Manuel Nuno de Magalhães Pinheiro Alçada
Licenciado em Ciências Farmacêuticas (U. P.)

CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DE ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES PARA DETERMINAÇÃO DE ALCALÓIDES EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS

Universidade do Porto
PORTO, 1995

Manuel Nuno de Magalhães Pinheiro Alçada

Licenciado em Ciências Farmacêuticas (U. P.)

CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DE ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES PARA DETERMINAÇÃO DE ALCALÓIDES EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS

Dissertação para Doutoramento na Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

Universidade do Porto
PORTO, 1995

RESUMO

Neste trabalho descreve-se, de um modo pormenorizado, a construção e avaliação de eléctrodos selectivos de iões, sem solução de referência interna e com membrana de condutor móvel imobilizada em PVC, sensíveis a efedrina, quinidina, pilocarpina, atropina e tetrafenilborato.

Para a construção dos eléctrodos sensíveis a espécies catiónicas, utilizou-se como sistema extractor o tetraquis(4-clorofenil)borato ou o tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato e como solvente mediador o 2-nitrofeniloctiléter ou o dibutilftalato. Para as unidades sensíveis ao tetrafenilborato o extractor era o tetrafenilborato de tetrapentilamónio ou o tetrafenilborato de tetraoctilamónio dissolvido em 2-nitrofenilfeniléter, como solvente mediador plastificante.

Os ensaios de avaliação efectuados para todas unidades constavam da determinação dos parâmetros gerais das curvas de calibração, do tempo de resposta, do efeito do pH nos valores de potencial, da reprodutibilidade dos potenciais ao longo de um dia de trabalho, dos coeficientes de selectividade potenciométricos em relação a diversos interferentes e da durabilidade dos eléctrodos.

Após a avaliação dos eléctrodos construídos, e nos casos em que, para a mesma espécie, eram utilizados sistemas sensores diferentes, seleccionaram-se os que apresentavam melhores características de funcionamento, utilizando-os posteriormente no doseamento potenciométrico das respectivas espécies primárias, em fórmulas farmacêuticas vulgarmente comercializadas em Portugal. Após selecção das unidades com melhores características, os eléctrodos sensíveis a tetrafenilborato foram utilizados, no doseamento de alcalóides presentes em medicamentos por titulação potenciométrica. Os resultados obtidos foram comparados com os determinados por potenciometria directa com os eléctrodos respectivos.

A eliminação da solução de referência interna dos eléctrodos, facilitou a construção de unidades com configuração tubular, sensíveis ao tetrafenilborato, com características adequadas, o que permitiu a sua incorporação em montagens para análises por injecção em fluxo (FIA). Estes detectores foram avaliados quanto às suas características intrínsecas em sistemas FIA de baixa dispersão.

De seguida foi estabelecida uma montagem automática baseada na técnica FIA para a execução de titulações de efedrina em formulações farmacêuticas com o tetrafenilborato, sendo os resultados comparados com os obtidos por potenciometria directa com os eléctrodos sensíveis a efedrina.

ABSTRACT

In this work it is described in detail the construction and evaluation of ion selective electrodes with a mobile carrier conductive membrane immobilized in PVC. The electrodes, without internal reference solution, were sensitive to ephedrine, quinidine, pilocarpine atropine and tetraphenylborate.

In the construction of electrodes sensitive to cationic species, tetrakis(4-chlorophenyl)borate or tetrakis[3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl]borate were used as extractor system and 2-nitrophenylocthylether or dibuthylphthalate were employed as solvent mediator. In the preparation of electrodes sensitive to tetraphenylborate, the ionic extractor was tetrapenthylammonium tetraphenylborate or tetraocthylammonium tetraphenylborate, dissolved in 2-nitrophenylphenylether as solvent mediator.

In order to assess the characteristics of the constructed units, the correspondent calibration curve general parameters, response time, effect of pH on the potential values, working day reproducibility, potentiometric selectivity coefficients to several interferents and durability of the electrodes were calculated.

After evaluation of the constructed electrodes, when different sensor system were used, those presenting the best working characteristics were selected and used in the determination of the correspondent primary species in pharmaceutical products commercialized in Portugal. The electrodes sensitive to tetraphenylborate with the best characteristics were used in potentiometric titration of alkaloids in pharmaceutical preparations. The results obtained were compared with those furnished by direct potentiometry with the correspondent electrodes.

Due to the elimination of the internal reference solution, it was possible to build tubular electrodes sensitive to tetraphenylborate, with adequate characteristics. These electrodes were assayed in terms of intrinsic characteristics in

low dispersion FIA systems.

Finally, a titration FIA system was established and used to determine ephedrine in pharmaceutical preparations. The results were compared with those obtained by direct potentiometry with the electrodes sensitive to ephedrine.

Agradecimentos

À Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto agradeço o ter-me aceite como estudante de Doutoramento e todas as facilidades que me foram concedidas.

Ao Laboratório de Química-Física pela oportunidade, disponibilidade e acolhimento que me proporcionou para a realização de todo este trabalho.

À Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica (JNICT) a concessão da bolsa de doutoramento, sem a qual não seria possível realizar este trabalho.

Ao Professor Doutor Alberto Moreira Roque da Silva o meu sincero agradecimento pela oportunidade que me concedeu de colaborar com o Laboratório quando ainda era estudante desta Faculdade.

Ao Professor Doutor José Luís Fontes da Costa Lima, meu co-orientador, agradeço o seu incansável esforço de orientação e supervisão que muito contribuiu para a minha preparação científica. Também gostaria de lhe agradecer as várias oportunidades que me proporcionou, bem como a sua confiança, compreensão, amizade e paciência, principalmente nos serviços de "bombeiro voluntário".

À Professora Doutora Maria da Conceição Branco da Silva de Mendonça Montenegro, minha supervisora, agradeço a sua inestimável contribuição para a minha formação, assim como, a sua amizade, paciência, ânimo e incentivo que foram fundamentais para a realização desta dissertação. Quero também pedir-lhe desculpas por todas as minhas "idiosincrasias" que tantas horas de desespero lhe causaram.

A todos os colegas do Laboratório de Química-Física, Drª Aida, Drª Isabel, Salette, Beatriz, Alberto, Rui, Agostinho (Grande Leão), Lúcia, João Luís, Isabel, Meró, António, Paula, Cristina Matos, Carmo, Manuela, Jorge, Begoña, Xiao, Goretti, Catita, Cristina, gostaria de agradecer todo o companheirismo e amizade

que sempre me dispensaram, bem como a simpatia e apoio que tanto contribuiram para um bom ambiente de trabalho.

Ao Rui agradeço o tempo que dispensou na montagem do titulador e a sua pronta colaboração sempre que a solicitava, à Salette o tempo que perdeu comigo, especialmente nos problemas de constantes e ao Alberto e António os conhecimentos de FIA que me transmitiram.

À Belmira, pela amizade e imensa ajuda prestada na execução do trabalho laboratorial de rotina.

À D. Teresa e também ao Sr Monteiro, por terem acedido aos meus pedidos, mas também pela amizade que me dispensaram.

Aos meus Pais desejo exprimir a gratidão pela educação que me proporcionaram, pela amizade e apoio que me dedicaram e pelos sacrifícios que sempre fizeram.

Aos pais Quintão, agradeço a amizade e apoio que me dedicaram.

À Paula pela compreensão e amor, que no dia-a-dia, sempre demonstrou, e pelo seu apoio, ajuda e paciência ao longo de todo o trabalho especialmente durante a escrita desta dissertação.

Ao Tio Luís agradeço a ajuda na correção dos erros, as incontáveis horas perdidas a lêr o que muitas vezes lhe parecia "chinês" e afirmar públicamente que a sua "camioneta leva mais areia do que ele pensa".

A toda a família, pelo carinho e apoio manifestado ajudando-me a superar todas as dificuldades e crises.

A Deus pelos dons de que me cumulou e que permitiram a realização desta dissertação.

A todos quantos, inadvertidamente, foram esquecidos, o meu MUITO OBRIGADO.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO GERAL I

1. - Enquadramento e objectivos gerais do trabalho II

2. - Organização da Dissertação IV

1. - DETERMINAÇÃO DE ALCALÓIDES EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS ..... **1** - 1

1.1. - Caracterização dos alcalóides ..... **1** - 2

1.2. - Métodos oficiais para a determinação de alguns alcalóides em produtos farmacêuticos ..... **1** - 4

1.3. - Metodologias de doseamento alternativas às oficiais ..... **1** - 8

1.3.1. -Métodos cromatográficos ..... **1** - 8

1.3.2. -Métodos espectrofotométricos ..... **1** - 11

1.3.3. -Metodologias várias ..... **1** - 13

1.3.4. -Métodos potenciométricos ..... **1** - 15

1.3.5. -Titulações ..... **1** - 20

1.4. - Referências bibliográficas ..... **1** - 23

2. - ASPECTOS GERAIS DA PARTE EXPERIMENTAL ..... **2** - 1

2.1. - Aparelhagem utilizada ..... **2** - 2

2.2. - Eléctrodos utilizados ..... **2** - 4

2.3. - Material utilizado para as montagens FIA ..... **2** - 5

2.4. - Reagentes e soluções ..... **2** - 9

2.5. - Construção dos eléctrodos de configuração convencional **2** - 10

2.5.1. -Preparação do corpo do eléctrodo ..... **2** - 10

2.5.2. -Preparação e aplicação das membranas sensoras ..... **2** - 13

2.5.3. -Recuperação do corpo dos eléctrodos ..... **2** - 17

2.6. - Construção dos eléctrodos de configuração tubular ..... **2** - 18

2.6.1. -Construção do corpo do módulo sensor tubular ..... **2** - 18

2.6.2. -Aplicação das membranas sensoras ..... **2** - 21

2.6.3. -Recuperação dos módulos tubulares ..... **2** - 22

2.7. - Metodologias utilizadas para a avaliação dos eléctrodos de configuração convencional ..... **2** - 23

2.7.1. -Avaliação dos parâmetros da recta de calibração .... **2** - 23

2.7.2. -Tempo de resposta ..... **2** - 30

2.7.3. -Influência do pH na resposta dos eléctrodos (diagramas de Reilley) ..... **2** - 31

2.7.4. -Avaliação da extensão de interferências (determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos, $K_{A,B}^{pot}$) ..... **2** - 32

2.8. - Metodologia utilizada para a avaliação dos eléctrodos de configuração tubular ..... **2** - 37

2.8.1. -Estabelecimento das condições de baixa dispersão para FIA ..... **2** - 38

2.8.2. -Avaliação das características de resposta dos detectores tubulares ..... **2** - 40

2.8.3. -Tempo de resposta ..... **2** - 41

2.8.4. -Avaliação da influência do pH na resposta dos eléctrodos ..... **2** - 41

2.8.5. -Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ($K_{A,B}^{pot}$) ..... **2** - 44

2.9. - Aplicação das unidades construídas na determinação de alcalóides em formulações farmacêuticas ..... **2** - 45

2.9.1. -Preparação das amostras ..... **2** - 45

2.9.2. -Ensaios de doseamento ..... **2** - 46

2.9.3. -Ensaios para a avaliação da qualidade dos resultados obtidos ..... **2** - 47

2.10. - Referências bibliográficas ..... **2** - 49

3. - ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A EFEDRINA ..... **3** - 1

3.1. - Introdução ..... **3** - 2

3.2. - Parte experimental ..... **3** - 7

3.2.1. -Aparelhagem e eléctrodos ..... **3** - 7

3.2.2. -Reagentes e soluções ..... **3** - 7

3.2.3. -Preparação dos sistemas sensores e membranas ..... **3** - 8

3.2.4. -Preparação das amostras de formulações farmacêuticas para os doseamentos potenciométricos ..... **3** - 11

3.3. - Resultados e sua discussão ..... **3** - 12

3.3.1. -Parâmetros das curvas de calibração ..... **3** - 12

3.3.2. -Tempo de resposta dos eléctrodos ..... **3** - 19

3.3.3. -Efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos ..... **3** - 22

3.3.4. -Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ..... **3** - 25

3.3.5. -Doseamento da efedrina em formulações farmacêuticas ..... **3** - 29

3.4. - Conclusões ..... **3** - 32

3.5. - Referências bibliográficas ..... **3** - 34

4. - ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A QUINIDINA ..... **4** - 1

4.1. - Introdução ..... **4** - 2

4.2. - Parte experimental ..... **4** - 7

4.2.1. -Aparelhagem e eléctrodos ..... **4** - 7

4.2.2. -Reagentes e soluções ..... **4** - 7

4.2.3. -Preparação dos sistemas sensores e membranas ..... **4** - 9

4.2.4. -Preparação das amostras de formulações farmacêuticas para os doseamentos potenciométricos ..... **4** - 11

4.3. - Resultados e sua discussão ..... **4** - 12

4.3.1. -Parâmetros das curvas de calibração ..... **4** - 12

4.3.2. -Tempo de resposta dos eléctrodos ..... **4** - 17

4.3.3. -Efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos ..... **4** - 19

4.3.4. -Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ..... **4** - 21

4.3.5. -Doseamento da quinidina e quinina em formulações farmacêuticas ..... **4** - 25

4.4. - Conclusões ..... **4** - 28

4.5. - Referências bibliográficas ..... **4** - 29

5. - ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A PILOCARPINA ..... **5** - 1

5.1. - Introdução ..... **5** - 2

5.2. - Parte experimental ..... **5** - 5

5.2.1. -Aparelhagem e eléctrodos ..... **5** - 5

5.2.2. -Reagentes e soluções ..... **5** - 5

5.2.3. -Preparação dos sistemas sensores e membranas ..... **5** - 6

5.2.4. -Preparação das amostras de formulações farmacêuticas para os doseamentos potenciométricos ..... **5** - 9

5.3. - Resultados e sua discussão ..... **5** - 10

5.3.1. -Parâmetros das curvas de calibração ..... **5** - 10

5.3.2. -Tempo de resposta dos eléctrodos ..... **5** - 17

5.3.3. -Efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos .... **5** - 20

5.3.4. -Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ..... **5** - 23

5.3.5. -Doseamento da pilocarpina em formulações farmacêuticas de uso oftálmico ..... **5** - 27

5.4. - Conclusões ..... **5** - 30

5.5. - Referências bibliográficas ..... **5** - 31

6. - ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A ATROPINA ..... **6** - 1

6.1. - Introdução ..... **6** - 2

6.2. - Parte experimental ..... **6** - 8

6.2.1. -Aparelhagem e eléctrodos ..... **6** - 8

6.2.2. -Reagentes e soluções ..... **6** - 8

6.2.3. -Preparação dos sistemas sensores e membranas ..... **6** - 9

6.2.4. -Preparação das amostras de formulações farmacêuticas para os doseamentos potenciométricos ..... **6** - 11

6.3. - Resultados e sua discussão ..... **6** - 12

6.3.1. -Parâmetros das curvas de calibração ..... **6** - 12

6.3.2. -Tempo de resposta dos eléctrodos ..... **6** - 19

6.3.3. -Efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos .... **6** - 23

6.3.4. -Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ..... **6** - 26

6.3.5. -Doseamento da atropina em formulações farmacêuticas de uso oftálmico ..... **6** - 31

6.4. - Conclusões ..... **6** - 33

6.5. - Referências bibliográficas ..... **6** - 35

7. - ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A TETRAFENILBORATO ..... **7** - 1

7.1. - Introdução ..... **7** - 2

7.2. - Parte experimental ..... **7** - 5

7.2.1. -Aparelhagem e eléctrodos ..... **7** - 5

7.2.2. -Reagentes e soluções ..... **7** - 5

7.2.3. -Preparação dos sistemas sensores e membranas ..... **7** - 6

7.2.4. -Preparação das amostras de formulações farmacêuticas para as titulações potenciométricas com tetrafenilborato ..... **7** - 9

7.3. - Resultados e sua discussão ..... **7** - 10

7.3.1. -Parâmetros das curvas de calibração ..... **7** - 10

7.3.2. -Tempo de resposta dos eléctrodos ..... **7** - 18

7.3.3. -Efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos ..... **7** - 21

7.3.4. -Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ..... **7** - 24

7.3.5. -Doseamento de alcalóides em formulações farmacêuticas por titulação potenciométrica ..... **7** - 27

7.4. - Conclusões ..... **7** - 35

7.5. - Referências bibliográficas ..... **7** - 36

8. - DETECTORES POTENCIOMÉTRICOS TUBULARES SENSÍVEIS A TETRAFENILBORATO ..... **8** - 1

8.1. - Introdução ..... **8** - 2

8.2. - Parte experimental ..... **8** - 3

8.2.1. -Aparelhagem e eléctrodos ..... **8** - 3

8.2.2. -Reagentes e soluções ..... **8** - 3

8.2.3. -Preparação dos sistemas sensores e membranas ..... **8** - 4

8.2.4. -Preparação das amostras de formulações farmacêuticas para o doseamento da efedrina ..... **8** - 5

8.2.5. -Montagens FIA utilizadas ..... **8** - 6

8.3. - Resultados e sua discussão ..... **8** - 16

8.3.1. -Avaliação das características do detector tubular ..... **8** - 16

8.3.2. -Efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos ..... **8** - 21

8.3.3. -Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ..... **8** - 25

8.3.4. -Doseamento da efedrina em formulações farmacêuticas por titulação em sistema FIA ..... **8** - 28

8.4. - Conclusões ..... **8** - 33

8.5. - Referências bibliográficas ..... **8** - 34

9. - CONCLUSÕES GLOBAIS ..... **9** - 1

9.1. - Referências bibliográficas ..... **9** - 6

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

1. - Enquadramento e objectivos gerais do trabalho

Desde que em finais dos anos 60 apareceram comercializados os primeiros eléctrodos selectivos de iões têm sido descritas unidades sensíveis às mais variadas espécies inorgânicas e orgânicas. No entanto só nos inícios dos anos 80 é que se tornou nítida a utilidade de eléctrodos selectivos sensíveis a compostos orgânicos de interesse farmacêutico.

Apesar das reconhecidas vantagens da potenciometria, sobretudo rapidez e facilidade de utilização, os eléctrodos desenvolvidos até esse momento não se revelavam atractivos para a execução de análises laboratoriais de rotina, devido sobretudo à sua fragilidade mecânica, mas também, em alguns casos, à reduzida selectividade.

As principais deficiências prendiam-se sobretudo com o tipo de sistema extractor, mas também com o processo de construção utilizado. Por outro lado, muitas das unidades publicadas anteriormente não apresentavam um estudo detalhado das suas características, tornando-se por isso difícil a sua aplicabilidade analítica.

Esta situação originou o desenvolvimento de um trabalho com vista a obviar algumas das deficiências apontadas. Por forma a aumentar a resistência mecânica dos eléctrodos foi desenvolvida uma série de trabalhos que permitiram a eliminação da solução de referência interna. Este primeiro passo foi muito importante, pois conduziu à obtenção de um processo de construção bastante robusto, simples e económico. As unidades obtidas segundo este processo não requeriam grandes cuidados de manutenção e manuseamento, pelo que eram de fácilmente aplicáveis na rotina laboratorial.

Desta forma, conseguiu-se a preparação de eléctrodos para espécies inorgânicas com boas características de funcionamento, o que permitiu efectuar vários estudos sobre diversos sensores. A avaliação detalhada das características de funcionamento das unidades, além de contribuir muito significativamente para um conhecimento mais profundo dos sensores utilizados, abriu a perspectiva de outras possíveis aplicações.

Numa segunda fase foram construídos eléctrodos sensíveis a espécies orgânicas aniónicas, com particular ênfase no desenvolvimento de novos sensores, tendo sido provado que a utilização de outros sistemas sensores permitiam melhorar as características de resposta dos eléctrodos. Também importante nesta fase, foi o facto de explorar a grande maleabilidade deste novo processo de construção, que permitiu a obtenção de unidades tubulares. Assim, não se ofereceram apenas eléctrodos, cujo estudo detalhado provava terem boas características de funcionamento, mas demonstrou-se que os mesmos podiam ser facilmente incoorporados num sistema de fluxo contínuo, que permitia uma fácil automatização da análise de produtos farmacêuticos.

Durante todo o trabalho desenvolvido, além de um importante contributo para a compreensão do funcionamento dos eléctrodos, foram igualmente oferecidas metodologias envolvendo a potenciometria para o doseamento dessas espécies em formulações farmacêuticas.

Para completar o estudo iniciado com os eléctrodos sensíveis a espécies inorgânicas e orgânicas aniónicas, tornava-se necessário construir e avaliar unidades sensíveis a espécies orgânicas catiónicas. Para tal escolheram-se dentro dessas espécies com interesse farmacêutico o grupo dos alcalóides e devido à impossibilidade de estudar todos os alcalóides, foram escolhidos alguns representantes desse vasto grupo.

Procurou-se então, melhorar as características dos eléctrodos sensíveis a alcalóides, recorrendo ao uso de outros extractores iónicos e solventes mediadores

de boas características plastificantes. Neste campo, o uso de extractores iónico derivados do tetrafenilborato, como o tetraquis(4-clorofenil)borato e o tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato, surgiam como alternativas aos extractores anteriormente utilizados. Entre os possíveis solventes mediadores, optou-se pelo uso de 2-nitrofeniloctiléter ou de dibutilftalato que possuem boas características plastificantes. Desta forma esperava-se melhorar o limite de resposta linear, a estabilidade dos potenciais, o declive das curvas de calibração e a selectividade dos eléctrodos.

Também importante é o tipo de construção, cuja eliminação da solução de referência interna, aliada à imobilização do sensor numa membrana de PVC, permite aumentar a estabilidade, resistência mecânica e tempo de vida das unidades.

Ao longo dos capítulos seguintes referir-se-ão os resultados obtidos, bem como as conclusão a reter.

2. - Organização da dissertação

O presente trabalho está organizado por capítulos, num total de nove. No primeiro, faz-se uma análise das várias metodologias descritas para o doseamento de alcalóides em formulações farmacêuticas. Dá-se particular ênfase à potenciometria e às vantagens que ela apresenta relativamente a outras descritas por outros autores para aqueles compostos. Esta análise apesar de não permitir caracterizar a área onde o trabalho desenvolvido se enquadra, pretende levantar alguns problemas comuns, associados ao controle de produtos farmacêuticos.

No segundo capítulo, referem-se os materiais e as metodologias genericamente empregues na realização de todo o trabalho experimental executado.

Nos capítulos 3 a 6, apresentam-se os resultados referentes à construção,

avaliação e aplicação dos eléctrodos selectivos de iões sensíveis a efedrina, quinidina, pilocarpina e atropina, respectivamente. No início de cada um destes capítulos, far-se-à uma introdução que refletirá sobretudo nos problemas levantados pelos eléctrodos anteriormente construídos.

Na parte experimental de cada um dos capítulos referidos, faz-se uma avaliação dos parâmetros das curvas de calibração, designadamente o limite inferior de resposta linear, o limite prático de detecção, o declive das curvas de calibração e a reprodutibilidade dos potenciais, e ainda o tempo de resposta, o efeito do pH no valor do potencial, a determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos e uma avaliação da durabilidade dos eléctrodos construídos.

Paralelamente, comparavam-se os resultados obtidos com os referidos na literatura para outros eléctrodos sensíveis às mesmas espécies catiónicas. Desta forma era possível avaliar os avanços proporcionados pelo trabalho desenvolvido.

Por fim e face aos resultados obtidos, procedeu-se ao doseamento dos respectivos alcalóides em formulações farmacêuticas de diversos tipos e comercializadas em Portugal.

Nos capítulos 7 e 8 apresentam-se os resultados referentes à construção de eléctrodos sensíveis ao tetrafenilborato. No capítulo 7 os eléctrodos construídos e avaliados têm uma configuração convencional e foram aplicados no doseamento de vários alcalóides em formulações farmacêuticas, por titulação potenciométrica. No capítulo seguinte construíram-se eléctrodos tubulares que após a sua avaliação detalhada foram utilizados no doseamento de efedrina em formulações farmacêuticas, utilizando uma titulação em sistemas de análise por injecção em fluxo. Nestes dois capítulos as metodologias propostas além de serem oferecidas como alternativa às descritas nos capítulos anteriores, apresentavam a possíbilidade de serem automatizadas.

A ligação entre todo o trabalho realizado é apresentada no fim da presente dissertação, na forma de conclusões gerais, que somente referem aspectos muitos

gerais dos resultados apresentados e discutidos parcelarmente em todos os capítulos precedentes.

CAPÍTULO 1

DETERMINAÇÃO DE ALCALÓIDES EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS

1. - DETERMINAÇÃO DE ALCALÓIDES EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS

1.1. - Caracterização dos alcalóides

A definição de alcalóides, segundo [1], baseia-se num conjunto de propriedades físico-químicas, toxicológicas e farmacológicas. Desta forma os alcalóides formam um grupo heterogéneo de substâncias orgânicas, em particular de origem vegetal, definido pela função amina (também amida, embora raramente) que confere aos seus constituintes propriedades químicas próprias, às quais se aliam uma toxicidade elevada e muitas vezes também uma actividade farmacológica notável. Pràticamente, reconhecem-se por formarem sais com os ácidos, à semelhança dos álcalis (origem do nome, de *alcalis+eidos*, forma) e de precipitarem destas soluções ou adquirirem cores características com os denominados "reagentes gerais". Os denominados "reagentes gerais", incluem vários compostos entre os quais reagentes iodados como o tetra-iodomercurato de potássio, alguns ácidos minerais, especialmente os derivados do tungstênio, o ácido picrico entre outros derivados orgânicos nitrados, o diaminotetratiocianocromato (reineckato) de amónio e o tetrafenilborato de sódio. Como grupo heterogéneo que formam, os alcalóides apresentam igualmente variadas acções farmacológicas.

Apesar de serem de origem vegetal, actualmente muitos dos alcalóides utilizados pela indústria farmacêutica são obtidos não por extracção a partir das plantas onde se encontram, mas por síntese, total ou parcial.

Apesar de conhecidos desde o início do séc XIX [2], só em 1817 é que foi isolado o primeiro alcalóide [3]. Desde então várias têm sido as espécies isoladas e descritas, e segundo alguns autores no ano de 1980 encontravam-se descritos 1932 compostos considerados como alcalóides [3]. Actualmente ainda é possível

encontrar na literatura referências ao isolamento de novas espécies, bem como diferentes utilizações terapêuticas de alcalóides já conhecidos e já anteriormente utilizados [3].

Apesar do número crescente de novas substâncias com acção terapêutica semelhante à dos alcalóides, que têm sido sintetizadas, estes continuam a ser indispensáveis na terapêutica. Tal interesse deve-se ao facto de serem substâncias com uma acção potente para o tratamento ou alívio de distúrbios funcionais vários e na supressão da dor. Assim, por exemplo, a colquicina é o único fármaco específico para crises agudas de gota, sendo também importante no seu diagnóstico. A quinidina um antiarrítmico do grupo I, é muito útil a nível hospitalar e a quinina, é usada em casos de paludismo quando a terapêutica por outros antipalúdicos falha. A morfina no alívio da dor em casos extremos e os alcalóides da *Vinca* no tratamento de doença oncogénicas.

Face ao interesse ainda actual dos alcalóides e à sua elevada toxicidade, o seu doseamento reveste-se de particular importância.

Os alcalóides podem ser classificados segundo vários aspectos, entre os quais o seu "núcleo" base. De acordo com uma classificação parcial publicada anteriormente [3] e que engloba os alcalóides mais importantes, existem onze "núcleos", nomeadamente, benzazuleno, esteróide, imidazolo, indol, isoquinolina, fenilalquilamina, purina, piridina, quinolina, quinolizina e tropano. Na impossibilidade de estudar representantes de todos os grupos escolheram-se aqueles normalmente utilizados em terapêutica e cuja representatividade na indústria farmacêutica fosse elevada. Deste modo escolheram-se derivados do imidazolo, a pilocarpina, do tropano, a atropina (ou *dl*-hiosciamina) e da quinolina, a quinidina (e quinina) e uma fenilalquilamina, a efedrina (e pseudoefedrina).

1.2. - Métodos oficiais para a determinação de alguns alcalóides em produtos farmacêuticos

De acordo com diferentes Farmacopéias [4-7], existem várias técnicas volumétricas para o doseamento de alcalóides, quando estes se encontram na forma de produtos puros (ver Tabela 1.2.1.). No entanto, a presença de outras substâncias, nomeadamente as de características básicas, podem interferir nessas determinações.

Quando os alcalóides se encontram presentes em formulações farmacêuticas, apenas as Farmacopeias Britânica (B.P.) [5] e Americana (U.S.P.) [6] recomendam outras técnicas para o seu doseamento. Apresentam-se nas Tabelas 1.2.2. e 1.2.3. os ensaios recomendados pela B.P. [5] e U.S.P. [6], respectivamente.

A maioria dos métodos recomendados, envolvem complicados processos de preparação das amostras, como seja a execução de reacções químicas em sistemas heterogéneos (água/solventes orgânicos relativamente apolares) ou o recurso a extracções com solventes orgânicos relativamente apolares na presença de substâncias básicas como o amoníaco ou hidróxido de sódio, seguidas de filtração e evaporação de parte ou totalidade do solvente orgânico. Por vezes estas extracções são precedidas de outras em meio ácido.

Além destas desvantagens que se traduzem num aumento do tempo necessário à execução de um ensaio, há a considerar ainda as perdas de produto, que em cada processo extractivo se faz sentir. Para além disso, os doseamentos descritos necessitam muitas vezes de pessoal especializado e regra geral não se aplicam à maioria das formulações comercializadas, pois a composição destas difere das descritas nas referidas Farmacopeias [5-6]. Das diferenças mais salientes destaca-se a presença de vários princípios activos em associação, o uso de inúmeros excipientes, nomeadamente conservantes e o recurso a sais dos alcalóides não descritos nas citadas monografias.

Adicionalmente, para o mesmo alcalóide em diferentes medicamentos, o

processo de doseamento recomendado varia de formulação para formulação, o que implica a montagem de técnicas diferentes.

Tabela 1.2.1. - Volumetrias recomendadas para o doseamento de alcalóides em produtos puros descritas em diferentes farmacopeias (Farmacopéia Portuguesa [4], Farmacopéia Britânica [5], Farmacopéia Americana [6] e Farmacopéia Internacional [7]).

Alcalóide	Meio utilizado	Titulante	Indicador	Referência
Atropina	Ácido acético anidro	$HClO_4$	Potenciometria	[4-7]
	Ácido acético anidro	$HClO_4$	Cristal de violeta	[6]
Efedrina	Etanol+HCl	NaOH	Vermelho de metilo	[4-7]
	Etanol+HCl	NaOH	Potenciometria	[4]
	Acetona	$HClO_4$	Alaranjado de metilo	[4-5]
	Ácido acético anidro	$HClO_4$	Naftolbenzeina	[5-6]
	Ácido acético anidro	$HClO_4$	Cristal de violeta	[6]
	Ácido acético anidro	$HClO_4$	Alaranjado de metilo	[7]
	$CHCl_3$ após extracção	$HClO_4$	Vermelho de metilo	[6-7]
Pilocarpina	Água	NaOH	Potenciometria	[4]
	Ácido acético anidro	$HClO_4$	Potenciometria	[4-7]
Quinidina	$CHCl_3$	$HClO_4$	Potenciometria	[4-5]
	Ácido acético anidro	$HClO_4$	Potenciometria	[4, 5, 7]
	$CHCl_3$ após extracção	$HClO_4$	Cristal de violeta	[5]
	Ácido acético anidro	$HClO_4$	Naftolbenzeína	[6]
	$CHCl_3$ após extracção	$HClO_4$	Potenciometria	[7]

Tabela 1.2.2. - Métodos de doseamento de alcalóides presentes em formulações farmacêuticas, recomendados pela B. P. [5].

Formulações	Atropina	Efedrina	Pilocarpina	Quinidina
Colírios	E. + C.G.		V.B.F. ou F. + V.B.F	
Comprimidos	E. + C.G.	D. + V.		A.V.
Elixires		C.L.		
Injectáveis	E. + C.G.			
Pomadas	E. + C.G.			

A.V. - Volumetria em meio não aquoso; C.G. - Cromatografia gasosa; C.L. - Cromatografia líquida; D. - Destilação; E. - Extracção; F. - Filtração; V. - Volumetria; V.B.F. - Volumetria em sistema heterogéneo (água/solvente orgânico relativamente apolar).

Tabela 1.2.3. - Métodos de doseamento de alcalóides em formulações farmacêuticas recomendados pela U. S. P. [6].

Formulações	Atropina	Efedrina	Pilocarpina	Quinidina
Cápsulas		F. + S.		F. + C.L.
Colírios	E. + C.G.		S. ou C.L.	
Comprimidos	E. + C.G.	F. + S. ou F. + C.L.		F. + C.L.
Gotas nasais		S.		
Injectáveis	C.L.	E. + A.V.		C.L.
Pomadas	E. + C.G.			
Xaropes		E. + F. + S. ou C.L.		

A.V. - Volumetria em meio não aquoso; C.L. - Cromatografia líquida; C.G. - Cromatografia gasosa; E. - Extracção; F. - Filtração; S. - Espectrofotometria.

1.3. - Metodologias de doseamento alternativas às oficiais

Face às várias limitações apresentadas pelas técnicas oficiais, e como alternativa a elas, muitos autores têm vindo a desenvolver outras metodologias de análise. As novas metodologias são baseadas em vários métodos, como sejam cromatográficos (ver 1.3.1.), espectrofotométricos (ver 1.3.2.), potenciométricos (ver 1.3.4.), fluorimétricos (ver 1.3.3.), polarográficos (ver 1.3.3.), voltamétricos (ver 1.3.3.) e polarimétricos (ver 1.3.3.) entre outros (ver 1.3.3.). Também se encontram descritos vários processos de doseamento de alcalóides em formulações farmacêuticas recorrendo a diferentes tipos de titulações (ver 1.3.5.).

1.3.1. - Métodos cromatográficos

A cromatografia líquida (LC) é um dos métodos cromatográficos mais utilizados, estando descrita para o doseamento de atropina [8-16], efedrina [17-42], pilocarpina [43-59] e quinidina [60-67] em formulações farmacêuticas.

É usada como fase móvel uma mistura, que na maioria dos casos é constituida por água (ou uma solução aquosa) e acetonitrilo [10-15, 17, 18, 22, 24-26, 32, 34-36, 52, 54, 63-66] ou metanol [8, 9, 16, 19-21, 28-30, 33, 38-41, 45, 46, 49-51, 55-58, 61, 67]. A solução aquosa utilizada, permite muitas vezes fixar o pH da fase móvel. Para esse efeito é constituída por uma solução tampão à base de iões fosfato [10, 14, 15, 18-20, 24, 29, 32, 35, 36, 45, 49-52, 55, 63-66] ou acetato [12, 13, 21, 22, 25, 26, 33, 37, 61, 67].

A detecção pode ser espectrofotométrica na zona do ultra-violeta [8-15, 17-22, 24-29, 31-55, 57-59, 62-67], mas também pode ser efectuada por amperometria [15], fluorimetria [16, 30], espectrofotometria de massa [60], polarografia [61] ou polarimetria [39].

Apesar de algumas formulações líquidas simples, nomeadamente colírios e injectáveis, poderem ser analizadas directamente sem haver necessidade de preparação da amostra [43, 44, 46-48, 54, 55, 57], a maioria das técnicas cromatográficas, requerem uma preparação prévia da amostra que muitas vezes é complexa e demorada. Nos casos mais simples procede-se à eliminação de partículas sólidas suspensas, que poderiam obstruir a coluna cromatográfica, recorrendo à filtração [9, 17-19, 21-23, 29, 36-38, 40, 61, 67] ou à centrifugação [12, 15, 24, 32, 42]. No entanto, e na maioria das situações é necessário o recurso a uma extracção prévia dos princípios activos a determinar [9-12, 15, 16, 22, 24, 25, 27, 28, 33, 34, 42, 59, 64, 65], extracção essa por vezes seguida de uma secagem do resíduo [9, 11, 15, 16, 25, 42], que é posteriormente retomado com o eluente. A extração é efectuada em meio alcalino por agitação com um solvente orgânico relativamente apolar e imiscível com a fase aquosa, sendo que o respectivo alcalóide será doseado na solução orgânica. Por vezes essa extracção é precedida de outra, esta em meio ácido [9, 10, 15]. Estes processos extractivos além de aumentarem o risco de perdas, tornam o doseamento mais demorado e de difícil implementação numa rotina laboratorial.

Por vezes, e nalguns casos, a separação cromatográfica e posterior doseamento, só é possível após a execução de uma reacção química por forma a preparar derivados dos alcalóides [23, 31] e desta forma separar os enantiómeros.

Apesar das desvantagens apontadas, a cromatografia líquida apresenta a vantagem de permitir a separação de enantiómeros ou ainda dos produtos de degradação dos alcalóides, alguns deles com actividades farmacològicamente distintas. Mas esta possibilidade nem sempre é explorada, pois são reduzidas as referências a este tipo de separação. As poucas metodologias descritas envolvem a separação da *d*- e *l*- hiosciamina [8, 9], da efedrina e pseudoefedrina [23, 24, 27, 31, 39], ou ainda da quinidina e quinina [62, 64]. A separação mais usualmente descrita refere-se à separação e doseamento da pilocarpina, isopilocarpina e seus

produtos de degradação [43, 45, 47-49, 51, 52, 55-57, 59].

Além da cromatografia líquida, também a cromatografia em fase gasosa [68, 69] e a cromatografia gás-liquida [42, 70-76] têm sido utilizadas para a separação e doseamento de alcalóides como a atropina [68-70], efedrina [42, 71-75] e quinidina [76], utilizando como processo de detecção uma chama ionizante. No entanto, além da necessidade de processos extractivos [42, 68, 72, 73, 75, 76] e de filtração das amostras [71, 73, 74], são bastante dispendiosas pois requerem um fluxo contínuo de um gás, regra geral o azoto.

Os métodos cromatográficos apresentam a vantagem de permitir a separação dos vários enantiómeros (atropina e hiosciamina, efedrina e pseudoefedrina, pilocarpina e isopilocarpina e quinina e quinidina) bem como a de substâncias muito semelhantes como sejam os produtos de degradação da pilocarpina, entre os quais também se inclui a isopilocarpina. No entanto, se separação da pilocarpina dos seus produtos de degradação reveste-se de particular importância, pois tem como consequência a diminuição do prazo de validade do respectivo medicamento, a separação dos restantes enantiómeros nem sempre é fundamental. Isto porque a atropina é uma mistura racémica da *d*- e *l*- hiosciamina e a quinidina e quinina são utilizadas em situações clínicas bem distintas, não se encontrando presentes na mesma formulação farmacêutica. Quanto à efedrina e pseudoefedrina, apesar de terem uma acção muito semelhante, diferem na potência pelo que a sua separação tem de alguma importância.

No entanto são no global metodologias demoradas, que requerem uma preparação complexa e fastidiosa das amostras e envolvem a utilização de material dispendioso. Desta forma, apesar de algumas destas técnicas serem mais selectivas que as metodologias oficiais apresentam as mesmas desvantagens.

1.3.2. - Métodos espectrofotométricos

Os espectrofotómetros, particularmente os colorímetros, são aparelhos de rotina em laboratórios de análise, devido, sobretudo, à facilidade de utilização e à possibilidade de serem utilizados para o doseamento de muitas espécies químicas. Devido à sua grande versatilidade e implantação, várias técnicas têm sido desenvolvidas para o doseamento de atropina [14, 77-92], efedrina [28, 80, 84, 88, 91, 93-129], pilocarpina [53, 85, 130-137] e quinidina [88, 138-150] em formulações farmacêuticas.

Como os alcalóides enantioméricos ou quìmicamente muito semelhantes possuem espectros de ultravioleta/visível muito semelhantes esta metodologia não permite o seu doseamento. No entanto, quando associada à polarimetria é possível efectuar o doseamento de enantiómeros. Desta forma foi possível dosear simultaneamente a pilocarpina e a isopilocarpina, através da medição da rotação óptica a 254 nm e da absorvância a 215 nm [132].

Uma vez que a maioria dos alcalóides não absorve as radiações correspondentes à zona do visível, a sua determinação directa é normalmente efectuada na área do ultravioleta usando só um [95, 103, 114, 115, 135, 136, 143, 147, 150] ou vários comprimentos de onda [79, 106, 110, 111, 121, 127-129, 137]. Embora não haja a necessidade de proceder a reacções de derivatização é contudo usual o recurso a reacções de oxidação [28, 101, 108] ou conducentes à formação de benzaldeído [93, 96, 100], entre outras [77, 78, 97], para aumentar a sensibilidade e selectividade da técnica.

Um processo que segundo os seus autores permite eliminar a interferência de outros princípios activos e de alguns excipientes das formulações farmacêuticas é o uso de técnicas espectrofotométricas de primeira [89, 102, 109, 117, 122, 123], segunda [14, 90-92, 98, 112, 113, 122-124], terceira [119, 120, 126] e quarta [98] derivada. No entanto, estas técnicas nem sempre excluem o recurso a extracções

com solventes orgânicos em meio alcalino [89, 98, 112, 113, 122, 124, 126].

As determinações na zona do visível poderão ser efectuadas desde que se recorra a uma reacção prévia de desenvolvimento de cor. Na maioria das situações a espécie corada formada é solúvel em solvente orgânicos relativamente apolares, pelo que será necessário efectuar uma extracção prévia. Vários têm sido os compostos usados para a determinação dos alcalóides, como sejam o ácido picrico [81, 95, 104], o ácido cloranílico [85, 145, 146], o reineckato [88], a hidroxilamina [53, 130, 148], os complexos de metais pesados [99, 107, 116, 141], e diversos corantes e indicadores como derivados do bromocresol [80-83, 131, 139, 142], derivados da fenolftaleína [84, 94, 134], alaranjado de metilo [105] e azul de bromotimol [86, 144] entre outros [87, 118, 125, 133, 138, 140, 142, 149].

Um dos problemas mais comuns da espectrofotometria é a presença de substâncias coradas ou de excipientes insolúveis que têm de ser eliminados por filtracção [82, 83, 89-91, 98, 105, 113, 117, 123, 128, 129, 149] ou extracção [80-90, 94, 95, 97, 98, 112, 113, 116, 122, 124, 126, 133, 139, 143-145], o que aumenta a manipulação da amostra e consequentemente os erros relativos à determinação.

Em conclusão, as técnicas espectrofotométricas são bastante sensíveis e acessíveis à maioria dos laboratórios, no entanto quando as determinações são efectuadas na zona do ultravioleta é fundamental o uso de células de quartzo, mais dispendiosas que as de vidro habitualmente utilizadas na zona do visível. Quando se trabalha na zona do visível, é necessário proceder-se à adição de reagentes de desenvolvimento de cor e à separação dos compostos corados com uma solução orgânica, tornando-se portanto necessário um tratamento dispendioso e fastidioso das amostras.

1.3.3. - Metodologias várias

Outras metodologias variadas têm igualmente sido descritas para o doseamento de alcalóides, nomeadamente a polarografia, voltametria, espectrofotometria de absorção atómica, fluorimetria, ressonância magnética nuclear e isotacoforese capilar entre outras.

A polarografia tem sido utilizada no doseamento de pilocarpina [151-153], enquanto que a voltametria no doseamento de quinidina [154]. Embora sejam técnicas que permitam uma análise a níveis de concentração baixos, o que em termos de produtos farmacêuticos não é limitativo, são no entanto bastante complexas, baseando-se na determinação de níquel [151-153] após reação com a pilocarpina, ou na competição da quinina com um sal de tetrafenilborato insolúvel em água [154].

A espectrofotometria de absorção atómica foi descrita para o doseamento de atropina [155, 156], pilocarpina [155-157] e quinidina [155]. Este tipo de ensaio fundamenta-se na precipitação dos alcalóides com metais pesados como o níquel [156], cobalto [155] ou mercúrio [157]. Posteriormente o composto formado é separado e procede-se ao doseamento do respectivo metal por atomização em chama de ar-acetileno. Esta técnica que se caracteriza por uma boa sensibilidade, envolve contudo uma aparelhagem dispendiosa e requer uma cuidadosa manipulação das amostras e lavagem de todo o material utilizado.

A fluorimetria, apesar de ter sido aplicada no doseamento de efedrina [158] e pilocarpina [159] tem grande utilidade no doseamento de quinina e quinidina [160-163], pois ambos alcalóides exibem fluorescência azul quando se encontram em solução de ácido sulfúrico diluído, fluorescência essa que diminui com a adição de ácido clorídrico [4]. No entanto, apesar de esta técnica ser bastante sensível o seu uso em rotina laboratorial não é muito vulgar, pelos cuidados a ter com possíveis contaminações, que podem mesmo ser provenientes dos recipientes de

plástico ou borracha.

A ressonância magnética nuclear também pode ser utilizada no doseamento de efedrina [164] ou quinidina [165], mas requer aparelhagem muito sofisticada e pouco acessível para a grande maioria dos laboratórios.

A quinidina e a quinina podem ainda ser doseados por quimiluminiscência [166], porque catalizam a reacção entre o cério (IV) e o sulfito.

Todas estas metodologias acima referidas, não permitem, à semelhança das técnicas espectrofotométricas, a separação de enantiómeros. Desta forma, quando necessário, o doseamento de *d*- e *l*- hiosciamina, de quinidina e quinina ou de pilocarpina e isopilocarpina pode ser efectuado recorrendo ao uso de dicromismo circular [167], enquanto que a D- e L-efedrina podem ser determinadas por polarimetria [168].

