,25	39,30	39,33	39,36	39,37	39,39	39,40	39,41	39,43	39,45
3	17,44	16,04	15,44	15,10	14,88	14,73	14,62	14,54	14,47	14,42	14,34	14,25	14,17
4	12,22	10,65	9,979	9,605	9,364	9,197	9,074	8,980	8,905	8,844	8,751	8,657	8,560
5	10,01	8,434	7,764	7,388	7,146	6,978	6,853	6,757	6,681	6,619	6,525	6,428	6,329
6	8,813	7,260	6,599	6,227	5,988	5,820	5,695	5,600	5,523	5,461	5,366	5,269	5,168
7	8,073	6,542	5,890	5,523	5,285	5,119	4,995	4,899	4,823	4,761	4,666	4,568	4,467
8	7,571	6,059	5,416	5,053	4,817	4,652	4,529	4,433	4,357	4,295	4,200	4,101	3,999
9	7,209	5,715	5,078	4,718	4,484	4,320	4,197	4,102	4,026	3,964	3,868	3,769	3,667
10	6,937	5,456	4,826	4,468	4,236	4,072	3,950	3,855	3,779	3,717	3,621	3,522	3,419
11	6,724	5,256	4,630	4,275	4,044	3,881	3,759	3,664	3,588	3,526	3,430	3,330	3,226
12	6,554	5,096	4,474	4,121	3,891	3,728	3,607	3,512	3,436	3,374	3,277	3,177	3,073
13	6,414	4,965	4,347	3,996	3,767	3,604	3,483	3,388	3,312	3,250	3,153	3,053	2,948
14	6,298	4,857	4,242	3,892	3,663	3,501	3,380	3,285	3,209	3,147	3,050	2,949	2,844
15	6,200	4,765	4,153	3,804	3,576	3,415	3,293	3,199	3,123	3,060	2,963	2,862	2,756
16	6,115	4,687	4,077	3,729	3,502	3,341	3,219	3,125	3,049	2,986	2,889	2,788	2,681
17	6,042	4,619	4,011	3,665	3,438	3,277	3,156	3,061	2,985	2,922	2,825	2,723	2,616
18	5,978	4,560	3,954	3,608	3,382	3,221	3,100	3,005	2,929	2,866	2,769	2,667	2,559
19	5,922	4,508	3,903	3,559	3,333	3,172	3,051	2,956	2,880	2,817	2,720	2,617	2,509
20	5,871	4,461	3,859	3,515	3,289	3,128	3,007	2,913	2,837	2,774	2,676	2,573	2,464

v_1 = número de graus de liberdade do numerador e v_2 = número de graus de liberdade do denominador.
Fonte: Referência [97].