Outra metodologia que também permite a separação de enantiómeros, é a isotacoforese capilar, que foi utilizada na separação e doseamento de quinina e quinidina [169]. Contudo tem sido mais utilizada na determinação de efedrina [170-173] e de quinidina [173, 174] quando em presença de outros princípios activos.

Com a electroforese capilar também é possível separar e dosear enantiómeros como a efedrina e pseudoefedrina [175], pilocarpina e isopilocarpina [176] ou quinina e quinidina [177] em formulações farmacêuticas. Mas o doseamento só é possível após formação de um derivado corado dos alcalóides.

Mais recentemente, a atropina [178, 179] e a quinidina [180] têm sido doseadas em formulações farmacêuticas, recorrendo ao uso de cristais de quartzo piezoeléctricos.

1.3.4. - Métodos potenciométricos

No geral, as metodologias apresentadas anteriormente, apresentavam como principais desvantagens, o necessitarem de complexos e demorados tratamentos para a preparação das amostras e de equipamento dispendioso. Ora a potenciometria tem-se revelado um processo de doseamento exacto, preciso, selectivo, rápido e económico, sendo por isso indicada como alternativa aos processos oficiais [181, 182]. A rapidez e a economia que a caracterizam devem-se ao facto de não ser necessário um tratamento especial da amostra, bastando uma simples diluição, numa solução aquosa ajustadora da força iónica e por vezes também do pH. Desta forma é possível aplicá-la ao doseamento de substâncias em fórmulas farmacêuticas, sem separação prévia e em muitos casos sem necessidade de clarificação das amostras, porque os excipientes habitualmente utilizados não interferem na resposta dos eléctrodos. Paralelamente, como se conhece rigorosamente a composição dos medicamentos, é sempre possível avaliar a possível interferência de outros constituintes, e apenas quando necessário proceder à sua separação. Além disso, o material necessário a estas determinações é pouco dispendioso e de fácil utilização em procedimentos de rotina.

A potenciometria apresenta limites de detecção superiores a outras técnicas como por exemplo as cromatográficas e as voltamétricas, no entanto quando aplicada ao controle farmacêutico este problema não é fundamental pois a amostra do lote para ensaio é habitualmente mais que suficiente para realizar os ensaios necessários.

À semelhança de outras metodologias, como a espectrofotometria, a potenciometria não permite a distinção dos enantiómeros dos vários alcalóides, contudo como anteriormente foi referido tal diferenciação apenas se reveste de particular importância no caso da pilocarpina. O facto de não distinguir enantiómeros pode mesmo ser útil, pois desta forma o mesmo eléctrodo, por

exemplo sensível à quinidina poderá também ser utilizado no doseamento de quinina, que é utilizada em medicamentos bem distintos.

Face às vantagens apresentadas, vários têm sido os eléctrodos desenvolvidos, selectivos a atropina [183-189], efedrina [190-197], pilocarpina [198] e quinina e quinidina [199-203], contudo a sua caracterização nem sempre é pormenorizada, sendo em muitos casos escassos os dados disponíveis. Como se pode observar na Tabela 1.3.4.1. nem sempre os eléctrodos descritos são aplicados a matrizes reais.

Igualmente da referida Tabela pode-se concluir que a maioria dos eléctrodos selectivos sensíveis a alcalóides descritos, utilizavam como extractor iónico o tetrafenilborato [183, 187-191, 196-203], embora possam ser utilizados outros extractores, como por exemplo dipicrilaminato [186], tetraiodomercurato [186], reineckato [185, 186, 198], picrolonato [184, 201], 5-nitrobarbiturato [184, 193-195], flavianato [192] e tungstosilicato [201].

Exceptuando-se o eléctrodo referido por Hopirtean [203], todos os outros usavam uma solução de referência interna. Este eléctrodo [203] era constituído por um fio de platina recoberto por uma película de PVC onde se encontrava imobilizado o sensor iónico baseado em tetrafenilborato de potássio dissolvido em dibutilftalato. Apesar de inicialmente descrito com um eléctrodo sensível ao catião potássio [204], foi posteriormente utilizado na determinação de vários alcalóides, entre os quais a quinina, por potenciometria directa ou titulação potenciométrica.

A maioria das unidades construídas apresentavam o sensor imobilizado em PVC [185-191, 195-203], mas, encontram-se descritos alguns eléctrodos de membrana líquida baseados no corpo do eléctrodo da Orion modelo 92 [183-185, 192-194, 197, 198, 201]. A utilidade deste tipo de unidades de membrana líquida está muito condicionada pelos inúmeros cuidados de manutenção e manuseamento de que necessitam [205, 206]. Outro problema associado a este tipo de construção é a influência que a agitação das soluções têm na estabilidade do potencial dos

eléctrodos, devido ao aparecimento e acumulação de bolhas de ar [206, 207]. Por outro lado, a constante perda de sensor iónico que ocorre, sobretudo devido à pressão hidrostática do sensor do reservatório interno, contribui para a diminuição do tempo de vida das unidades, exigindo um enchimento periódico do reservatório do sensor (0,5 mL), aumentando consideràvelmente os custos das unidades [207].

Além de eléctrodos de configuração convencional, também estão descritos eléctrodos de configuração tubular [187, 188, 202], utilizados em montagens de análise por injecção em fluxo contínuo (FIA). Todas as unidades tubulares descritas têm solução de referência interna e são baseadas em tetrafenilborato de alcalóide, dissolvido num solvente mediador apropriado e imobilizado em PVC.

A determinação de cloridrato de pseudoefedrina pode ainda ser efectuada, através do doseamento, por potenciometria directa, da concentração de cloreto em formulações farmacêuticas, utilizando um eléctrodo sensível a anião cloreto [208].

Apesar das reconhecidas vantagens da potenciometria, os eléctrodos construídos nem sempre apresentavam características atractivas para uma rotina laboratorial, pelo que será necessário introduzir algumas alterações. Uma importante alteração, que tem provado permitir a obtenção de unidades bastante económicas, mecânicamente muito estáveis e com elevados tempos de vida, consiste na eliminação da solução de referência interna por aplicação directa da membrana de PVC num suporte condutor [209, 210]. Por outro lado a modificação do extractor iónico, aliada à utilização de solventes mediadores com boas características plastificantes têm permitido melhorar o funcionamento dos eléctrodos [205, 211].

Como anteriormente foi referido, o extractor iónico mais utilizado na construção de eléctrodos sensíveis a alcalóides tem sido o tetrafenilborato (BPh4), mas em trabalhos anteriores [205, 212] foram descritos derivados halogenados do BPh4, que permitiram melhorar as características dos eléctrodos, particularmente a zona de resposta linear.

Outro factor importante é a escolha de um solvente mediador, que como se tratam de eléctrodos de membrana de PVC, deve ter boas características plastificantes, por forma a evitar que a membrana perca características mecânicas. Os estéres do ácido ftálico, particularmente o dibutilftalato têm sido bastante utilizados, o que aliás pode ser comprovado na Tabela 1.3.4.1., contudo o uso de 2-nitrofeniloctiléter tem permitido obter eléctrodos com boas características, muitas vezes superiores às das unidades que utilizavam o dibutilftalato como solvente mediador [205].

Assim justifica-se a construção de eléctrodos de membrana de PVC, sem solução de referência interna, utilizando como extractor iónico, derivados halogenados do tetrafenilborato, o tetraquis(4-clorofenil)borato ou o tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato, dissolvidos em 2-nitrofeniloctiléter ou em dibutilftalato.

Tabela 1.3.4.1. - Eléctrodos selectivos de iões sensíveis (ESI's) a alguns alcalóides, descritos anteriormente.

ESI's	Extractor iónico [a)]	Solv. mediador [b)]	Tipo de ESI [c)]	Aplicação [d)]	Ref.
Atropina	Tetrafenilborato	Nitrotolueno	Liquida	Pot. Dir. - Med.	183
Atropina	Nitrobarbiturato	*p*-nitrotolueno †	Líquida	Pot. Dir. - Sol. e Med.	184
	Picrolonato	*p*-nitrotolueno †	Líquida	Pot. Dir. - Sol. e Med.	
Atropina	Reineckato	Dioctilftalato	PVC c/ ref int	Pot. Dir. - Sol. e Med.	185
		Álcool benzílico	Líquida	Pot. Dir. - Sol. e Med.	
Atropina	Tetrafenilborato *	Dioctilftalato †	PVC c/ ref int	Pot. Dir. e Tit. - Sol.	186
Efedrina	Tetrafenilborato	Dibutilftalato †	PVC c/ ref int	n.a.	190
Efedrina	Tetrafenilborato	Dioctilftalato	PVC c/ ref int	Pot. Dir. - Med.	191
Efedrina	Flavianato	Octanol	Líquida	Pot. Dir. - Sol. e Med.	192
Efedrina	Nitrobarbiturato	Octanol	Líquida	Pot. Dir. - Sol. e Med.	193
Efedrina	Nitrobarbiturato	Nitrobenzeno	Líquida	Pot. Dir. - Sol. e Med.	194
Efedrina	Nitrobarbiturato	Dioctilftalato	Dupla memb.	Pot. Dir. - Med.	195
Efedrina	Tetrafenilborato	Dioctilftalato	Dupla memb.	Pot. Dir. - Med.	196
Efedrina	Tetrafenilborato	Dioctilftalato	PVC c/ ref int ‡	Pot. Dir. e Tit. - Sol.	197
Pilocarpina	Reineckato *	Nitrobenzeno †	Líquida §	Pot. Dir. e Tit. - Sol.	198
Quinina	Tetrafenilborato	Dibutilftalato	PVC c/ ref int	Pot. Dir. e Tit. - Sol.	199
Quinidina	Tetrafenilborato	2-nitrofeniloctiléter †	PVC c/ ref int	Pot. Dir. e Tit. - Sol. e Med.	200
Quinina	Tetrafenilborato *	Nitrobenzeno	Líquida	Pot. Dir. e Tit. - Sol.	201
	Tetrafenilborato *	Dibutilftalato	PVC c/ ref int	Pot. Dir. e Tit. - Sol.	

n.a. - Os eléctrodos não foram aplicados; [a)] Extractor iónico utilizado na preparação das membranas (* foram testados outros extractores que não foram aplicados em doseamentos); [b)] Solvente mediador utilizado na preparação das membranas († foram testados outros solventes que não foram aplicados em doseamentos); [c)] Tipo de construção utilizada na preparação dos eléctrodos (Líquida - Membrana líquida, PVC c/ ref int - Eléctrodos de membrana de PVC com solução de referência interna, Dupla memb. - Eléctrodos com duas membranas de PVC, ‡ também foi testado o uso de uma membrana líquida, § também foi testado o uso de PVC c/ ref int); [d)] Método utilizado (Pot. Dir. - Potenciometria directa, Tit. - Titulações potenciométricas) no doseamento de soluções padrão dos alcalóides (Sol.) ou de medicamentos contendo os alcalóides (Med.).

1.3.5. - Titulações

A determinação de atropina [186, 189, 213-231], efedrina [93-95, 100, 197, 219, 232-244], pilocarpina [198, 224, 230, 243, 245-252] e quinidina [199-201, 203, 216, 227, 230, 231, 251, 253-262] pode ainda ser efectuada por titulação. Neste caso, podem ser utilizados diferentes titulantes e processos de detecção.

Entre os titulantes mais utilizados realça-se o tetrafenilborato de sódio (NaBPh4) [186, 189, 197-201, 203, 216-218, 224, 225, 230, 231, 241, 244, 245, 252], um reagente geral de precipitação de alcalóides e o ácido perclórico usado em volumetrias em meio não aquoso [95, 226, 237, 239, 251, 257, 259, 262]. No entanto outros titulantes podem ser úteis, como sejam o ácido clorídrico [228, 233, 234], ácido pícrico [220, 221, 253], nitrato de prata [95, 236, 246], hidróxido de sódio [229, 240, 242, 247, 248, 258] ou de potássio [219, 243], dioctilsulfo-succinato de sódio [213, 255] e azul de bromotimol [235, 249] entre outros [93, 100, 214, 215, 221-223, 227, 236, 238, 250, 254, 256, 260, 261].

Os processos de detecção podem ser visuais, usando diferentes tipos de indicadores [93, 100, 213, 216, 222, 227-229, 232-234, 236, 238, 239, 242, 243, 249, 250, 254, 256-258], espectrofotométricos [214, 215, 226, 235, 255], polarimétricos [218, 219, 241, 259-261] e potenciométricos [93, 186, 189, 197-201, 203, 217, 220, 221, 223-226, 230, 231, 237-240, 244-248, 251-253, 256, 257].

Os corantes e os excipientes insolúveis, habitualmente presentes em formulações farmacêuticas, são fontes de erros quando a detecção é efectuada por um processo visual ou espectrofotométrico. Um processo muito utilizado para obviar tais erros, embora pouco prático, é a execução de reacções em meio heterogéneo (água/solvente orgânico relativamente apolar) [214, 216, 229, 233, 235, 242, 249, 255, 258, 243].

Por outro lado a polarografia e a oscilopolarografia apresentam-se,

geralmente, como técnicas que envolvem um tratamento fastidioso. Tal facto é uma consequência da elevada sensibilidade destas metodologias aliada ao facto de a maioria das titulações descritas basearem-se na precipitação dos alcalóides com metais pesados [219, 259, 261], pelo que se torna necessário garantir que todo o material esteja convenientemente bem lavado, e não existam contaminações de metais pesados provenientes das embalagens, sobretudo quando estas são de plástico. Outro processo, igualmente demorado, de efectuar titulações oscilopolarográficas de alcalóides, consiste numa prévia reacção com o NaBPh4, separação do precipitado formado e titulação do excesso de BPh4 com tálio [218, 241].

Desta forma, e devido por um lado à facilidade de preparação das amostras e por outro ao facto de a maioria dos excipientes não interferirem no potencial dos eléctrodos, a potenciometria apresenta-se vantajosa na detecção do ponto final de titulações de alcalóides em produtos farmacêuticos. Entre as várias unidades utilizadas para o acompanhamento de titulações potenciométricas de alcalóides, destacam-se o eléctrodo de vidro [226, 237, 238, 240, 248, 251, 257], o eléctrodo de antimónio [221, 223] e vários eléctrodos selectivos de iões (ESI), como o ESI de tetrafenilborato [217] e o ESI de picrato [220, 253], entre outros [183, 186, 189, 197-201, 203, 224, 225, 230, 231, 244-246, 252].

O facto das volumetrias apresentarem a possibilidade de com a mesma técnica, dosear diferentes substâncias (alcalóides e outros principios activos) simultâneamente [215, 221, 230, 237, 253] ou não [213, 214, 216, 217, 223, 224, 227, 231, 235, 238, 243, 244, 246, 251, 254, 258], torna-as vantajosas sobre outras metodologias. No entanto, o facto de muitas serem executadas em meio aquoso na presença de solvente orgânico relativamente apolar [214, 216, 219-221, 223, 228, 229, 233, 235, 238, 242, 249, 255, 258] ou em meio não aquoso [95, 226, 237, 239, 251, 257, 259, 262] torna-as de difícil execução prática. Reveste-se por isso de particular importância as titulações potenciométricas, usando ESI's

[183, 186, 189, 197-201, 203, 217, 220, 224, 225, 230, 231, 244-246, 252, 253], que são executadas em meio aquoso, sobretudo as que utilizam como titulante o BPh4 e o picrato de sódio (ou ácido picrico).

Têm sido descritas inúmeras titulações utilizando o BPh4 como titulante, devido à baixa solubilidade dos seus sais formados com muitos catiões univalentes, entre os quais se incluem os alcalóides [263]. Devido à grande importância deste agente precipitante, e à falta de um eléctrodo sensível ao BPh4 com boas características de funcionamento, justifica-se a construção e avaliação pormenorizada de eléctrodos sensíveis ao BPh4. Posteriormente estes serão aplicados no doseamento por titulação potenciométrica de alcalóides em formulações farmacêuticas.

1.4. - Referências bibliográficas

[1] - A. F. Costa, *Farmacognosia*, 2ª edição, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, vol. II, pp. 371 (1978)

[2] - A. F. Costa e J. C. do Vale, *Plantas com alcalóides* (Práticas de Farmacognosia), Coimbra Editora, Coimbra, (1945)

[3] - *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16ª edição, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvânia 18042, pp. 822 (1980)

[4] - *Farmacopéia Portuguesa V*, Imprensa Nacional - Casa da Moeda, Maia (1987)

[5] - *British Pharmacopoeia 1988*, HM Stationery Office, Londres (1988)

[6] - *U. S. Pharmacopeia, National Formulary 1990*, U. S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville (1990)

[7] - *Pharmacopée Internationale*, Organisation mondiale de la Santé, Genebra (1988)

[8] - A. J. Collins, A. T. Campbell e R. Bain, *J. Clin. Pharm.*, **4**, 205 (1979)

[9] - L. J. Pennington, e W. F. Schmidt, *J. Pharm. Sci.*, **71**, 951 (1982)

[10] - H. Nakanishi, K. Imamori e A. Iwasa, *Yakugaku Zasshi*, **112**, 944 (1992)

[11] - H. Li, X. Jia, J. Yu e J. Zhou, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **10**, 324 (1990)

[12] - I. M. Jalal, S. I. Sa'sa, A. H. Abusaleh e H. S. Khalil, *Anal. Lett.*, **18**, 2551 (1985)

[13] - G. Santoni, A. Tonsini, P. Gratteri, P. Mura, S. Furlanetto e S. Pinzauti, *Int. J. Pharm.*, **93**, 239 (1993)

[14] - A. Bettero e P. Bollettin, *Ann. Chim.* (Rome), **75**, 351 (1985)

[15] - P. Leroy e A. Nicolas, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **5**, 477 (1987)

[16] - U. R. Cieri, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **68**, 1042 (1985)

[17] -W. J. Bachman, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **64**, 564 (1981)

[] - T.-M. Chen e L. Chafetz, *J. Pharm. Sci.*, **70**, 804 (1981)

[19] - H. S. I. Tan, P. C. Booncong e S. L. Fine, *J. Pharm. Sci.*, **70**, 783 (1981)

[20] - G. W. Halstead, *J. Pharm. Sci.*, **71**, 1108 (1982)

[21] - L. Carnevale, *J. Pharm. Sci.*, **72**, 196 (1983)

[22] - S. E. Roberts e M. F. Delaney, *J. Chromatogr.*, **242**, 364 (1982)

[23] - G. K. C. Low, P. R. Haddad e A. M. Duffield, *J. Liq. Chromatogr.*, **6**, 311 (1983)

[24] - K. Sagara, T. Oshima e T. Misaki, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 2359 (1983)

[25] - B. P. Chattopadhyay, J. Chattopadhyay e P. C. Bose, *Indian Drugs*, **22**, 154 (1984)

[26] - R. G. Achari e R. Stillman, *LC-GC*, **4**, 454 (1986)

[27] - N. Iwanami, Y. Ohtsuka e H. Kubo, *Yaoxue Tongbao*, **20**, 149 (1985)

[28] - M. Prokzova, K. Michalak, Z. Menyhardtova e B. Proksa, *Farm. Obz.*, **54**, 257 (1985)

[29] - S. U. Alvi e I. Castro, *J. Liq. Chromatogr.*, **9**, 2269 (1986)

[30] - U. R. Cieri, *LC-GC*, **4**, 908 (1986)

[31] - F. T. Noggle jun e C. R. Clark, *J. Forensic Sci.*, **31**, 732 (1986)

[32] - P. Pietta, E. Manera e P. Ceva, *J. Chromatogr.*, **367**, 228 (1986)

[33] - V. Das Gupta e J. T. Jacob, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **13**, 113 (1987)

[34] - D. R. Heidemann, K. S. Groon e J. M. Smith, *LC-GC*, **5**, 422 (1987)

[35] - R. C. George e J. J. Contario, *J. Liq. Chromatogr.*, **11**, 475 (1988)

[36] - S. S. Yang e R. K. Gilpin, *J. Chromatogr. Sci.*, **26**, 416 (1988)

[37] - J. E. Kountourellis, C. K. Markopoulou e P. P. Georgakopoulos, *Anal. Lett.*, **23**, 883 (1990)

[38] - J. Hu, Z. Wang e W. Weng, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **10**, 97 (1990)

[39] - Z. Wu, D. M. Goodall e D. K. Lloyd, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **8**, 357

(1990)

[40] - Y. Yu, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **10**, 355 (1990)

[41] - N. R. Raju, P. Srilakshmi e U. M. Krishna, *Indian Drugs*, **29**, 408 (1992)

[42] - E. V. Rao, G. R. Rao, S. Raghuveer e P. Khadgapathi, *Analyst*, **112**, 871 (1987)

[43] - T. Urbanyi, A. Piedmont, E. Willis e G. Manning, *J. Pharm. Sci.*, **65**, 257 (1976)

[44] - S. K. W. Khalil, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 1625 (1977)

[45] - J. J. O'Donnell, R. Sandman e M. V. Drake, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 1096 (1980)

[46] - M. Kneczke, *J. Chromatogr.*, **198**, 529 (1980)

[47] - D. L. Dunn, B. S. Scott e E. D. Dorsey, *J. Pharm. Sci.*, **70**, 446 (1981)

[48] - J. M. Kennedy e P. E. McNamara, *J. Chromatogr.*, **212**, 331 (1981)

[49] - A. Noordam, L. Maat e H. C. Beyerman, *J. Pharm. Sci.*, **70**, 96 (1981)

[50] - M. V. Drake, J. J. O'Donnell e R. P. Sandman, *J. Pharm. Sci.*, **71**, 358 (1982)

[51] - D. L. Dunn e R. E. Thompson, *J. Chromatogr.*, **264**, 264 (1983)

[52] - J. L. Van Ackeren, R. M. Venable e I. W. Wainer, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **67**, 924 (1984)

[53] - G. Balansard, E. Vidal, M. Guigues, B. Ollivier e M. De Meo, *Pharm. Acta Helv.*, **61**, 47 (1986)

[54] - H. Ibrahim, T. Boye, M. Wermeille, R. Gurny e P. Buri, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **5**, 379 (1987)

[55] - N. Unlu, M. Sumnu, A. A. Hincal e S. Dalkara, *Hacettepe Univ. Eczacilik Fak. Derg.*, **7**, 1 (1987)

[56] - C. Durif, M. Ribes, G. Kister e A. Puech, *Pharm. Acta Helv.*, **63**, 315 (1988)

[57] - F. Li, Z. Yang e C. Han, *Sepu*, **8**, 40 (1990)

[58] - S. D. Desai e J. Blanchard, *J. Chromatogr. Sci.*, **30**, 149 (1992)

[59] - K. D. Sternitzke, T. Y. Fan e D. L. Dunn, *J. Chromatogr.*, **589**, 159 (1992)

[60] - H. Jungclas, H. Danigel e L. Schmidt, *Org. Mass Spectrom.*, **17**, 86 (1982)

[61] - K. Kral e G. Sontag, *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.*, **175**, 22 (1982)

[62] - D. V. McCalley, *J. Chromatogr.*, **260**, 184 (1983)

[63] - C. Cavazzutti, L. Gagliardi, A. Amato, E. Gattavecchia e D. Tonelli, *J. Chromatogr.*, **257**, 166 (1983)

[64] - E. Smith, *J. Chromatogr.*, **299**, 233 (1984)

[65] - E. Pawelczyk e B. Smilowski, *Farm. Pol.*, **43**, 512 (1987)

[66] - M. Wang e C. Gonnet, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **6**, 142 (1986)

[67] - M. A. Johnston, A. R. Lea e D. M. Hailey, *J. Chromatogr.*, **318**, 362 (1985)

[68] - P. Majlat, *Pharmazie*, **39**, 325 (1984)

[69] - P. Majlat, *J. Chromatogr.*, **241**, 399 (1982)

[70] - C. J. Briggs e K. J. Simons, *J. Chromatogr.*, **257**, 132 (1983)

[71] - N. N. Dement'eva, *Farmatsiya* (Moscow), **33**, 37 (1984)

[72] - C. Pham, O. Papp e G. Szasz, *Acta Pharm. Hung.*, **56**, 16 (1986)

[73] - Z. Jin, Y. Lin e X. Li, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **7**, 174 (1987)

[74] - B. Xu, *Yaoxue Xuebao*, **23**, 835 (1988)

[75] - O. Lau e Y. Cheung, *Analyst*, **115**, 1349 (1990)

[76] - M. Verzele, G. Redant, S. Qureshi e P. Sandra, *J. Chromatogr.*, **199**, 105 (1980)

[77] - K. S. Ganesh e P. P. Thampi, *East. Pharm.*, **31**, 125 (1988)

[78] - A. A. M. Wahbi e M. Barary, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **64**, 855 (1981)

[79] - Y. Wang, H. Sun, X. Jiang e D. An, *Yaoxue Tongbao*, **22**, 605 (1987)

[80] - W. Li e Y. Li, *Yaoxue Tongbao*, **16**, 8 (1981)

[81] - M. Gracza-Lukacs e E. Szeleczki, *Gyogyszereszet*, **33**, 131 (1989)

[82] - X. Wei, *Yaoxue Tongbao*, **21**, 341 (1986)

[83] - M. Gao e J. Luo, *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi*, **20**, 78 (1989)

[84] - G. Szasz e B. Nguyen, *Acta Pharm. Hung.*, **51**, 43 (1981)

[85] - M. A.-H. Elsayed e S. P. Agarwal, *Talanta*, **29**, 535 (1982)

[86] - M. Szasz e J. Kovacs, *Acta Pharm. Hung.*, **53**, 150 (1983)

[87] - B. P. Zorya, V. V. Petrenko, S. G. Solomonova e N. G. Fedina, *Farm. Zh.* (Kiev), (3), 40 (1985)

[88] - M. F. Elshahat, M. M. A. Badei e A. A. M. Daifullah, *J. Chem. Technol. Biotech.*, **54** (1992)

[89] - M. S. Mahrous, M. E. Abdel-Hamid, H. G. Dabees e Y. A. Beltagy, *J. Pharm. Belg.*, **47**, 135 (1992)

[90] - S. M. Hassan e A. G. Davidson, *J. Pharm. Pharmacol.*, **36**, 7 (1984)

[91] - A.-A. M. Wahbi, H. Mahgoub e M. Barary, *Analyst*, **114**, 505 (1989)

[92] - C. P. Leung e K. C. C. Wong, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **9**, 195 (1991)

[93] - M. I. Walash, A. A. Ouf e F. B. Salem, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **65**, 1445 (1982)

[94] - T. Sakai e N. Ohno, *Talanta*, **33**, 415 (1986)

[95] - J. Subert e L. Grolichova, *Cesk. Farm.*, **40**, 60 (1991)

[96] - F. E. Kagan, F. A. Mitchenko, L. A. Kirichenko e T. A. Koget, *Farm. Zh.* (Kiev), (2), 46 (1980)

[97] - M. M. Amer, A. M. Taha, S. R. El-Shabouri e P. Y. Khashaba, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **65**, 894 (1982)

[98] - A. G. Davidson e H. Elsheikh, *Analyst*, **107**, 879 (1982)

[99] - F. I. Khattab, *Anal. Lett.*, **16**, 1077 (1983)

[100] - F. Basyoni e M. Ibrahim, *Anal. Lett.*, **17**, 1793 (1984)

[101] - W. Zyzynski, K. Rembielinska e I. Wilczynska-Wojtulewicz, *Acta Pol. Pharm.*, **41**, 61 (1984)

[102] - M. A. Korany, A. M. Wahbi, S. Mandour e M. A. Elsayed, *Anal. Lett.*, **18**, 21 (1985)

[103] - Y. Liu, *Yaoxue Tongbao*, **20**, 656 (1985)

[104] - J. Subert, *Cesk. Farm.*, **34**, 116 (1985)

[105] - S. G. Tiraspol'skaya, G. I. Luk'yanchikova e L. N. Dukkardt, *Farmatsiya* (Moscow), **34**, 81 (1985)

[106] - M. A. Korany, M. Bedair e F. A. El-Yazbi, *Analyst*, **111**, 41 (1986)

[107] - M. Qiu, *Yaoxue Tongbao*, **21**, 144 (1986)

[108] - Y. Ye, D. Zheng e C. Peng, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **6**, 224 (1986)

[109] - J. M. Hoover, R. A. Soltero e P. C. Bansal, *J. Pharm. Sci.*, **76**, 242 (1987)

[110] - J. Li e G. Liu, *Yaoxue Tongbao*, **22**, 418 (1987)

[111] - X. Xiao, *Yaoxue Tongbao*, **22**, 738 (1987)

[112] - J. L. Murtha, T. N. Julian e G. W. Radebaugh, *J. Pharm. Sci.*, **77**, 715 (1988)

[113] - A. G. Davidson e L. M. M. Mkoji, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **6**, 449 (1988)

[114] - X. Xin, *Yaoxue Tongbao*, **22**, 74 (1987)

[115] - M. T. Peeran, G. S. Baravani e V. K. Bhalla, *Indian Drugs*, **25**, 242 (1988)

[116] - J. Ruan, *Yaoxue Tongbao*, **23**, 220 (1988)

[117] - H. Zhu e T. Yu, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **8**, 310 (1988)

[118] - F. Onur e N. Acar, *FABAD Farm. Bilimler Derg.*, **14**, 86 (1989)

[119] - F. Onur e N. Acar, *Gazi Univ. Eczacilik Fak. Derg.*, **6**, 97 (1989)

[120] - F. Onur e N. Acar, *FABAD Farm. Bilimler Derg.*, **14**, 157 (1989)

[121] - B. Xu e T. Bi, *Yaoxue Xuebao*, **24**, 360 (1989)

[122] - M. A. Korany, M. M. Bedair e A. El-Gindy, *J. Pharm. Belg.*, **45**, 252 (1990)

[123] - L. Lin, *Fenxi Huaxue*, **18**, 773 (1990)

[124] - X. Zhang, K. Cai, Y. Sun, G. He e Q. Wei, *Zhongcaoyao*, **21**, 211 (1990)

[125] - Z. Mo, B. Liu, J. Liang e R. Mo, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **11**, 179 (1991)

[126] - Y. Wang e H. Yu, *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, **26**, 669 (1991)

[127] - J. Zhang, W. Gao e X. Jim, *Shenyang Yaoxueyuan Xuebao*, **8**, 212 (1991)

[128] - Q. Liang, Y. M. Yu, M. W. Qin e W. X. Chen, *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao*, **23**, 124 (1992)

[129] - C. Y. Qian, S. Q. Liu e J. B. Zhang, *Shenyang Yaoxueyuan Xuebao*, **9**, 10 (1992)

[130] - E. Brochmann-Hanssen, P. Schmid e J. D. Benmaman, *J. Pharm. Sci.*, **54**, 783 (1965)

[131] - S. El-Masry e R. Soliman, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63**, 689 (1980)

[132] - B. S. Scott, D. L. Dunn e E. D. Dorsey, *J. Pharm. Sci.*, **70**, 1046 (1981)

[133] - M. E. Abdel-Hamid, M. Abdel-Salam, M. S. Mahrous e M. M. Abdel-Khalek, *Talanta*, **32**, 1002 (1985)

[134] - T. Sakai, N. Ohno, T. Higashi e M. Tanaka, *Anal. Sci.*, **1**, 275 (1985)

[135] - Y. Weng, J. Qian, J. Cao e S. Sun, *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, **24**, 477 (1989)

[136] - G. Xiang, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **10**, 176 (1990)

[137] - Y. Yang e S. Lu, *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, **26**, 38 (1991)

[138] - M. Ottis e M. Malat, *Cesk. Farm.*, **29**, 131 (1980)

[139] - H. Siedlanowska-Krowczynska, *Acta Pol. Pharm.*, **38**, 87 (1981)

[140] - T. Matsuoka, T. Mitsui e Y. Fujimura, *Eisei Kagaku*, **28**, 274 (1982)

[141] - I. Mori, Y. Fujita, K. Sakaguchi e S. Kitano, *Bunseki Kagaku*, **31**, 475 (1982)

[142]- N. Ohno e T. Sakai, *Bunseki Kagaku*, **34**, 695 (1985)

[143] - M. Zajac, A. Baranczyk e A. Molenda, *Acta Pol. Pharm.*, **42**, 30 (1985)

[144] - A. Hernandez, P. Gutierrez e J. Thomas, *Farmaco*, **41**, 300 (1986)

[145] - M. S. Mahrous, A. S. Issa, M. A. Abdel Salam e N. Soliman, *Anal. Lett.*, **19**, 901 (1986)

[146] - M. S. Mahrous, M. Abdel Salam, A. S. Issa e M. Abdel-Hamid, *Talanta*, **33**, 185 (1986)

[147] - A. Peterdi-Nagy, J. Sperlagh e M. Vegh, *Acta Pharm. Hung.*, **56**, 115 (1986)

[148] - J. A. Salmeron e F. Bosch, *An. R. Acad. Farm.*, **52**, 65 (1986)

[149] - J. Soucek, E. Halamek e R. Kysilka, *Cesk. Farm.*, **35**, 388 (1986)

[150] - H. Rao e D. Ling, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **8**, 242 (1988)

[151] - K. Gromek, *Chem. Anal.* (Warsaw), **29**, 387 (1984)

[152] - A. M. Y. Jaber, *Anal. Lett.*, **19**, 2039 (1986)

[153] - J. M. Lopez Fonseca e D. Fojon, *Anal. Chim. Acta*, **230**, 97 (1990)

[154] - J. Krause e F. Umland, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **335**, 791 (1989)

[155] - C. Nerin, A. Garnica e J. Cacho, *Anal. Chem.*, **57**, 34 (1985)

[156] - S. Kir e A. Temizer, *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**, 657 (1989)

[157] - M. M. Ayad, S. E. Khayyal e N. M. Farag, *Microchem. J.*, **33**, 371 (1986)

[158] - P. F. Khveshchuk, *Farmatsiya* (Moscow), **37**, 37 (1988)

[159] - M. C. Gutierrez, A. Gomez-Hens e M. Valcarcel, *J. Pharm. Biomed.*

Anal., **5**, 409 (1987)

[160] - E. L. Inman jun, E. Voigtman e J. D. Winefordner, *Appl. Spectrosc.*, **36**, 99 (1982)

[161] - H. Weisz, S. Pantel, C. M. Dilger e U. Glatz, *Mikrochim. Acta* [Wien], **I**, 69 (1984)

[162] - M. Polasek, R. Karlicek e P. Solich, *Cesk. Farm.*, **36**, 201 (1987)

[163] - M. Mariaud, P. Dubois e P. Levillain, *Analyst*, **113**, 929 (1988)

[164] - M. M. A. Hassan, M. U. Zubair e J. S. Mossa, *Talanta*, **28**, 187 (1981)

[165] - G. M. Hanna e C. A. Lau-Cam, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **71**, 1118 (1988)

[166] - I. Koukli e A. C. Calokerinos, *Anal. Chim. Acta*, **236**, 463 (1990)

[167] - S. M. Han e N. Purdie, *Anal. Chem.*, **58**, 455 (1986)

[168] - J. Li, Z. Zhang, L. Yuan e W. Zhao, *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, **27**, 422 (1992)

[169] - H. Klein e R. Teichmann, *Pharm. Ztg.*, **132**, 1131 (1987)

[170] - H. Klein e R. Teichmann, *Pharm. Ztg.*, **127**, 447 (1982)

[171] - S. Fanali, F. Foret e P. Bocek, *J. Chromatogr.*, **330**, 436 (1985)

[172] - J. Pospichalova e V. Jokl, *Pharmazie*, **42**, 55 (1987)

[173] - A. Barcuchova e V. Jokl, *Cesk. Farm.*, **32**, 12 (1983)

[174] - J. C. Reijenga, G. V. A. Aben, A. A. G. Lemmens, T. P. E. M. Verheggen, C. H. M. M. De Bruijn e F. M. Everaerts, *J. Chromatogr.*, **320**, 245 (1985)

[175] - Y. M. Liu e S. J. Sheu, *J. Chromatogr.*, **637**, 219 (1993)

[176] - W. Baeyens, G. Weiss, G. Vanderweken, W. Vandenbossche e C. Dewaele, *J. Chromatogr.*, **638**, 319 (1993)

[177] - K. D. Altria e C. F. Simpson, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **6**, 801 (1988)

[178] - W. Z. Wei, C. W. Hu, W. H. Zhu e S. Z. Yao, *Anal. Lett.*, **26**, 2371 (1993)

[179] - W. H. Zhu, W. Z. Wei, L. H. Nie e S. Z. Yao, *Anal. Chim. Acta*, **282**, 535 (1993)

[180] - L.-H. Nie, X.-T. Zhang e S.-Z. Yao, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **10**, 529 (1992)

[181] - V. V. Cosofret e R. P. Buck, *Ion.-Sel. Electrode Rev.*, **6**, 59 (1984)

[182] - V. V. Cosofret, *Membrane Electrodes in Drug-Substances Analysis*, Pergamon Press, Oxford (1982)

[183] - E. P. Diamandis, E. Athanasiou-Malaki, D. S. Papastathopoulos e T. P. Hadjiioannou, *Anal. Chim. Acta*, **128**, 239 (1981)

[184] - S. S. M. Hassan, M. A. Ahmed e F. S. Tadros, *Talanta*, **34** (8), 723 (1987)

[185] - S. S. M. Hassan e F. S. Tadros, *Anal. Chem.*, **56**, 542 (1984)

[186] - H. Lin, H. Liu e G. Shen, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **5**, 150 (1985)

[187] - H. Cui, J. Sun, B. Li, Z. Zhang e Y. Fang, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **9**, 347, (1989)

[188] - H. B. Cui, *Talanta*, **40**, 1445 (1993)

[189] - E. Halamek, T. Capoun e J. Soucek, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **53**, 912 (1988)

[190] - K. Selinger e R. Staroscik, *Chem. Anal.* (Warsaw), **27**, 223 (1982)

[191] - J. Zeng, *Yaoxue Xuebao*, **17**, 841 (1982)

[192] - S. S. M. Hassan e G. A. Rechnitz, *Anal. Chem.*, **58**, 1052 (1986)

[193] - S. S. M. Hassan, *Arab Gulf J. Sci. Res.*, **4**, 127 (1986)

[194] - S. S. M. Hassan e M. M. Saoudi, *Analyst*, **111**, 1367 (1986)

[195] - P. R. Chamorro e R. C. Diaz, *Analyst*, **117**, 1905 (1992)

[196] - P. R. Chamorro e R. C. Diaz, *Talanta*, **40**, 1461 (1993)

[197] - K. Fukamachi, R. Nakagawa, M. Morimoto e N. Ishibashi, *Bunseki*

Kagaku, **24**, 428 (1975)

[198] - S. Yao, G. Shen e H. Wu, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **4**, 281 (1984)

[199] - J.-I. Anzai, C. Isomura e T. Osa, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 236 (1985)

[200] - V. V. Cosofret e R. P. Buck, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **3**, 123 (1985)

[201] - S.-Z. Yao e J.-H. Liu, *Huaxue Xuebao*, **43**, 611 (1985)

[202] - W. Liu e Z. Yan, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **10**, 261 (1990)

[203] - E. Hopirtean e E. Stefaniga, *Rev. Roumaine Chim.*, **21**, 305 (1976)

[204] - E. Hopirtean, C. Liteanu e E. Stefaniga, *Rev. Roumaine Chim.*, **19**, 1651 (1974)

[205] - G. H. Zhang, T. Imato, Y. Asano, T. Sonoda, H. Kobayashi e N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, **62**, 1644 (1990)

[206] - O. F. Schafer, *Anal. Chim. Acta*, **87**, 495 (1976)

[207] - G. J. Moody, B. B. Saad e J. D. R. Thomas, *Sel. Electrode Rev.*, **10**, 71 (1988)

[208] - S. T. Chen, R. C. Thompson e R. I. Poust, *J. Pharm. Sci.*, **70**, 1288 (1981)

[209] - G. J. Moody, J. D. R. Thomas, J. L. F. C. Lima e A. A. S. C. Machado, *Analyst*, **113**, 1023 (1988)

[210] - J. L. F. C. Lima e A. A. S. C.- Machado, *Analyst*, **111**, 799 (1986)

[211] - J. L. F. C. Lima, M. C. B. S. M. Montenegro e A. M. R. da Silva, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **8**, 701 (1990)

[212] - N. Ishibashi, I. Toshihiko, G. H. Zhang, Y. Asano, T. Sonoda e H. Kobayashi, *Anal. Sci.*, **4**, 527 (1988)

[213] - R. F. Falcão e M. J. T. L. Vianna, *Rev. Port. Farm.*, **29**, 201 (1979)

[214] - S. P. Agarwal e M. A.-H. Elsayed, *Analyst*, **106**, 1157 (1981)

[215] - A. I. Sichko e T. A. Lebedeva, *Khim. Prom-st., Ser.: Metody Anal. Kontrolya Kach. Prod. Khim. Prom-sti.*, 25 (1981)

[216] - M. Tsubouchi, H. Mitsushio, N. Yamasaki e K. Matsuoka, *J. Pharm. Sci.*, **70**, 1286 (1981)

[217] - T. K. Christopoulos, E. P. Diamandis e T. P. Hadjiioannou, *Anal. Chim. Acta*, **143**, 143 (1982)

[218] - S. Pan e H. Gao, *Fenxi Huaxue*, **11**, 98 (1983)]

[219] - S. Chen e H. Gao, *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao*, **4**, 26 (1983)

[220] - I. A. Gur'ev, M. I. Drofa, A. A. Kalugin e E. V. Sankova, *Zh. Anal. Khim.*, **37**, 315 (1982)

[221] - P. Dynarowicz, *Chem. Anal.* (Warsaw), **29**, 723 (1984)

[222] - J. Zhong, B. She e W. Chen, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **4**, 16 (1984)

[223] - P. Dynarowicz e M. Paluch, *Anal. Chim. Acta*, **172**, 73 (1985)

[224] - S. Matejek, K. Vytras e S. Stankova, *Cesk. Farm.*, **36**, 257 (1987)

[225] - E. Halamek e T. Capoun, *Chem. Listy*, **83**, 431 (1989)

[226] - M. Feng, Z. Wang, L. Li e L. Gao, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **9**, 50 (1989)

[227] - I. V. Zen'ko, *Farmatsiya* (Moscow), **37**, 73 (1988)

[228] - E. Somogyi e W. Rzeszutko, *Acta Pol. Pharm*, **46**, 469 (1989)

[229] - A. A. Medvedovsky, T. V. Gerasimchuk, T. V. Koval'chuk e E. A. Zimina, *Farm. Zh.* (Kiev), (5), 48 (1991)

[230] - S. S. M. Hassan e M. B. Elsayes, *Anal. Chem.*, **51**, 1651 (1979)

[231] - W. Selig, *Mikrochim. Acta* [Wien], **II**, 133 (1980)

[232] - F. E. Kagan, F. A. Mitchenko, L. A. Kirichenko e T. A. Koget, *Farm. Zh.* (Kiev), **34**, 49 (1979)

[233] - R. Jones e G. Marnham, *J. Pharm. Pharmacol.*, **32**, 820 (1980)

[234] - Y.-Z. Chen e D.-Q. Huang, *Lan-chou Ta Hsueh Hsueh Pao, Tzu Jan K'o Hsueh Pan*, (2), 74 (1981)

[235] - A. Hernandez, P. Gutierrez e J. Thomas, *Farmaco*, **40**, 63 (1985)

[236] - X. Luo, *Yaoxue Tongbao*, **20**, 87 (1985)

[237] - E. Sell e P. Zoga, *Farm. Pol.*, **37**, 9 (1981)

[238] - S. Belal, *Pharmazie*, **39**, 67 (1984)

[239] - S. M. Khanna, Y. K. Agrawal e S. K. Banerjee, *Indian Drugs*, **23**, 236 (1986)

[240] - R. Zheng, G. Li e J. Ma, *Yaoxue Tongbao*, **22**, 736 (1987)

[241] - X. Luo, Y. Zuo e L. Jia, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **8**, 48 (1988)

[242] - T. V. Gerasimchuk e A. A. Medvedovskii, *Farm. Zh.* (Kiev), (2), 75 (1992)

[243] - J. Schnekenburger e M. Quade-Henkel, *Dtsch. Apoth.-Ztg.*, **123**, 866 (1983)

[244] - K. Selinger e R. Staroscik, *Pharmazie*, **33**, 208 (1978)

[245] - K. Vytras e V. Riha, *Cesk. Farm.*, **26**, 9 (1977)

[246] - S. Zommer-Urbanska e H. Bojarowicz, *Farm. Pol.*, **40**, 657 (1984)

[247] - G. Luo e R. Yu, *Yaoxue Xuebao*, **20**, 146 (1985)

[248] - P. A. Johansson, *Anal. Chem.*, **58**, 1587 (1986)

[249] - L. Xu, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **11**, 119 (1991)

[250] - F. A. Mitchenko e L. O. Kirichenko, *Farm. Zh.* (Kiev), (4), 60 (1983)

[251] - Y. Asahi, M. Takana e K. Mima, *Bunseki Kagaku*, **35**, 147 (1986)

[252] - K. Vytras, *Mikrochim. Acta* [Wien], **III**, 139 (1984)

[253] - E. P. Diamandis e T. P. Hadjiioannou, *Anal. Chim. Acta*, **123**, 341 (1981)

[254] - M. Gajewska, E. Wojcik e L. Halec, *Acta Pol. Pharm.*, **38**, 321 (1981)

[255] - D. Volkmann, *GIT Fachz. Lab.*, **26**, 113 (1982)

[256] - M. I. Walash, M. Rizk, A. A. Abou-Ouf e F. Belal, *Anal. Lett.*, **16**, 129 (1983)

[257] - N. Zakhari, F. Ibrahim e K. A. Kovar, *Talanta*, **36**, 780 (1989)

[258] - A. A. Medvedovskii, T. V. Koval'chuk e T. V. Gerasimchuk, *Farm.*

Zh. (Kiev), (2), 48 (1990)

[259] - D. Yao, Z. Lu e H. Gao, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **12**, 48 (1992)

[260] - Z. Lu, J. Qu e H. Gao, *Fenxi Huaxue*, **13**, 422 (1985)

[261] - W. R. Lin, Z. X. Xie e D. W. Li, *Fenxi Huaxue*, **21**, 309 (1993)

[262] - S. I. El-Sahy e F. M. Plakogiannis, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **5**, 605 (1979)

[263] - K. Vytras, *Ion.-Sel. Electrode Rev.*, **7**, 77 (1985)

CAPÍTULO 2

ASPECTOS GERAIS DA PARTE EXPERIMENTAL

2. - ASPECTOS GERAIS DA PARTE EXPERIMENTAL

Este capítulo visa uma descrição dos aspectos experimentais, que são comuns à construção e avaliação dos eléctrodos convencionais e detectores tubulares, apresentados nesta dissertação. Desta forma, para evitar repetições desnecessárias ao longo dos restantes capítulos, optou-se pela apresentação genérica dos materiais e metodologias usadas, reservando-se para a parte experimental de cada capítulo, as indicações que apenas dizem respeito a essas unidades potenciométricas.

2.1. - Aparelhagem utilizada

As medições de diferenças de potencial entre o eléctrodo indicador e o eléctrodo de referência foram efectuadas usando um decimilivoltímetro da marca Crison, modelo μpH 2002 (sensibilidade 0,1 mV), ao qual se acoplou um comutador de eléctrodos construído de acordo com o anteriormente descrito [1].

Para a determinação da velocidade de resposta dos eléctrodos construídos, bem como nas montagens de análise por injecção em fluxo (FIA), ligou-se ao decimilivoltímetro, um registador da marca Metrohm, modelo E586 Labograph ou um registador modelo BD111 da marca Kipp & Zonen.

Todas as determinações foram efectuadas numa cuba de paredes duplas, referência EA-876-20 da Metrohm, por onde circulava água proveniente de um banho termostatado da marca GFL, modelo 5001, que se encontrava regulado para uma temperatura de 25,0±0,2°C.

As soluções nas quais os eléctrodos estavam mergulhados, eram agitadas por intermédio de um agitador magnético da marca Crison, modelo 2038.

Para as medições de volumes iguais ou superiores a 10 mL, foram usadas pipetas volumétricas da marca Glasfirn de classe AS, enquanto que para os volumes inferiores foram utilizadas pipetas automáticas de volume regulável da marca Gilson, modelos P100, P1000 e P5000.

As pesagens foram realizadas numa balança da marca Mettler, modelo AE 163, com sensibilidade de 0,00001 g.

As titulações potenciométricas foram efectuadas utilizando um sistema de titulação constituído por uma bureta da marca Crison, modelo MicroBUR 2031, comandada por um computador da marca Hyundai, modelo Super 16, equipado com uma placa Advantech, modelo PCL 720 para o controle do selector de canais automático, construído de acordo com o indicado anteriormente [2]. O controlo do equipamento periférico (bureta), bem como a aquisição de dados fornecidos pelo potenciómetro, foram efectuadas através da porta RS232C, prevista pelo fabricante do equipamento. Para a impressão dos resultados obtidos, utilizou-se uma impressora Epson LX 800. Foi desenvolvido o *software* adequado quer para as titulações potenciométricas quer para o tratamento dos dados experimentais, de acordo com o anteriormente referido [3].

Para promover a dissolução de substâncias sólidas, nomeadamente fórmulas farmacêuticas, foi usado um banho de ultra-sons, termostatado, da marca Bandelin, modelo Sonorex RK 100H.

Os sistemas extractores usados na preparação das membranas dos eléctrodos, eram filtrados, quando necessário, utilizando um cadinho de porcelana G4, no qual se colocou um círculo de papel de filtro da Marca Whatman, nº 2 para análise qualitativa, de diâmetro igual ao diâmetro interno do cadinho.

2.2. - Eléctrodos utilizados

Todas as medidas de potencial foram efectuadas contra um eléctrodo de referência, de dupla junção, de cloreto de prata/prata da marca Metrohm, nº 6.0726.100 ou da marca Orion modelo 90-02-00. Em ambos os casos, a solução interna era uma solução saturada de cloreto de potássio, à qual haviam sido adicionadas algumas gotas de uma solução aquosa de nitrato de prata a 0,1 M (a cerca de 300 mL de solução saturada, foram adicionadas cerca de três gotas). A adição de nitrato de prata evita a dissolução do cloreto de prata do eléctrodo de referência, evitando assim alterações do potencial desse eléctrodo.

A solução externa utilizada, que possuía em todos os casos, uma força iónica igual a 0,1 M, variava de caso para caso, conforme o tipo de eléctrodo construído. A composição desta era escolhida de acordo com os valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos obtidos para cada uma das membranas preparadas.

Para efectuar as medições de pH, foi usado um eléctrodo de vidro da marca Ingold, referência 10/402/3092.

2.3. - Material utilizado para as montagens FIA

Nas montagens destinadas a análise por injecção em fluxo contínuo, foi utilizado para a propulsão do líquido transportador, uma bomba peristáltica da marca Gilson, modelo Minipuls 2, tendo as amostras sido introduzidas no sistema por intermédio de uma válvula de injecção rotatória manual de seis portas (4 vias) da marca Rheodyne, modelo 5020.

Nas montagens dos sistemas FIA, foram utilizados diversos dispositivos [4] construídos em metacrilato de metilo (perspex®), nomeadamente, suportes fixadores dos módulos sensores de configuração tubular (Fig. 2.3.1.), suportes para o eléctrodo de referência (Fig. 2.3.2.) e câmaras de mistura (Fig. 2.3.3.)

Como eléctrodo de referência utilizou-se um eléctrodo de dupla junção da marca Orion, modelo 90-02-00, de cloreto de prata/prata, que era fixado através de um módulo de perspex® (ver Fig. 2.1.2.), e colocado em linha depois do detector potenciométrico.

Para eliminar o ruído eléctrico provocado pela bomba peristáltica usou-se um "eléctrodo de ligação à terra" (Fig. 2.3.4.) [4] que consiste num tubo de aço inoxidável de cerca de 0,8 mm de diâmetro interno com cerca de 15 mm de comprimento ao qual é soldado um cabo eléctrico.

Todas as ligações entre os vários elementos utilizados em FIA, eram efectuadas por intermédio de tubo de politetrafluoroetileno (teflon®) da marca Omnifit, com 0,8 mm de diâmetro interno e ligadores e terminais da mesma marca.

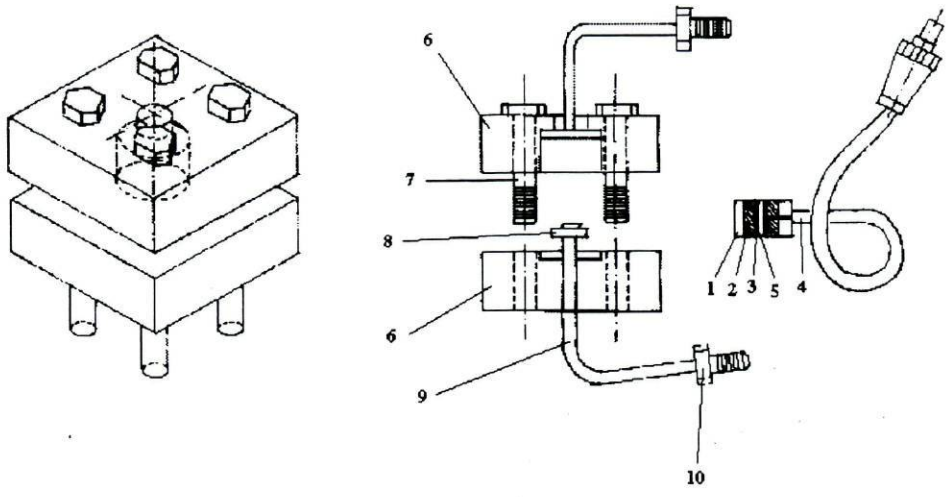


Figura 2.3.1. - Suporte fixador dos eléctrodos tubulares: (1) - tubo de perspex®; (2) - cilindro de material condutor (resina epoxídica com grafite); (3) - membrana sensora; (4) - cabo eléctrico blindado; (5) - orifício central; (6) - placa de perspex®; (7) - parafusos; (8) - anel circular em borracha; (9) - tubo de teflon® (0,8 mm d. i.) com terminal (10), na extremidade.

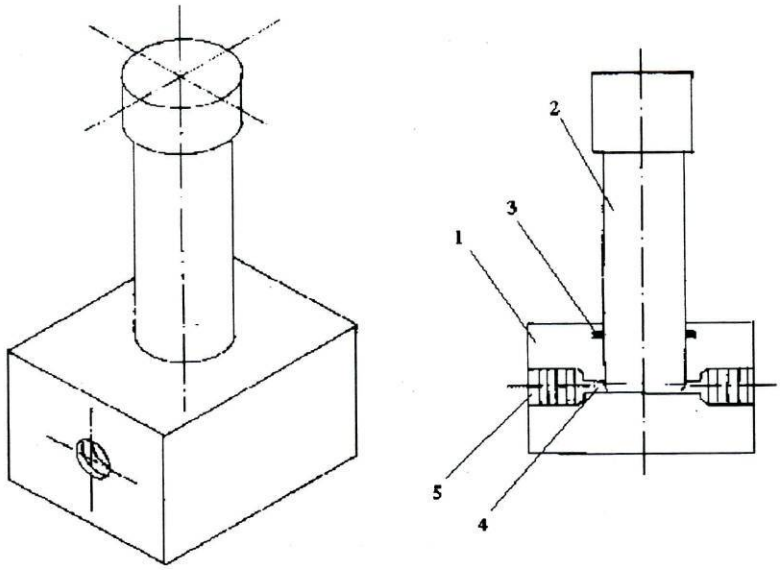


Figura 2.3.2. - Suporte para o eléctrodo de referência: (1) - bloco de perspex®; (2) - eléctrodo de referência; (3) - cavidade para o eléctrodo; (4) - canais de ligação; (5) - ligações de entrada e saída.

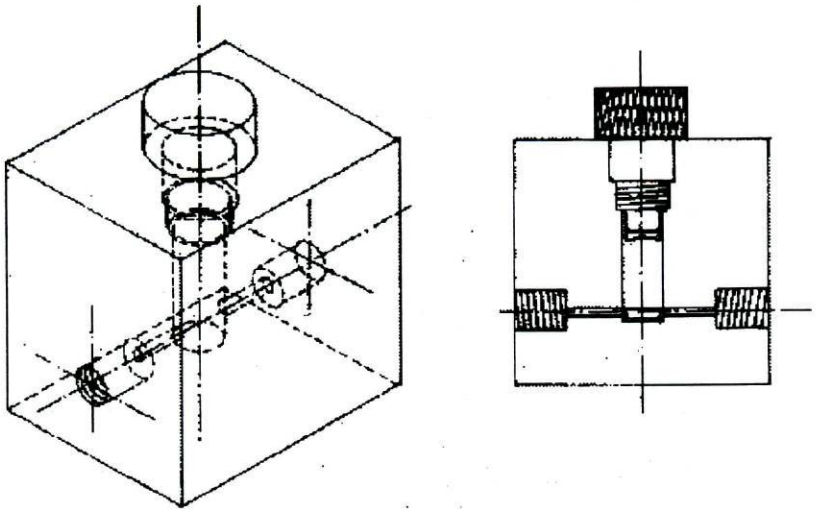


Figura 2.3.3. - Câmara de mistura de volume regulável e com agitação mecânica utilizada nas montagens FIA baseadas em medição de tempo.

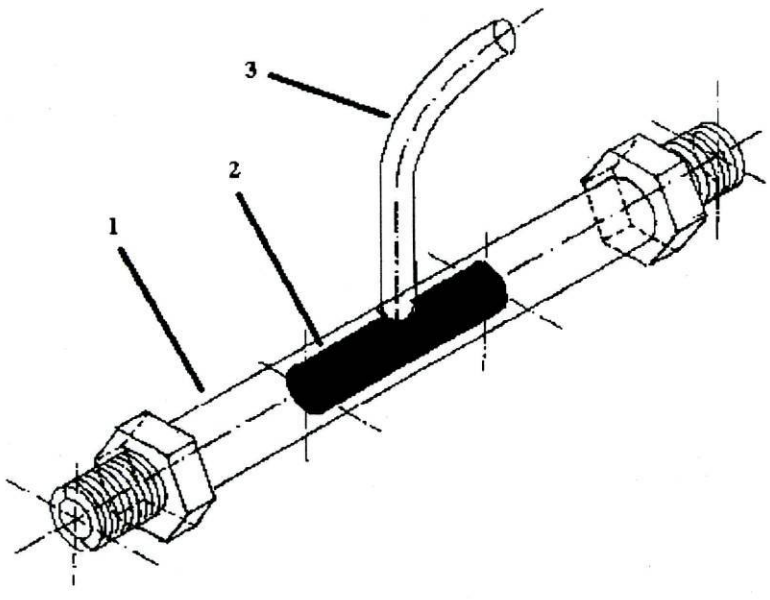


Figura 2.3.4. - "Eléctrodo de ligação à terra": (1) - tubo de teflon® (0,8 mm d. i.) com terminal na extremidade; (2) - fio eléctrico para a ligação "à terra"; (3) - tubo de aço inoxidável.

2.4. - Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados eram de qualidade p. a. ou semelhante sem terem sido submetidos a qualquer purificação adicional.

As formas farmacêuticas contendo alcalóides, utilizadas para avaliar a utilidade analítica dos eléctrodos, foram obtidas no mercado local.

Para a preparação das soluções aquosas, foi utilizada água desionizada com uma condutividade igual ou inferior a 0,1 μS/cm.

As soluções aquosas usadas nos ensaios correntes de avaliação das características dos eléctrodos, foram preparadas por pesagem rigorosa do composto sólido, e diluição rigorosa em balão aferido com água.

As soluções de tetrafenilborato de sódio utilizadas nos ensaios por titulação potenciométrica, eram determinadas por titulação com uma solução aquosa de nitrato de tálio (I) (Aldrich, 99,999 %, referência 20,460-9), conforme descrito anteriormente por outros autores [5, 6].

As soluções aquosas dos alcalóides eram preparadas diariamente e guardadas ao abrigo da luz de modo a garantir que não ocorria degradação da espécie em solução.

2.5. - Construção dos eléctrodos de configuração convencional

2.5.1. - Preparação do corpo do eléctrodo

Para a montagem do corpo do eléctrodo foram utilizados três tubos de diferentes diâmetros de metacrilato de metilo (perspex®). O tubo que forma o corpo do eléctrodo propriamente dito tinha cerca de 10 mm de diâmetro externo, 7 mm de diâmetro interno e 150 mm de comprimento. Externamente, e numa das extremidades desse tubo, era colado, com o auxílio de clorofórmio, um tubo de cerca de 15 mm de diâmetro externo, 10 mm de diâmetro interno e 25 mm de comprimento (Fig. 2.5.1.1. A). A função do tubo externo é a de servir de suporte, mantendo os eléctrodos na posição vertical quando eram introduzidos nos orifícios das tampas das cubas termostatadas usadas.

Na extremidade oposta, e internamente, era colado um terceiro tubo com cerca de 6,5 mm de diâmetro externo, 3,5 mm de diâmetro interno e 5 mm de comprimento (Fig. 2.5.1.1. A), com a finalidade de suportar uma placa de prata onde vai ser depositado o suporte epoxídico condutor.

À placa de prata (0,25 mm de espessura), que foi cortada com o auxílio de um punção de modo a ficar com cerca de 7 mm de diâmetro, era soldado o fio interno de um cabo eléctrico coaxial blindado. De seguida, o cabo era introduzido no interior do corpo preparado anteriormente de modo a que a placa de prata ficasse retida no tubo colocado interiormente (Fig. 2.5.1.1. B). A placa de prata pode ser substituída, com vantagem, por uma placa de cobre, já que, para além deste último ser um material condutor é também mais económico.

Por forma a conferir uma certa solidez à montagem procedeu-se à sua fixação na extremidade superior do corpo do eléctrodo. Para tal utilizou-se uma mistura epoxídica (preparada na proporção de 1,0 g de araldite M para 0,4 g de

endurecedor HR, ambos da marca Ciba-Geigy) ou uma cola preparada pela dissolução de perspex® em clorofórmio.

Na extremidade livre do cabo eléctrico blindado, era adaptado um terminal tipo BNC, através do qual se estabelecia o contacto com a aparelhagem utilizada (Fig. 2.5.1.1. C).

Directamente sobre a placa de cobre (ou prata) e com o objectivo de suportar a membrana dos eléctrodos, foi aplicada uma mistura epoxídica tornada condutora pela adição de pó de grafite. Esta pasta condutora foi preparada, misturando-se, inicialmente, 1,0 g de araldite M e 0,4 g de endurecedor HR. Posteriormente, a 0,20 g desta mistura, eram adicionados 0,24 g de grafite em pó muito fino (diâmetro inferior a 50 μm) da marca Merck, referência 4206 [7]. A incorporação da grafite deve ser efectuada de forma a que a pasta apresente, no final, um aspecto homogéneo, para garantir uma boa condutividade da mistura epoxídica, e consequentemente um bom funcionamento das unidades.

A mistura condutora preparada, foi aplicada sobre a placa de cobre (ou prata) formando uma camada com cerca de 7 mm de espessura, tendo o cuidado de evitar a formação de bolhas de ar, e procurando que ela adira à superfície interna da parede do corpo do eléctrodo (Fig. 2.5.1.1. D). A proporção indicada para a preparação da pasta, permite a construção de aproximadamente 6 corpos para eléctrodos.

Uma vez cheia a cavidade do extremo dos corpos dos eléctrodos com a resina epoxídica condutora, estes eram colocados numa estufa, a cerca de 90°C durante cerca de 24 horas, para que ocorresse a polimerização e endurecimento da resina. Após esta fase, foi efectuada uma cavidade arredondada, de diâmetro aproximadamente igual ao diâmetro interno do tubo (7 mm) e com cerca de 1 a 2 mm de profundidade (Fig. 2.5.1.1. E). Nesta cavidade, irá ser depositada a membrana sensora, quando da construção dos eléctrodos.

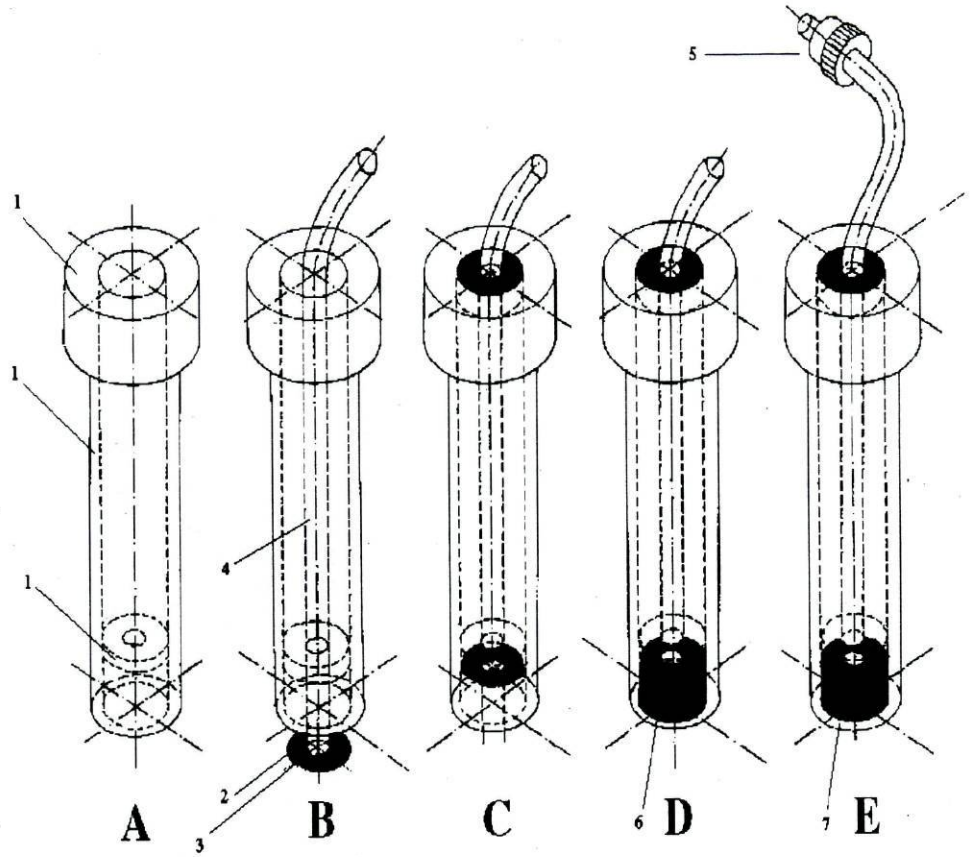


Figura 2.5.1.1. - Construção do corpo dos eléctrodos convencionais: (1) - tubo de perspex®; (2) - placa circular de prata (ou cobre); (3) - solda; (4) - cabo eléctrico coaxial blindado; (5) - terminal tipo BNC; (6) - mistura epoxídica condutora; (7) - cavidade onde se irá depositar a membrana.

2.5.2. - Preparação e aplicação das membranas sensoras

Para a preparação dos diferentes sistemas extractores, efectuou-se uma reacção de precipitação entre o extractor iónico e o ião para o qual o eléctrodo será selectivo. Por forma a garantir uma reacção mais completa e a facilitar a sua posterior remoção por lavagem com água desionizada, adicionava-se um excesso do reagente mais hidrossolúvel, regra geral o sal do ião para o qual o sistema era preparado.

O extractor iónico utilizado para a construção de eléctrodos sensíveis ao tetrafenilborato (BPh4), foi um sal de amónio quaternário de cadeia longa (tetrapentilamónio ou tetraoctilamónio), tendo-se procedido à adição de 25 mL de uma solução aquosa de tetrafenilborato de sódio 0,1 M a 20 mL de uma solução aquosa ou em acetona do sal de amónio respectivo, à concentração de 0,1 M.

Para preparar os sistemas extractores dos diferentes alcalóides para os quais foram construídos eléctrodos selectivos de iões, atropina, efedrina, pilocarpina e quinidina, utilizou-se como extractor iónico um derivado do BPh4. Para tal a 5 mL de uma solução de tetrakis(4-clorofenil)borato de potássio em acetona à concentração de 0,1 M adicionou-se igual volume de uma solução aquosa de um sal solúvel (cloridrato ou sulfato) do alcalóide à concentração de 0,14 M no alcalóide. Dadas as suas características de menor solubilidade, a solução de sulfato de quinidina, usada para a preparação de um sistema extractor para aquele alcalóide, possuía uma concentração de 0,014 M em quinidina, tendo-se utilizado um volume de 50 mL de modo a manter a mesma proporção molar.

Além do referido derivado clorado do BPh4, foi igualmente utilizado um derivado fluorado, para a preparação de outro sistema extractor para a pilocarpina. Para tal juntaram-se volumes iguais (0,5 mL) de uma solução em acetona de tetrakis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato de potássio 0,1 M e de uma solução aquosa de cloridrato de pilocarpina 0,14 M.

Os precipitados obtidos foram colocados ao abrigo da luz durante cerca de 3 dias de modo a garantir a evaporação da acetona e por forma a que a reacção e a cristalização fossem o mais completas possível.

Após a evaporação da acetona, procedeu-se à filtração dos cristais obtidos e lavagem dos mesmos com cerca de 8 vezes 20 mL de água desionizada. Posteriormente foram guardados, ao abrigo da luz, num excicador, de modo a permitir a sua secagem.

Nos casos em que a separação dos cristais por filtração se tornava difícil, como por exemplo os de tetrafenilborato de tetrapentilamónio, optou-se pela centrifugação. No final os cristais foram igualmente lavados com água desionizada, centrifugando-os e decantando o sobrenadante, ocorrendo em seguida a sua secagem.

Para a preparação dos sistemas sensores usados na preparação das membranas, dissolveu-se uma quantidade determinada dos cristais preparados, num solvente mediador apropriado. As percentagens de ambos serão indicadas nos correspondentes capítulos.

Com a finalidade de verificar a influência do processo de obtenção do sistema extractor na resposta do eléctrodo, foi utilizado um processo diferente para a obtenção do extractor para a efedrina. Para tal procedeu-se primeiro à dissolução do extractor iónico, tetrakis(4-clorofenil)borato de potássio, num solvente mediador apropriado (2-nitrofeniloctiléter), após o que se adicionou cerca de 15 mL de clorofórmio de modo a facilitar o processo extractivo subsequente. De seguida agitou-se vigorosamente esta solução com cerca de 20 mL de uma solução de cloridrato de efedrina 0,01 M, rejeitando-se a fase aquosa. Esta operação foi repetida 5 vezes de modo a obter-se uma permuta, o mais completa possível, entre o potássio e a efedrina, originando assim o tetrakis(4-clorofenil)borato de efedrina. Após a última extracção, a fase orgânica foi separada da fase aquosa e posteriormente passada através de um funil com papel de filtro contendo sulfato de

sódio anidro, para um recipiente que se colocou à temperatura ambiente e ao abrigo da luz de modo a permitir a evaporação do clorofórmio.

Uma vez obtidas as misturas sensoras, procedeu-se à sua imobilização em cloreto de polivinilo (PVC), de modo a formar as membranas sensoras. Para tal, dissolveram-se cerca de 0,18 g de PVC em cerca de 6 mL de tetrahidrofurano (THF). A esta solução, juntou-se cerca de 0,40 mL da mistura sensora, obtendo-se assim as membranas sensoras, cujas composições nas diferentes substâncias, serão descritas detalhadamente nos capítulos correspondentes. A quantidade referida de membrana sensora permite a preparação de cerca de oito eléctrodos.

Os eléctrodos foram preparados aplicando as membranas sensoras directamente sobre a cavidade talhada no suporte epoxídico (Fig. 2.5.2.1. A). A aplicação foi efectuada segundo um processo descrito anteriormente por outros autores [7], e que consiste na deposição, gota a gota da membrana sensora directamente sobre o suporte condutor deixando que o tetrahidrofurano se evaporasse totalmente antes de cada nova aplicação (Fig. 2.5.2.1. B). Este processo era repetido o número de vezes suficientes para que a cavidade ficasse cheia, e resultasse uma membrana com uma espessura de cerca de 1 a 2 mm. Os eléctrodos eram mantidos numa posição vertical, ao ar, durante pelo menos 24 horas, para que a membrana secasse completamente.

Após a sua construção, os eléctrodos foram colocados a condicionar numa solução aquosa do ião principal a uma concentração que na maioria dos casos era aproximadamente igual a 0,01 M, mantendo-se uma agitação constante durante as primeiras 24 horas. Nalguns casos, que serão referidos nos respectivos capítulos, prolongou-se o condicionamento por mais três dias, sem agitação. Sempre que os eléctrodos não estavam a ser utilizados eram mantidos nessa mesma solução.

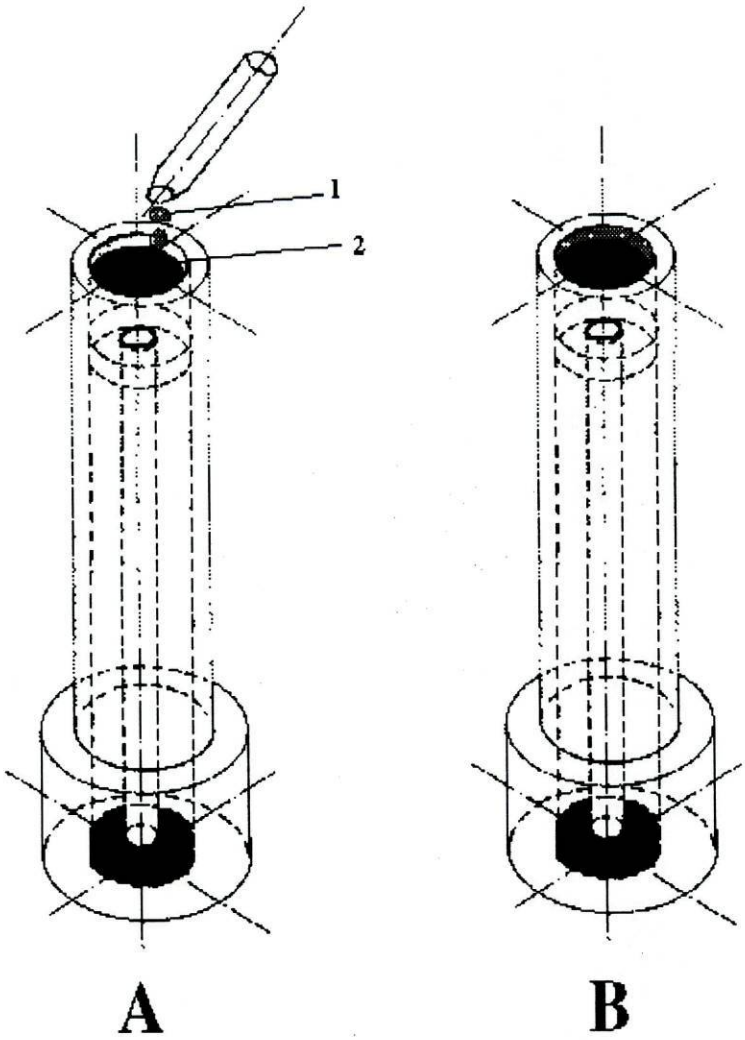


Figura 2.5.2.1 - Aplicação das membranas sensoras (1) sobre o suporte epoxídico condutor (2).

2.5.3. - Recuperação do corpo dos eléctrodos

Quando os eléctrodos perdiam as suas características de resposta, a sua recuperação permitia uma nova reutilização do corpo dos eléctrodos. Para tal, procedia-se à remoção da membrana, com o auxílio de um objecto cortante, seguida de raspagem da superfície epoxídica com material abrasivo, e limpeza da mesma com tetrahidrofurano de modo a evitar possíveis contaminações, em futuras membranas.

A reutilização do corpo do eléctrodo é possível desde que a placa de cobre (ou prata), continue recoberta pela resina epoxídica condutora. Calcula-se entre seis a oito o número de reutilizações possíveis para um corpo de eléctrodo, sem que a placa fique descoberta.

2.6 - Construção dos eléctrodos de configuração tubular

2.6.1 - Construção do corpo do módulo sensor tubular

Para a construção do corpo do módulo sensor tubular, foi usado um tubo de perspex® com cerca de 10 mm de diâmetro externo, 7 mm de diâmetro interno e 7 mm de comprimento, no qual se fazia lateralmente um pequeno orifício com cerca de 2,5 mm de diâmetro, por onde se introduzia o fio interno de um cabo condutor coaxial (Fig. 2.6.1.1. A). Este fio era introduzido de modo a ficar encostado à parede interna do tubo, prevenindo-se qualquer contacto com a membrana sensora. O interior do tubo era completamente preenchido com a mesma resina epoxídica condutora usada na preparação dos corpos dos eléctrodos convencionais (ver 2.5.1.). A aplicação da resina, era efectuada de modo a incluir o condutor central do cabo blindado na própria mistura condutora, mas de modo a que o cabo ficasse na periferia e não na zona central do corpo. Igualmente, tinha-se o cuidado de garantir uma boa adesão da resina às paredes do tubo, e a ausência de fendas, sobretudo na zona central da resina (Fig. 2.6.1.1. B).

Após o enchimento das unidades, estas eram colocadas em estufa, a cerca de 90°C, durante a noite, à semelhança do que acontecia com as unidades convencionais, para assegurar uma completa polimerização e secagem da resina epoxídica. De seguida, procedia-se ao alisamento das superfícies planas do troço do tubo, com o auxílio de um torno, para garantir que no final, o eléctrodo se ajustasse perfeitamente ao suporte (ver 2.6.2. e Fig. 2.3.1.) e não houvesse escorrimento da solução que flui através da unidade.

Seguidamente, e para garantir que a solução apenas contactava com a membrana sensora e não com a resina condutora, o que poderia provocar a ocorrência de potenciais mistos, as superfícies planas do corpo do módulo tubular,

eram convenientemente isoladas com uma fina película de resina epoxídica não condutora, procedendo-se, se necessário, a novo alisamento (Fig. 2.6.1.1. C).

Também neste caso, a fixação do cabo blindado ao corpo do módulo tubular era efectuada, utilizando-se cola de araldite, de modo a simultaneamente conferir resistência e isolar o fio de qualquer contacto externo (Fig. 2.6.1.1. C).

Por fim, efectuava-se um orifício longitudinal, centrado, com cerca de 1,3 mm de diâmetro, onde posteriormente se irá aplicar a membrana sensora (Fig. 2.6.1.1. D). De modo a permitir a sua ligação à aparelhagem conveniente, adaptava-se um terminal tipo BNC à extremidade livre do cabo coaxial do corpo do módulo tubular.

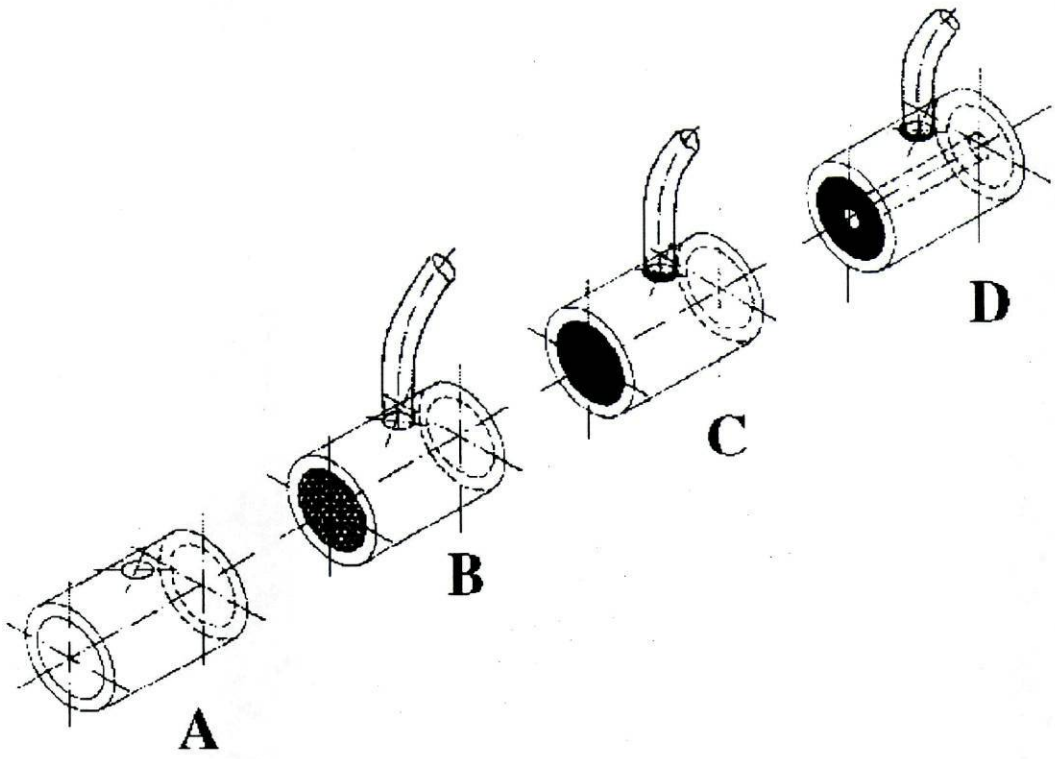


Figura 2.6.1.1. - Construção do corpo das unidades sensoras de configuração tubular.

2.6.2 - Aplicação das membranas sensoras

As membranas sensoras foram preparadas do modo semelhante ao anteriormente descrito para as unidades de configuração convencional (ver 2.5.2.).

A deposição da solução sensora, era efectuada, por escorrimento, gota a gota, no orifício do corpo do módulo tubular. Ao espalhar-se pelas paredes internas do orifício, e após evaporação do THF, formava-se uma fina membrana sensora. Este procedimento era repetido um número de vezes suficiente, por forma a obter uma membrana com uma espessura de aproximadamente 0,2 mm, tendo-se o cuidado de evitar a colapsação do orifício.

Uma vez terminada a deposição, deixava-se o detector potenciométrico tubular ao ar, durante um período nunca inferior a 12 horas, de modo a garantir uma completa secagem da membrana sensora.

O seu condicionamento foi efectuado, fazendo fluir através do orifício, com uma velocidade lenta, uma solução de concentração igual a 5×10^{-2} M, no ião principal. De modo a permitir que a solução de condicionamento circulasse no interior do detector tubular, as unidades eram inseridas na montagem FIA, por intermédio de um suporte, constituído por duas placas de perspex® com cavidades onde encaixava o eléctrodo tubular, sendo as duas placas fixadas por intermédio de parafusos (Fig. 2.3.1.). Nas cavidades eram adaptadas borrachas circulares, por onde passava um tubo de teflon® de diâmetro igual ao diâmetro interno dos eléctrodos tubulares, cerca de 0,8 mm, e que saía pelo orifício central da cavidade. Estas borrachas permitiam uma melhor adaptação, impedindo assim perdas do líquido transportador, através dos topos do detector tubular. O conjunto do detector potenciométrico tubular fixado no suporte do eléctrodo formam o módulo sensor tubular.

2.6.3 - Recuperação dos módulos tubulares

À semelhança do que se passava com os eléctrodos de configuração convencional, também era possível o reaproveitamento do corpo dos módulos tubulares. Para tal, procedia-se à remoção da membrana do orifício, com o auxílio de uma broca com 1,3 mm de diâmetro. De seguida, fazia-se passar uma porção de THF, através do orifício central, para garantir a limpeza total da superfície do corpo do detector tubular.

O aproveitamento deste tipo de corpo, é limitado pelo diâmetro do orifício que no final se vai obter, uma vez que, quando este excedia 1,5 mm de diâmetro, tornava-se impossível a sua utilização, pois com o orifício muito largo o volume morto de solução no detector seria elevado.

2.7. Metodologias utilizadas para a avaliação dos eléctrodos de configuração convencional

Efectuou-se para todos os tipos de eléctrodos construídos, a avaliação das características gerais de funcionamento, nomeadamente, o limite inferior de resposta linear, o limite prático de detecção, o declive, o tempo de resposta, a influência do pH na resposta do eléctrodo e os coeficientes de selectividade potenciométricos. Seguiu-se em todos os casos, uma metodologia de avaliação comum, que se descreverá neste capítulo, reservando-se os pormenores, respeitantes a cada caso, para os capítulos correspondentes.

2.7.1. Avaliação dos parâmetros da recta de calibração

Denominam-se parâmetros de calibração dos eléctrodos, a um conjunto de valores calculados a partir do traçado de curvas de calibração, como sejam o limite inferior de resposta linear, o limite prático de detecção, o declive da curva de calibração e a estabilidade e reprodutibilidade dos potenciais.

Para estabelecer as correspondentes curvas de calibração dos eléctrodos, mediu-se o valor da diferença de potencial, estabelecida entre o eléctrodo selectivo de iões e um eléctrodo de referência, para diferentes valores de actividade (ou concentração, se a força iónica do meio for ajustada) desse ião em solução.

O valor da diferença de potencial obtido, pode ser traduzido matematicamente pela equação de Nernst-Nicolski:

$$E = \text{const} + \frac{2303RT}{Z_A F} \log\left[a_A + K_{A,B}^{pot} (a_B)^{Z_A/Z_B} + K_{A,C}^{pot} (a_C)^{Z_A/Z_C} + \ldots \right] \qquad (2.1.)$$

em que, E representa o valor da diferença de potencial do eléctrodo (em mV), R a

constante dos gases perfeito e igual a 8,31441 J K^{-1} mol^{-1}, T a temperatura termodinâmica (em K), F a constante de Faraday e igual a $(9{,}648670 \pm 0{,}000054) \times 10^4$ C mol^{-1}, a_A, a_B e a_C respectivamente a actividade do ião principal (A) e dos interferentes B e C, $K^{pot}_{A,B}$ e $K^{pot}_{A,C}$ os coeficientes de selectividade potenciométricos relativamente aos iões B e C, respectivamente e Z_A, Z_B e Z_C representam números inteiros com o sinal e a grandeza correspondentes, respectivamente à carga do ião principal (A) e dos interferentes B e C. O termo "const" inclui o potencial normal do eléctrodo selectivo, o potencial do eléctrodo de referência e o potencial de junção líquida (em mV).

Se, no entanto, não se encontrarem presentes em solução espécies interferentes ($a_B = a_C = 0$), a equação 2.1. toma a seguinte forma mais simplificada:

$$E = \text{const} + \frac{2303RT}{Z_A F} \log a_A \qquad (2.2.)$$

além disso, se as soluções têm a força iónica ajustada (I = const), como a actividade do ião principal A, a_A, é dada pela seguinte igualdade:

$$a_A = f_A \times c_A \qquad (2.3.)$$

em que c_A, representa o valor da concentração e f_A o factor de actividade, que é constante, para força iónica constante, logo a equação 2.2. pode ser expressa por:

$$E = \text{const}' + \frac{2303RT}{Z_A F} \log c_A \qquad (2.4.)$$

em que a parcela "const' " inclui mais a componente $\frac{2303RT}{Z_A F} \log f_A$, desta forma a diferença de potencial entre o eléctrodo selectivo e o de referência, é função da

concentração do ião em solução.

Geralmente, ao efectuar-se a representação gráfica da variação da diferença de potencial em função do logaritmo da actividade (ou da concentração) do ião principal, é possível distinguir-se três zonas, *x*, *y* e *z* (Fig. 2.7.1.1.). Uma zona onde pràticamente não ocorre variação da diferença de potencial entre o eléctrodo selectivo e o de referência com a variação da concentração (*zona x*), uma zona em que a variação dessa diferença de potencial não segue a citada equação de Nernst modificada (*zona y*), esta zona não é apropriada à execução de determinações analíticas e é vulgarmente denominada zona de resposta não linear do eléctrodo. Por último a zona de resposta linear do eléctrodo, onde vulgarmente são executadas as determinações por potenciometria directa (*zona z*), e que corresponde à porção da curva de calibração, em que a resposta do eléctrodo varia linearmente em função do logaritmo da actividade (ou concentração) do ião ao qual o eléctrodo é selectivo. Nesta zona linear, a curva de calibração exibe um declive positivo ou negativo, conforme se trate de um eléctrodo sensível a uma espécie catiónica ou aniónica, e com um valor teórico de 59,16 mV década^{-1}, para iões monovalentes ou 29,58 mV década^{-1}, para iões divalentes, quando a temperatura é fixada a 25°C.

Com base na curva de calibração determinam-se o limite inferior de resposta linear (L.I.R.L.) e o limite prático de detecção (L.P.D.). O L.I.R.L., de acordo com a IUPAC [8-9], é definido como o valor da actividade (ou concentração) do ião principal a partir do qual a relação linear, entre a diferença de potencial dos eléctrodos indicador e de referência e o logaritmo da actividade do ião principal deixa de se verificar (Fig. 2.7.1.1.). Já o L.P.D. é definido como o valor de actividade (ou concentração) correspondente ao ponto de intercepção das extrapolações das partes lineares da curva de calibração (Fig. 2.7.1.1.).

Para se efectuar o traçado experimental das curvas de calibração utilizou-se o método da adição da quantidade conhecida [8-9]. Para isso, introduziram-se os eléctrodos (selectivos e de referência), após lavagem com água desionizada e

secagem com papel absorvente, numa cuba de paredes duplas (ver 2.1.). Esta cuba continha um volume rigorosamente conhecido, de água desionizada ou de uma solução ajustadora de força iónica. De seguida, procedeu-se à adição de diferentes volumes de uma solução concentrada (0,01 ou 0,1 M) do ião principal, determinando-se, após estabilização dos potenciais dos eléctrodos a ±0,1 mV, os valores das diferenças de potencial correspondentes a cada adição efectuada. A solução concentrada adicionada, era preparada em água ou numa solução de ajuste de força iónica, respectivamente, para ensaios de calibração efectuados sem e com a força iónica fixada.

Com os valores de potencial obtidos, procedia-se à representação gráfica das correspondentes curvas de calibração, usando papel semilogaritmico ou utilizando um programa de computador adequado. De acordo com o referido em [9], eram representados em ordenadas, os valores de potencial, por ordem crescente, e em abcissas, os valores correspondentes aos logaritmos das concentrações, obtendo-se uma curva semelhante à apresentada na Fig. 2.7.1.1..

No caso das espécies químicas ensaiadas, e sempre que os ensaios eram efectuados em soluções sem ajuste de força iónica, optou-se por fazer a representação gráfica dos valores de potencial obtidos relacionando-os com os valores de concentração em vez de actividade. Esta opção decorre do facto de se tratarem de moléculas de elevado peso molecular, muito complexas e cujos coeficientes individuais de actividade são desconhecidos.

Com base nos resultados obtidos e recorrendo ao programa StatView 512™, desenvolvido pela firma Abacus Concepts, Inc., para o computador MacIntosh da marca Apple, efectuou-se o tratamento estatístico dos pares de valores (log(concentração) vs diferença de potencial estabelecida entre os eléctrodos), por regressão linear, de y em x, obtendo-se as equações através das quais se deduziam o declive correspondente à zona de resposta linear do eléctrodo e o respectivo coeficiente de correlação quadrático.

Através das representações gráficas estabelecidas, era calculado o L.I.R.L. e o L.P.D.. O L.I.R.L. foi deduzido, segundo os critérios estabelecidos pela IUPAC [8-9], a partir da curva de calibração traçada, determinando-se o valor de actividade, correspondente ao ponto a partir do qual a resposta do eléctrodo se desviava da linearidade.

O L.P.D., e de acordo com a IUPAC [8-9], foi determinado gràficamente, calculando-se o valor de actividade (ou concentração) correspondente ao ponto de intercepção das extrapolações das partes lineares da curva de calibração (Fig. 2.7.1.1.).

Estes limites dependem de vários factores, como sejam as condições experimentais (composição das soluções e velocidade de agitação) e o tempo de vida das unidades, pelo que estes dois parâmetros apenas têm significado como ordem de grandeza.

Como foi referido, o traçado experimental das curvas de calibração foi efectuado sem e com ajuste de força iónica. O ajuste de força iónica permite fixar os coeficientes de actividade do ião a determinar, além de ser responsável por outras funções importantes, como sejam a tamponação dos padrões e da amostra. Devido à fixação do coeficiente de actividade, a actividade iónica à qual o eléctrodo é sensível, será proporcional à concentração iónica (ver Eq. 2.2 e 2.4.), desta forma, será possível trabalhar com soluções padrão de concentração conhecida, e a resposta do eléctrodo obtida nessas soluções padrão será comparável com a resposta obtida em amostras.

A força iónica em todos os casos foi ajustada a 0,1 M, o que é aliás aconselhado pela IUPAC [10]. O ajustador de força iónica utilizado foi escolhido tendo em consideração os coeficientes de selectividade potenciométricos dos eléctrodos construídos e utilizando como contra-ião o mesmo da solução padrão do ião para o qual o eléctrodo foi construído.

A determinação dos valores do declive, L.I.R.L e L.P.D das várias unidades

construídas, foi sempre efectuada calculando a média de, no mínimo, dois ensaios, executados com três eléctrodos cada, que eram sujeitos a um condicionamento, em soluções puras do ião principal antes e depois de cada ensaio.

Para o estudo da reprodutibilidade e estabilidade das unidades foram traçadas várias curvas de calibração ao longo de um dia de trabalho, regra geral duas calibrações sucessivas, seguidas de uma terceira calibração efectuada cerca de 6 horas após a primeira. De seguida, procedeu-se ao cálculo da variação de potencial, a vários níveis de concentração, ao longo desse dia de trabalho. Esta característica fornece dados importantes, quanto à aplicabilidade dos eléctrodos em análises laboratoriais de rotina, pois uma má reprodutibilidade dificulta essa aplicação pois torna-se necessário proceder a calibrações sistemáticas.

Devido ao curto espaço de tempo, para a realização de todo o trabalho experimental desta dissertação, não foi determinado o tempo de vida das unidades, sendo referido em cada capítulo, o tempo durante o qual as unidades foram ensaiadas, sem alteração das características gerais de funcionamento.

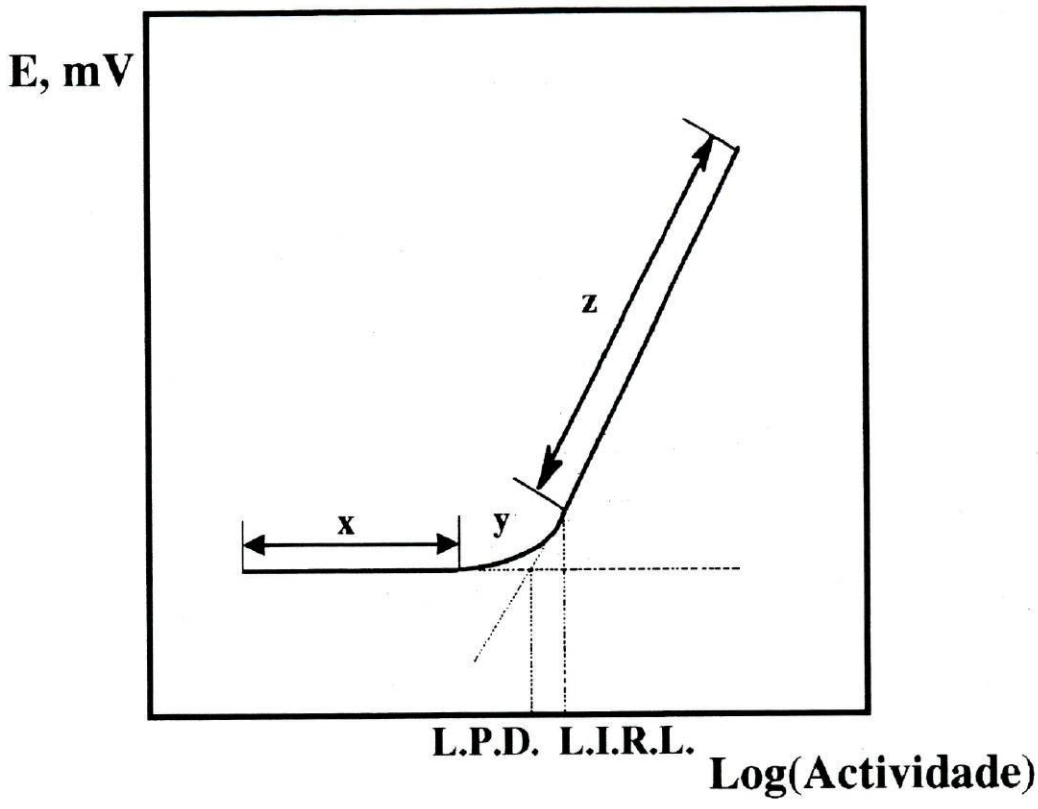


Figura 2.7.1.1. - Curva de calibração típica para eléctrodos sensíveis a espécies catiónicas. *Zona x*, zona onde não há variação de potencial com a variação de concentração; *zona y*, zona de resposta não linear; *zona z*, zona de resposta linear. Determinação gráfica do limite inferior de resposta linear (L. I. R. L.) e do limite prático de detecção (L. P. D.), de acordo com [9].

2.7.2. Tempo de resposta

De acordo com as normas da IUPAC [8-9] o tempo prático de resposta dos eléctrodos é o tempo que medeia entre o instante em que o eléctrodo selectivo e o eléctrodo de referência são colocados em contacto com a solução (ou em que a concentração do ião principal na solução é alterada) e o primeiro instante em que a diferença de potencial entre os eléctrodos é igual ao seu estado estacionário mais ou menos 1 mV.

Este tempo prático de resposta, depende não só da velocidade devido às características das unidades mas de outros factores como sejam o tempo de homogeneização, o volume e composição da solução onde os eléctrodos estão mergulhados, o volume de solução adicionada e o tempo de vida das unidades. Pode-se, portanto, afirmar que este tempo prático de resposta traduz não a resposta das unidades mas a resposta de toda uma célula electroquímica, o que tem maior interesse prático uma vez que é o tempo de resposta de toda uma montagem que condiciona o tempo necessário à execução de uma análise.

Para a determinação desta característica de funcionamento, ligou-se ao decimilivoltímetro um registador, de modo a registar, de forma activa, a variação da diferença de potencial estabelecida entre os eléctrodos, quando a concentração do ião principal na solução era alterada. Após lavagem e secagem dos eléctrodos, estes foram introduzidos num determinado volume (5,00 mL) de uma solução de concentração conhecida no ião principal (próxima do limite inferior de resposta linear das unidades). Com o auxílio de pipetas de volume regulável, adicionaram-se pequenos volumes (inferiores a 1,00 mL), de uma solução mais concentrada (0,01 ou 0,1 M), por forma a duplicar, aproximadamente, o valor da concentração do ião principal. Esta determinação era efectuada em soluções sem e com a força iónica ajustada a 0,1 M.

O tempo de resposta que se indicará nos respectivos capítulos corresponde

ao tempo necessário, para que a diferença de potencial não variasse mais do que 0,2 mV. Embora a IUPAC estabeleça, como critério de estabilidade, para a determinação deste parâmetro, uma variação relativamente ao potencial do estado estacionário de ±1 mV, o critério estabelecido ao longo deste trabalho foi o de ±0,2 mV, uma vez que a sensibilidade do decimilivoltímetro (0,1 mV) usado nas experiência o permitia.

2.7.3. Influência do pH na resposta dos eléctrodos (diagramas de Reilley).

A influência do pH na resposta dos eléctrodos, foi estudada, determinando as variações de potencial das unidades, quando, nas soluções onde decorriam os ensaios, se procediam a alterações crescentes e decrescentes do pH. Os ensaios foram efectuados para soluções do ião principal em diferentes concentrações, sem e com a força iónica ajustada a 0,1 M.

O valor de pH das soluções foi determinado com o auxílio de um eléctrodo de vidro simples. Para tal procedeu-se à calibração do eléctrodo de vidro, que foi efectuada, medindo-se o valor da diferença de potencial deste eléctrodo relativamente ao eléctrodo de referência, quando ambos os eléctrodos eram mergulhados em soluções tampão comerciais de pH igual a 9,0, 7,0 e 4,0 unidades. Com os pares de valores obtidos (pH vs diferença de potencial), foram calculados, com a ajuda de um computador pessoal da marca Casio, modelo FX-730P, os parâmetros da correspondente regressão linear, de y em x. Os valores de pH eram determinados, com base nos valores de regressão calculados, interpolando-se os valores de potencial obtidos para o eléctrodo de vidro.

Após lavados e secos colocaram-se os eléctrodos selectivos de iões (no mínimo duas unidades), o eléctrodo de vidro prèviamente calibrado e o eléctrodo de referência, num volume elevado de solução (no mínimo 150 mL) de ião

principal com uma determinada concentração conhecida. O pH desta solução era alterado, por adição de pequenos volumes de soluções concentradas de base forte (quando se procedia a variações crescentes de pH) ou de ácido forte (para variações decrescentes de pH). Regra geral, procedia-se inicialmente a pequenas adições de ácido, de modo a provocar alterações decrescentes do pH da solução do ião principal, até um valor inferior a 2 unidades, registrando-se, após cada alteração do pH, os respectivos valores de potencial dos eléctrodos selectivos. Posteriormente, adicionavam-se pequenos volumes de base, por forma a aumentar o valor do pH da solução do ião principal, até um valor superior a 12 unidades, registrando-se igualmente os valores de potencial das unidades em estudo. Por fim, procedeu-se à representação gráfica do diagrama de Reilley, colocando em abcissas os valores de pH calculados, e em ordenadas os de potencial dos eléctrodos selectivos.

O uso de volumes elevados de solução do ião principal e de pequenos volumes de ácidos ou bases muito concentrados, visavam assegurar que as eventuais alterações de potencial dos eléctrodos selectivos, fossem exclusivamente dependentes das alterações do pH e não de alterações da concentração das soluções.

O contra-ião do protão ou do hidroxilo da solução de ácido ou de base, utilizada no ensaio, era escolhido de acordo com os coeficientes de selectividade potenciométricos obtidos para os eléctrodos, optando-se pelo ião que provocasse menor interferência.

2.7.4. Avaliação da extensão de interferências (determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos, $K_{A,B}^{pot}$)

A selectividade é uma característica dos eléctrodos selectivos de iões que mais limita a sua aplicabilidade prática. Isto porque, como anteriormente se referiu (ver 2.7.1.), segundo a equação de Nernst-Nicolski (Eq. 2.1.), o potencial dos

eléctrodos, depende não só da concentração do ião principal, mas também da concentração e coeficiente de selectividade potenciométrico ($K^{pot}_{A,B}$) de todas as outras espécies presentes na solução.

De acordo com a IUPAC [8-9] as interferências poderão ser de dois tipos, nomeadamente uma interferência de eléctrodo ou de método.

As interferências de eléctrodo, são causadas por aquelas substâncias que quando presentes em solução, dão uma resposta semelhante à do ião a ser medido, e de cuja presença resulta normalmente um aumento aparente da actividade (ou concentração) do ião a ser determinado, ou espécies que interagem com a membrana de modo a provocar uma alteração da sua composição química (como sejam solventes orgânicos), ou ainda electrólitos presentes em concentrações tão altas que provocam um aumento apreciável dos potenciais de junção líquida.

Os interferentes de método, são aquelas substâncias que interagem com o ião a ser medido, de modo a diminuir a sua actividade (ou concentração), mas a resposta do eléctrodo continua equivalente à concentração do ião na solução (é o que ocorre por exemplo com a presença de potássio na determinação de tetrafenilborato).

Sendo vários os factores que afectam os valores de $K^{pot}_{A,B}$, como sejam por exemplo o tempo de vida das unidades, a prévia exposição das unidades a esse ou outros interferentes, a concentração do ião principal e do interferente na solução, o estado físico da membrana e o método utilizado para a avaliação do $K^{pot}_{A,B}$, o valor determinado só terá significado como ordem de grandeza.

Segundo a IUPAC [8-9], a determinação deste parâmetro poderá ser efectuada utilizando o método da interferência fixada ou o método das soluções separadas. Embora o primeiro seja considerado como aquele que apresenta maior proximidade com as condições analíticas reais, optou-se pelo uso do método das soluções separadas, porque com menor carga experimental, poder-se-ia estimar, com o mesmo grau de rigor, a interferência de determinado ião para diferentes

níveis de concentração. No entanto, para os iões cuja possível interferência se revestia de particular importância (como por exemplo o catião sódio presente em colírios oftálmicos contendo atropina), foi utilizado o método da interferência fixando a concentração do interferente a um valor próximo daquele em que, em condições reais se encontra presente.

Para a determinação dos $K_{A,B}^{pot}$ pelo método das soluções separadas, efectuaram-se calibrações em soluções puras do ião principal (E_1), com determinada concentração, e em soluções puras do ião interferente (E_2), com a mesma concentração. O ensaio foi realizado para diferentes níveis de concentração de interferente e de ião principal.

Quando se efectua a calibração em soluções puras do ião principal, a equação de Nernst-Nicolski (Eq. 2.1.) toma a forma representada pela equação 2.2., e que se reproduz a seguir:

$$E_1 = \text{const} + \frac{2303RT}{Z_A F} \log a_A \qquad (2.2.)$$

No entanto, quando as calibrações são realizadas em soluções contendo apenas o ião interferente (B), a resposta do eléctrodo será traduzida por:

$$E_2 = \text{const} + \frac{2303RT}{Z_A F} \log\left[K_{A,B}^{pot} (a_B)^{Z_A/Z_B} \right] \qquad (2.5.)$$

subtraindo, membro a membro as equações 2.2. e 2.5., teremos:

$$E_2 - E_1 = \frac{2303RT}{Z_A F}\left[\log\left(K_{A,B}^{pot}\right) + \frac{Z_A}{Z_B} \log a_B - \log a_A \right] \qquad (2.6.)$$

Sendo a concentração do ião interferente, ou mais propriamente a actividade, igual à do ião principal (como ocorre no método das soluções

separadas), então a expressão 2.6., fica reduzida a :

$$\frac{E_2 - E_1}{\left(2303RT/Z_AF\right)} = \log\left(K_{A,B}^{pot}\right) + \left(\frac{Z_A}{Z_B} - 1\right)\log a_A \qquad (2.7.)$$

a partir da qual se pode calcular o valor de $K_{A,B}^{pot}$, de acordo com:

$$\log K_{A,B}^{pot} = \frac{E_2 - E_1}{2303RT/Z_AF} + \left(1 - \frac{Z_A}{Z_B}\right)\log a_A \qquad (2.8.)$$

que, quando a carga do ião principal e a do ião interferente, são iguais ($Z_A = Z_B$) assume uma forma mais simplificada, traduzida por:

$$\log K_{A,B}^{pot} = \frac{E_2 - E_1}{2303RT/Z_AF} \qquad (2.9.)$$

Apesar da expressão anterior sugerir a utilização de um valor de declive teórico, na prática, o valor usado foi aquele que se obteve da calibração dos eléctrodos em soluções puras do ião principal (D), permitindo assim um cálculo dos $K_{A,B}^{pot}$, em condições mais realistas.

$$\log K_{A,B}^{pot} = \frac{E_2 - E_1}{D} \qquad (2.10.)$$

Na determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos, pelo método da interferência fixada, colocaram-se os eléctrodos selectivos e de referência, lavados com água desionizada e secos, na cuba com um volume conhecido de uma solução com concentração (a_B) fixa de ião interferente. Posteriormente, procedeu-se a adições de uma solução de concentração conhecida do ião principal preparada em solução do ião interferente, com a mesma

concentração daquela que originava o ensaio. Esta operação, visava manter constante a concentração do ião interferente, variando apenas a concentração do ião principal.

Neste caso a determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos era efectuada, de acordo com a IUPAC [8-9], após traçado da respectiva recta, pela determinação do valor de actividade (a_A), correspondente ao ponto de intercepção das extrapolações dos dois segmentos lineares da recta de calibração (ver Fig. 2.7.1.1.), para o qual E_1 é igual a E_2.

Neste ponto, e de acordo com as equações 2.2. e 2.5, como $E_1 = E_2$, obtemos a seguinte equação:

$$\text{const} + \frac{2303RT}{Z_A F} \log a_A = \text{const} + \frac{2303RT}{Z_A F} \log \left[K_{A,B}^{pot} (a_B)^{Z_A/Z_B} \right] \quad (2.11.)$$

donde resulta a seguinte expressão:

$$\log a_A = \log \left[K_{A,B}^{pot} (a_B)^{Z_A/Z_B} \right] \quad (2.12.)$$

que rearranjada, forma a igualdade que permite calcular, nas condições experimentais referidas, o valor de $K_{A,B}^{pot}$:

$$K_{A,B}^{pot} = \frac{a_A}{(a_B)^{Z_A/Z_B}} \quad (2.13.)$$

A determinação dos valores de $K_{A,B}^{pot}$ para os eléctrodos, foi sempre efectuada calculando a média de dois ensaios, executados com dois eléctrodos cada, que eram sujeitos a um condicionamento, com agitação, em soluções puras do ião principal antes e depois de cada interferência.

2.8. Metodologia utilizada para a avaliação dos eléctrodos de configuração tubular

Os eléctrodos de configuração tubular, foram igualmente avaliados nas suas características mais gerais de funcionamento, determinando-se os mesmos parâmetros que foram determinados para os eléctrodos de configuração convencional.

Enquanto que, para as unidades de configuração convencional, a metodologia de avaliação das características de funcionamento encontra-se bem estabelecida, para as de configuração tubular isso não sucede. Desta forma as condições em que os detectores tubulares serão utilizados, resultam da adaptação a condições de fluxo da metodologia usada na avaliação das características de funcionamento de unidades convencionais, anteriormente descrita.

Para tal, procedeu-se à montagem de sistemas FIA, de baixa dispersão, de modo a que a diluição das amostras injectadas fosse pràticamente irrelevante, tendo-se determinado nessas condições, o limite inferior de resposta linear, o limite prático de detecção, o declive, a influência do pH na resposta dos eléctrodos e a selectividade potenciométrica relativamente a outros iões.

Na metodologia de avaliação de eléctrodos de configuração convencional, a resposta das unidades, é obtida em condições de estado estacionário, como tal no estabelecimento das condições de fluxo de baixa dispersão, procura-se que a resposta dos detectores tubulares, seja o mais próxima possível da resposta no estado estacionário, para que as características de funcionamento determinadas para ambos tipos de unidades sejam comparáveis.

2.8.1. Estabelecimento das condições de baixa dispersão para FIA

Para o estabelecimento das condições de baixa dispersão, necessárias ao estudo das características de funcionamento das unidades tubulares, construiu-se o sistema FIA representado na Fig. 2.8.1.1., reduzindo-se ao mínimo a distância entre a válvula de injecção e o detector tubular (cerca de 20 cm) para garantir que a amostra sofria um mínimo de diluição no fluído transportador.

Posteriormente, estudou-se a influência de diferentes volumes de injecção e várias velocidades de fluxo, na resposta das unidades tubulares. Para efectuar o estudo, fixou-se uma velocidade de fluxo e substituiu-se o transportador, pelas diferentes soluções do ião principal em estudo, obtendo-se assim uma resposta em estado estacionário. De seguida, com o transportador habitual, procedeu-se à injecção de diferentes volumes das várias soluções do ião principal, cuja altura do sinal obtido, era comparada com a altura do sinal em estado estacionário.

A velocidade de fluxo, bem como o volume de injecção seleccionados permitiam a obtenção de um sinal analítico com uma altura cerca de 95% da obtida em situação estacionária, sem no entanto comprometer o ritmo de amostragem nem provocar um consumo exagerado de reagentes.

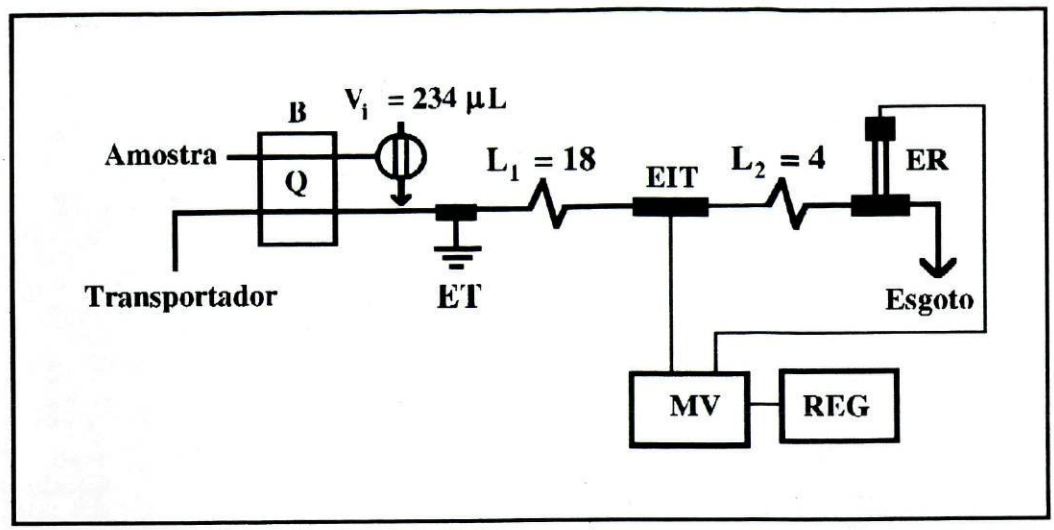


Figura 2.8.1.1. - Sistema FIA de baixa dispersão utilizado na avaliação das características gerais de funcionamentodos eléctrodos tubulares: B - bomba peristáltica; V_i - volume de injecção; EIT - eléctrodo indicador tubular; ER - eléctrodo de referência; ET - "eléctrodo de ligação à terra"; MV - milivoltímetro; REG - registador; Q - caudal da solução transportadora; L_i - comprimento do tubo/cm (0,8 mm d.i.).

2.8.2. Avaliação das características de resposta dos detectores tubulares

As características de resposta estudadas foram o limite inferior de resposta linear, o limite prático de detecção, o declive da curva de calibração e a estabilidade e reprodutibilidade das unidade tubulares. No caso das unidades tubulares, o limite prático de detecção, corresponde ao valor da concentração de ião principal, presente na solução transportadora e que é necessária para a estabilização da linha base. Regra geral esse valor de concentração é ligeiramente inferior ao limite inferior de resposta linear das unidades.

À semelhança do estudo efectuado para as unidades de configuração convencional, estes parâmetros foram avaliados através do traçado das respectivas curvas de calibração. Para isso, introduziu-se no sistema de fluxo, através da válvula de injecção, soluções com concentrações crescentes no ião principal, registando-se para cada uma delas o respectivo sinal analítico. A altura do sinal analítico era relacionada gràficamente com o logaritmo da actividade (ou concentração) do ião principal na solução.

O transportador tinha um electrólito, para conjuntamente com a baixa concentração de ião principal facilitar a estabilização da linha base e diminuir a solubilização contínua do sensor, no fluído transportador. Devido à presença de um electrólito os ensaios foram todos efectuados com a força iónica ajustada.

O cálculo do declive e do limite inferior de resposta linear foram efectuados utilizando os mesmos processos de cálculo, já referidos na avaliação destes parâmetros para eléctrodos de configuração convencionais (ver 2.7.1.).

A estabilidade das unidades ao longo de um dia de trabalho, era avaliada pelo traçado repetido, da curva de calibração. Para tal, eram realizadas calibrações periódicas dos eléctrodos, e após a elaboração das respectivas rectas de calibração, eram comparadas as características de resposta dos eléctrodos ao longo desse dia, nomeadamente o declive e o limite inferior de resposta linear.

A reprodutibilidade da resposta dos eléctrodos tubulares foi avaliada, procedendo-se a injecções repetidas (não menos que 15) de determinada concentração, e calculando-se o desvio padrão das alturas de pico obtidas.

Convém referir que, o valor do sinal analítico, utilizado para estabelecer a relação gráfica com o logaritmo da concentração, correspondia à média de pelo menos três injecções da mesma solução padrão.

2.8.3. Tempo de resposta

Para determinar este parâmetro, efectuaram-se calibrações a diferentes valores de concentração de ião principal, injectando-se um volume de amostra conhecido num transportador que fluía com uma velocidade de fluxo determinada. Calculou-se, depois, o tempo que, após registo do sinal analítico, a resposta do eléctrodo demorava a atingir um potencial correspondente ao da linha base.

O valor encontrado indicava o ritmo de amostragem que era possível atingir com o sistema FIA.

2.8.4. Avaliação da influência do pH na resposta dos eléctrodos

A influência do pH no potencial dos detectores tubulares, foi, à semelhança do efectuado para as unidades de construção convencional, avaliada pelo traçado dos diagramas de Reilley.

Para a avaliação deste parâmetro, utilizou-se o sistema FIA de baixa dispersão (Fig. 2.8.1.1.), com modificações [11], de modo a que a solução injectada fosse proveniente de um recipiente de grande volume (Fig. 2.8.4.1.).

Num volume de cerca de 200 mL de uma solução do ião principal com

concentração fixada (10^{-2} ou 10^{-4} M.) e com a força iónica ajustada a 0,1 M, introduziam-se um eléctrodo de vidro previamente calibrado e um eléctrodo de referência. A esta solução eram adicionados pequenos volumes de uma solução concentrada de um ácido forte ou de uma base forte (de modo a provocar variações decrescentes ou crescentes do pH), cuja interferência não fosse significativa. Após homogeneização da solução e estabilização do potencial do eléctrodo de vidro, registava-se esse valor e procedia-se à injecção da solução no sistema FIA de baixa dispersão. Para evitar alterações da concentração da solução injectada por variação de volume, o sistema FIA era concebido por forma a promover a recirculação da solução através da válvula de injecção.

Por último, procedeu-se à representação gráfica do diagrama de Reilley, colocando em abcissas os valores de pH calculados, e em ordenadas os valores de altura dos picos dos sinais analíticos correspondentes.

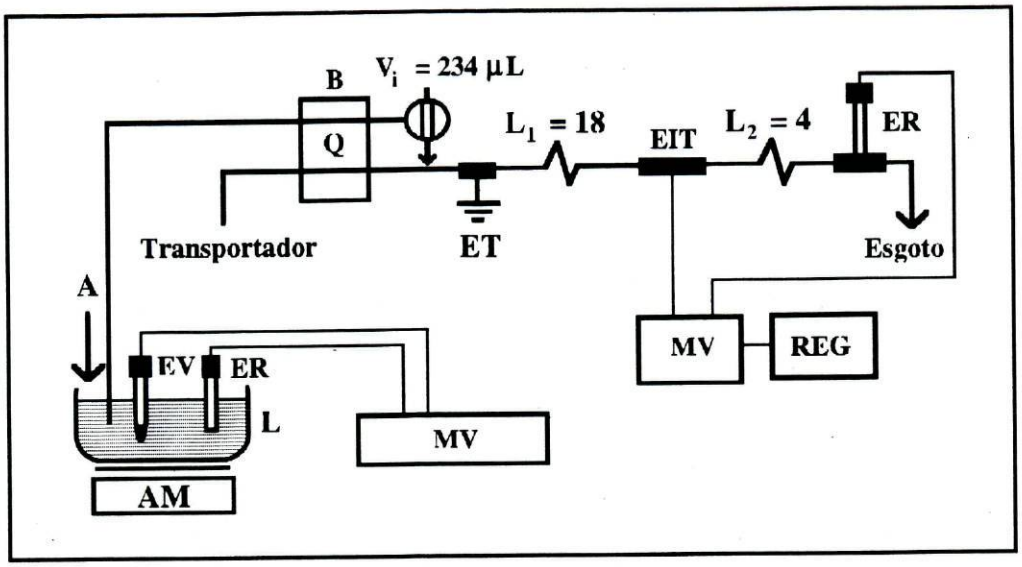


Fig. 2.8.4.1. - Sistema FIA de baixa dispersão utilizado na avaliação do efeito do pH no sinal analítico dos eléctrodos tubulares: B - bomba peristáltica; V_i - volume de injecção; EIT - eléctrodo indicador tubular; ER - eléctrodo de referência; EV - eléctrodo de vidro; ET - "eléctrodo de ligação à terra"; MV - milivoltímetro; REG - registador; AM - agitador magnético; L - recipiente de grande volume; A - pequenas adições de ácido ou base; Q - caudal da solução transportadora; L_i - comprimento do tubo/cm (0,8 mm d.i.).

2.8.5. Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ($K_{A,B}^{pot}$)

Para a avaliação dos $K_{A,B}^{pot}$ dos eléctrodos tubulares, reproduziram-se condições experimentais semelhantes às anteriormente referidas (ver 2.7.4.) para as unidades de configuração convencional, utilizando-se o método das soluções separadas [8-9].

Desta forma, procedeu-se, inicialmente, à injecção de soluções do ião principal com concentração crescente, registando-se os respectivos sinais analíticos (E_1). Com base nestes valores de altura de pico, calculou-se o declive (D) da respectiva recta de calibração. Posteriormente, introduziram-se no sistema, soluções do ião interferente com concentrações crescentes, obtendo-se os sinais analíticos correspondentes (E_2).

O cálculo dos $K_{A,B}^{pot}$ foi efectuado, utilizando-se as equações 2.8. e 2.10., anteriormente deduzidas (ver 2.7.4.):

$$\log K_{A,B}^{pot} = \frac{E_2 - E_1}{D} + \left(1 - \frac{Z_A}{Z_B}\right)\log a_A \qquad (2.8.)$$

$$\log K_{A,B}^{pot} = \frac{E_2 - E_1}{D} \qquad (2.10.)$$

sendo que os valores de E_1 e E_2 correspondem ao valor médio de três injecções da mesma solução.

2.9. Aplicação das unidades construídas na determinação de alcalóides em formulações farmacêuticas

2.9.1. Preparação das amostras

A toma de amostra, foi escolhida de acordo com a concentração de princípio activo indicada na embalagem do produto comercial e o limite de resposta linear das unidades construídas, de modo a que a concentração final na solução do ião a determinar, correspondesse a um valor situado dentro da zona de resposta linear da curva de calibração dos eléctrodos.

As amostras líquidas, xaropes, gotas nasais e soluções oftálmicas, foram preparadas, após homogeneização do conteúdo de uma embalagem, por diluição directa, rigorosa, numa solução tampão, escolhida de acordo com o pH operacional determinado para os eléctrodos e os correspondentes coeficientes de selectividade potenciométricos ($K_{A,B}^{pot}$).

Para as amostras sólidas, nomeadamente as dragéias, comprimidos e cápsulas, após a determinação do peso médio das unidades contidas numa embalagem (ou peso médio do seu conteúdo, no caso das cápsulas), procedeu-se à sua pulverização e homogeneização. Posteriormente, pesou-se uma quantidade rigorosa de produto, que foi diluída, num volume rigoroso, com um tampão adequado. A solução obtida, foi colocada em banho de ultra-sons durante cerca de 15 minutos para facilitar a dissolução do princípio activo.

Para os supositórios, determinou-se igualmente o peso médio das unidades que constituíam uma embalagem, e procedeu-se à sua homogeneização, por aquecimento a 37°C. De seguida, tomou-se uma determinada quantidade de produto, com uma massa rigorosamente avaliada, que foi diluído com o tampão adequado em balão volumétrico. De modo a liquefazer os excipientes gordurosos e

facilitar a libertação e dissolução dos princípios activos, a solução foi colocada em banho de ultra-sons aquecido a 37°C, durante cerca de 20 minutos.

O procedimento seguido para as pomadas oftálmicas, foi semelhante ao descrito anteriormente para os supositórios, sendo que a toma foi efectuada sobre o conteúdo de uma bisnaga.

As determinações quer por potenciometria directa, quer por titulações potenciométricas, ou ainda por FIA, foram efectuadas, na maioria dos casos, directamente sobre uma diluição dessas soluções, na respectiva solução tampão. Para a determinação dos valores de recuperação, efectuou-se, uma diluição igual, à qual era adicionada uma concentração conhecida do alcalóide a dosear (C_{Ad}).

2.9.2. Ensaios de doseamento

Os doseamentos de alcalóides nas formulações farmacêuticas, efectuados, por potenciometria directa, ou por FIA, baseada em medição de tempo, foram precedidos de uma calibração dos eléctrodos em soluções do respectivo alcalóide com o pH e a força iónica ajustadas. Após a calibração, os eléctrodos foram colocados em contacto com as amostras (ou procedeu-se à injecção das amostras, no caso de FIA), e a diferença de potencial (ou largura de pico) medida foi interpolada na curva de calibração, de modo a determinar-se a concentração do alcalóide na solução.

As titulações potenciométricas, eram efectuadas directamente sobre as amostras, utilizando-se o sistema referido em 2.1., sendo a concentração do alcalóide na solução, calculada com base no ponto final encontrado.

Os cálculos de concentração, bem como as respectivas médias e desvio padrão, foram efectuados com o auxílio do programa Microsoft Excel, versão 3.0 (1991), desenvolvido para um microcomputador MacIntosh da marca Apple.

2.9.3. Ensaios para a avaliação da qualidade dos resultados obtidos

Por não existir descrita metodologia de referência, aplicável à determinação de alcalóides em produtos farmacêuticos comerciais, avaliou-se a qualidade dos resultados obtidos pelo cálculo dos respectivos valores de recuperação.

Para a obtenção dos valores de recuperação, determinava-se conforme o descrito anteriormente (ver 2.9.2.), a concentração do alcalóide na diluição da amostra (C_A), preparada conforme referido em 2.9.1., e a concentração do alcalóide na diluição que foi adicionada de uma determinada quantidade (C_{Ad}) do alcalóide a determinar (C_R). Para o cálculos dos respectivos valores (%Recup), utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\%\text{Recup} = \frac{(C_R - C_A)}{C_{Ad}} \times 100 \qquad (2.14.)$$

Quando as determinações eram efectuadas por potenciometria directa, procedeu-se igualmente ao doseamento pelo método da adição da quantidade conhecida [8-9], o que permitia uma avaliação da qualidade dos resultados obtidos.

Para tal, após a calibração dos eléctrodos selectivos, calculava-se o declive (D) da curva de calibração. De seguida, media-se o potencial do eléctrodo (E_1), quando este se encontrava introduzido num volume conhecido da amostra (V_X). Adicionava-se então, um pequeno volume (V_S) de uma solução padrão do alcalóide (C_S), registando-se novamente o potencial das unidades (E_2).

Segundo a equação 2.4., deduzida a partir da equação de Nernst-Nicolski (Eq. 2.1.), pode-se afirmar que:

$$E_1 = \text{const}' + D \times \log C_X \qquad (2.15.)$$

$$E_2 = \text{const}' + D \times \log\left(\frac{C_X V_X + C_S V_S}{V_X + V_S}\right) \qquad (2.16.)$$

subtraindo, membro a membro as equações 2.16. e 2.15., teremos:

$$E_2 - E_1 = D \times \log\left(\frac{C_X V_X + C_S V_S}{V_X + V_S}\right) - D \times \log C_X \qquad (2.17.)$$

$$10^{\frac{E_2 - E_1}{D}} = \frac{C_X V_X + C_S V_S}{C_X V_X + C_X V_S} \qquad (2.18.)$$

$$10^{\frac{E_2 - E_1}{D}} \times (C_X V_X + C_X V_S) = C_X V_X + C_S V_S \qquad (2.19.)$$

$$C_X = \frac{C_S V_S}{10^{\frac{E_2 - E_1}{D}} \times (V_X + V_S) - V_X} \qquad (2.20.).$$

A concentração da amostra (C_X) pode ser calculada pela seguinte fórmula:

$$C_X = \frac{C_S}{10^{\frac{(E_1 - E_2)}{D}} \times \left(1 + \frac{V_X}{V_S}\right) - \frac{V_X}{V_S}} \qquad (2.20.).$$

Os cálculos dos valores de recuperação e de concentração obtidos pelo método da adição da quantidade conhecida, bem como as respectivas médias e desvio padrão, foram efectuados com o auxílio de um microcomputador MacIntosh da Apple, através do programa Microsoft Excel, versão 3.0 (1991).

Para o cálculo do teste *t* de Student, para comparar os resultados obtidos por métodos diferentes, utilizou-se o programa StatView 512™, desenvolvido pela firma Abacus Concepts, Inc., para o computador MacIntosh da marca Apple.

2.10. - Referências bibliográficas

[1] - M. A. R. P. Barros, J. L. F. C. Lima e A. A. S. C. Machado, *Port. Electrochim. Acta*, **1**, 277 (1983)

[2] - R. A. S. Lapa e J. L. F. C. Lima, *J. Autom. Chem.*, **13**, 119 (1991)

[3] - R. A. S. Lapa, Dissertação de Doutoramento, *Instrumentação e Detectores para Potenciometria - Desenvolvimento e Aplicação*, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (1994)

[4] - S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, A. A. S. C. Machado, J. L. F. C. Lima e L. M. Paulis, *Quím. Anal.*, **6**, 278 (1987)

[5] - K. Vytras, *Int. Lab.*, **9**, 35 (1979); *Amer. Lab.*, **11**, 93 (1979)

[6] - K. Vytras, V. Ríha e S. Kotrly, *Sb. Ved. Pr., Vys. Sk. Chemickotechnol., Pardubice*, **35**, 41 (1976)

[7] - R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima e A. M. Roque da Silva, *Il Farmaco*, **45**, 901 (1990)

[8] - IUPAC, Analytical Chemistry Division of Analytical Nomenclature, prepared for publication by G. G. Guilbault, *Pure Appl. Chem.*, **53**, 1907 (1981)

[9] - IUPAC, Analytical Chemistry Division of Analytical Nomenclature, prepared for publication by G. G. Guilbault, *Pure Appl. Chem.*, **48**, 129 (1976)

[10] - IUPAC, Analytical Chemistry Division, prepared for publication by Richard P. Buck e Vasile V. Cosofret, *Pure Appl. Chem.*, **65**, 1849 (1993)

[11] - S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J. L. F. C. Lima, A. A. S. C. Machado e J. M. Paulis, *Anal. Lett.*, **18**, 2291 (1985)

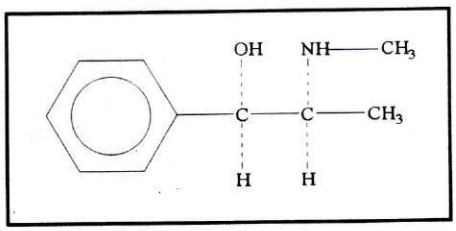
CAPÍTULO 3

ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A EFEDRINA

3. - ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A EFEDRINA

3.1. - Introdução

A efedrina é um alcalóide constituinte de plantas do género *Ephedra*, que apresenta uma acção simpaticomimética, pois estimula os receptores α e β adrenérgicos.



Foi extraída pela primeira vez em 1887, a partir de uma erva chinesa, *ma huang* [1], mas só em 1924 foi utilizada na medicina Ocidental [2]. Em 1927 foi preparada sintéticamente e, desde então, tem sido largamente utilizada em terapêutica, uma vez que foi a primeira amina simpaticomimética descoberta que se mostrava eficaz quando administrada por via oral.

A efedrina e a pseudoefedrina, um enantiómero daquele composto, podem ser utilizadas como descongestionantes nasais em estados gripais, como broncodilatadores no tratamento da asma, ou ainda como midriáticos e vaso constritores periféricos. Podem também ser úteis no tratamento de intoxicações provocadas por depressores do sistema nervoso central. Actualmente, e devido à descoberta de outras drogas igualmente eficazes e menos tóxicas, são apenas usadas como broncodilatadores e descongestionantes nasais no tratamento da rinite alérgica, de estados gripais e asmáticos. A alta incidência de efeitos laterais, nomeadamente excitação do sistema nervoso central, tem levado a uma redução no seu consumo. Contudo, existem ainda muitas fórmulas farmacêuticas comercializadas, contendo efedrina e pseudoefedrina, algumas das quais de venda livre. Assim, a necessidade de um controlo rigoroso de qualidade do produto

lançado no mercado é fundamental.

Para o doseamento da efedrina e pseudoefedrina, as monografias oficiais, recomendam diferentes técnicas consoante o tipo de formulação em que se encontram presentes. Assim, a Farmacopeia Britânica (B.P.) [3] recomenda, para comprimidos, uma destilação do cloridrato de efedrina, seguida de uma volumetria ácido base, enquanto que, para os elixires a determinação do alcalóide é efectuada por cromatografia líquida com detecção espectrofotométrica.

Por sua vez a Farmacopeia Americana (U.S.P.) [4] descreve, para soluções nasais de efedrina, uma determinação espectrofotométrica baseada na reacção do produto a analisar com metaperiodato de sódio. No caso de comprimidos e cápsulas, a reacção com o metaperiodato é precedida de uma filtração, enquanto que para os xaropes recorre-se previamente, a uma extracção química do alcalóide com clorofórmio, em meio alcalino, seguida de outra com uma solução aquosa de ácido sulfúrico. As soluções injectáveis de efedrina, de acordo com a mesma monografia, podem ser doseadas através de uma anidrovolumetria, na presença de um indicador ácido-base, após a extracção do produto com clorofórmio, em meio alcalino. Por último, para os comprimidos e xaropes contendo pseudoefedrina, a U.S.P. prevê uma técnica por cromatografia líquida com detecção espectrofotométrica.

Pelo que ficou descrito, as técnicas oficiais recomendadas, são caracterizadas por possuirem pouca versatilidade, necessitarem de tratamentos fastidiosos e por vezes complexos das amostras. Além disso, utilizam para o controlo de algumas formulações técnicas dispendiosas como, por exemplo, a cromatografia. Estes aspectos traduzem-se em custos do controlo analítico elevados e dificuldades de automatização desse controlo. Dada a pouca versatilidade das técnicas indicadas, torna-se muitas vezes difícil aplicá-las ao doseamento de produtos comerciais, cuja composição difere substancialmente da dos produtos inseridos naquelas monografias.

Alternativamente, várias metodologias foram propostas para obviar os inconvenientes resultantes dos métodos oficiais (ver 1.3. no Cap. 1), destacando-se entre elas a potenciometria com eléctrodos selectivos de iões.

Embora a potenciometria apresente vantagens relativamente a outras metodologias (ver 1.3. no Cap. 1), a sua aplicabilidade em análises de rotina está limitada ao tipo de detectores disponíveis. Os eléctrodos selectivos descritos até ao momento, sensíveis a efedrina [5-12], apresentavam características de resposta deficientes, nomeadamente irreprodutibilidade dos potenciais, uma reduzida zona de resposta linear e selectividade e sobretudo um tempo de vida limitados. Para além disso, a caracterização das unidades descritas [5-12] é na maioria das situações deficiente, resultando assim falta de informação considerada imprescindível em trabalhos de aplicação.

Os primeiros eléctrodos de efedrina descritos na literatura [5-7], utilizavam na preparação da sua membrana o tetrafenilborato de efedrina, como extractor iónico, dissolvido em dioctilftalato [5, 6] ou dibutilftalato [7], como solvente mediador. Os eléctrodos eram preparados com o sensor iónico na forma líquida [5] ou imobilizados em PVC [5-7], possuindo todos eles uma solução e um eléctrodo de referência interno. Os eléctrodos apresentavam contudo zonas de resposta linear reduzidas. Segundo os mesmos autores [7], o valor do limite inferior de resposta linear poderia contudo ser alterado, desde que, por escolha de um solvente mediador conveniente, fosse possível alterar o coeficiente de distribuição do par iónico entre a membrana e a solução.

Em 1986, outro tipo de sensor iónico como o 5-nitrobarbiturato de efedrina [8, 9] ou flavianato de efedrina [10] dissolvido em nitrobenzeno [9] ou n-octanol [8, 10] como solventes mediadores, foram usados na preparação de eléctrodos. A substituição do tetrafenilborato pelos compostos extractores indicados não originou melhoria nas características de resposta dos eléctrodos e por outro lado por usarem membrana líquida (imobilizada num corpo da Orion, série 92), os eléctrodos

apresentavam tempos de vida curtos, tempos de resposta muito longos e o seu manuseamento era pouco comodo.

A utilização de extractores iónicos que formem compostos relativamente mais insolúveis do que aqueles que são formados com o tetrafenilborato, paralelamente com a utilização de 2-nitrofeniloctiléter, como solvente mediador, na preparação das membranas dá origem a eléctrodos de boas características de funcionamento nomeadamente mais estáveis e sobretudo mais selectivos [13]. Também a modificação do processo de construção, sobretudo com a imobilização do sensor iónico numa matriz inerte e a eliminação da solução de referência interna, permite a obtenção de unidades mecanicamente mais estáveis, com maiores tempos de vida [14].

Desta forma, construíram-se eléctrodos de membrana de PVC, sem solução de referência interna, baseados em tetraquis(4-clorofenil)borato de efedrina dissolvido em 2-nitrofeniloctiléter.

Já depois de finalizada a parte experimental deste trabalho, surgiram na literatura referências à construção e avaliação de eléctrodos, preparados por revestimento de platina com duas membranas de PVC sobreposta, sendo uma delas sensível a efedrina [11, 12]. Estas unidades eram baseadas num eléctrodo de platina recoberto por uma membrana condutora contendo um sal de amónio quaternário. Posteriormente esta membrana condutora era recoberta por outra membrana, esta sensora, que utilizava como extractor iónico o 5-nitrobarbiturato de efedrina [11] ou tetrafenilborato de efedrina [12], ambos dissolvidos numa mistura, cujos principais constituintes são o PVC, resina Chemigun e dioctilftalato como plastificante. Segundo os seus autores, a membrana interna tinha como função a diminuição da resistência eléctrica, por forma a obter unidades mais reprodutíveis e estáveis. Os resultados apresentados pelos seus autores, não revelavam melhorias significativas nas características gerais dos eléctrodos e relativamente à reprodutibilidade, os valores indicados (±2 mV) não são muito melhores do que o

das unidades anteriormente descritas.

3.2. - Parte experimental

3.2.1. - Aparelhagem e eléctrodos

Para todos os ensaios quer de calibração, quer de determinação de efedrina em formulações farmacêuticas, executados com os eléctrodos construídos, utilizou-se a aparelhagem que foi indicada em 2.1. (ver Cap. 2).

O eléctrodo de referência, utilizava no compartimento exterior de dupla junção, um electrólito (cloreto de sódio) com concentração de 0,1 M.

3.2.2. - Reagentes e soluções

As soluções de efedrina com concentração igual a 10^{-1} e 10^{-2} M foram preparadas por pesagem rigorosa de cloridrato de efedrina (May & Baker, ref. 77007) e diluição, a um volume rigoroso, com água desionizada. As soluções de concentração inferior, eram preparadas a partir das mais concentradas por simples diluição. Todas as soluções eram preparadas diariamente.

O ajustador de força iónica utilizado foi uma solução de cloreto de sódio com concentração igual a 0,1 M. Para se efectuar o doseamento potenciométrico de efedrina em preparações farmacêuticas, ajustou-se o pH e a força iónica com uma solução de ácido acético/acetato de sódio (pH = 5,2 e I = 0,1 M). Para a preparação da solução tampão, adicionaram-se 200,0 mL de uma solução de hidróxido de sódio 1 M, a 256,0 mL de uma solução de ácido acético com a mesma concentração, tendo-se completado o volume a 1000,0 mL com água desionizada.

3.2.3. - Preparação dos sistemas sensores e membranas

Em trabalhos anteriores [15, 16], o extractor iónico era obtido por permuta directamente na mistura sensora. Seguindo este procedimento, não é possível controlar e conhecer rigorosamente a sua concentração na membrana. Com o objectivo de se compararem eléctrodos preparados com soluções obtidas por processos diferentes, utilizou-se um outro método de obtenção do permutador iónico onde o tetraquis(4-clorofenil)borato de efedrina resultava de uma reacção de precipitação entre o tetraquis(4-clorofenil)borato de potássio e o cloridrato de efedrina. A solução sensora era preparada por dissolução do composto formado no solvente mediador. Desta forma, era possível controlar rigorosamente a concentração de extractor iónico na membrana e garantir que todo o tetraquis(4-clorofenil)borato de potássio seja transformado no seu correspondente sal de efedrina. Os dois processos distintos utilizados para a preparação dos sensores iónicos, permitiram obter as misturas do tipo 3A e do tipo 3B.

Para preparar o extractor iónico do tipo 3A, procedeu-se a uma precipitação prévia do tetraquis(4-clorofenil)borato de efedrina, seguindo a metodologia referida anteriormente (ver 2.5.2., Cap. 2). Para tal adicionaram-se 5,0 mL de uma solução aquosa de cloridrato de efedrina, com concentração de 0,14 M, a volume igual de uma solução de tetraquis(4-clorofenil)borato de potássio com concentração de 0,1 M, preparada em acetona. Posteriormente, procedeu-se à separação e secagem dos cristais. A mistura sensora correspondente foi então obtida por dissolução de 0,043 g dos cristais resultantes em 0,558 g de 2-nitrofeniloctiléter, de modo a originar uma solução próxima da saturação.

Na preparação do sensor tipo 3B, dissolveu-se inicialmente o tetraquis(4-clorofenil)borato de potássio (0,042 g) em 2-nitrofeniloctiléter (1,060 g), por forma a preparar uma solução com concentração próxima da saturada, após o que se adicionou clorofórmio. Procedeu-se depois à extracção,

agitando esta mistura (por seis vezes), com uma solução aquosa de cloridrato de efedrina a 10^{-2} M, de acordo com o descrito em 2.5.2. (ver Cap. 2). A agitação foi efectuada, com o objectivo de facilitar a permuta entre o catião potássio e a efedrina.

As membranas sensoras (3A e 3B) para a construção dos eléctrodos foram preparadas, de acordo com o citado no Cap. 2 (ver 2.5.2.), misturando inicialmente o PVC (0,180 g) com o tetrahidrofurano (6 mL) e adicionando à solução formada, 0,40 mL de cada uma das misturas sensoras preparadas anteriormente. Indica-se na Tabela 3.2.3.1. a composição relativa das membranas usadas, respectivamente, na construção dos eléctrodos tipo 3A e 3B. Os valores indicados para as membranas do tipo 3B correspondem a uma permuta supostamente completa do tetraquis(4-clorofenil)borato de potássio em tetraquis(4-clorofenil)borato de efedrina.

A construção dos eléctrodos (ver 2.5.2., Cap. 2) foi realizada com as membranas cuja preparação se indicou, após o que, depois de secos, foram colocados a condicionar numa solução aquosa de cloridrato de efedrina a $5x10^{-3}$ M, e mantidos nela sempre que não estavam a ser utilizados.

Tabela 3.2.3.1. - Composição relativa (percentagem em massa) dos diferentes constituintes dos sistemas sensores e membranas utilizados na construção dos eléctrodos de efedrina do tipo 3A e do tipo 3B.

Constituintes	Eléctrodo tipo 3A		Eléctrodo tipo 3B	
	Sensor 3A	Membrana 3A	Sensor 3B	Membrana 3B
Tetraquis(4-clorofenil)-borato de efedrina	7,2	4,9	4,8	3,3
2-Nitrofeniloctiléter	92,8	64,0	95,2	65,7
Cloreto de polivinilo (PVC)	--	31,1	--	31,0

3.2.4. - Preparação das amostras de formulações farmacêuticas para os doseamentos potenciométricos

A determinação de efedrina em xaropes e gotas nasais foi efectuada medindo-se, rigorosamente, um volume equivalente a 16 mg de cloridrato de efedrina, que foi diluído até um volume final de 100,0 mL, com a solução tampão de ácido acético/acetato de sódio (pH = 5,2).

No caso dos comprimidos e após pulverização (ver 2.9.1., Cap. 2), pesaram-se rigorosamente cerca de 20 mg de pó, o qual foi adicionado de 100,0 mL de ácido acético/acetato de sódio (pH = 5,2) e colocado em banho de ultra sons para facilitar a dissolução do composto (ver 2.9.1., Cap. 2). Posteriormente diluiram-se, com a solução tampão, 25,00 mL da solução anteriormente preparada, até um volume final de 50,00 mL.

Os ensaios de doseamento de efedrina por potenciometria directa, foram efecutados de acordo com o referido no Cap. 2 (ver 2.9.2.), sobre tomas de amostras diferentes com um volume de 10,00 mL ao qual se adicionou igual volume da solução tampão de ácido acético/acetato de sódio (pH = 5,2).

Para avaliar a qualidade dos resultados obtidos nas determinações por potenciometria directa, efectuaram-se ensaios de recuperação das amostras e calcularam-se as respectivas razões de recuperação (ver 2.9.3., Cap. 2).

3.3. - Resultados e sua discussão

3.3.1. - Parâmetros das curvas de calibração

A avaliação das características gerais de funcionamento de ambos os tipos de eléctrodos de efedrina, foi efectuada pelo traçado das respectivas curvas de calibração (ver 2.7.1., Cap. 2), no intervalo de concentrações entre aproximadamente 8×10^{-7} e 10^{-1} M de efedrina, em soluções sem a força iónica ajustada, com a força iónica ajustada com cloreto de sódio a 0,1 M e com ajuste de pH e força iónica efectuado com uma solução tampão. Para ajustar o pH, foi escolhida uma solução constituída por catiões cuja interferência na membrana dos eléctrodos fosse pouco significativa (ver coeficientes de selectividade potenciométricos dos eléctrodos, 3.3.4.), e por outro lado fornecesse um valor de pH que estivesse compreendido dentro da zona operacional dos eléctrodos (ver efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos, 3.3.3.). De acordo com estas exigências, optou-se por uma solução de ácido acético/acetato de sódio (pH = 5,2 e I = 0,1 M).

Nas Figs. 3.3.1.1. e 3.3.1.2., apresentam-se as curvas de calibração típicas, obtidas nas condições de ensaio referidas. Na Tabela 3.3.1.1. incluem-se os valores médios (e respectivos desvios padrão) dos parâmetros de calibração resultantes de, pelo menos dois ensaios repetidos com três unidades de cada tipo (6 determinações).

A resposta dos dois tipos de eléctrodos eram semelhantes. Ambas as unidades apresentavam uma resposta linear até pelo menos 0,1 M, com um declive da curva de calibração próximo do valor teórico (ver Tabela 3.3.1.1.), sobretudo quando o pH e a força iónica estavam simultaneamente ajustados.

As unidades do tipo 3B, apresentavam um limite inferior de resposta linear

(L.I.R.L.) e um limite prático de detecção (L.P.D.) mais baixo que as unidades do tipo 3A. Este facto é justificado pela menor concentração do extractor iónico na membrana do tipo 3B, relativamente às unidades do tipo 3A. A diferença de concentração é devida ao facto de o tetraquis(4-clorofenil)borato de potássio ser menos solúvel no solvente mediador que o tetraquis(4-clorofenil)borato de efedrina, uma vez que as soluções preparadas inicialmente eram soluções saturadas no par iónico correspondente.

Quando se ajusta a força iónica, observa-se um aumento do declive da curva de calibração, para valores mais próximos do teórico (59,16 mV década^{-1}, t = 25°C), e um ligeiro aumento dos limites inferior de resposta linear e de detecção dos eléctrodos.

Para avaliar a reprodutibiliade dos potenciais dos dois tipos de eléctrodos, ao longo de um dia de trabalho, procedeu-se ao traçado de três curvas de calibração, a segunda imediatamente após a primeira, e a terceira 3 horas após o traçado da segunda. As calibrações foram executadas no intervalo de concentrações entre aproximadamente 8×10^{-6} e 10^{-2} M em efedrina, em soluções sem ou com a força iónica ajustada, com cloreto de sódio a 0,1 M, ou ainda com ajuste de pH e força iónica com a solução de ácido acético/acetato de sódio (pH = 5,2 e I = 0,1 M). Apresentam-se na Tabela 3.3.1.1. os resultados obtidos nessas condições. Para ambas as unidades não se observaram variações de potencial superiores a ±1,5 mV ao longo de um dia de trabalho. Contudo, nos primeiros três dias após a construção dos eléctrodos, a variação dos potenciais registada era de cerca de 5 a 10 mV por dia. Este período de tempo, correspondia à estabilização do sistema de referência interna, que neste tipo de eléctrodos parece resultar de um sistema redox reversível O_2/H_2O [17, 18].

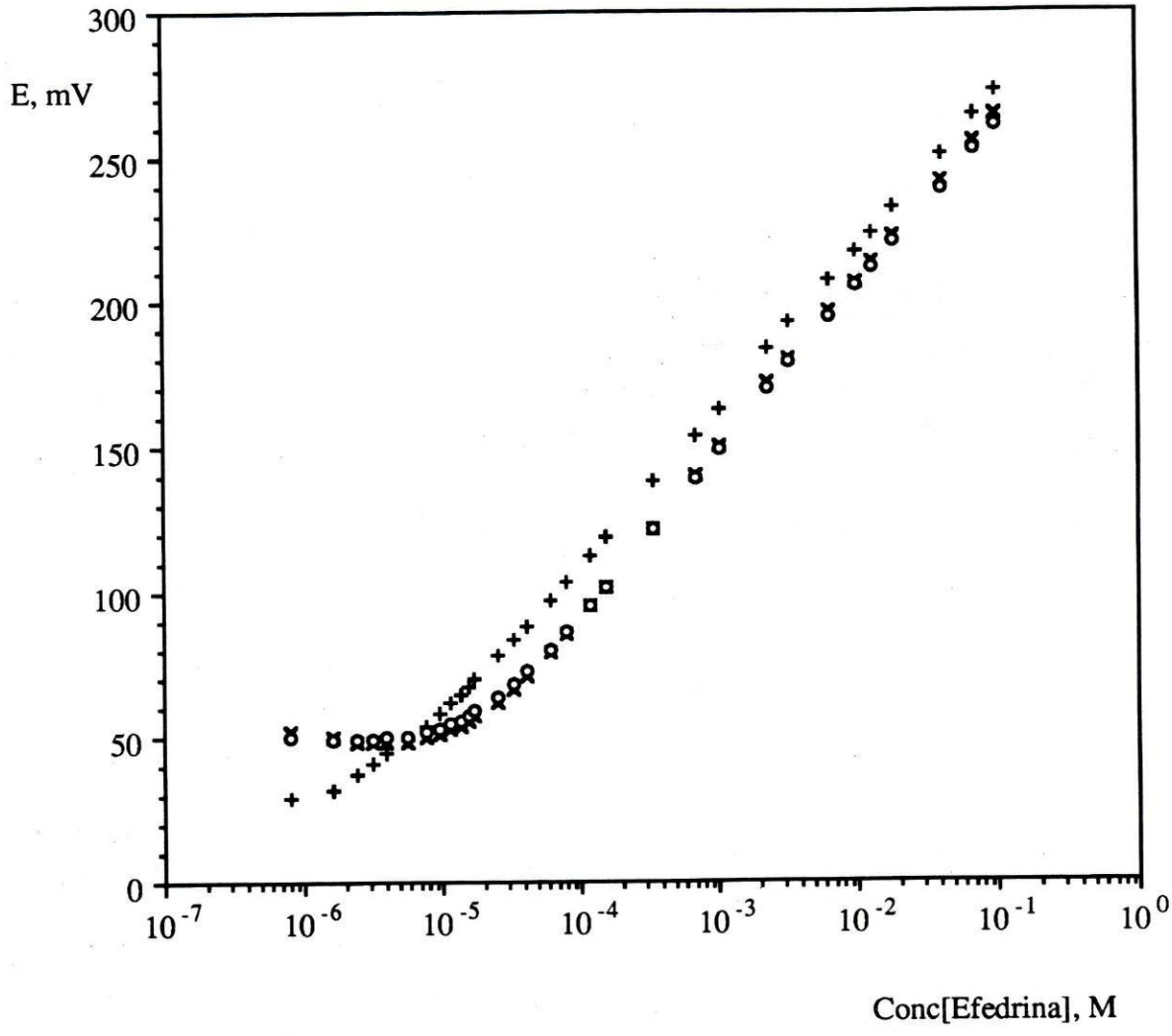
Verificou-se que, pelo menos durante o período em que decorreu a avaliação e utilização das unidades (cerca de 18 meses), não se observavam alterações significativas das suas características gerais de funcionamento, pelo que

será de supor uma durabilidade superior a 18 meses.

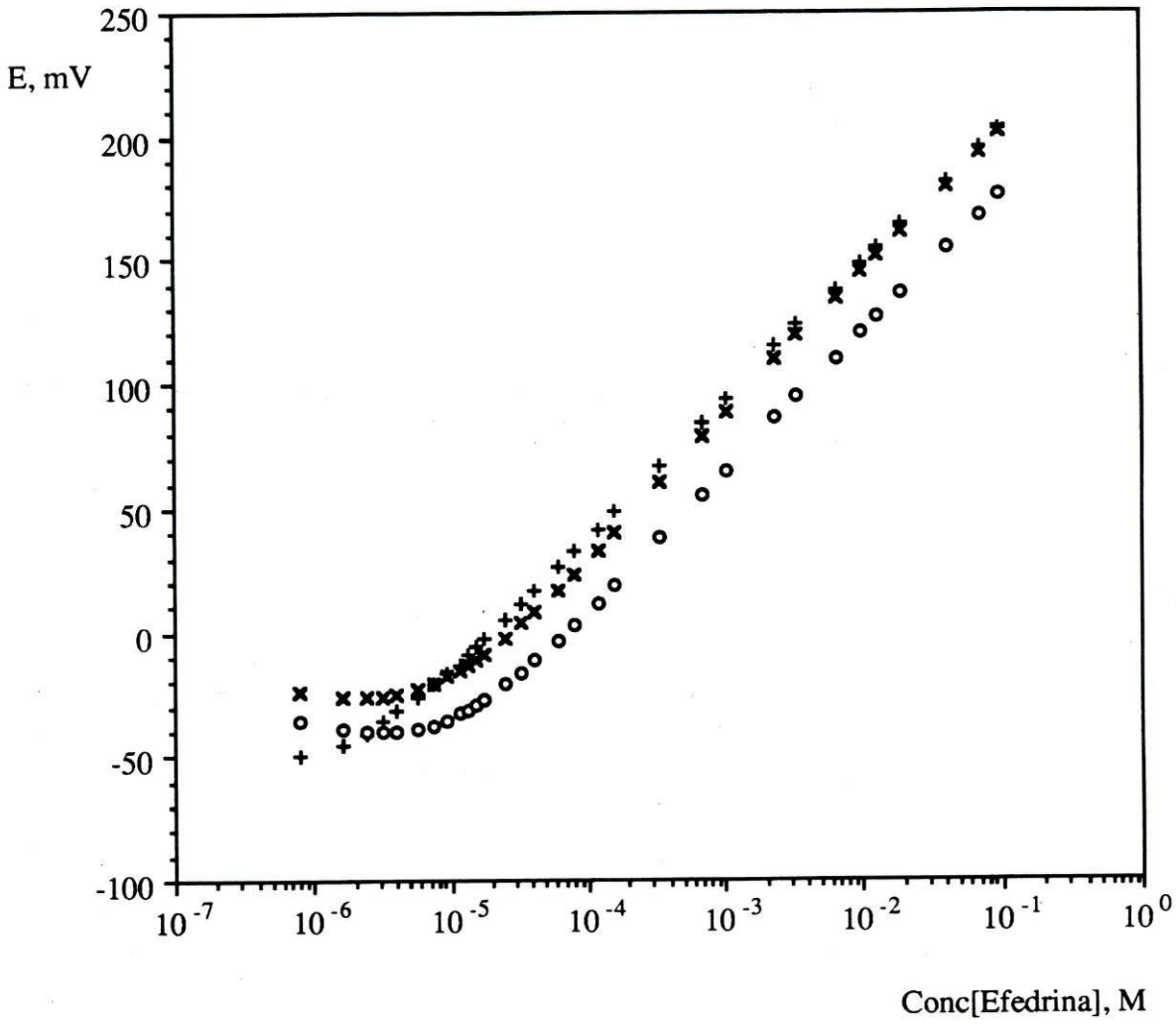
Comparando os resultados obtidos, com os indicados por outros autores, para eléctrodos sensíveis à mesma espécie catiónica [5-10] (Tabela 3.3.1.2.), verificou-se uma melhoria para os valores correspondentes à zona de resposta linear. Esta melhoria era mais significativa quando a comparação era feita com os eléctrodos que utilizavam como extractor iónico o tetrafenilborato [5-7]. Tal facto é devido ao tipo de associação entre o extractor e o solvente mediador que é mais favorável quando se utiliza o sistema sensor descrito neste capítulo [13].

Uma das melhorias mais assinaláveis obtidas para os eléctrodos construídos, foi o tempo em que se mantinham em funcionamento sem haver alterações das características de resposta, quando comparadas com outras unidades [5-10]. As principais causas para esse aumento da durabilidade são a eliminação da solução de referência interna e o uso de um solvente mediador com excelentes características plastificantes. Estes dois aspectos dificultam a perda do sensor iónico por escoamento como é característico nos eléctrodos de membrana líquida ou de PVC com solução de referência interna. Para além disso o uso de um extractor iónico bastante lipófilo e resistente ao ataque de ácidos, favorece o aumento da durabilidade observada [13].

Observa-se ainda um aumento da reprodutibilidade dos potenciais, devido sobretudo à maior estabilidade mecânica que caracteriza os eléctrodos construídos [14]. Este aspecto é muito importante para a aplicação das unidades em doseamentos por potenciometria directa, pois condiciona a periodicidade das calibrações.



Figuras 3.3.1.1. - Curvas de calibração típicas para eléctrodos de efedrina do tipo 3A, obtidas em soluções: (+) sem a força iónica ajustada; (×) com ajuste de força iónica a 0,1 M com cloreto de sódio; e (o) em solução tampão de ácido acético/acetato de sódio (pH = 5,2 e I = 0,1 M).



Figuras 3.3.1.2. - Curvas de calibração típicas para eléctrodos de efedrina do tipo 3B, obtidas em soluções: (+) sem a força iónica ajustada; (×) com ajuste de força iónica a 0,1 M com cloreto de sódio; e (o) em solução tampão de ácido acético/acetato de sódio (pH = 5,2 e I = 0,1 M).

Tabela 3.3.1.1. - Parâmetros de calibração para os eléctrodos sensíveis a efedrina (EFE).

Características	Eléctrodos					
	3A			3B		
	I [a)]	II [b)]	III [c)]	I [a)]	II [b)]	III [c)]
Declive (mV/log[EFE])	54,3±1,2	56,5±0,4	57,3±0,5	54,5±1,1	57,2±0,5	57,5±0,4
L.I.R.L. (M)	$2,0\times10^{-5}$ $\pm1,7\times10^{-5}$	$3,2\times10^{-5}$ $\pm1,6\times10^{-5}$	$6,3\times10^{-5}$ $\pm1,0\times10^{-5}$	$8,0\times10^{-6}$ $\pm3,0\times10^{-6}$	$2,4\times10^{-5}$ $\pm0,4\times10^{-5}$	$3,8\times10^{-5}$ $\pm0,4\times10^{-5}$
L.P.D. (M)	$1,0\times10^{-5}$ $\pm0,9\times10^{-5}$	$2,1\times10^{-5}$ $\pm0,7\times10^{-5}$	$2,0\times10^{-5}$ $\pm0,6\times10^{-5}$	$4,5\times10^{-6}$ $\pm1,3\times10^{-6}$	$1,1\times10^{-5}$ $\pm0,2\times10^{-5}$	$1,2\times10^{-5}$ $\pm0,2\times10^{-5}$
Zona Op. de pH [d)]	2,5 - 9,0	2,0 - 9,0	--	2,5 - 9,0	2,0 - 9,0	--
Tempo de resposta (s)	<20	<6	<6	<20	<6	<6
Reprod. (mV/dia) [e)]	±1,5	±1,0	±0,9	±1,5	±1,0	±1,0
Durabilidade (meses)	>18	>18	>18	>18	>18	>18

[a)] Ensaios efectuados em soluções sem ajuste de força iónica; [b)] Ensaios efectuados em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M com cloreto de sódio; [c)] Ensaios efectuados em soluções com a força iónica e pH ajustados com uma solução de ácido acético/acetato de sódio (pH = 5,2 e I = 0,1 M); [d)] Zona operacional de pH obtida a partir do traçado dos diagramas de Reilley em soluções de concentração 5×10^{-3} M e 10^{-4} M em efedrina; [e)] Valores da reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos, correspondentes a três ensaios executados ao longo do dia.

Tabela 3.3.1.2. - Comparação das características de resposta, para eléctrodos sensíveis à efedrina (EFE), referidos na literatura [5-10].

Referência	Declive (mv/log[EFE])	Z.R.L. (M) [a)]	Patamar de pH	Tempo de resposta (s)	Reprodutibilidade (mV/dia)	Durabilidade (meses)
tipo 3A	54,3	10^{-1}-2×10^{-5}	2,5-9,0	<20	±1,5	>18
tipo 3B	54,5	10^{-1}-8×10^{-6}	2,5-9,0	<20	±1,5	>18
[5] [b)]	59	10^{-1}-10^{-3}	1,5-8	n.r.	n.r.	n.r.
[5] [c)]	59	10^{-1}-10^{-3}	1,5-8	n.r.	n.r.	n.r.
[6] [d)]	58,7	10^{-1}-10^{-3}	n.r.	15-20	±1,0	>6
[7] [e)]	56	10^{-1}-2×10^{-4}	n.r.	30-40	n.r.	2
[8] [f)]	55,2	10^{-2}- $\cong10^{-6}$	4-8	20-90	±1,0	±1
[9] [g)]	55	10^{-2}-10^{-5}	4-7	20-90	±2,0	±2
[10] [h)]	55,2	10^{-2}-10^{-5}	4-7	20-90	±1,0	±1

n.r. - não refere; [a)] Zona de resposta linear dos eléctrodos; [b)] Eléctrodos de membrana líquida de tetrafenilborato de efedrina em dioctilftalato; [c)] Eléctrodos de membrana de PVC, com solução e eléctrodo de referência interna de AgCl/Ag e baseados em tetrafenilborato de efedrina em dioctilftalato; [d)] Eléctrodos de membrana de PVC, com solução e eléctrodo de referência interna de Hg_2Cl_2/Hg e baseados em tetrafenilborato de efedrina em dioctilftalato; [e)] Eléctrodos de membrana de PVC, com solução de referência interna e baseados em tetrafenilborato de efedrina em dibutilftalato; [f)] Eléctrodos de membrana líquida de 5-nitrobarbiturato de efedrina em n-octanol; [g)] Eléctrodos de membrana líquida de 5-nitrobarbiturato de efedrina em nitrobenzeno; [h)] Eléctrodos de membrana líquida de flavianato de efedrina em n-octanol.

3.3.2. - Tempo de resposta dos eléctrodos

O tempo prático de resposta, foi avaliado pelo registo das variações de potencial dos eléctrodos de efedrina, correspondentes a variações de concentração (aproximadamente em duplicado) do alcalóide, numa gama de concentrações compreendida entre 10^{-5} e 2×10^{-3} M (ver 2.7.2., Cap. 2). Os ensaios foram executados, para ambos os tipos de eléctrodos, em soluções sem a força iónica ajustada.

Nas Figs 3.3.2.1. e 3.3.2.2., são representados os diagramas obtidos para a avaliação deste parâmetro, respectivamente para unidades do tipo 3A e 3B. Ambos os eléctrodos, apresentavam um tempo de resposta inferior a 20 segundos quando a força iónica não se encontrava ajustada. No entanto, quando se ajustava a força iónica ou simultâneamente a força iónica e o pH, o tempo de estabilização era inferior a 6 segundos.

Quando se procedia ao ajuste da força iónica ou ao ajuste de pH, o tempo de estabilização das unidades, era determinado durante o traçado das curvas de calibração para a avaliação das características gerais de funcionamento dos eléctrodos. Para tal, após cada adição da solução padrão de efedrina, mediu-se, com o auxílio de um cronómetro, o tempo que os eléctrodos demoravam a atingir um potencial estável a ±0,2 mV.

Também para este parâmetro foram obtidas melhorias significativas, sendo os tempos práticos de resposta obtidos bastante inferiores aos referidos na literatura para outros eléctrodos de efedrina [6-10], sobretudo quando se procedia ao ajuste da força iónica. Tal facto é uma consequência da imobilização do sensor iónico em PVC e eliminação da solução de referência interna.

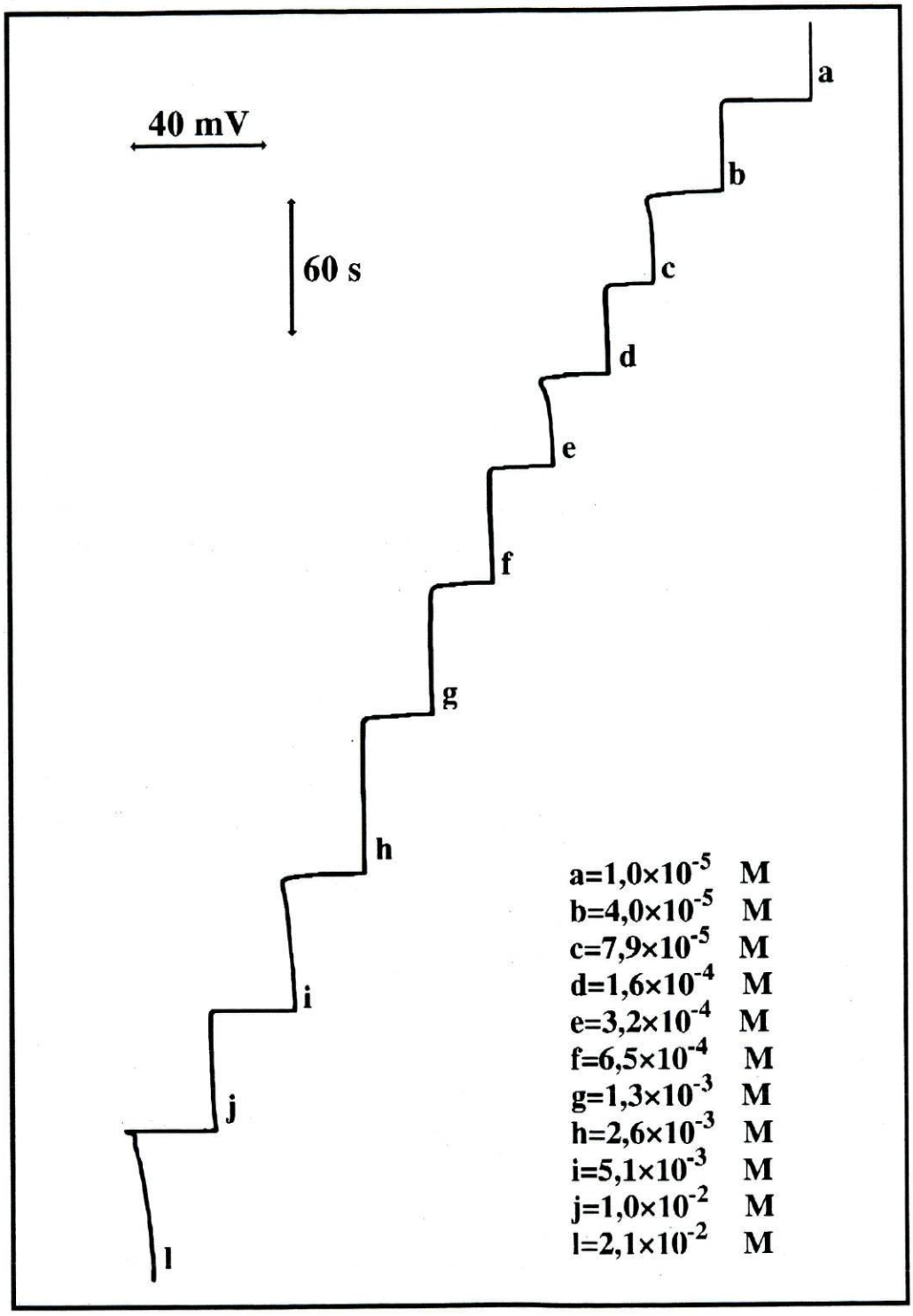


Figura 3.3.2.1. - Tempo prático de resposta para um eléctrodo do tipo 3A, obtido em soluções sem a força iónica ajustada.

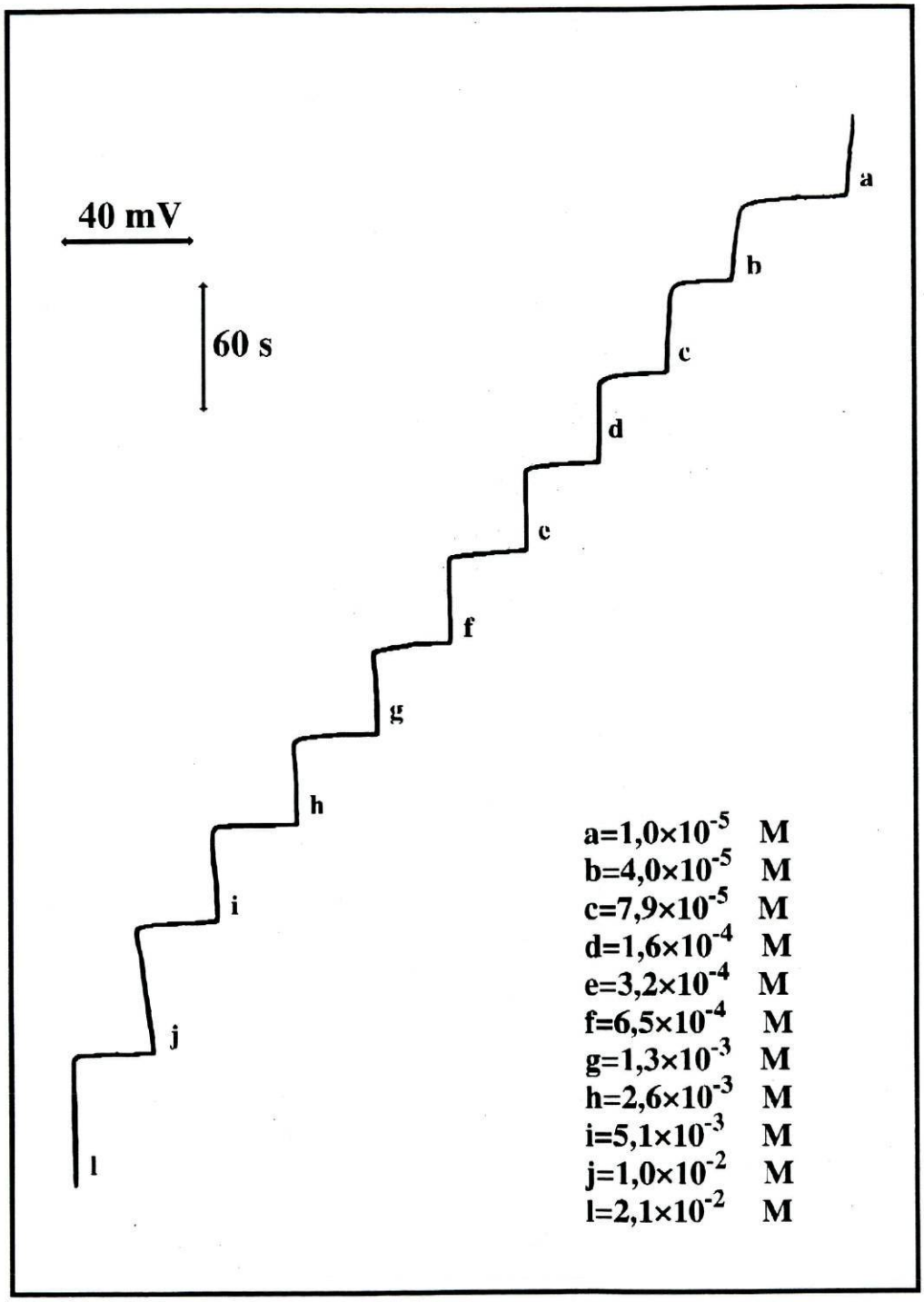


Figura 3.3.2.2. - Tempo prático de resposta para um eléctrodo do tipo 3B, obtido em soluções sem a força iónica ajustada.

3.3.3. - Efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos

O efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos, foi avaliado seguindo os procedimentos descritos na secção 2.7.3. do Cap. 2, em soluções de efedrina com concentração de 5×10^{-3} e 10^{-4} M. Os ensaios foram realizados em soluções sem e com a força iónica ajustada com cloreto de sódio a 0,1 M.

As alterações de pH da solução inicial, foram realizadas utilizando soluções concentradas de hidróxido de sódio e ácido clorídrico. Estas soluções foram escolhidas devido aos baixos coeficientes de selectividade potenciométricos determinados para o catião sódio (ver 3.3.4.).

Apresentam-se nas Figs 3.3.3.1. e 3.3.3.2., os diagramas obtidos para ambos os tipos de eléctrodos, que mostram que no intervalo de pH entre aproximadamente 2,5 e 9,0 unidades, as variações de potencial dos eléctrodos eram inferiores a 5 ou 3 mV, conforme os ensaios eram executados em soluções sem ou com a força iónica ajustada.

Para valores de pH acima de 9,0 unidades, ocorre uma diminuição de potencial devido ao aumento da concentração da fracção não ionizada de efedrina.

Comparativamente com outras unidades, sensíveis a efedrina, referidas na literatura [8-10] (Tabela 3.3.1.2.), os resultados obtidos mostram que os eléctrodos cuja preparação se indicou, apresentam um intervalo de pH no qual não há variação significativa do potencial mais alargado. Este facto está relacionado especialmente com o tipo de solvente mediador utilizado na preparação das membranas.

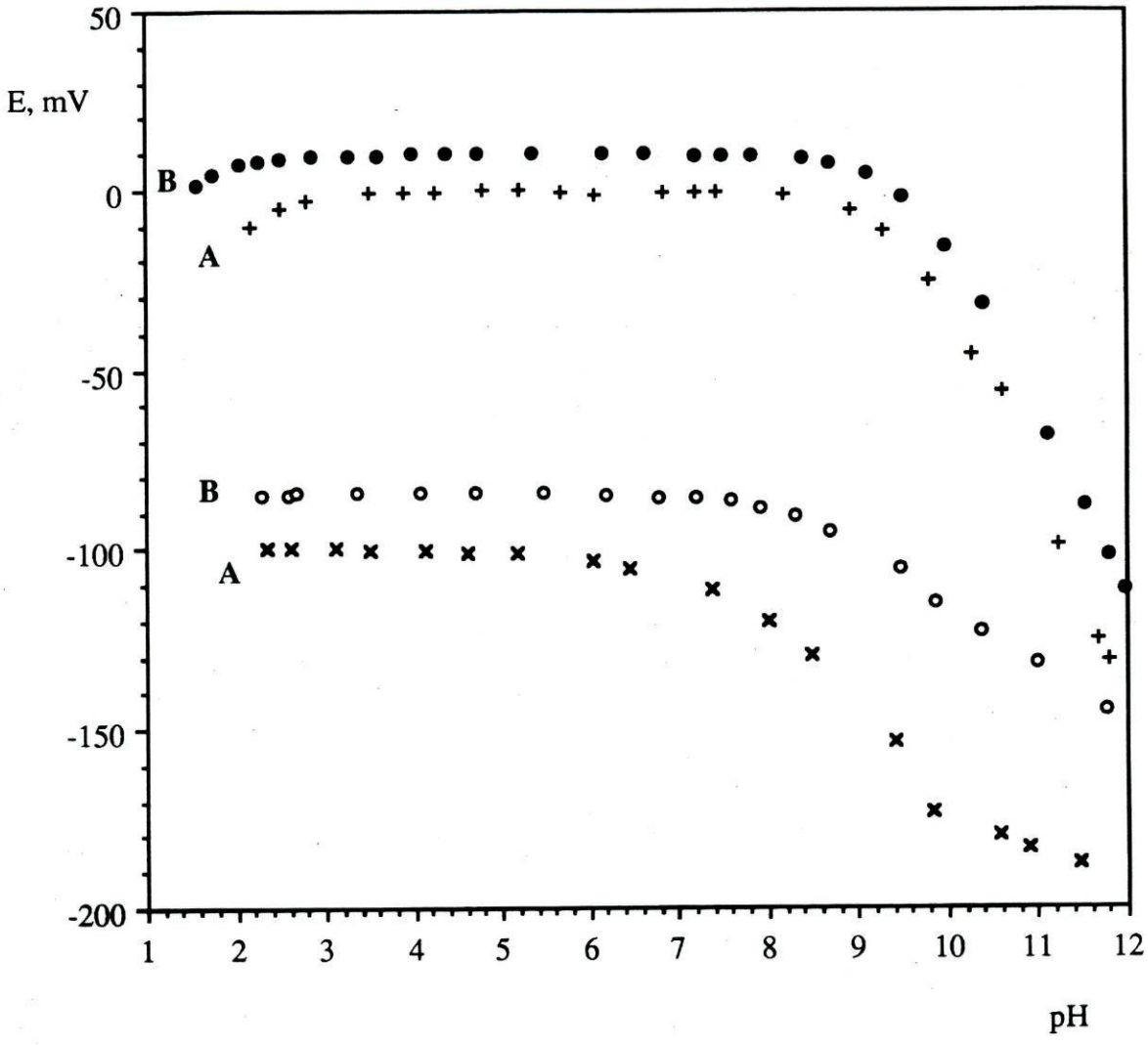


Figura 3.3.3.1. - Diagrama da variação do potencial, com o pH das soluções, para eléctrodos do tipo 3A, em soluções de efedrina com a concentração de 5×10^{-3} M (+ ou •) e 10^{-4} M (× ou o), respectivamente, sem (A) ou com (B) a força iónica ajustada.

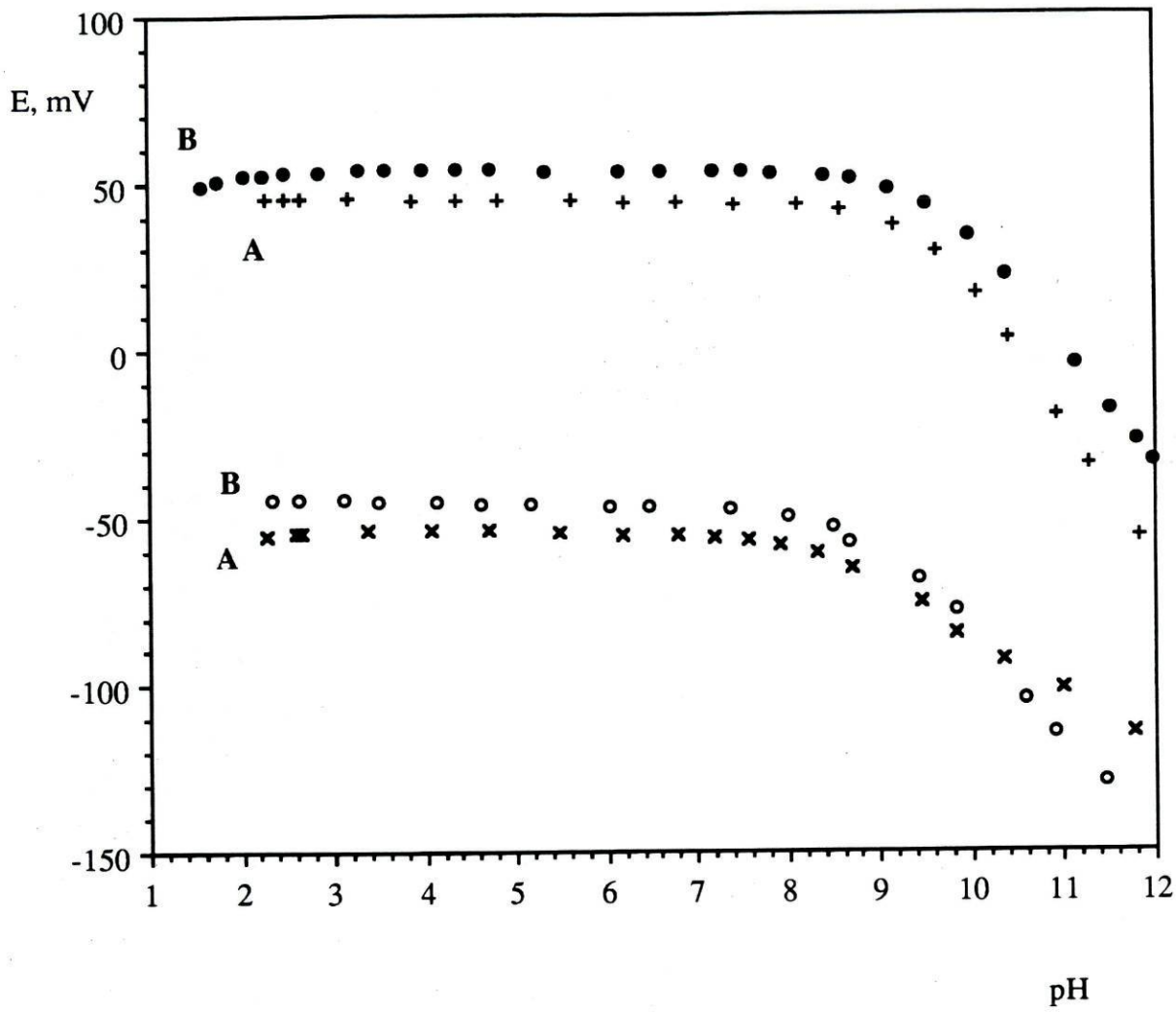


Figura 3.3.3.2. - Diagrama da variação do potencial, com o pH das soluções, para eléctrodos do tipo 3B, em soluções de efedrina com a concentração de 5×10^{-3} M (+ ou •) e 10^{-4} M (× ou o), respectivamente, sem (A) ou com (B) a força iónica ajustada.

3.3.4. - Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos

A avaliação da extensão da interferência de vários catiões inorgânicos comuns, foi determinada usando o método das soluções separadas (ver 2.7.4., Cap. 2). Os valores dos respectivos coeficientes de selectividade potenciométricos ($K^{pot}_{A,B}$) foram calculados de acordo com o descrito em 2.7.4. (ver Cap. 2). As determinações foram efectuadas no intervalo de concentração entre 10^{-5} e 10^{-3} M, indicando-se na Tabela 3.3.4.1. os valores calculados para três níveis de concentração. A gama de concentração seleccionada, correspondia à zona onde se incluíam as determinações analíticas efectuadas em formulações farmacêuticas.

Com vista a possibilitar a escolha de uma solução ajustadora de força iónica adequada e avaliar a possível interferência de iões habitualmente presentes em medicamentos, foram determinados os coeficientes de selectividade potenciométricos para os catiões inorgânicos mais comuns, cálcio, sódio, amónio e potássio.

Tendo-se verificado uma selectividade semelhante entre os dois tipos de unidades, para os iões inorgânicos mais comuns e por forma a reduzir, tanto quanto possível, a carga experimental que envolve este trabalho, o estudo da interferência de alguns alcalóides (atropina, estricnina, pilocarpina e quinidina) e do tetrapentilamónio, um sal de amónio hidrossolúvel, foi efectuado apenas para as unidades do tipo 3A. Como estes compostos não se encontram habitualmente presentes em medicamentos contendo efedrina, o objectivo deste estudo era meramente académico, permitindo prever a utilidade deste extractor na preparação de outros eléctrodos sensíveis a esses alcalóides.

No que diz respeito aos iões inorgânicos comuns, os dois tipos de eléctrodos apresentavam selectividades muito semelhantes, facto que era previsível, uma vez que é essencialmente o solvente mediador o que mais influencia a selectividade dos eléctrodos [19]. Os baixos valores para os coeficientes de selectividade

potenciométricos determinados para o catião sódio justificaram o uso de cloreto de sódio como solução ajustadora de força iónica e como solução externa do eléctrodo de referência.

Apesar do valor da interferência calculada para os outros alcalóides ser positiva, tal facto não causa problemas, em termos de aplicabilidade, porque estas espécies nunca se encontram associadas. Os valores obtidos levam a concluir que o extractor utilizado poderia ser aplicado na construção de eléctrodos selectivos sensíveis a outros alcalóides.

Relativamente ao que anteriormente foi publicado para eléctrodos sensíveis à mesma espécie catiónica [5, 7-10] (Tabela 3.3.4.2.), observa-se um aumento de selectividade sobretudo em relação aos catiões inorgânicos comuns. Este aspecto está directamente relacionado com o uso de 2-nitrofeniloctiléter como solvente mediador, e é muito importante sob o aspecto de aplicabilidade das unidades.

Tabela 3.3.4.1. - Coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$) para os eléctrodos de efedrina construídos [a].

Interferentes	Tipo 3A Concentração (M)			Tipo 3B Concentração (M)		
	$1x10^{-4}$	$5x10^{-4}$	$1x10^{-3}$	$1x10^{-4}$	$5x10^{-4}$	$1x10^{-3}$
Cálcio	-3,4±0,1	-3,8±0,1	-3,9±0,1	-3,6±0,1	-3,9±0,1	-4,1±0,1
Sódio	-1,4±0,1	-2,2±0,1	-2,5±0,1	-1,6±0,2	-2,4±0,3	-2,7±0,3
Amónio	-1,3±0,1	-2,0±0,1	-2,2±0,1	-1,5±0,1	-2,0±0,2	-2,4±0,1
Potássio	-1,3±0,1	-2,0±0,1	-2,2±0,1	-1,5±0,1	-2,0±0,1	-2,3±0,1
Pilocarpina	+0,1±0,1	+0,4±0,1	+0,4±0,1	--	--	--
Atropina	+0,1±0,1	+0,4±0,2	+0,6±0,1	--	--	--
Estricnina	+0,1±0,1	+1,5±0,2	+1,7±0,1	--	--	--
Quinidina	+0,2±0,1	+2,0±0,1	+2,2±0,1	--	--	--
Tetrapentilamónio	+0,2±0,2	+5,4±1,4	+6,6±0,1	--	--	--

[a] Média e desvio padrão de quatro valores obtidos em duas determinações com dois eléctrodos cada.

Tabela 3.3.4.2. - Comparação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$), com os eléctrodos sensíveis a efedrina, referidos na literatura [5, 7-10].

	tipo 3A	tipo 3B	[5] a)	[7] b)	[8] c)	[9] d)	[10] e)
Método	S. sep.	S. sep.	n.r.	S. sep.	I. fix.	I. fix.	I. fix.
Conc.	10^{-3} M	10^{-3} M	n.r.	10^{-2} M	10^{-3} M	10^{-3} M	10^{-3} M
Cálcio	-3,9	-4,1	s.v.	n.r.	n.r.	-1,1	n.r.
Sódio	-2,5	-2,7	s.v.	n.r.	-2,0	-2,1	-2,4
Potássio	-2,2	-2,3	s.v.	-2,0	-2,2	-2,2	-2,5
Amónio	-2,2	-2,4	s.v.	n.r.	-4,0	-2,6	-2,4
Estricnina	+1,7	--	n.r.	n.r.	+0,5	+0,4	n.r.
Quinidina	+2,2	--	n.r.	n.r.	+0,2	+0,1	n.r.

S. sep. - Método das soluções separadas; I. fix. - Método da interferência fixada; n.r. - não refere; s.v. - não indica valor de interferência; a) Eléctrodos baseados em tetrafenilborato de efedrina em dioctilftalato; b) Eléctrodos de membrana de PVC, com solução de referência interna e baseados em tetrafenilborato de efedrina em dibutilftalato; c) Eléctrodos de membrana líquida de 5-nitrobarbiturato de efedrina em n-octanol; d) Eléctrodos de membrana líquida de 5-nitrobarbiturato de efedrina em nitrobenzeno; e) Eléctrodos de membrana líquida de flavianato de efedrina em n-octanol.

3.3.5. - Doseamento da efedrina em formulações farmacêuticas

Para avaliar a utilidade analítica dos eléctrodos construídos e as vantagens decorrentes dos melhoramentos introduzidos, foi efectuado o doseamento de efedrina em amostras de fórmulas farmacêuticas comercializadas em Portugal, por potenciometria directa, de acordo com o descrito anteriormente (ver 2.9.2., Cap. 2). Como as características dos dois tipos de eléctrodos construídos eram semelhantes, apenas foram utilizadas as unidades do tipo 3A para efectuar os ensaios de aplicação analítica. Na Tabela 3.3.5.1. são indicados os valores médios e respectivos desvios padrão para amostras farmacêuticas com diferentes composições. Os valores indicados correspondem à média de quatro determinações efectuadas sobre tomas diferentes, com três eléctrodos.

A qualidade dos resultados obtidos, foi avaliada através dos respectivos valores de recuperação das amostras (ver 2.9.3., Cap. 2), calculados e igualmente apresentados na referida Tabela.

Os reduzidos coeficientes de variação (C.V.) obtidos, com um valor médio de 4,2%, permitem afirmar que o doseamento de efedrina com os eléctrodos construídos, por potenciometria directa é um método preciso. As percentagens de recuperação médias na ordem de 100,5%, permitem concluir que se trata de uma metodologia igualmente exacta.

Para amostras de gotas nasais e comprimidos, a precisão dos resultados revelou-se superior ao obtido para as amostras de xaropes, facto que decorre da presença de álcool etílico, proveniente das tinturas e extractos que se encontram presentes nos xaropes.

Além de exactas e precisas, as determinações eram bastante rápidas devido ao curto tempo de resposta dos eléctrodos e à grande reprodutibilidade dos seus potenciais, pelo que em cerca de 30 minutos era possível efectuar uma calibração e proceder ao doseamento de pelo menos oito amostras.

É igualmente importante a facilidade com que esta técnica pode ser aplicada a diferentes formulações farmacêuticas, sendo apenas necessário executar um ajuste de força iónica e pH.

Tabela 3.3.5.1. - Determinação de efedrina por potenciometria directa, com os eléctrodos do tipo 3A.

Preparação [a)]	Pot. dir. [b)] (% m/m)	C.V. [c)] (%)	Recup. [d)] (%)
Antiasmático (comprimidos)	9,26±0,07	0,76	96,4±1,6
Argotone (gotas nasais)	0,93±0,02	2,15	99,3±1,5
Nasocalma (gotas nasais)	1,00±0,02	2,00	99,7±2,8
Efedril (xarope)	0,09±0,01	6,16	101,7±2,0
Codofosfol (xarope)	0,13±0,01	4,09	107,4±1,7
Codeisan (xarope)	0,17±0,02	9,85	98,6±3,4

[a)] Nomes comerciais de formulações contendo efedrina disponíveis no mercado português; [b)] Média e desvios padrão de quatro determinações efectuadas por potenciometria directa com três eléctrodos; [c)] Coeficientes de variação ou desvios padrão relativos [d)] Valores de recuperação médios e respectivos desvios padrão de quatro determinações efectuadas com três eléctrodos.

3.4. - Conclusões

Foram utilizados dois processos diferentes para a obtenção do extractor iónico, não tendo sido observadas diferenças significativas nas características gerais de funcionamento dos dois tipos de unidades que possam ser atribuíveis directamente a esse facto. As variações observadas nos L.I.R.L. e L.P.D. deveram-se às diferenças de solubilidade entre o tetraquis(4-clorofenil)borato de potássio e o tetraquis(4-clorofenil)borato de efedrina no solvente mediador, pelo que o sensor do tipo 3B apresentava uma concentração de extractor iónico inferior à das unidades do tipo 3A.

A preparação do extractor iónico por precipitação entre o tetraquis(4-clorofenil)borato de potássio e o cloridrato de efedrina, só tem vantagens pelo facto de ser mais simples, menos sujeito a erros e contaminações e permitir o conhecimento exacto da concentração do par iónico na membrana sensora, bem como a preparação de membranas com diferentes concentrações de extractor iónico.

Os resultados obtidos permitiram concluir que ambos eléctrodos de efedrina construídos apresentavam melhores características de funcionamento do que os anteriormente referidos na literatura [5-10]. Tal facto deve-se, por um lado, às características lipófilas do extractor iónico utilizado, tetraquis(4-clorofenil)borato de efedrina, que favoreceu a obtenção de unidades com maiores zonas de resposta linear e maior estabilidade. Por outro lado o uso de um solvente mediador, 2-nitrofeniloctiléter, com excelentes características plastificantes e de elevada viscosidade e lipofilia, permitiu melhorar a selectividade das unidades e aumentar o seu tempo de vida. Ainda importante foi a eliminação da solução de referência interna e a imobilização da membrana em PVC, que favoreceu a obtenção de unidades mecânicamente mais estáveis, com maiores tempos de vida e menores tempos de resposta.

A globalidade dos resultados obtidos permite afirmar que os eléctrodos

sensíveis à efedrina, apresentados neste capítulo, representam uma evolução relativamente ao anteriormente descrito. Pelo que são bastante mais atractivos para a análise laboratorial de rotina.

Face às boas características de funcionamento dos eléctrodos construídos e por forma a averiguar a sua aplicabilidade na rotina laboratorial, utilizaram-se as unidades do tipo 3A no doseamento de efedrina em diferentes formulações farmacêuticas. Os resultados revelaram-se exactos e precisos, e devido à facilidade e rapidez de preparação das amostras, pode-se considerar uma metodologia adequada ao doseamento de efedrina em formulações farmacêuticas.

3.5. - Referências bibliográficas

[1] - *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16ª edição, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvânia, pp. 822 (1980)

[2] - A. G. Gilman, L. S. Goodman e A. Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 6ª edição, MacMillan Publishing Company, Inc., Nova York (1980)

[3] - *British Pharmacopoeia 1988*, HM Stationery Office, Londres (1988)

[4] - *U. S. Pharmacopeia, National Formulary 1990*, U. S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville (1990)

[5] - K. Fukamachi, R. Nakagawa, M. Morimoto e N. Ishibashi, *Bunseki Kagaku*, **24**, 428 (1975)

[6] - J. Zeng, *Yaoxue Xuebao*, **17**, 841 (1982)

[7] - K. Selinger e R. Staroscik, *Chem. Anal.* (Warsaw), **27**, 223 (1982)

[8] - S. S. M. Hassan, *Arab Gulf J. Sci. Res.*, **4**, 127 (1986)

[9] - S. S. M. Hassan e M. M. Saoudi, *Analyst*, **111**, 1367 (1986)

[10] - S. S. M. Hassan e G. A. Rechnitz, *Anal. Chem.*, **58**, 1052 (1986)

[11] - P. R. Chamorro e R. C. Diaz, *Analyst*, **117**, 1905 (1992)

[12] - P. R. Chamorro e R. C. Diaz, *Talanta*, **40**, 1461 (1993)

[13] - G. H. Zhang, T. Imato, Y. Asano, T. Sonoda, H. Kobayashi e N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, **62**, 1644 (1990)

[14] - G. J. Moody, J. D. R. Thomas, J. L. F. C. Lima e A. A. S. C. Machado, *Analyst*, **113**, 1023 (1988)

[15] - J. L. F. C. Lima, M. C. B. S. M. Montenegro, J. Alonso, J. Bartroli e J. G. Raurich, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **7**, 1499 (1989)

[16] - J. L. F. C. Lima, M. C. B. S. M. Montenegro e A. M. R. da Silva, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **8**, 701 (1990)

[17] - A. A. Bouklouze, A. El Jammal, J.-C. Vire e G. J. Patriarche, *Anal.*

Chim. Acta, **257**, 41 (1992)

[18] - J. L. F. C. Lima e A. A. S. C.- Machado, *Analyst*, **111**, 799 (1986)

[19] - G. Baum e M. Lynn, *Anal. Chim. Acta*, **65**, 393 (1973)

CAPÍTULO 4

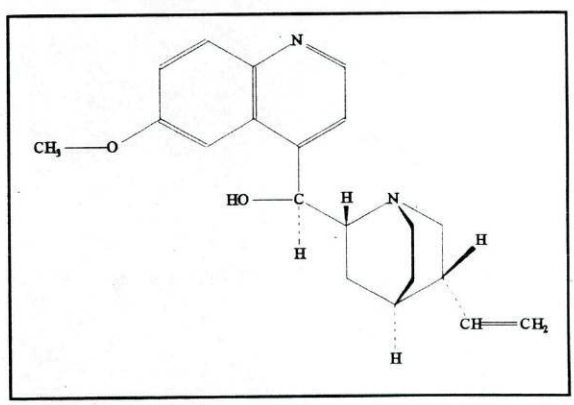
ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A QUINIDINA

4. - ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A QUINIDINA

4.1. - Introdução

A quinidina e o seu estereoisómero quinina são alcalóides obtidos de várias espécies do género *Cinchona* e seus híbridos. A quinidina pode ainda ser obtida por extração da *Remijia pedunculata* Flückiger (Família das *Rubiaceae*) ou preparada a partir da quinina [1].

A quinidina foi descrita como isómero óptico da quinina pela primeira vez em 1848 por van Heyningen e Pasteur em 1853 atribuíu-lhe o nome pelo qual hoje é designada [2]. No entanto, só em 1914 foi descrita a sua acção antiarrítmica e depois em 1918 foi introduzida na terapêutica [3]. Apesar de ser possível a sua síntese, como esta é demasiado complexa e dispendiosa, o modo de obter ainda hoje estes alcalóides é por extracção das plantas onde ocorrem naturalmente [2].



Quìmicamente é constituída por um núcleo quinolina e outro quinuclidina ligados através de um grupo álcool secundário. A quinidina e a quinina diferem entre si na configuração estérica desse álcool secundário.

Farmacologicamente possuem acção antimalárica, antipirética, analgésica e antiarrítmica, entre outras [2, 3], mas enquanto a quinidina é marcadamente antiarrítmica e é utilizada para prevenir taquiarritmias supraventriculares ou para suprimir despolarizações ventriculares prematuras a quinina é utilizada no

tratamento da malária conjuntamente com outros antipalúdicos. A quinina pode ainda ser utilizada no tratamento de caímbras nocturnas, como febrífugo em estados gripais, no diagnóstico da *miastenia gravis* e como agente amargo em certos alimentos como por exemplo na água tónica.

Devido à estreita margem terapêutica destes fármacos, além da vigilância médica exigida durante a sua administração, é igualmente importante o controle rigoroso da quantidade de quinidina e quinina nas formulações farmacêuticas.

A Farmacopéia Britânica (B.P.) [4] recomenda para o doseamento de sulfato de quinidina ou de quinina em comprimidos, uma volumetria em meio não aquoso. No entanto, para algumas das formas existentes no mercado essa metodologia é impraticável devido à existência de outras substâncias, especialmente fármacos de características alcalinas. Por sua vez a Farmacopéia Americana (U.S.P.) [5] descreve técnicas cromatográficas para o doseamento de gluconato de quinidina em injectáveis e de sulfato de quinidina ou de quinina em cápsulas e comprimidos. Contudo, apesar da exactidão e precisão asssociados a este tipo de metodologia, o facto de exigirem aparelhagem dispendiosa, de necessitarem de um tratamento prévio da amostra, de ser uma técnica bastante demorada e que utiliza reagentes bastante dispendiosos, torna-a desvantajosa relativamente a outras metodologias, nomeadamente a potenciometria. Além do mais, como as formulações farmacêuticas comercializadas são distintas das indicadas nas referidas monografias, é necessário adaptar essas técnicas, pelo que muitas vezes é ainda necessário recorrer a uma extracção prévia.

Como alternativa aos métodos oficiais, têm vindo a ser desenvolvidas várias metodologias (ver 1.3. no Cap. 1), entre as quais a potenciometria, para o doseamento de quinidina e quinina em medicamentos.

A primeira referência a um eléctrodo sensível a quinina data de 1976 [6] e descreve um eléctrodo de fio de platina recoberto por uma membrana plástica constituída por tetrafenilborato de potássio, como extractor, dissolvido em

dibutilftalato e imobilizado em PVC. O eléctrodo além de responder à quinina, apresentava também resposta à cinchonina, brucina e codeína e foi utilizado em titulações potenciométricas desses e outros alcalóides.

Posteriormente em 1985 surgiram referências a eléctrodos sensíveis a quinidina [7] e quinina [8, 9], os quais utilizavam igualmente o tetrafenilborato como extractor iónico. Duas dessas unidades referidas utilizavam membrana de PVC, solução de referência interna [7, 8] e eram preparados com tetrafenilborato de quinina [8] ou quinidina [7], dissolvido em, respectivamente, dibutilftalato [8] ou 2-nitrofeniloctiléter [7]. Ambos eléctrodos apresentavam boas características de funcionamento sendo por isso aplicados em titulações de quinina em soluções puras utilizando o tetrafenilborato como titulante [8] ou no doseamento de quinidina em formulações farmacêuticas pelo método da adição da quantidade conhecida e por titulações potenciométricas usando o tetrafenilborato de sódio como titulante [7].

A preparação de eléctrodos sensíveis a quinina [9], baseados em tetrafenilborato de quinina dissolvido em nitrobenzeno ou dibutilftalato, conforme se tratassem de eléctrodos de membrana líquida ou de PVC, respectivamente, serviu de base a um estudo sobre a influência do pH na zona de resposta linear de ambos os eléctrodos. Com os resultados obtidos, os seus autores estabeleceram uma relação entre os valores dos declives das curvas de calibração e o pH das diferentes soluções, o que permitiu concluir que as características de resposta de eléctrodos sensíveis a substâncias diprotonáveis como a quinina, dependiam apenas do pH das soluções onde eram utilizados e não do valor de pH a que o extractor iónico era sintetizado. Os mesmos autores estabeleceram ainda duas relações empíricas entre o valor do declive da curva de calibração e o valor da constante dieléctrica do solvente mediador, concluindo que para solventes com características químicas semelhantes, o declive aumenta com o aumento da constante dieléctrica. Foram estudados igualmente vários extractores iónicos para a quinina [9] como por

exemplo o dipicrilaminato, reineckato (diaminotetratiocianocromato), picrato, picrolonato e silicotungstato mas verificou-se que de todos eles o tetrafenilborato e o dipicrilaminato eram os que proporcionavam eléctrodos com intervalos mais amplos de resposta linear e maiores declives da curva de calibração. No entanto, apenas os eléctrodos preparados com tetrafenilborato foram aplicados na determinação de quinina em soluções puras por potenciometria directa e por titulação potenciométrica, tendo sido obtidos resultados médios de 100,2% e 99,3%, respectivamente.

Mais recentemente outros autores [10] comprovaram que o pH das soluções provoca uma variação reversível da composição do extractor iónico, tendo verificado que a resposta dos eléctrodos de quinidina controlada é por processos de difusão passiva dos diferentes estados de protonação da quinidina, da solução aquosa para a membrana sensora, logo apenas dependente do pH da solução onde os eléctrodos estão imersos.

Apesar de faltar uma avaliação sistemática dos eléctrodos anteriormente construídos [7-9] esses apresentavam características de funcionamento razoáveis, no entanto, pensa-se ser possível melhorá-las, sobretudo as que dizem respeito à zona de resposta linear e selectividade. A melhoria poderia ser favorecida pelo uso de extractores com características mais hidrofóbicas, nomeadamente derivados halogenados do tetrafenilborato e também pelo uso de solventes mediadores, como o 2-nitrofeniloctiléter, de elevadas constante dieléctrica (23,5 [11]), viscosidade (12,8 mN s m^{-2} [11]) e hidrofobicidade.

Como anteriormente foi referido (Cap. 3), também a eliminação da solução de referência interna constituia um processo de contribuir para o melhoramento das características dos eléctrodos, pelo que se decidiu preparar unidades deste tipo, utilizando na preparação das suas membranas, o tetraquis(4-clorofenil)borato de quinidina, como extractor iónico e o 2-nitrofeniloctiléter como solvente mediador.

Após uma avaliação sistemática das características de funcionamento dos

eléctrodos, a sua utilidade analítica será posteriormente testada efectuando o doseamento de quinidina e quinina em formulações farmacêuticas quer por potenciometria directa quer por titulação potenciométrica.

4.2. - Parte experimental

4.2.1. - Aparelhagem e eléctrodos

Para as determinações de potencial efectuadas com os eléctrodos de quinidina construídos, utilizou-se a aparelhagem referida em 2.1., no Cap. 2. Em todas as determinações utilizou-se um eléctrodo de referência, de dupla junção, com sulfato de sódio 0,033 M no compartimento exterior.

Para as titulações potenciométricas usou-se o sistema descrito no Cap. 2 (ver 2.1.).

4.2.2. - Reagentes e soluções

As soluções de quinidina com concentração igual a 10^{-2} M (o limite de solubilidade do sulfato de quinidina é de 0,025 M [12]), usadas na avaliação dos eléctrodos, foram preparadas pesando-se rigorosamente sulfato de quinidina (Merck, ref. 2285) e diluindo-se a um volume rigoroso com água desionizada ou com uma solução ajustadora da força iónica. Sempre que necessário, procedia-se à diluição desta solução mais concentrada. Todas as soluções de quinidina eram preparadas diariamente.

Como ajustador de força iónica utilizou-se uma solução de sulfato de sódio.

Nas determinações de quinidina por potenciometria directa, as amostras foram diluídas com uma solução simultâneamente ajustadora de pH e de força iónica, constituida por dihidrogenofosfato de potássio e hidrogenofosfato de sódio (KH_2PO_4/Na_2HPO_4) (pH = 6,3 e I = 0,1 M). Esta solução tampão foi preparada pela adição de 98,00 mL de uma solução 0,5 M de KH_2PO_4, a 34,00 mL de outra

solução de Na_2HPO_4 com igual concentração, completando-se posteriormente o volume de 1000,0 mL com água desionizada.

As titulações potenciométricas, foram efectuadas utilizando-se uma solução tampão de dihidrogenofosfato de sódio e hidrogenofosfato de sódio (NaH_2PO_4/Na_2HPO_4) (pH = 6,3 e I = 0,1 M). Esta solução foi preparada seguindo um procedimento semelhante ao anteriormente descrito para o tampão de KH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M), substituindo-se apenas a solução de KH_2PO_4 0,5 M por igual volume de NaH_2PO_4 com a mesma concentração, uma vez que o tetrafenilborato precipita com o catião potássio.

A escolha destas soluções tampão foi feita com base nos diagramas do efeito do pH no potencial dos eléctrodos (ver 4.3.3.) e nos coeficientes de selectividade potenciométricos encontrados para os catiões sódio e potássio (ver Tabela 4.3.4.1.).

Nas titulações potenciométricas, foi utilizado como titulante, uma solução de tetrafenilborato de sódio com a concentração de 10^{-2} M, preparada pela dissolução do pó rigorosamente pesado, num volume igualmente rigoroso da solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M). Esta solução foi titulada com uma solução padrão de nitrato de tálio, conforme anteriormente descrito [13, 14]. A solução padrão de nitrato de tálio, foi preparada após pesagem rigorosa do sólido (Aldrich, ref. 20.460-9, com uma pureza de 99,999%), pela sua diluição num volume rigorosamente conhecido da mesma solução tampão.

4.2.3. - Preparação dos sistemas sensores e membranas

O extractor iónico utilizado na preparação das membranas, o tetraquis(4-clorofenil)borato de quinidina, foi obtido de acordo com o descrito no Cap. 2 (ver 2.5.2.), através de uma reacção de precipitação, entre aproximadamente 50,0 mL de uma solução aquosa de quinidina a 0,014 M e 5,0 mL de uma solução de tetraquis(4-clorofenil)borato de potássio à concentração de 0,1 M, preparada em acetona. De seguida procedeu-se à filtração, lavagem abundante com água e secagem dos cristais obtidos (ver 2.5.2., Cap. 2). As misturas sensoras resultaram da dissolução de cerca de 0,06 g dos cristais, em 1,24 g de 2-nitrofeniloctiléter.

As membranas dos eléctrodos eram preparadas, misturando-se 0,40 mL de solução sensora com 0,18 g de PVC prèviamente dissolvido em cerca de 6 mL de tetrahidrofurano (ver 2.5.2., Cap. 2).

As membranas, cuja composição se indica na Tabela 4.2.3.1., foram utilizadas na preparação dos eléctrodos seguindo o processo indicado em 2.5.2., no Cap. 2.

Pelo menos 24 horas antes da sua utilização os eléctrodos, depois da membrana seca, foram colocados numa solução de quinidina com concentração de 10^{-2} M e mantidos nela sempre que não estavam a ser utilizados. O objectivo deste condicionamento era o de promover a hidratação das membranas e a estabilização do sistema interno de referência.

Tabela 4.2.3.1. - Composição relativa (percentagem em massa) dos diferentes constituintes da membrana dos eléctrodos de quinidina.

Constituintes	Sensor	Membrana
Tetraquis(4-clorofenil)borato de quinidina	4,6 %	3,2 %
2-nitrofeniloctiléter	95,4 %	65,8 %
Cloreto de polivinilo	--	31,0 %

4.2.4. - Preparação das amostras de formulações farmacêuticas para os doseamentos potenciométricos

Para a determinação de quinidina e quinina em comprimidos, bálsamos e supositórios, dissolveu-se uma quantidade rigorosa de produto, exactamente pesada, correspondente a cerca de 40 mg de sulfato de quinidina, em tampão KH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3) até um volume final de 50,00 mL.

As amostras de bálsamos e supositórios diluídas, foram colocadas em banho de ultra sons a cerca de 37°C (ver 2.9.1., Cap. 2), para facilitar a homogeneização do produto e dissolução do alcalóide no tampão.

Finalmente, as amostras cuja preparação se indicou acima (10,00 mL), foram diluídas com tampão KH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3) até um volume final de 25,00 mL, tendo sido efectuado o doseamento por potenciometria directa (ver 2.9.2., Cap. 2) sobre tomas cujo volume era igual a 20,00 mL.

Para avaliar a precisão dos resultados obtidos nas determinações por potenciometria directa, foi utilizado o método da adição da quantidade conhecida, adicionando-se à toma inicial da amostra diluída, duas fracções de 500 µL de uma solução padrão de quinidina a 10^{-2} M, preparada no referido tampão.

A exactidão foi determinada através dos ensaios de recuperação, efectuados de acordo com o indicado em 2.9.3., no Cap. 2.

Para as titulações potenciométricas, as amostras foram preparadas a partir do mesmo lote de produto e seguindo um procedimento semelhante ao usado anteriormente. Pelas razões indicadas apenas se substituiu a solução tampão de KH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3) por outra de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3).

As titulações foram efectuadas, colocando nos vasos de titulação um volume de 20,00 mL das amostras preparadas anteriormente. Neste caso a qualidade dos resultados foi determinada pelo cálculo dos correspondentes valores de recuperação das amostras.

4.3. - Resultados e sua discussão

4.3.1. - Parâmetros das curvas de calibração

O estudo das características dos eléctrodos foi efectuado através da realização de calibrações, no intervalo de concentrações entre aproximadamente 8×10^{-7} e 10^{-2} M em quinidina, em soluções sem ajuste de força iónica, com a força iónica ajustada com sulfato de sódio 0,033 M e com ajuste simultâneo do pH e força iónica com uma solução tampão de KH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M) ou de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M). São apresentadas na Fig. 4.3.1.1. as curvas de calibração típicas obtidas nas condições de ensaio referidas e na Tabela 4.3.1.1. os correspondentes valores médios dos parâmetros de calibração obtidos.

Os eléctrodos construídos apresentavam uma resposta linear até 10^{-2} M, detectando-se que os valores do limite inferior de resposta linear (L.I.R.L.) e do limite prático de detecção (L.P.D.) eram práticamente independentes das condições de ensaio.

O declive das curvas de calibração é, contudo, fortemente influenciado pelas condições de ensaio, nomeadamente pelo pH das soluções, de acordo com o encontrado por outros autores para unidades sensíveis a quinina [9] ou quinidina [10].

Quando os ensaios eram executados sem a força iónica ajustada, verificava-se que o pH variava entre 5 e 6,4 unidades, o que justificava o baixo valor do declive das curvas de calibração encontrado, pois a valores de pH próximos de 5 a quinidina mono e diprotonada coexistem, sendo a resposta do eléctrodo uma resposta mista a ambos catiões [9, 10]. No entanto, quando a força iónica era ajustada com sulfato de sódio, observava-se uma menor variação do pH

das soluções (de 5,8 a 6,4 unidades de pH), pelo que o valor do declive da curva de calibração era semelhante ao observado quando os ensaios eram efectuados com o pH e a força iónica simultâneamente ajustados.

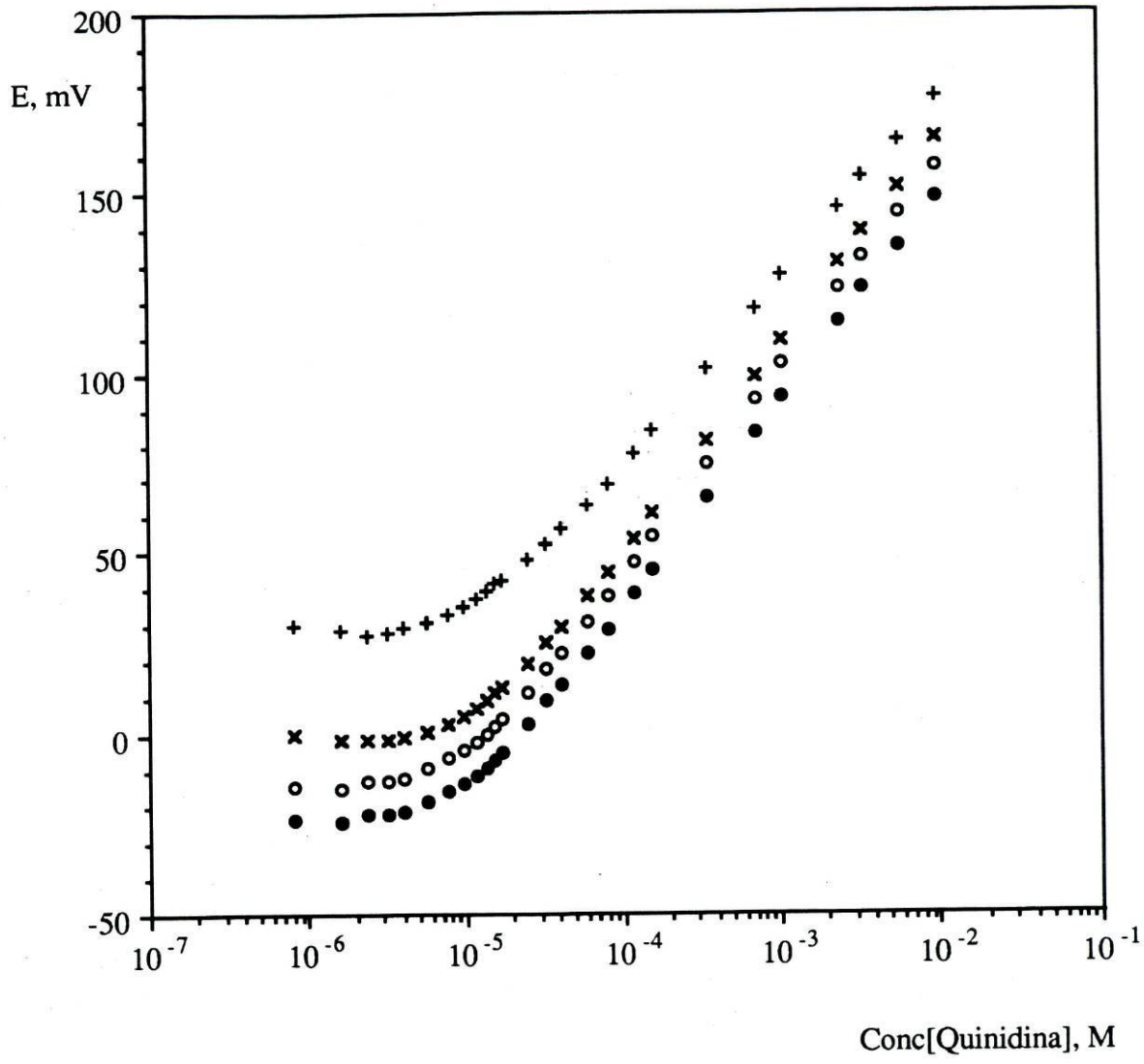
A reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos ao longo de um dia de trabalho foi avaliada pelo traçado de rectas de calibração, uma no princípio e outra no final do dia, em soluções de sulfato de quinidina sem ou com a força iónica ajustada com sulfato de sódio ou na solução tampão indicada.

Verificou-se que a reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos melhorava quando estes eram colocados numa solução de quinidina com a concentração de 10^{-2} M com agitação, durante cerca de 5 minutos. Por isso antes da execução de qualquer ensaio os eléctrodos eram inicialmente colocados a condicionar nas condições referidas.

Também neste caso, se registava, durante a primeira semana após a construção dos eléctrodos, uma certa instabilidade dos valores de potencial, bem como uma redução da zona de resposta linear, decorrentes da estabilização do sistema de referência interna dos eléctrodos.

No período de tempo em que decorreu a avaliação e aplicação dos eléctrodos (cerca de 4 meses), não se observaram alterações das suas características gerais de funcionamento, pelo que a sua durabilidade poderá ser considerada superior a 4 meses.

Devido à falta de uniformidade de critérios de avaliação, é dificil fazer-se uma comparação com os dados apresentados na literatura para unidades sensíveis a quinidina ou quinina [7-9] (Tabela 4.3.1.2.). Apesar disso, verificou-se que os eléctrodos preparados apresentavam características que se coadunavam com a sua aplicação prática.



Figuras 4.3.1.1. - Curvas de calibração típicas para eléctrodos de quinidina, obtidas em soluções: (+) sem a força iónica ajustada; (×) com ajuste de força iónica a 0,1 M com sulfato de sódio; (o) em solução tampão de KH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M); e (•) em solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M).

Tabela 4.3.1.1. - Parâmetros de calibração para os eléctrodos sensíveis a quinidina (QUI).

Características [a]	I [b]	II [c]	III [d]	IV [e]
Declive (mV/log[QUI])	52,3±1,2	57,5±0,4	57,6±0,4	57,6±0,4
L.I.R.L. (M)	$3,1\times10^{-5}$ ($\pm1,2\times10^{-5}$)	$3,2\times10^{-5}$ ($\pm0,9\times10^{-5}$)	$3,0\times10^{-5}$ ($\pm0,9\times10^{-5}$)	$2,9\times10^{-5}$ ($\pm0,9\times10^{-5}$)
L.P.D. (M)	$1,3\times10^{-5}$ ($\pm0,5\times10^{-5}$)	$1,3\times10^{-5}$ ($\pm0,3\times10^{-5}$)	$9,4\times10^{-6}$ ($\pm0,3\times10^{-6}$)	$9,3\times10^{-6}$ ($\pm0,3\times10^{-6}$)
Patamar Operacional de pH [f]	5,0 - 7,5	5,0 - 7,5	--	--
Tempo de resposta (s)	<6	<6	<6	--
Reprodutibilidade (mV/dia) [g]	±1,5	±1,0	±0,9	±1,0
Durabilidade (meses) [h]	>4	>4	>4	>4

[a] Valores médios e respectivos desvios padrão, correspondentes a pelo menos duas determinações efectuadas com três eléctrodos (6 determinações); [b] Ensaios efectuados em soluções sem ajuste de força iónica; [c] Ensaios efectuados em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M com sulfato de sódio; [d] Ensaios efectuados com ajuste simultâneo de pH e força iónica com KH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M); [e] Ensaios efectuados com ajuste simultâneo de pH e força iónica com NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M); [f] Patamar operacional dos eléctrodos, obtido em soluções de quinidina com a concentração de 10^{-2} M; [g] Valores da reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos, correspondentes a duas determinações ao longo do dia; [h] Tempo durante o qual os eléctrodos foram ensaiados.

Tabela 4.3.1.2. - Comparação das características de resposta dos eléctrodos construídos com outros referidos na literatura [7-9].

Referência	Declive (mV/log[QUI])	Z.R.L. (M) [a]	Patamar de pH	Tempo de resposta (s)	Reprodutibilidade (mV/dia)
II [b]	57,5	10^{-2}-3,2×10^{-5}	5,0-7,5	<6	±1,0
[7] [c]	58	10^{-2}-3,5×10^{-5}	6-8	30	±1,0
[8] [d]	56,7	10^{-1}-5×10^{-5}	5,3-7,3	<10	-
[9] [e]	56,6	6,3×10^{-2}-10^{-5}	-	-	-
[9] [f]	54,5	6,3×10^{-2}-10^{-5}	-	-	-
[9] [g]	56,0	6,3×10^{-2}-10^{-5}	-	-	-
[9] [h]	54,0	6,3×10^{-3}-10^{-5}	-	-	-
[9] [i]	54,0	6,3×10^{-2}-10^{-4}	-	-	-
[9] [j]	54,0	6×10^{-5}-4×10^{-5}	-	-	-
[9] [l]	53,3	6×10^{-2}-3×10^{-5}	-	-	-
[9] [m]	54,3	6×10^{-2}-4×10^{-5}	-	-	-
[9] [n]	55,0	6×10^{-2}-3×10^{-5}	-	-	-

[a] Zona de resposta linear dos eléctrodos; [b] Resultados obtidos com a força iónica ajustada com sulfato de sódio; [c] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em tetrafenilborato de quinidina em 2-nitrofeniloctiléter, ensaios executados a pH=7; [d] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em tetrafenilborato de quinina em dibutilftalato; [e] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em tetrafenilborato de quinina em dibutilftalato, ensaios executados em soluções aquosas a pH=6,2-6,4; [f] Eléctrodos de membrana líquida preparados com tetrafenilborato de quinina em nitrobenzeno, ensaios executados em soluções aquosas a pH=6,2-6,4; [g] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em dipicrilaminato de quinina em dibutilftalato; [h] Eléctrodos de membrana líquida preparados com dipicrilaminato de quinina em nitrobenzeno; [i] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em picrolonato de quinina em dibutilftalato; [j] Eléctrodos de membrana líquida preparados com picrolonato de quinina em nitrobenzeno; [l] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em picrato de quinina em dibutilftalato; [m] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em silicotungstato de quinina em dibutilftalato; [n] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em reineckato de quinina em dibutilftalato.

4.3.2. - Tempo de resposta dos eléctrodos

Para a avaliação do tempo prático de resposta dos eléctrodos, procedeu-se ao registo das variações de potencial (ver 2.7.2., Cap. 2) resultantes de alterações da concentração de quinidina (em duplicado aproximadamente) na solução onde os eléctrodos estavam inseridos. O estudo foi realizado numa gama de concentrações compreendidas entre 8×10^{-5} e 3×10^{-3} M, em soluções sem a força iónica ajustada, com a força iónica ajustada e com o pH e força iónica simultaneamente fixados, apresentando-se na Fig. 4.3.2.1. o diagrama obtido para a avaliação deste parâmetro.

Na zona de resposta linear, as unidades adquiriram um potencial estável (±0,2 mV) em menos de 6 segundos, estando incluído nesse período, o tempo necessário à homogeneização da solução.

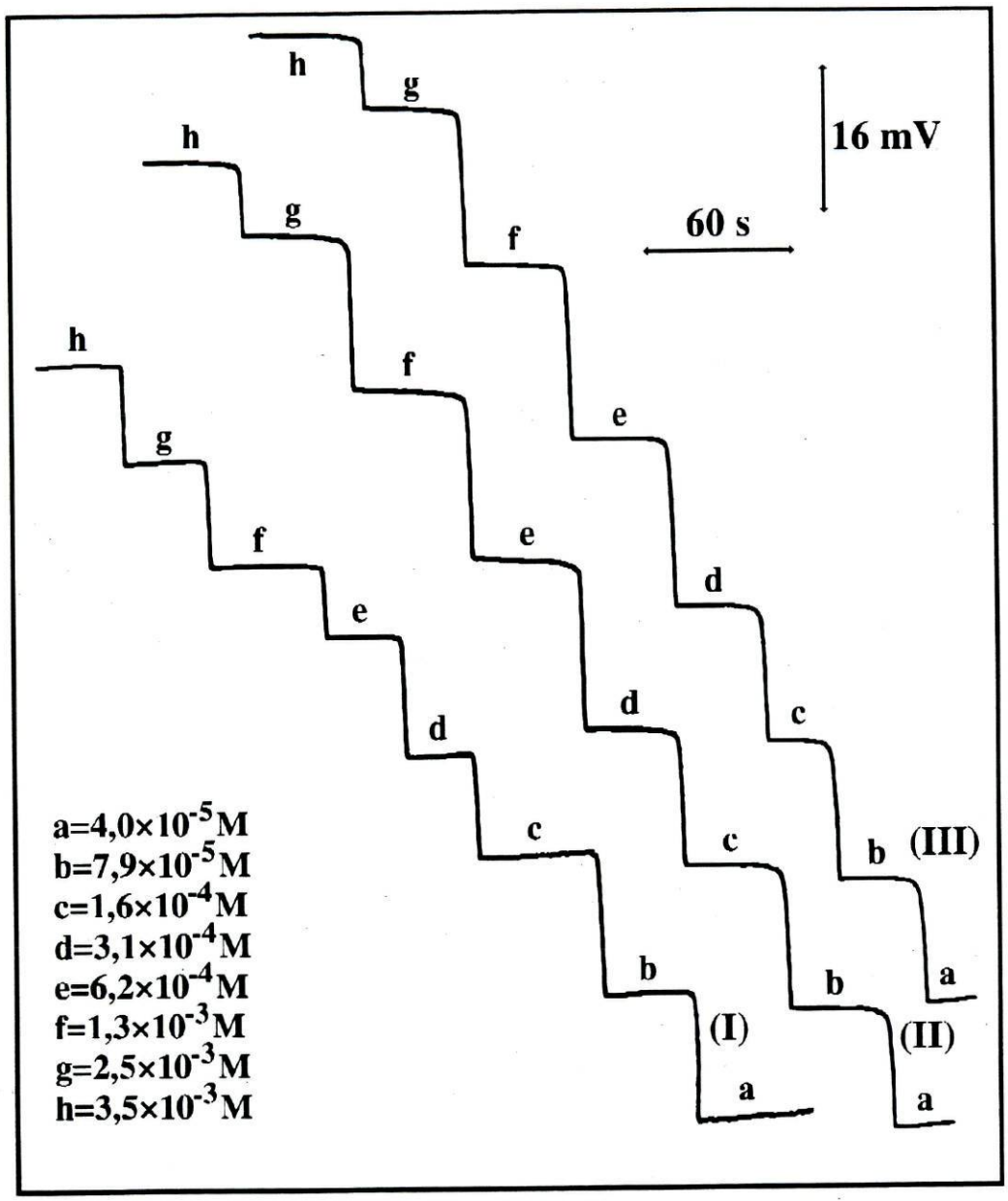


Figura 4.3.2.1. - Tempos de resposta para eléctrodos sensíveis a quinidina, obtidos em soluções sem (I) e com a força iónica ajustada com sulfato de sódio (II) e com o pH e força iónica simultaneamente ajustados com o tampão de KH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M) (III).

4.3.3. - Efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos

A avaliação do efeito do pH nos valores de potencial dos eléctrodos, foi efectuada (ver 2.7.3. no Cap. 2), em soluções de quinidina com concentração de 10^{-2} M sem e com a força iónica ajustada com Na_2SO_4 0,033 M (Fig. 4.3.3.1.).

Para se proceder à alteração do pH da solução inicial adicionaram-se pequenos volumes de soluções concentradas de ácido sulfúrico e de hidróxido de sódio. A escolha destas soluções deveu-se aos baixos valores de coeficientes de selectividade potenciométricos determinados para os eléctrodos em relação ao catião sódio (ver 4.3.4.).

Os resultados obtidos demonstraram que o potencial das unidades se mantinha sem alterações significativas no intervalo de pH entre aproximadamente 5,0 e 7,5 unidades. Para valores de pH acima de 7,5 unidades, ocorre uma diminuição de potencial devido ao aumento da concentração da fracção não ionizada de quinidina ($pK_{a_1} = 8,8$ [12]). Para valores de pH inferiores a 5,0 unidades, aumenta a concentração da quinidina diprotonada ($pK_{a_2} = 4,2$ [12]) o que justifica a diminuição de potencial observada.

Os valores determinados eram semelhantes aos obtidos por outros autores [7, 8] que usavam como extractor iónico o tetrafenilborato.

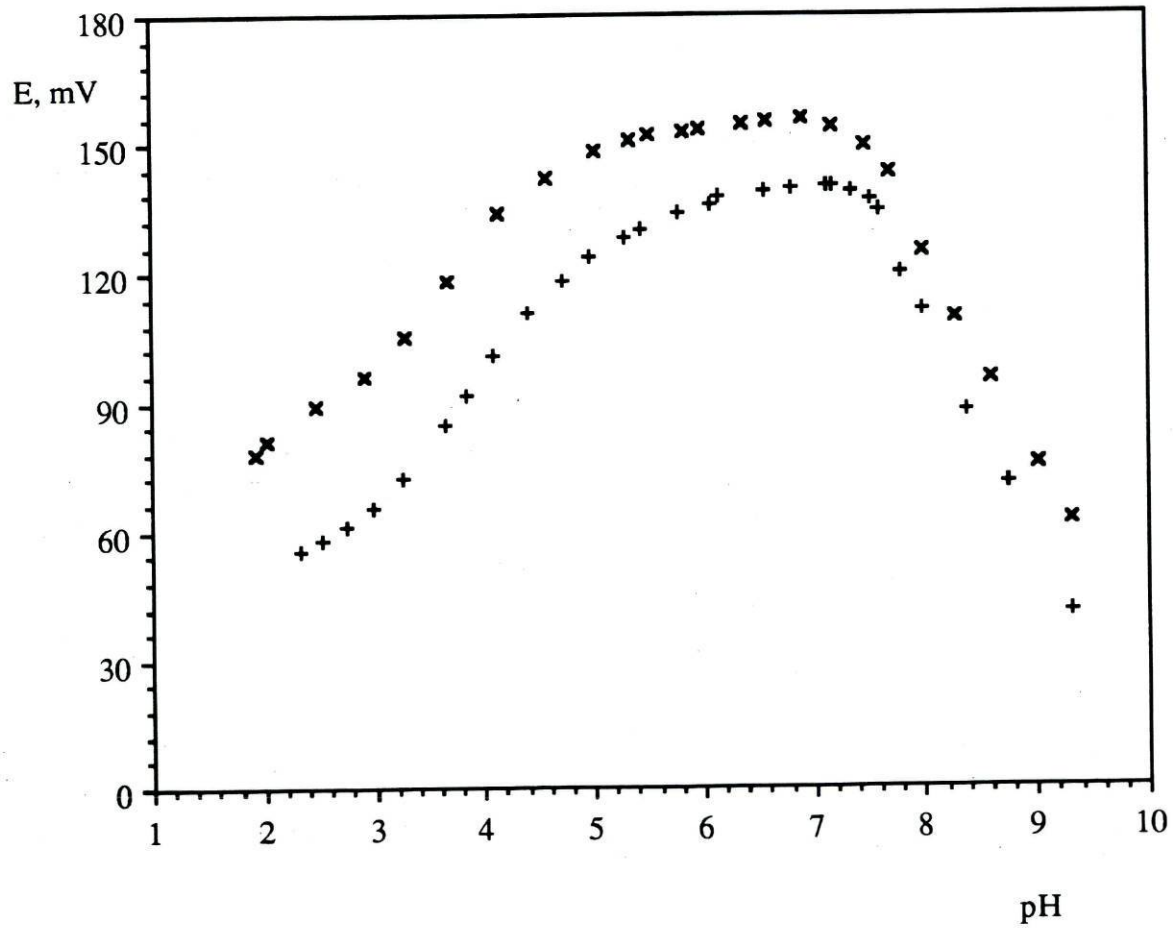


Figura 4.3.3.1. - Diagrama do efeito do pH no potencial dos eléctrodos de quinidina, em soluções com concentração de 10^{-2} M em quinidina sem a força iónica ajustada (+) e com a força iónica ajustada com sulfato de sódio (×).

4.3.4. - Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos

A avaliação da extensão da interferência de vários catiões inorgânicos comuns, bem como de alguns orgânicos, nomeadamente alguns alcalóides (efedrina, atropina, pilocarpina, estricnina e quinina), no eléctrodo de quinidina, foi efectuada pela determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ($K^{pot}_{A,B}$), usando o método das soluções separadas (ver 2.7.4., Cap. 2). Para tal foram traçadas curvas de calibração em soluções puras do ião principal e do ião interferente, ambas no intervalo de concentração entre 2×10^{-5} e 10^{-3} M, tendo os respectivos coeficientes de selectividade potenciométricos sido calculados a três níveis de concentração (ver 2.7.4., Cap. 2). Na Tabela 4.3.4.1. apresentam-se os resultados médios e respectivos desvios padrão correspondentes a duas determinações efectuadas com dois eléctrodos cada.

Os resultados apresentados na Tabela 4.3.4.1., indicam que nenhuma das espécies testadas interfere na resposta dos eléctrodos, com excepção do sal de amónio quaternário, o que é compreensível pela grande afinidade que este último tem para com o tetrafenilborato. Este aspecto não invalida a aplicação dos eléctrodos já que não é provável encontrar medicamentos com quinidina que associem qualquer uma das espécies interferentes.

Os baixos coeficientes de selectividade potenciométricos encontrados para o catião sódio, justificam a escolha de uma solução de sulfato de sódio como ajustador de força iónica e como solução externa do eléctrodo de referência.

Face aos coeficientes de selectividade potenciométricos obtidos para a quinina, pode-se afirmar que os eléctrodos não distinguem os dois estereoisómeros, pelo que poderão ser utilizados indistintamente para determinar qualquer um dos alcalóides.

Também aqui a falta de uniformidade de critérios torna dificil efectuar uma comparação dos resultados obtidos com os descritos por outros autores [7-9]

(Tabela 4.3.4.2.), uma vez que os valores indicados correspondem a outros métodos de determinação e/ou concentrações de interferentes diferentes.

Tabela 4.3.4.1. - Coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$) para os eléctrodos de quinidina [a)].

Interferentes	Concentração (M)		
	1×10^{-4}	5×10^{-4}	1×10^{-3}
Cálcio	-3,2±0,1	-3,6±0,1	-3,7±0,1
Sódio	-1,2±0,2	-1,9±0,2	-2,3±0,2
Amónio	-1,1±0,1	-1,9±0,1	-2,2±0,1
Potássio	-1,3±0,1	-2,0±0,2	-2,4±0,2
Efedrina	-1,0±0,1	-1,5±0,1	-1,8±0,2
Atropina	-0,8±0,1	-1,1±0,1	-1,3±0,1
Pilocarpina	-0,9±0,1	-1,4±0,1	-1,6±0,1
Estricnina	-0,2±0,1	-0,4±0,1	-0,4±0,1
Quinina	-0,1±0,1	-0,1±0,1	-0,1±0,1
Tetrapentilamónio	+0,5±0,5	+5,2±0,7	+6,0±0,1

[a)] Média e desvio padrão de quatro valores obtidos em duas determinações com dois eléctrodos cada.

Tabela 4.3.4.2. - Comparação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$), para eléctrodos sensíveis a quinidina ou quinina, referidos na literatura [7-9].

Referência		[7] a)	[8] b)	[9] c)	[9] d)
Método	Sol. separ.	Sol. separ.	I. fix	Sol. separ.	Sol. separ.
Concentração (M)	10^{-3} M	5×10^{-4} M	10^{-1} M	10^{-2} M	10^{-2} M
Cálcio	-3,7	-3,3	-4,0	-4,7	-4,5
Sódio	-2,3	n.r.	-4,0	-3,7	-3,5
Amónio	-2,2	n.r.	-4,0	-3,8	-3,6
Potássio	-2,4	-1,9	-4,0	-3,7	-3,3
Atropina	-1,3	n.r.	n.r.	-1,5 e)	-0,6 e)
Pilocarpina	-1,6	n.r.	-1,1 e)	n.r.	n.r.
Estricnina	-0,4	-0,4	-0,7 e)	n.r.	n.r.
Quinina	-0,1	-0,1	--	--	--
Quinidina	--	--	0,1 f)	n.r.	n.r.

Sol. separ. - Método das soluções separadas; I. fix. - Método da interferência fixada; n.r. - não refere; a) Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em tetrafenilborato de quinidina em 2-nitrofeniloctiléter; b) Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em tetrafenilborato de quinina em dibutilftalato; c) Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em tetrafenilborato de quinina em dibutilftalato; d) Eléctrodos de membrana líquida preparados com tetrafenilborato de quinina em nitrobenzeno; e) Resultados relativos à concentracção de 10^{-3} M; f) Resultados relativos à concentracção de 2×10^{-3} M.

4.3.5. - Doseamento da quinidina e quinina em formulações farmacêuticas

Os eléctrodos construídos foram aplicados ao doseamento de quinidina e quinina em diferentes formulações farmacêuticas, utilizando a potenciometria directa e a titulação potenciométrica, de acordo com o descrito em 2.9.2. (Cap. 2).

Apresentam-se na Tabela 4.3.5.1. os resultados médios e os correspondentes desvios padrão obtidos quer por potenciometria directa quer por titulação potenciométrica. Para as duas técnicas utilizadas, incluem-se igualmente os valores de recuperação das amostras (Recup.), calculados pelo procedimento anteriormente indicado (ver 2.9.3., Cap. 2).

Com o objectivo de avaliar a precisão das determinações por potenciometria directa efectuaram-se ensaios de adição da quantidade conhecida, indicando-se na Tabela 4.3.5.1. os correspondentes valores médios e respectivos desvios padrão.

Os valores indicados mostram uma semelhança entre os resultados obtidos pelos dois tipos de metodologias, que foi confirmada através do teste *t* de Student, que para um nível de confiança de 95,0% mostrou não existirem diferenças sob o ponto de vista estatístico (*t* calculado entre a titulação potenciométrica e a potenciometria directa, $t = 0{,}339$, para um valor tabelado de $t_{0{,}025,\,4} = 3{,}182$). Contudo, os valores encontrados por potenciometria directa para duas das formulações testadas (Transpulmina bálsamo e Recto-Bronco-Tosse), não foram considerados para essa comparação uma vez que os correspondentes valores de recuperação obtidos demonstraram tratar-se de resultados muito maus. Tal facto deve-se, provàvelmente, à presença de substâncias interferentes que nesses fármacos se encontram em quantidades relativamente mais elevadas que noutros medicamentos analizados.

Pelos resultados indicados na Tabela 4.3.5.1. poder-se-á afirmar que a potenciometria directa com os eléctrodos de quinidina é um método exacto e preciso. A confirmá-lo estão os baixos coeficientes de variação (C. V.) encontrados

(nunca superior a 8%) e os valores de recuperação médios iguais a 100,7%. Contudo, como alternativa, sugere-se também a titulação potenciométrica para o doseamento desses alcalóides, já que os resultados indicados confirmam tratar-se de uma metodologia igualmente exacta e precisa, que para além disso permitiu o doseamento das formulações cujos resultados por potenciometria directa não eram exactos.

Apesar de mais sujeita a interferentes a potenciometria directa é mais rápida que a titulação potenciométrica, permitindo no espaço de tempo necessário a efectuar uma titulação (cerca de 30 minutos) traçar uma curva de calibração e dosear pelo menos quinze amostras.

Tabela 4.3.5.1. - Valores obtidos (expressos em percentagem em peso) no doseamento, por potenciometria directa (Pot. directa) e por titulação potenciométrica, de quinidina e quinina em formas farmacêuticas usando os eléctrodos de quinidina construídos.

Preparação [a]	Pot. directa [b] (% m/m)	C. V. (%)	Método de adição [b] (% m/m)	Recup. [b] (% m/m)	Titulação [c] (% m/m)	Recup. [c] (% m/m)
Natisedine (comprimidos)	25,4±1,3	5,1	26,7±0,8	103,2±3,6	26,8±1,0	100,7±2,2
Quinicardine (comprimidos)	59,8±0,4	0,7	64,1±0,6	97,8±2,1	65,1±1,3	99,6±2,1
Recto-Bronco-Tosse (supositórios)	1,7±0,1	7,3	1,3±0,2	164,9±5,1	1,1±0,1	101,2±2,7
Recto-Pulmo (supositórios)	2,1±0,1	4,8	2,2±0,1	101,8±3,7	2,4±0,1	98,4±2,2
Transpulmina (supositórios)	5,1±0,1	2,0	4,9±0,2	100,0±1,8	4,2±0,3	100,1±3,7
Transpulmina (bálsamo)	5,3±0,3	4,7	2,8±0,5	180,8±9,9	4,6±0,5	97,1±8,0

[a] Nomes comerciais de formulações disponíveis no mercado português; [b] Média e desvios padrão de quatro determinações com três eléctrodos cada; [c] Médias e respectivos desvios padrão de pelo menos quatro determinações com dois eléctrodos cada.

4.4. - Conclusões

Dos resultados aqui apresentados poder-se-á concluir que o uso de um extractor iónico de características hidrofóbicas como o tetraquis(4-clorofenil)-borato de quinidina, aliado à utilização de um solvente mediador com elevada constante dieléctrica e viscosidade, como o 2-nitrofeniloctiléter, permite a obtenção de unidades com boas características de resposta nomeadamente no que se refere à zona de resposta linear, selectividade e estabilidade. Por outro lado a eliminação da solução de referência interna contribuiu bastante para o elevado tempo de vida e reprodutibilidade das unidades.

Relativamente ao anteriormente descrito [7-9], a falta de uma uniformidade de critérios de avaliação dificultou a comparação dos resultados.

Contudo face às boas características dos eléctrodos construídos, foi possível a sua aplicação na determinação de quinidina e quinina em formulações farmacêuticas. Desta forma, utilizaram-se os eléctrodos no doseamento de medicamentos por potenciometria directa e por titulação potenciométrica. Ambos os métodos permitiram a obtenção de resultados exactos e precisos, sendo que a potenciometria directa apresenta-se mais rápida, enquanto que a titulação permitiu o doseamento de formulações, cujos resultados por potenciometria directa não eram exactos.

No entanto, apesar da potenciometria directa ser mais sujeita a interferências e menos exacta que a titulação potenciométrica, ambas apresentam-se vantajosas relativamente às metodologias oficiais, pois além da exactidão e precisão que as caracterizam, podem ser aplicadas a diferentes formulações farmacêuticas e são simples e fácilmente automatizáveis, particularmente as titulações potenciométricas, que foram efectuadas com o auxílio de um microprocessador.

4.5. - Referências bibliográficas

[1] - *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16ª edição, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania (1980)

[2] - A. G. Gilman, L. S. Goodman e A. Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 6ª edição, MacMillan Publishing Company, Inc., Nova York (1980)

[3] - J. Garrett e W. Osswald, *Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas*, 2ª edição, Porto Editora, Lda., Porto (1986)

[4] - *British Pharmacopoeia 1988*, HM Stationery Office, London (1988)

[5] - *U. S. Pharmacopeia, National Formulary 1990*, U. S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville (1990)

[6] - E. Hopirtean e E. Stefaniga, *Rev. Roumaine Chim.*, **21**, 305 (1976)

[7] - V. V. Cosofret e R. P. Buck, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **3**, 123 (1985)

[8] - J.-I. Anzai, C. Isomura e T. Osa, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 236 (1985)

[9] - S.-Z. Yao e J.-H. Liu, *Huaxue Xuebao*, **43**, 611 (1985)

[10] - M. Wan-Li, *Talanta*, **38**, 1291 (1991)

[11] - A. M. Y. Jaber, G. J. Moody e J. D. R. Thomas, *Analyst*, **101**, 179 (1976)

[12] - *The Merck Index*, 11ª edição, Merck, Rahway, New York (1989)

[13] - K. Vytras, *Int. Lab.*, **9**, 35 (1979); *Amer. Lab.*, **11**, 93 (1979)

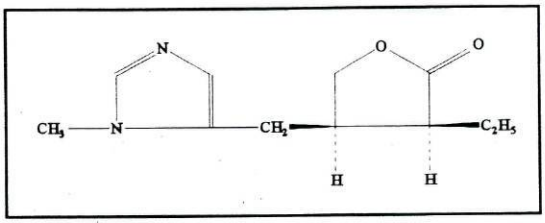
[14] - K. Vytras, V. Riha e S. Kotrly, *Sb. Ved. Pr., Vys. Sk. Chemickotechnol., Pardubice*, **35**, 41 (1976)

CAPÍTULO 5

ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A PILOCARPINA

5. - ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A PILOCARPINA

5.1. - Introdução



A pilocarpina é um alcalóide com um núcleo imidazólico e outro lactónico obtido a partir de várias espécies do género *Pilocarpus* da família Rutaceae. Apesar de ser diprotonável (pK_{a_1} = 6,9 e pK_{a_2} = 1,3 [1]) comporta-se pràticamente como uma substância monoprotonável uma vez que a segunda protonação só ocorre a valores de pH muito baixos.

A pilocarpina foi isolada pela primeira vez em 1875 [2], mas a sua estrutura química só foi descrita em 1900 e a sua síntese total ocorreu em 1933 [3].

Devido à sua acção parassimpáticomimética, actua a diversos níveis, nomeadamente a nível circulatório, digestivo, urinário, respiratório e oftálmico. No entanto, a sua aplicação restringe-se ao nível oftálmico, provocando uma miose e redução da pressão intra-ocular, sendo por isso muito útil como agente tópico no tratamento do glaucoma [2, 4]. A sobredosagem da pilocarpina pode provocar graves perturbações ao nível do sistema nervoso parassimpático, semelhantes às provocadas por cogumelos do género *Inocybe* e resultantes de uma indesejável absorção sistémica. Devido a este facto torna-se importante o seu controlo analítico em formas farmacêuticas que a utilizem.

Para o doseamento de pilocarpina em soluções oftálmicas, a Farmacopéia Britânica [5] recomenda ou uma volumetria com tetrafenilborato de sódio em meio não aquoso na presença de um indicador ou uma titulação de um excesso de tetrafenilborato com cloreto de cetilpiridina, enquanto que a Farmacopéia

Americana [6] descreve uma cromatografia líquida com detecção espectrofotométrica. Embora esta última, especialmente, seja considerada uma técnica precisa, são ambas muito demoradas e não estão descritas para as pomadas oftálmicas, sendo necessário neste caso proceder ainda a uma extracção prévia.

Numa tentativa de melhorar a qualidade das análises, fazendo-as em tempo útil e sem sujeitar as amostras a complicadas preparações, várias técnicas têm vindo a ser desenvolvidas (ver 1.3. no Cap. 1), entre elas a potenciometria. Como foi afirmado anteriormente [7, 8], esta apresenta vantagens, nomeadamente económicas, tornando-a numa técnica de uso vulgarizado em várias áreas inclusivé na farmacêutica.

No entanto apesar das reconhecidas vantagens da potenciometria, nada tem sido apresentado na literatura sobre a determinação analítica de pilocarpina em formulações farmacêuticas. Os únicos eléctrodos descritos [9] apenas foram utilizados no doseamento de soluções puras. Tais eléctrodos foram preparados utilizando como extractores iónicos, o tetrafenilborato ou o reineckato (diaminotetratiocianocromato), dissolvidos em nitrobenzeno ou dibutilftalato, conforme se tratassem de eléctrodos de membrana líquida ou de membrana de PVC, respectivamente. Como deficiências mais assinaláveis no seu comportamento registaram-se longos tempos de resposta, da ordem dos 30 segundos, e curtos tempos de vida (dois meses e meio para as unidades com membrana de PVC), o que torna a sua aplicação em análise laboratorial de rotina bastante limitada.

O trabalho entretanto realizado e apresentado nos capítulos anteriores (ver Caps. 3 e 4) provou que o uso de tetraquis(4-clorofenil)borato como extractor iónico era vantajoso na obtenção de eléctrodos para alcalóides com zonas de resposta linear mais alargadas, maiores declives da curva de calibração dos eléctrodos e melhor reprodutibilidade. Também o uso de 2-nitrofeniloctiléter, como solvente plastificante, dava origem a membranas mais duradoiras e mais selectivas, sobretudo em relação ao catião sódio, que no caso de aplicação em

formulações farmacêuticas era vantajoso já que este catião está presente em elevada quantidade como isotonizante.

Além do tetraquis(4-clorofenil)borato, já foram descritos outros derivados do tetrafenilborato, especialmente o tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato [10], que permitem igualmente a obtenção de unidades com boas características de funcionamento, no entanto não se encontram descritos eléctrodos sensíveis a alcalóides baseados nesse extractor.

Por forma a avaliar a interferência da substituição de um derivado clorado de tetrafenilborato por outro fluorado nas características de funcionamento dos eléctrodos, descrever-se-à a construção e avaliação de unidades sensíveis a pilocarpina, utilizando como extractores iónicos, o tetraquis[3,5-bis(trifluoro-metil)fenil]borato ou o tetraquis(4-clorofenil)borato, ambos dissolvidos em 2-nitrofeniloctiléter e imobilizados em PVC. Posteriormente esses eléctrodos serão aplicados no doseamento de pilocarpina em formulações farmacêuticas de uso oftálmico.

5.2. - Parte experimental

5.2.1. - Aparelhagem e eléctrodos

O tipo de aparelhagem referido no Capítulo 2 (ver 2.1.) foi utilizado na determinação das diferenças de potencial entre os eléctrodos construídos e o eléctrodo de referência. O eléctrodo de referência utilizado em todas as determinações, era de dupla junção, com uma solução de cloreto de sódio 0,1 M no compartimento exterior.

5.2.2. - Reagentes e soluções

As soluções de pilocarpina com concentração igual a 10^{-1} e 10^{-2} M usadas na avaliação dos eléctrodos, foram preparadas pesando rigorosamente cloridrato de pilocarpina (Merck, ref. 7311) que foi diluído a um volume também rigoroso com água desionizada ou com uma solução ajustadora da força iónica. Sempre que necessário, procedia-se à diluição destas soluções mais concentradas. Para evitar a sua degradação, todas as soluções de pilocarpina eram preparadas diariamente.

Como ajustador de força iónica utilizou-se uma solução de cloreto de sódio com concentração igual a 0,1 M. A solução tampão usada para a determinação potenciométrica de pilocarpina em formulações farmacêuticas era constituída por dihidrogenofosfato de sódio e hidrogenofosfato de sódio (NaH_2PO_4/Na_2HPO_4) (pH = 6,3 e I = 0,1 M), preparada pela adição de 98,00 mL de uma solução de NaH_2PO_4 com concentração de 0,5 M a 34,00 mL de uma solução de Na_2HPO_4 à mesma concentração e completando-se posteriormente o volume de 1000,0 mL com água desionizada.

5.2.3. - Preparação dos sistemas sensores e membranas

Os dois tipos de extractores iónicos utilizados na construção dos eléctrodos de pilocarpina, foram obtidos por reacção de precipitação entre o derivado halogenado de tetrafenilborato com o cloridrato de pilocarpina (ver 2.5.2. no Cap. 2).

O tetraquis(4-clorofenil)borato de pilocarpina (extractor tipo 5A) foi preparado adicionando 5,00 mL de uma solução aquosa contendo cerca de 0,07 mmol de pilocarpina a igual volume de uma solução com aproximadamente 0,05 mmol de tetraquis(4-clorofenil)borato de potássio dissolvidas em acetona. O extractor iónico do tipo 5B, constituído por tetraquis[3,5-bis(trifluoro-metil)fenil]borato de pilocarpina, foi preparado pela adição de 0,50 mL de cerca de 0,07 mmol de cloridrato de pilocarpina dissolvido em água a igual volume de uma solução em acetona de 0,05 mmol de tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato de potássio. Nos dois casos, os cristais obtidos foram filtrados, lavados abundantemente com água e posteriormente secos (ver 2.5.2. no Cap. 2).

A mistura sensora do tipo 5A, resultou da dissolução de cerca de 0,060 g dos cristais de tetraquis(4-clorofenil)borato de pilocarpina em aproximadamente 1,166 g de 2-nitrofeniloctiléter. O sensor do tipo 5B foi preparado pela mistura de cerca de 0,035 g de tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato de pilocarpina em 0,507 g de 2-nitrofeniloctiléter.

As membranas dos dois tipos de eléctrodos foram preparadas a partir destas soluções sensoras, adicionando-se 0,40 mL de cada uma das misturas anteriores (tipo 5A e 5B) a 0,181 g de PVC prèviamente dissolvido em tetrahidrofurano (6 mL). Apresentam-se na Tabela 5.2.3.1. as composições das membranas usadas, respectivamente, na construção dos eléctrodos de tetraquis(4-clorofenil)borato de pilocarpina (eléctrodo tipo 5A) e de tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato de pilocarpina (eléctrodo tipo 5B).

Depois de aplicadas conforme se indica em 2.5.2. (ver Cap. 2), as membranas dos eléctrodos foram deixadas ao ar até à sua secagem completa, sendo posteriormente colocadas numa solução de condicionamento constituída por cloridrato de pilocarpina à concentração de 10^{-2} M e mantidas nela sempre que não estavam a ser utilizadas.

Tabela 5.2.3.1. - Composição relativa (percentagem em massa) dos diferentes constituintes das membranas dos eléctrodos sensíveis a pilocarpina.

Constituintes	Eléctrodo tipo 5A		Eléctrodo tipo 5B	
	Mistura Sensora 5A	Membrana 5A	Mistura Sensora 5B	Membrana 5B
Tetraquis(4-clorofenil)borato de pilocarpina	4,9 %	3,4 %	--	--
Tetraquis[3,5-bis(trifluoro-metil)fenil]borato de pilocarpina	--	--	6,5 %	4,4 %
2-nitrofeniloctiléter	95,1 %	65,5 %	93,5 %	64,4 %
Cloreto de polivinilo	--	31,1 %	--	31,2 %

5.2.4. - Preparação das amostras de formulações farmacêuticas para os doseamentos potenciométricos

Para a determinação de pilocarpina em colírios oftálmicos procedeu-se a uma diluição directa da amostra numa solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M). Para tal mediu-se um volume rigoroso correspondente a cerca de 2,4 mg de cloridrato de pilocarpina, que foi diluído a um volume final de 50,00 mL com o referido tampão.

No caso das pomadas oftálmicas, pesou-se rigorosamente uma quantidade de pomada contendo cerca de 12 mg de cloridrato de pilocarpina aos quais foi adicionado um volume de 25,00 mL de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6.3). Por forma a facilitar a libertação da pilocarpina do excipiente gorduroso para a solução tampão, a amostra foi colocada em banho de ultra-sons, aquecido a 37°C (ver 2.9.1., Cap. 2). Posteriormente foram retirados 5,00 mL desta solução, que foram diluídos com o tampão a um volume final de 50,00 mL.

O doseamento de pilocarpina por potenciometria directa (ver 2.9.2., Cap. 2), foi efectuado sobre uma toma da amostra diluída, com uma volume correspondente a 20,00 mL.

Para avaliar a qualidade dos resultados obtidos foram efectuadas igualmente determinações recorrendo ao método da adição da quantidade conhecida, adicionando-se à toma analizada, duas fracções de 200 µL de uma solução de pilocarpina a 10^{-2} M. Para as mesmas amostras calcularam-se igualmente os correspondentes valores de recuperação.

5.3. - Resultados e sua discussão

5.3.1. - Parâmetros das curvas de calibração

Para avaliar as características gerais de funcionamento dos eléctrodos de pilocarpina, procedeu-se ao traçado das respectivas curvas de calibração, no intervalo de concentrações entre aproximadamente 2×10^{-7} e 10^{-1} M de pilocarpina. Os ensaios foram executados em soluções sem e com a força iónica ajustada a 0,1 M utilizando-se neste último caso, cloreto de sódio ou uma solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3). Esta solução tampão foi escolhida, porque, para além de possuir um valor de pH, incluído dentro da zona que não afecta o potencial do eléctrodo (ver 5.3.3.), a interferência provocada pelo catião sódio não é significativa (ver coeficientes de selectividade potenciométricos em 5.3.4.).

Apresentam-se nas Figs. 5.3.1.1. e 5.3.1.2. as curvas de calibração típicas obtidas nas condições de ensaio referidas, para ambos os tipos de eléctrodos construídos. São indicados na Tabela 5.3.1.1. os valores médios dos parâmetros de calibração deduzidos quando se efectuavam três determinações repetidas com três unidades de cada tipo.

Ambas as unidades apresentavam uma curva de calibração com uma resposta linear até pelo menos 0,1 M, sendo os valores do limite inferior de resposta linear (L.I.R.L.) e do limite prático de detecção (L.P.D.) aqueles que se indicam na referida Tabela. Verificou-se que, embora a interferência do catião sódio seja pequena, para este tipo de eléctrodos (ver coeficientes de selectividade potenciométricos, 5.3.4.), as unidades apresentavam um ligeiro acréscimo nos valores do L.I.R.L. quando os ensaios decorriam com a força iónica ajustada.

O declive apresentado pelas curvas de calibração de ambos os tipos de eléctrodos era semelhante e diminuia para valores mais próximos do teórico

(59,16 mV década^{-1}, T = 25°C), quando a força iónica era ajustada.

Para avaliar a reprodutibilidade dos potenciais de ambas as unidades ao longo de um dia de trabalho, procedeu-se ao traçado de três curvas de calibração, a segunda imediatamente após a primeira, e a terceira 6 horas após o traçado da primeira. Os ensaios foram executados no intervalo de concentrações entre aproximadamente 8×10^{-6} e 4×10^{-3} M em pilocarpina, em soluções sem ou com a força iónica ajustada, com cloreto de sódio a 0,1 M, ou ainda com ajuste de pH e força iónica feito através de uma solução tampão. Embora os resultados tivessem sido bastante semelhantes para os dois tipos de unidades, as do tipo 5B apresentavam-se ligeiramente mais reprodutíveis do que as do tipo 5A.

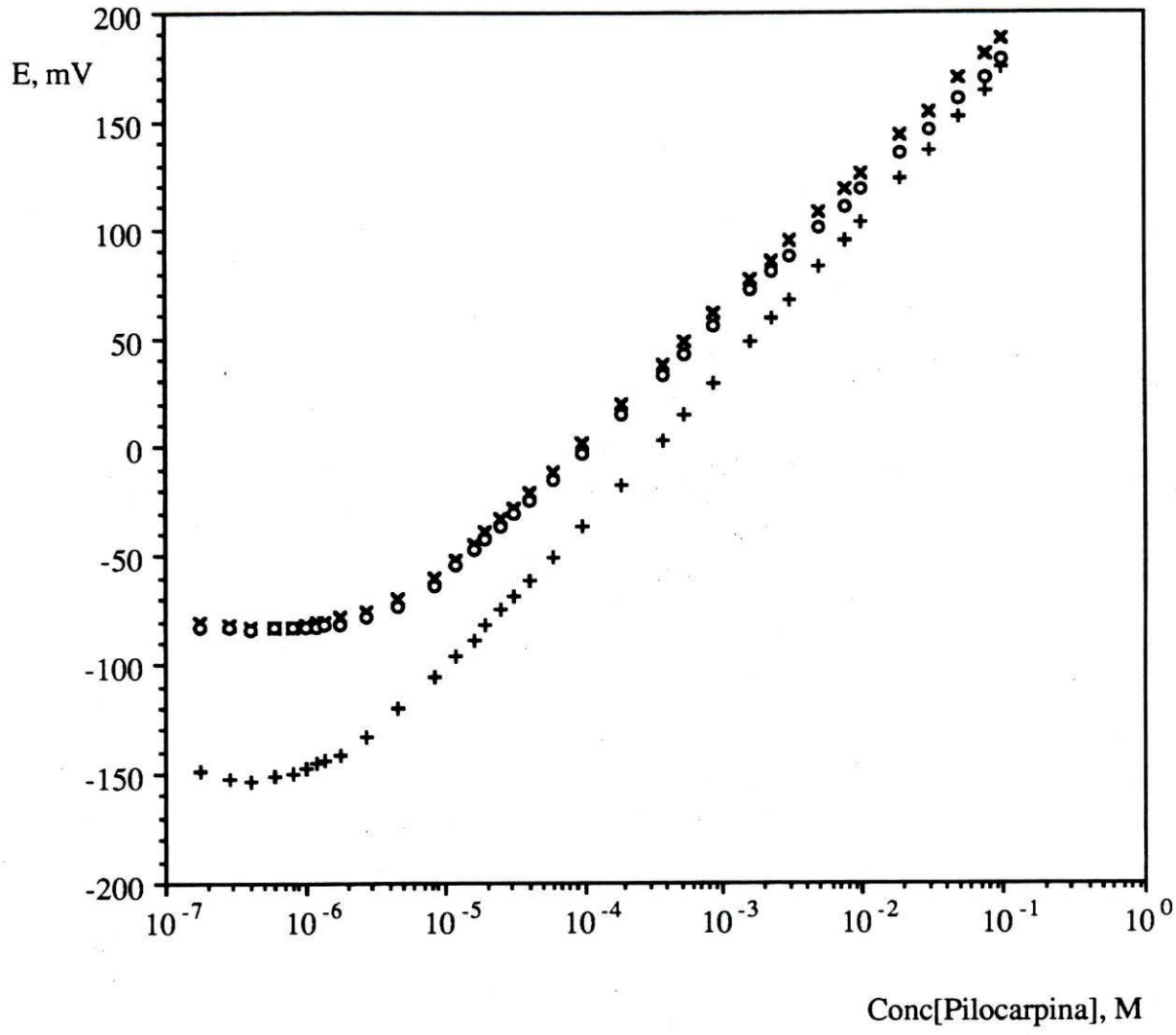
Durante o período em decorreu a avaliação e aplicação dos eléctrodos (cerca de 5 meses), não se observaram alterações das suas características gerais de funcionamento, pelo que é de prever uma durabilidade para os eléctrodos superior a 5 meses.

Comparativamente com o descrito anteriormente para eléctrodos sensíveis à mesma espécie catiónica [9] (Tabela 5.3.1.2.), verificou-se um aumento da zona de resposta linear dos eléctrodos, relativamente aos eléctrodos de membrana de PVC. Esse aumento deve-se ao uso de extractores iónicos com características mais hidrofóbicas, que permitem o estabelecimento do equilíbrio de extracção a valores mais baixos [11, 12], favorecendo a diminuição do limite inferior de resposta linear. No entanto, os eléctrodos de membrana líquida anteriormente construídos [9], apresentavam uma zona de resposta linear significativamente superior aos eléctrodos de membrana de PVC, quer aos construídos pelos mesmos autores [9], quer aos descritos neste capítulo.

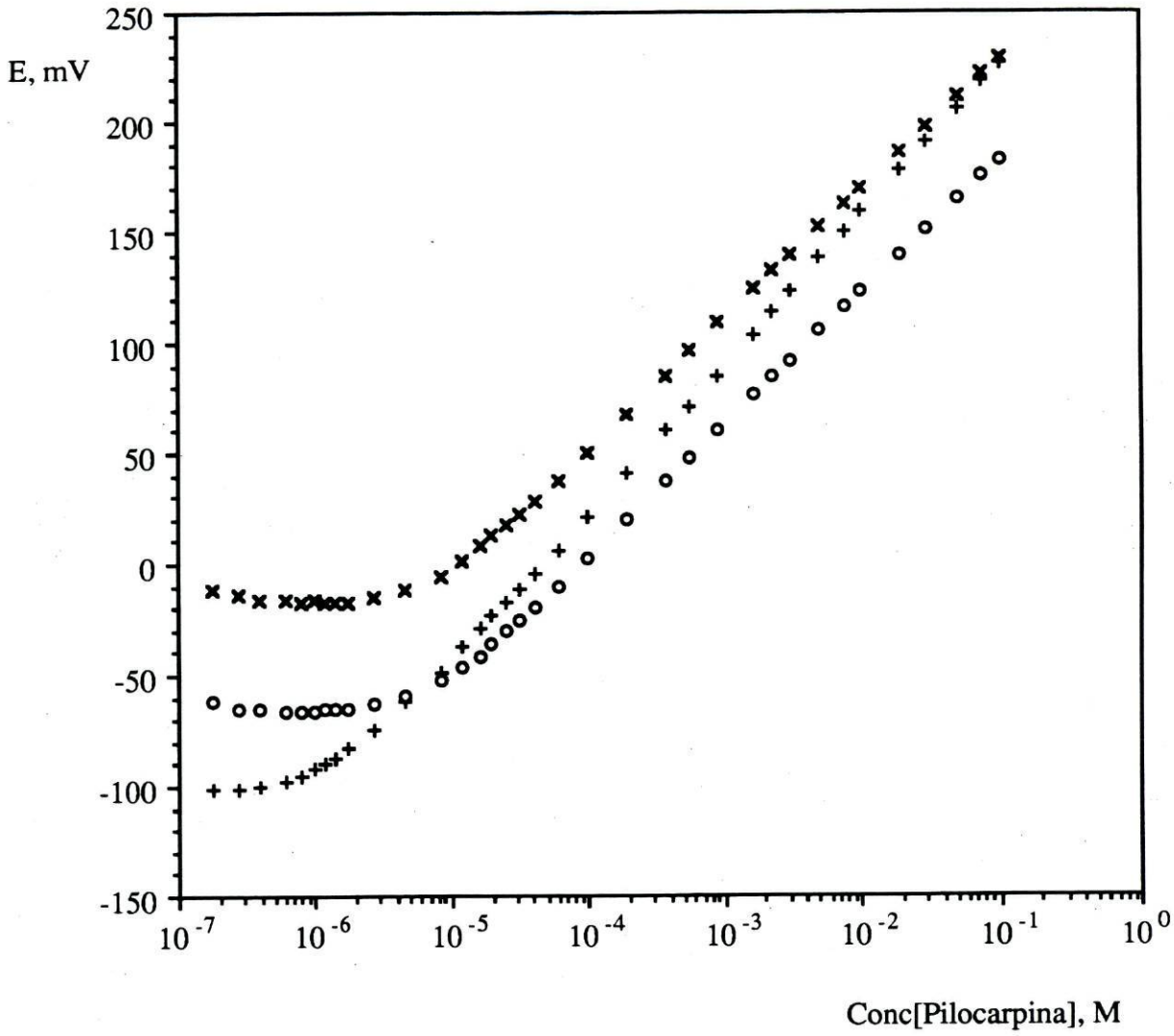
A aparente melhor reprodutibilidade dos potenciais das unidades anteriormente descritas [9], deve-se ao processo de determinação deste parâmetro utilizado pelos seus autores e que se baseava na imersão dos eléctrodos em duas soluções de pilocarpina com concentração de 10^{-3} e 10^{-4} M, cinco vezes

consecutivas. A variação de potencial medida correspondia a um curto espaço de tempo e a uma pequena amplitude de variação de concentrações, não sendo por isso comparável ao valor apresentado ao longo de um dia de trabalho. Em condições de ensaio semelhantes, era observada para os eléctrodos construídos uma variação de ±2,0 mV quando a força iónica não era ajustada e inferior a ±0,5 mV quando se procedia ao seu ajuste, para ambos os tipos de eléctrodos.

Observa-se ainda um aumento significativo da durabilidade dos eléctrodos [9]. Tal aumento deve-se, sobretudo, ao tipo de construção utilizada, cuja eliminação da referência interna permite a obtenção de unidades de maior durabilidade [13]. Por outro lado, o solvente mediador, por ser bom plastificante, também contribui para dificultar a perda de sensor pela membrana e consequentemente contribui para o aumento da durabilidade do eléctrodo.



Figuras 5.3.1.1. - Curvas de calibração típicas para eléctrodos preparados com tetraquis(4-clorofenil)borato de pilocarpina como extractor iónico (tipo 5A), obtidas em soluções: (+) sem a força iónica ajustada; (×) com ajuste de força iónica a 0,1 M com cloreto de sódio; e (o) em solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M).



Figuras 5.3.1.2. - Curvas de calibração típicas para eléctrodos preparados utilizando o tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato de pilocarpina (tipo 5B) como extractor iónico (tipo 6B), obtidas em soluções: (+) sem a força iónica ajustada; (×) com ajuste de força iónica a 0,1 M com cloreto de sódio; e (o) em solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M).

Tabela 5.3.1.1. - Parâmetros de calibração para os eléctrodos baseados em tetraquis(4-clorofenil)borato de pilocarpina (tipo 5A) e tetraquis[3,5-bis(trifluoro-metil)fenil]borato de pilocarpina (tipo 5B) como extractor.

Características [a]	Eléctrodos					
	5A			5B		
	I [b]	II [c]	III [d]	I [b]	II [c]	III [d]
Declive (mV/log[PIL])	66,9±1,5	59,9±1,3	60,0±1,7	68,3±1,9	60,1±1,4	61,7±1,5
L.I.R.L. (M)	$9,5\times10^{-6}$ $\pm2,0\times10^{-6}$	$1,4\times10^{-5}$ $\pm0,6\times10^{-5}$	$1,3\times10^{-5}$ $\pm0,7\times10^{-5}$	$1,1\times10^{-5}$ $\pm0,5\times10^{-5}$	$2,3\times10^{-5}$ $\pm1,3\times10^{-5}$	$2,3\times10^{-5}$ $\pm1,7\times10^{-5}$
L.P.D. (M)	$2,6\times10^{-6}$ $\pm0,6\times10^{-6}$	$5,7\times10^{-6}$ $\pm1,6\times10^{-6}$	$4,5\times10^{-6}$ $\pm1,0\times10^{-6}$	$1,9\times10^{-6}$ $\pm0,3\times10^{-6}$	$9,3\times10^{-6}$ $\pm2,5\times10^{-6}$	$8,0\times10^{-6}$ $\pm2,0\times10^{-6}$
Patamar Op. de pH [e]	2,5 - 6,5	2,5 - 6,5	--	2,5 - 6,5	2,5 - 6,5	--
Tempo de resposta (s)	<6	<6	<6	<10	<10	<10
Reprod. (mV/dia) [f]	±3,5	±2,5	±2,0	±4,0	±2,0	±2,0
Durabilidade (meses)	>5	>5	>5	>5	>5	>5

[a] Valores correspondentes a pelo menos três determinações efectuadas com três eléctrodos de cada tipo; [b] Ensaios efectuados em soluções sem ajuste de força iónica; [c] Ensaios efectuados em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M com cloreto de sódio; [d] Ensaios efectuados com ajuste simultâneo de pH e força iónica com NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M); [e] Patamar operacional deduzido dos traçados dos diagramas de Reilley, obtidos em soluções de concentração 5×10^{-3} M e 5×10^{-4} M em pilocarpina; [f] Valores da reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos, correspondentes a três determinações ao longo do dia.

Tabela 5.3.1.2. - Comparação das características de resposta dos eléctrodos construídos com outros, anteriormente referidos na literatura [9].

Referência	Declive (mV/log[PIL])	Z.R.L. (M) [a)]	Patamar de pH	Tempo de resposta (s)	Reprodutibilidade (mV/dia)	Tempo de vida (meses)
tipo 5A	66,9	10^{-1}-9,5×10^{-6}	2,5-6,5	<6	±3,5	>5
tipo 5B	68,3	10^{-1}-1,1×10^{-5}	2,5-6,5	<10	±4,0	>5
[9] [b)]	57	10^{-1}-1,0×10^{-6}	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
[9] [c)]	57	10^{-1}-1,0×10^{-6}	3-6	<30-60	±0,5	2,5
[9] [d)]	57	10^{-1}-6,0×10^{-5}	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
[9] [e)]	57	10^{-1}-6,0×10^{-5}	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.

n.r. - não refere; [a)] Zona de resposta linear dos eléctrodos; [b)] Eléctrodos de membrana líquida de tetrafenilborato de pilocarpina em nitrobenzeno; [c)] Eléctrodos de membrana líquida de reineckato de pilocarpina em nitrobenzeno; [d)] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em tetrafenilborato de pilocarpina dissolvido em dibutilftalato; [e)] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em reineckato de pilocarpina dissolvido em dibutilftalato.

5.3.2. - Tempo de resposta dos eléctrodos

O tempo prático de resposta dos eléctrodos, foi avaliado (ver 2.7.2., Cap. 2) registando de forma dinâmica as variações de potencial resultantes de alterações da concentração (aproximadamente em duplicado) de pilocarpina na solução onde os eléctrodos estavam introduzidos, numa gama compreendida entre 4×10^{-5} e 4×10^{-3} M. Os ensaios foram executados, para ambos os tipos de eléctrodos, em soluções sem a força iónica ajustada, com a força iónica ajustada com cloreto de sódio a 0,1 M e com o pH e força iónica simultaneamente fixados, utilizando para isso a solução tampão.

Nas Figs. 5.3.2.1. e 5.3.2.2. apresentam-se os diagramas obtidos aquando da avaliação deste parâmetro, respectivamente para unidades do tipo 5A e 5B, e na Tabela 5.3.1.1. os valores numéricos delas deduzidos.

As variações bruscas, visíveis em alguns patamares, correspondem a um aumento momentâneo e localizado da concentração de pilocarpina, no momento da adição da solução mais concentrada e demonstram a rápida resposta que caracteriza as unidades.

Verificou-se que o tempo de resposta das unidades era independente das condições de ensaio testadas, sendo semelhantes para os dois tipos de eléctrodos construídos.

Relativamente aos eléctrodos anteriormente descritos [9] (Tabela 5.3.1.2.), verificou-se que as unidades construídas possuiam um tempo de resposta inferior, resultante da imobilização do sensor em PVC e da grande estabilidade mecânica do tipo de construção utilizado.

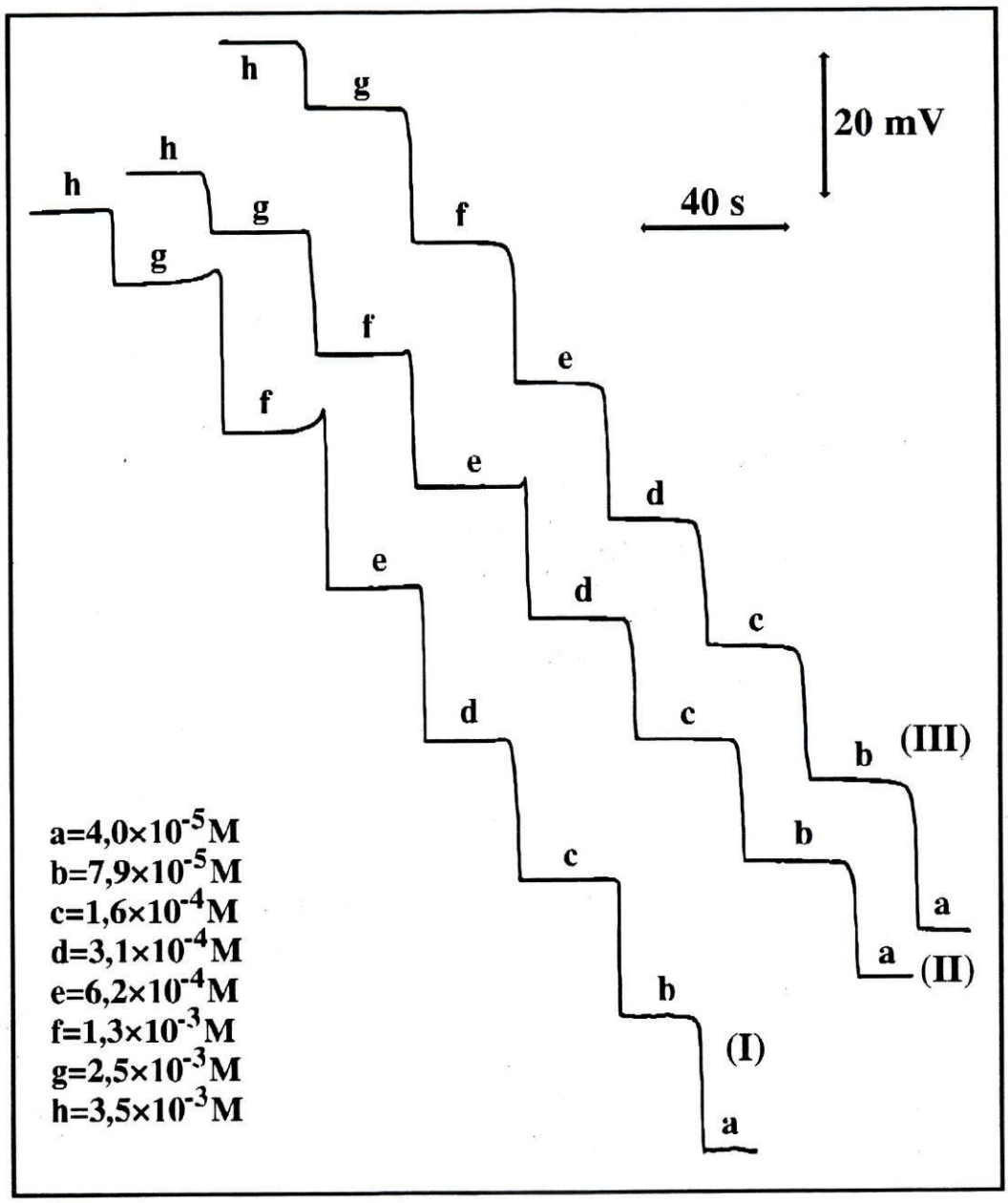


Figura 5.3.2.1. - Tempos de resposta para um eléctrodo cujo extractor iónico era o tetraquis(4-clorofenil)borato de pilocarpina (tipo 5A), obtidos em soluções sem (I) e com a força iónica ajustada com cloreto de sódio (II) e em soluções ajustadoras de pH e força iónica (III).

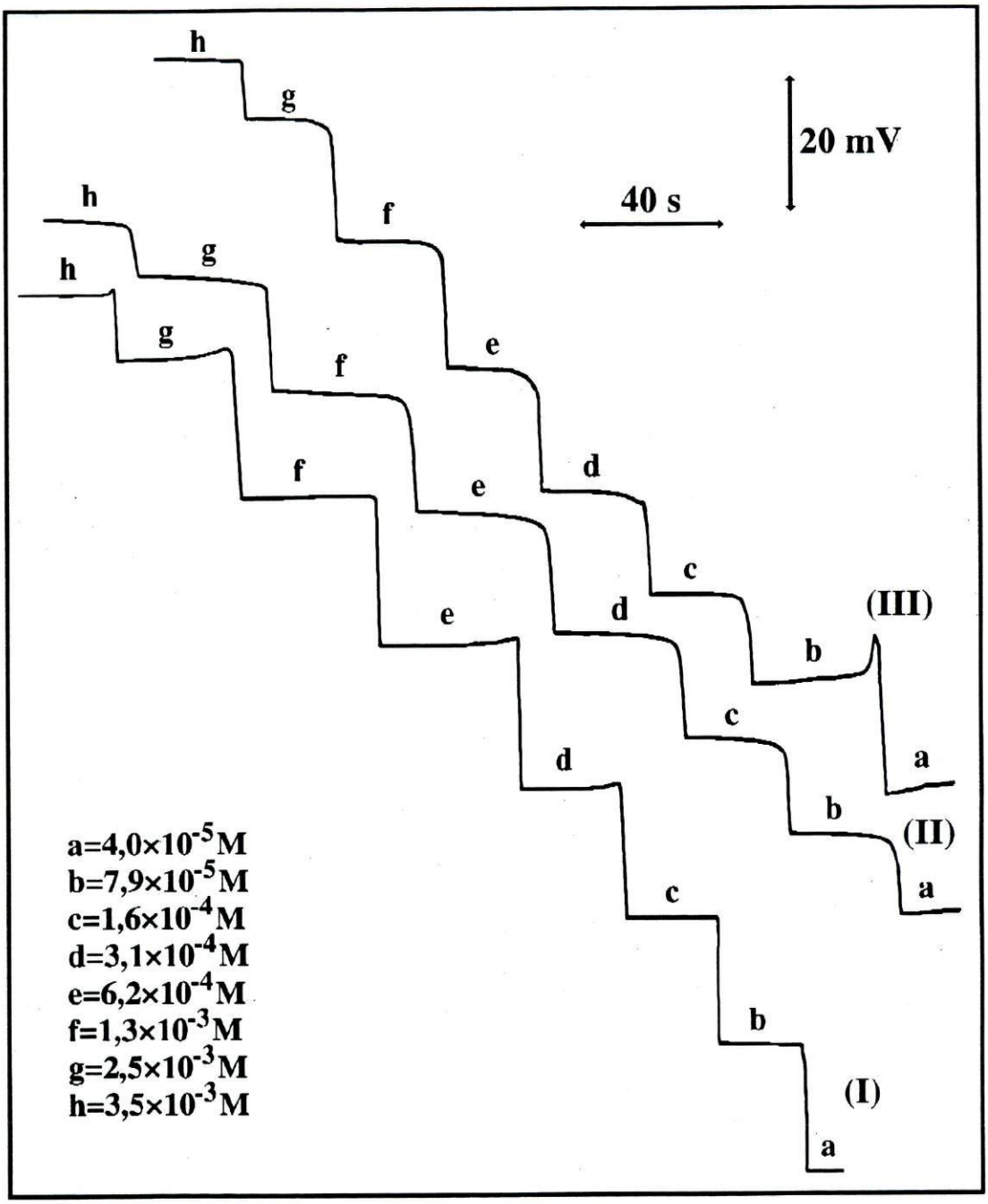


Figura 5.3.2.2. - Tempos de resposta para um eléctrodo cujo extractor iónico era o tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato de pilocarpina (tipo 5B), obtidos em soluções sem (I) e com a força iónica ajustada com cloreto de sódio (II) e em soluções ajustadoras de pH e força iónica (III).

5.3.3. - Efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos

O efeito do pH no valor de potencial dos eléctrodos foi avaliado de acordo com o anteriormente descrito (ver 2.7.3., Cap. 2), em soluções de pilocarpina com concentração $5x10^{-3}$ e $5x10^{-4}$ M sem e com ajuste de força iónica com cloreto de sódio a 0,1 M. O pH da solução inicial foi modificado pela adição de pequenos volumes de soluções concentradas de ácido clorídrico e hidróxido de sódio. A escolha destas soluções decorreu da fraca interferência apresentada pelo catião sódio (ver coeficientes de selectividade potenciométricos, 5.3.4.).

Os resultados apresentados nas Figs. 5.3.3.1. e 5.3.3.2., demonstraram que o potencial de ambos os tipos de eléctrodos e para os dois níveis de concentração estudados, não variava mais do que 4 mV (ou 2 mV quando a força iónica era ajustada) no intervalo de pH entre aproximadamente 2,5 e 6,5 unidades. Para valores de pH acima de 6,5 unidades a diminuição de potencial observada deve-se ao aumento da concentração da fracção não ionizada de pilocarpina, enquanto que para valores de pH inferiores a 2,5 unidades aumentava a concentração da pilocarpina diprotonada, pelo que se observava igualmente uma diminuição do potencial dos eléctrodos.

Relativamente ao apresentado anteriormente por outros autores [9] (Tabela 5.3.1.2.) observava-se que as unidades construídas apresentavam um intervalo de pH para o qual o potencial não era significativamente alterado mais alargado. Tal facto é consequência do tipo de solvente mediador utilizado.

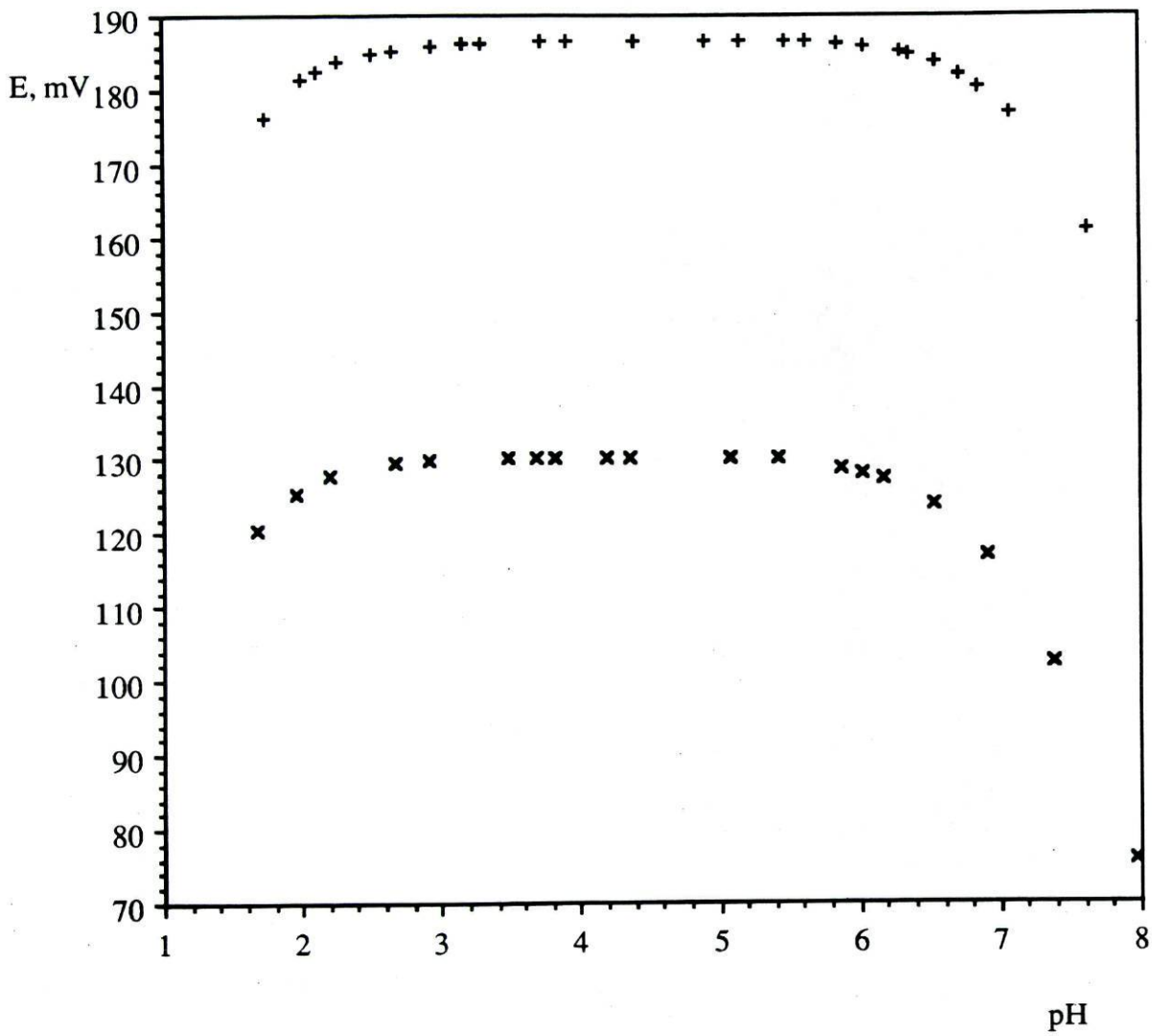


Figura 5.3.3.1. - Diagramas da variação do potencial com o pH das soluções, para eléctrodos baseados em tetraquis(4-clorofenil)borato de pilocarpina (tipo 5A), em soluções sem a força iónica ajustada, com a concentração de 5×10^{-3} M (+) e 5×10^{-4} M (×) em pilocarpina.

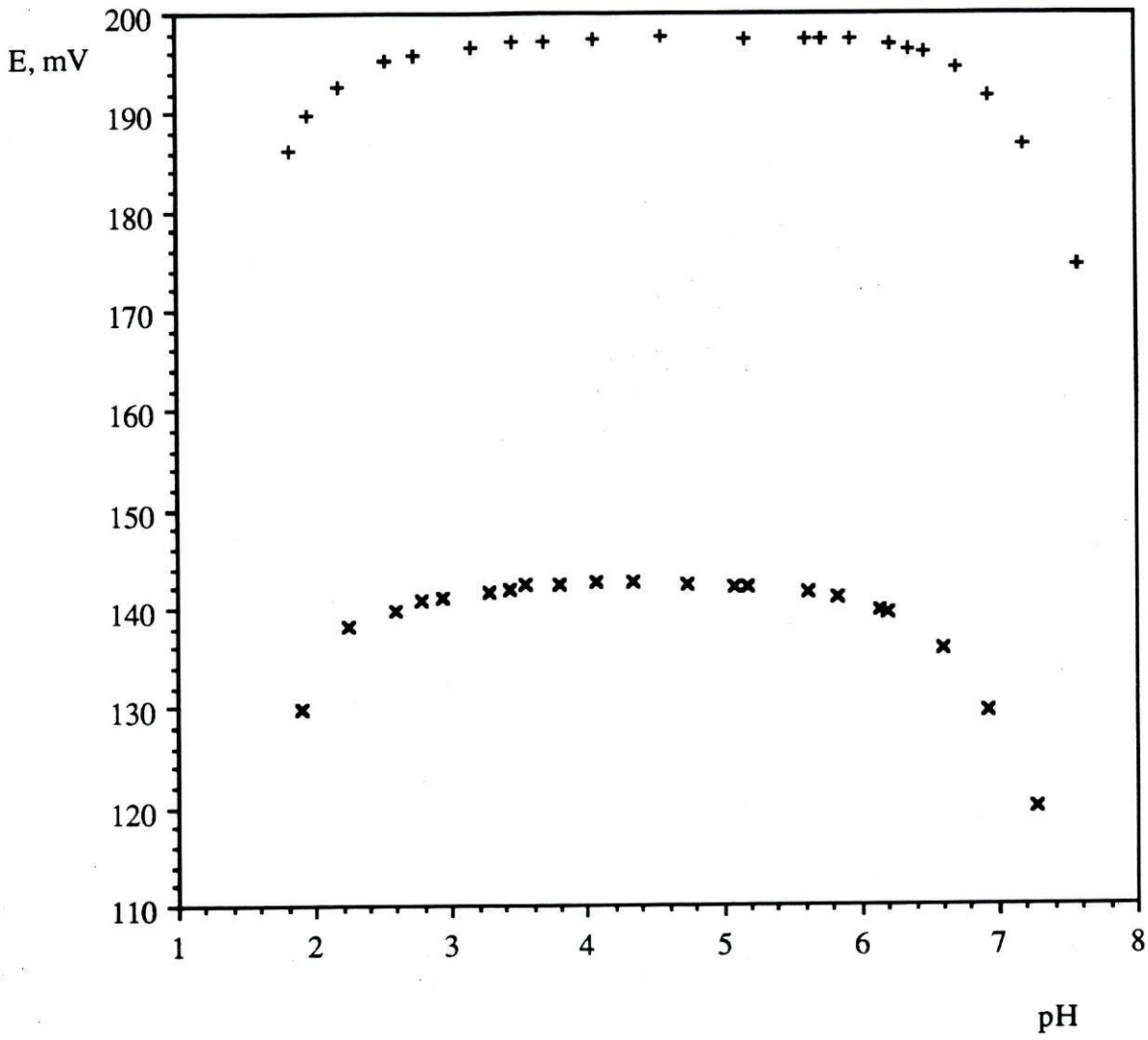


Figura 5.3.3.2. - Diagramas da variação do potencial com o pH das soluções, para eléctrodos baseados em tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato de pilocarpina (tipo 5B), em soluções sem a força iónica ajustada, com a concentração de 5×10^{-3} M (+) e 5×10^{-4} M (×) em pilocarpina.

5.3.4. - Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos

A extensão da interferência de vários catiões nos eléctrodos de pilocarpina, foi avaliada pela determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ($K^{pot}_{A,B}$), pelo método das soluções separadas (ver 2.7.4., Cap. 2). Para tal, efectuaram-se calibrações em soluções puras do ião principal e do ião interferente, ambas no intervalo de concentração entre 2×10^{-5} e 10^{-3} M, cujos resultados calculados (ver 2.7.4., Cap. 2) se apresentam na Tabela 5.3.4.1..

Os coeficientes de selectividade potenciométricos foram determinados para alguns catiões inorgânicos comuns, nomeadamente cálcio, sódio, amónio e potássio, de forma a permitir a escolha de soluções adequadas para ajustar a força iónica e/ou o pH e para justificar a escolha da solução externa do eléctrodo de referência. A interferência do catião sódio é particularmente importante, uma vez que os colírios oftálmicos contendo pilocarpina, são preparados com uma solução isotonizante cuja base é o cloreto de sódio em elevadas concentrações. Este facto levou a que fossem igualmente determinados os coeficientes de selectividade potenciométricos, para o catião sódio, pelo método da interferência fixada (ver 2.7.4. no Cap. 2) para, de uma forma mais próxima da situação real, se poder determinar a extensão dessa interferência. Desta forma e a uma concentração de catião sódio fixada a 0,1 M, obtiveram-se, respectivamente, para as unidades do tipo 5A e 5B os valores de -4,3±0,2 e -4,0±0,1 (apresentam-se a média e respectivos desvio padrão dos $\log K^{pot}_{A,B}$ determinados em dois ensaios com dois eléctrodos de cada tipo).

A extensão da interferência relativamente a outros alcalóides (efedrina, atropina, estricnina e quinidina) permitirá avaliar o comportamento deste tipo de sensores na presença de outros alcalóides e avaliar a possível utilização do sensor do tipo 5B na construção de eléctrodos sensíveis a outros alcalóides.

Pelos resultados apresentados na Tabela 5.3.4.1., conclui-se que os

eléctrodos de pilocarpina são muito selectivos, sobretudo relativamente aos catiões inorgânicos comuns e especialmente ao catião sódio, o que facilita a sua aplicação sobretudo em formulações contendo elevadas concentrações desse catião. Não se observaram diferenças significativas entre os dois tipos de unidades construídas, o que se explica pela grande influência que o solvente mediador tem nas características de selectividade dos eléctrodos [14, 15]. Pelos valores de selectividade apresentados pelas unidades do tipo 6B relativamente a outros alcalóides será de esperar que esse sensor permita a obtenção de eléctrodos sensíveis a outros alcalóides com boas características de funcionamento.

Comparativamente com os resultados apresentados por outros autores para unidades sensíveis à mesma espécie catiónica [9] (Tabela 5.3.4.2.), os eléctrodos construídos apresentam maior selectividade. Esse aumento de selectividade é particularmente significativo em relação ao catião sódio.

Tabela 5.3.4.1. - Coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$) para os eléctrodos de pilocarpina [a].

Interferentes	Eléctrodo do tipo 5A			Eléctrodo do tipo 5B		
	Concentração (M)			Concentração (M)		
	$1x10^{-4}$	$5x10^{-4}$	$1x10^{-3}$	$1x10^{-4}$	$5x10^{-4}$	$1x10^{-3}$
Cálcio	-3,6±0,1	-3,8±0,1	-3,9±0,1	-3,4±0,1	-3,6±0,1	-3,6±0,1
Sódio	-1,6±0,2	-2,1±0,2	-2,4±0,2	-1,6±0,1	-2,0±0,1	-2,3±0,1
Amónio	-1,7±0,1	-2,1±0,1	-2,3±0,1	-1,4±0,1	-1,8±0,1	-2,0±0,1
Potássio	-1,6±0,1	-2,0±0,1	-2,2±0,1	-1,4±0,2	-1,7±0,1	-1,8±0,1
Efedrina	-0,2±0,1	-0,2±0,1	-0,2±0,1	-0,1±0,1	-0,2±0,1	-0,2±0,1
Atropina	+0,4±0,1	+0,4±0,1	+0,4±0,1	+0,3±0,1	+0,3±0,1	+0,3±0,1
Estricnina	+1,3±0,1	+1,3±0,1	+1,3±0,1	+1,0±0,1	+1,3±0,1	+1,4±0,1
Quinidina	+1,7±0,2	+1,7±0,2	+1,7±0,2	+1,8±0,3	+2,1±0,4	+2,1±0,4
Tetrapentilamónio	+6,3±0,5	+6,4±0,3	+6,4±0,3	+5,4±1,5	+6,2±0,8	+6,2±0,9

[a] Média e desvio padrão de quatro valores obtidos em duas determinações com dois eléctrodos cada.

Tabela 5.3.4.2. - Comparação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$) obtidos com os eléctrodos sensíveis à pilocarpina, referidos na literatura [9].

Referência	Conc.	Cálcio	Sódio	Potássio	Amónio	Atropina
tipo 5A	10^{-3} M	-3,9	-2,4	-2,2	-2,3	+0,4
tipo 5B	10^{-3} M	-3,6	-2,3	-1,8	-2,0	+0,3
[9] a)	10^{-2} M	-4,1	-0,1	-2,8	-2,9	+0,6

a) Eléctrodos de membrana líquida de reineckato de pilocarpina em nitrobenzeno, cuja determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos foi efectuada pelo método das soluções separadas.

5.3.5. - Doseamento da pilocarpina em formulações farmacêuticas de uso oftálmico

Face às boas características de resposta obtidas para ambos os eléctrodos, foi efectuada a sua aplicação no doseamento, por potenciometria directa (ver 2.9.2. no Cap. 2), de pilocarpina em formulações farmacêuticas comercializadas em Portugal, cujos resultados médios e respectivos desvios padrão se apresentam na Tabela 5.3.5.1..

Para avaliar a exactidão e precisão dos resultados obtidos, foram calculados os respectivos valores de recuperação e procedeu-se ao doseamento das mesmas formulações pelo método da adição da quantidade conhecida (ver 2.9.3., Cap. 2), apresentando-se igualmente na Tabela 5.3.5.1. os respectivos resultados médios e correspondentes desvios padrão.

Para as unidades do tipo 5A obtiveram-se coeficientes de variação (C.V.) entre 2,2% e 10% com um valor médio de 5,9%, enquanto que para as unidades do tipo 5B o C.V. variava entre 2,2% e 13,8% para um valor médio de 7,5%. Os baixos coeficientes de variação, juntamente com a semelhança entre os resultados obtidos por potenciometria directa e os obtidos pelo método da adição da quantidade conhecida permitem afirmar que a metodologia proposta é suficientemente precisa. Por outro lado os valores de recuperação médios de 102,5% e 98,1% (para as unidades do tipo 5A e 5B, respectivamente) atestam a exactidão dos doseamentos efectuados. Finalmente, verificou-se para um nível de confiança de 95,0%, que as diferenças entre os resultados obtidos com os dois tipos de eléctrodos, não eram estatísticamente significativas, tendo-se obtido um valor de $t = 0{,}038$, para um valor tabelado de $t_{0{,}025,\ 8} = 2{,}365$.

Além de preciso e exacto, o doseamento de pilocarpina por potenciometria directa é um método simples, fàcilmente aplicável a diferentes tipos de formulações farmacêuticas, que não requer um grande tratamento da amostra

(bastando uma simples diluição) e rápido, pois em cerca de 15 minutos é possível efectuar o traçado da curva de calibração e proceder ao doseamento de pelo menos 4 amostras.

Tabela 5.3.5.1. - Valores obtidos (expressos em percentagem em peso) no doseamento de pilocarpina em formas farmacêuticas de uso oftálmico, usando os eléctrodos do tipo 5A e 5B [a].

	Eléctrodos					
	Tipo 5A			Tipo 5B		
Preparação [b]	Pot. dir. (% m/m)	Adição (% m/m)	Recup. (%)	Pot. dir. (% m/m)	Adição (% m/m)	Recup. (%)
Piloplex (gotas oftálmicas)	3,0±0,1	3,0±0,2	104,2±2,7	2,9±0,1	3,0±0,1	100,6±2,4
Pilocarcil	1,7±0,2	1,6±0,2	105,8±6,8	1,6±0,2	1,7±0,2	99,5±5,3
(gotas oftálmicas)	3,8±0,1	3,7±0,1	101,8±4,2	3,8±0,1	3,8±0,1	100,9±4,7
	4,5±0,1	4,4±0,1	98,8±3,5	4,5±0,1	4,6±0,1	93,8±2,4
Pilocarcil	0,7±0,1	0,7±0,1	103,3±1,7	0,7±0,1	0,7±0,1	97,8±1,8
(pomada oftálmica)	1,6±0,1	1,6±0,1	97,9±3,1	1,6±0,1	1,7±0,1	93,1±1,9
Pilocarpoftalmina	0,3±0,1	0,3±0,1	103,0±4,2	0,3±0,1	0,3±0,1	98,1±4,5
(pomada oftálmica)	1,7±0,1	1,7±0,1	105,1±1,6	1,8±0,1	1,8±0,1	100,7±1,4

[a] Média e desvios padrão de quatro determinações efectuadas com três eléctrodos de cada tipo; [b] Nomes comerciais de formulações de uso oftálmico contendo pilocarpina disponíveis no mercado português.

5.4. - Conclusões

Pelos resultados apresentados neste capítulo, pode-se concluir que o uso de tetraquis(4-clorofenil)borato de pilocarpina ou de tetraquis[3,5-bis(trifluoro-metil)fenil]borato de pilocarpina como extractores iónicos, conjuntamente com o uso de 2-nitrofeniloctiléter como solvente mediador, permitem a obtenção de eléctrodos sem solução de referência interna com boas características de funcionamento, nomeadamente no que se refere à ampla zona de resposta linear, boa reprodutibilidade, curto tempo de resposta, boa selectividade e elevada durabilidade.

Não se observaram diferenças significativas nas características dos eléctrodos quando preparados com um ou outro extractor, o que indica ser indiferente o uso de qualquer um deles para a preparação de eléctrodos. No entanto, o sensor de tetraquis(4-clorofenil)borato é vantajoso porque é relativamente mais económico.

A globalidade dos resultados obtidos quando da determinação em formulações farmacêuticas, permite afirmar que a potenciometria directa com eléctrodos de pilocarpina, apresenta-se realmente como uma metodologia alternativa às oficiais, já que para além de precisa e exacta é simples, rápida e económica.

5.5. - Referências bibliográficas

[1] - *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16ª edição, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvânia (1980)

[2] - A. G. Gilman, L. S. Goodman e A. Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 6ª edição, MacMillan Publishing Company, Inc., Nova York (1980)

[3] - P.-H. Chung, T.-F. Chin e J. L. Lach, *J. Pharm. Sci.*, **59**, 1300 (1970)

[4] - J. Garrett e W. Osswald, *Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas*, 2ª edição, Porto Editora, Lda., Porto (1986)

[5] - *British Pharmacopoeia 1988*, HM Stationery Office, Londres (1988)

[6] - *U. S. Pharmacopeia, National Formulary 1990*, U. S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville (1990)

[7] - V. V. Cosofret e R. P. Buck, *Ion.-Sel. Electrode Rev.*, **6**, 59 (1984)

[8] - V. V. Cosofret, *Membrane Electrodes in Drug-Substances Analysis*, Pergamon Press, Oxford (1982)

[9] - S. Yao, G. Shen e H. Wu, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **4**, 281 (1984)

[10] - G. H. Zhang, T. Imato, Y. Asano, T. Sonoda, H. Kobayashi e N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, **62**, 1644 (1990)

[11] - L. Cunningham e H. Freiser, *Anal. Chim. Acta*, **139**, 97 (1982)

[12] - G. J. Moody, R. K. Owusu e J. D. R. Thomas, *Analyst*, **112**, 121 (1987)

[13] - G. J. Moody, J. D. R. Thomas, J. L. F. C. Lima e A. A. S. C. Machado, *Analyst*, **113**, 1023 (1988)

[14] - G. Baum e M. Lynn, *Anal. Chim. Acta*, **65**, 393 (1973)

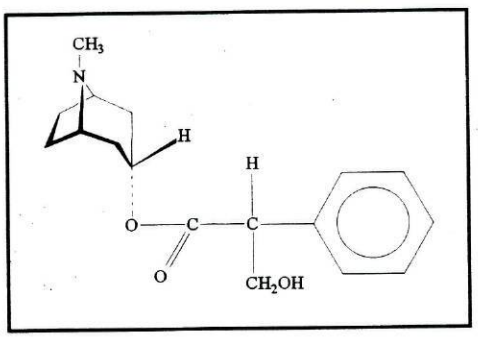
[15] - C. R. Martin e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **52**, 562 (1980)

CAPÍTULO 6

ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A ATROPINA

6. - ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A ATROPINA

6.1. - Introdução



A atropina (*dl*-hiosciamina) é um alcalóide de núcleo tropânico obtido por extracção de plantas Solanáceas, principalmente *Atropa belladonna*, mas também *Hyoscyamus* sp e *Datura* sp. Pode existir como tal nas plantas, ou sob a forma de *l*-hiosciamina que racemiza quando da extracção. Quimicamente é um éster da tropina e do ácido trópico, podendo ser sintetizada a partir desses compostos, os quais podem ser obtidos por extracção em plantas ou por síntese [1].

Farmacologicamente tem acção anticolinérgica, competindo com a acetilcolina para os receptores muscarínicos. É vulgarmente utilizada em oftalmologia, como midriático e cicloplégico. Para além disso, pode ser útil como pré-anestésico, para diminuir as secreções (salivar e bronquica) e no controlo de espasmos brônquicos e da laringe [2].

A sobredosagem da atropina pode causar sérias intoxicações sistémicas, que podem ser fatais, sobretudo em crianças, tornando-se por isso importante, em indústria farmacêutica, o controlo da concentração de atropina nas formulações farmacêuticas.

Os métodos oficiais, propostos pelas Farmacopéias Britânica [3] e Americana [4], baseiam-se em técnicas cromatográficas (ver 1.2. no Cap. 1), regra geral a cromatografia gasosa. Embora se trate de uma técnica bastante precisa,

exige um moroso processo extractivo inicial do composto a dosear, conforme o tipo de formulação a analisar. Para além disso é uma metodologia adaptada apenas às formulações descritas nas referidas monografias, pelo que a sua aplicação será sempre limitada. Taambém, como qualquer análise cromatográfica é relativamente lenta e exige aparelhagem de valor económico elevado.

Face às desvantagens dos métodos oficiais, várias metodologias têm vindo a ser desenvolvidas, para o doseamento da atropina em formulações farmacêuticas (ver 1.3. no Cap. 1). Das diferentes metodologias propostas, a potenciometria destaca-se por se tratar de um método simples, rápido, exacto e com elevada precisão [5, 6]. Essas vantagens advêm do baixo custo da aparelhagem envolvida, da facilidade de preparação dos detectores potenciométricos, da facilidade de preparação da amostra e, sobretudo, da possibilidade de ser aplicada a diferentes formulações sem haver necessidade de alterar significativamente o processo de análise para as diversas formulações, bastando na maioria dos casos dissolver as amostras.

Vários eléctrodos selectivos de iões sensíveis à atropina, têm sido referidos na literatura até ao momento [7-11].

A primeira unidade, foi referida em 1981 [7] e era constituida por uma membrana na forma líquida, baseada em tetrafenilborato de atropina dissolvido em 2-nitrotolueno. Por ser baseado num corpo da Orion, modelo 92, apresentava uma série de deficiências inerentes a este tipo de construção, entre as quais se destacam os cuidados de manutenção de que necessita [12, 13], a frequência com que aparecem bolhas gasosas no extremo do eléctrodo, tornando os valores de potenciais instáveis, e ainda a grande influência que a agitação das soluções têm na sua resposta [13]. Por outro lado, a constante perda de sensor iónico a que o eléctrodo está sujeito, contribui para a diminuição do tempo de vida das unidades, exigindo um enchimento periódico do reservatório interno do sensor, aumentando os custos das unidades [14]. Estas desvantagens apresentadas por este tipo de

eléctrodos de membrana líquida, dificultam a sua utilização na rotina laboratorial.

Mais tarde, foram propostos outros tipos de eléctrodos, utilizando como extractor iónico o reineckato (diaminotetratiocianocromato) de atropina, dissolvido em álcool benzílico ou numa mistura de álcool benzílico e dioctilftalato, conforme se tratassem de eléctrodos de membrana líquida ou de membrana de PVC, respectivamente [8]. Os dois tipos de unidades construídas, apresentavam características gerais de funcionamento semelhantes, contudo, as preparadas por imobilização do sensor iónico em PVC, eram ligeiramente mais selectivas, mas com tempos de resposta mais elevados. Além dos elevados tempos de resposta, ambas unidades apresentavam tempos de vida que não excediam 2 meses. Estes factos devem-se à perda de sensor iónico, que ocorre espontânemente, nos eléctrodos de membrana líquida e que nos eléctrodos de membrana de PVC é condicionada pela pressão hidrodinâmica da solução de referência interna sobre a membrana.

Numa tentativa de obviar os inconvenientes dos eléctrodos de membrana líquida, Lin e colaboradores, construíram eléctrodos de membrana de PVC com solução de referência interna [9]. Para tal utilizaram vários extractores iónicos, como o tetrafenilborato, dipicrilaminato, tetraiodomercurato e reineckato, e diversos solventes mediadores, como o dibutil, dioctil e dinonilftalato. Relativamente ao solvente mediador, observava-se que o dinonilftalato permitia a obtenção de eléctrodos com um declive da curva de calibração mais próximo do teórico. Enquanto que entre os diferentes extractores iónicos não se observaram diferenças significativas nas características gerais de funcionamento das unidades, sendo relevante a modificação da selectividade dos eléctrodos relativamente a determinados iões (cálcio, magnésio e teofilina), conforme o extractor iónico utilizado. No entanto, consideramos que os solventes mediadores utilizados nesse estudo [9] eram muito semelhantes quìmicamente e seria mais interessante um estudo envolvendo solventes de características físico químicas diferentes. Além do

mais é conhecido que o solvente mediador influencia sobretudo as características de selectividade dos eléctrodos [15-17] e esse factor não foi levado em conta nesse estudo [9], o que talvez pudesse alterar significativamente os coeficientes de selectividade potenciométricos obtidos.

Contudo, apesar de possuírem boas características de funcionamento, estes eléctrodos apenas foram aplicados em determinações por potenciometria directa e por titulação potenciométrica em soluções puras de atropina.

Foram ainda descritos outros eléctrodos de membrana líquida sensíveis a atropina [10], baseados em 5-nitrobarbiturato de atropina dissolvido em n-octanol ou picrolonato de atropina em 4-nitrotolueno [10]. No entanto, estes novos extractores não permitiram uma modificação significativa das características de funcionamento dos eléctrodos de atropina. Além disso, o facto de ter sido utilizado como corpo do eléctrodo, o já referido modelo 92 da Orion, que apresentava várias desvantagens, desaconselhava o seu uso em análise laboratorial de rotina.

Mais recentemente foi publicado um estudo sobre a influência do solvente mediador, nomeadamente 2,4-dinitrofeniloctiléter, dibutilftalato, diamilftalato, dinonilftalato, didecilftalato, bis(2-etilhexil)ftalato, tricresilfosfato, xilenilfosfato e dibutilmaleinato, na resposta de eléctrodos de fio de alumínio revestidos de uma de membrana de PVC [11]. O extractor iónico utilizado foi o tetrafenilborato, tendo-se verificado que para titulações potenciométricas de atropina e brucina com tetrafenilborato, o par iónico formado durante a titulação, deve ter um coeficiente de distribuição mais elevado no plastificante do que na solução aquosa. Desta forma a variação de potencial na vizinhança do ponto de equivalência aumenta, e consequentemente melhora a precisão dos resultados obtidos. De todos os solventes estudados, o 2,4-dinitrofeniloctiléter era o que permitia um maior coeficiente de distribuição para o par iónico formado.

Para determinações por potenciometria directa, apesar de os autores reconhecerem que os estudos não foram tão aprofundados, era possível concluir

que, o par iónico e cada um dos iões que o compõem devem ter um coeficiente de distribuição mais elevado na membrana sensora do que na solução aquosa [11]. Desta forma conseguiram assegurar um elevado declive da curva de calibração e uma ampla zona de resposta linear dos eléctrodos. O dibutilftalato, o 2,4-dinitrofeniloctiléter e o tricresilfosfato eram os solventes mediadores que permitiam a obtenção de eléctrodos com melhores características gerais de funcionamento.

O tetrafenilborato tem provado ser um óptimo extractor iónico para espécies catiónicas, nomeadamente alcalóides [18]. No entanto, estudos recentes demonstraram que o uso de um extractor iónico com características mais hidrofóbicas, como por exemplo o tetraquis(4-clorofenil)borato, favorece a obtenção de eléctrodos com zonas de resposta linear mais amplas e declives da curva de calibração dos eléctrodos mais próximos do teórico [12]. Além do mais, como se observou nos capítulos anteriores este extractor iónico dissolvido em 2-nitrofeniloctiléter permitiu a obtenção de unidades com melhores características gerais de funcionamento, nomeadamente maiores intervalos de resposta linear, maior estabilidade dos potenciais e maior selectividade.

Por outro lado, a eliminação da solução de referência interna, torna as unidades mecanicamente mais estáveis, com maiores tempos de vida e de manuseamento mais simples e fácil [19], o que aliás já foi comprovado nos capítulos anteriores (Cap. 3 a 5).

Esta análise da situação justifica a construção e avaliação de eléctrodos de membrana de PVC, sem solução de referência interna, sensíveis a atropina e baseados em tetraquis(4-clorofenil)borato de atropina, como extractor iónico. Foram escolhidos como solventes mediadores além do 2-nitrofeniloctiléter, o dibutilftalato. A escolha de dois solventes mediadores diferentes visa completar o estudo dos eléctrodos sensíveis a alcalóides, que tem sido referido ao longo desta dissertação.

O 2-nitrofeniloctiléter, permite a obtenção de unidades com uma zona de resposta linear mais alargada e maior estabilidade dos potenciais [12], e conduz ainda ao aumento da selectividade das unidades, o que aliás já verificámos anteriormente (Cap. 3 a 5). Por outro lado o dibutilftalato, que foi anteriormente aconselhado [11], por permitir a obtenção de unidades com maior zona de resposta linear e maior declive da curva de calibração, apresenta uma constante dieléctrica (6,44 [20]) muito diferente da apresentada pelo 2-nitrofeniloctiléter (23,5 [21]).

6.2. - Parte experimental

6.2.1. - Aparelhagem e eléctrodos

Para as determinações de potencial efectuadas com os eléctrodos de atropina construídos, utilizou-se o tipo de aparelhagem referido anteriormente (ver 2.1. no Cap. 2). Em todas as determinações foi utilizado um eléctrodo de referência, de dupla junção, com sulfato de sódio 0,033 M no compartimento exterior.

6.2.2. - Reagentes e soluções

As soluções de atropina com concentração igual a 10^{-1} e 10^{-2} M usadas na avaliação dos eléctrodos, foram preparadas pesando rigorosamente sulfato de atropina (Merck, ref: 1575) e diluindo-se a um volume rigoroso com água desionizada ou com uma solução ajustadora da força iónica. Sempre que necessário procedeu-se à diluição destas soluções mais concentradas. Todas as soluções de atropina eram preparadas diariamente.

Como ajustador de força iónica utilizou-se uma solução de sulfato de sódio com concentração igual a 0,033 M. Para se efectuar o doseamento potenciométrico das preparações farmacêuticas, utilizou-se para ajustar a força iónica e o pH uma solução tampão de dihidrogenofosfato de sódio e hidrogenofosfato dissódico (NaH_2PO_4/Na_2HPO_4) (pH = 6,3 e I = 0,1 M). Esta solução tampão foi preparada pela adição de 98,00 mL de uma solução 0,5 M de NaH_2PO_4, a 34,00 mL de outra solução com igual concentração de Na_2HPO_4, completando-se posteriormente o volume de 1000,0 mL com água desionizada.

6.2.3. - Preparação dos sistemas sensores e membranas

O tetraquis(4-clorofenil)borato de atropina, usado como extractor iónico na preparação das membranas, foi obtido, de acordo com o anteriormente descrito (ver 2.5.2. no Cap. 2), através de uma reacção de precipitação, entre aproximadamente 5,0 mL de uma solução aquosa de atropina 0,14 M e igual volume de uma solução de tetraquis(4-clorofenil)borato de potássio com uma concentração de 0,1 M, preparada em acetona. Após filtração e secagem dos cristais de tetraquis(4-clorofenil)borato de atropina, 0,049 g do extractor iónico foram dissolvidos em cerca de 0,520 g de 2-nitrofeniloctiléter (sensor tipo 6A) ou 0,540 g de dibutilftalato (sensor tipo 6B).

As membranas foram preparadas a partir destas soluções sensoras, de acordo com o referido no Cap. 2 (ver 2.5.2.), misturando-se 0,40 mL de cada solução sensora com 0,18 g de PVC prèviamente dissolvido em tetrahidrofurano (6 mL). Apresentam-se na Tabela 6.2.3.1. as composições das membranas usadas, respectivamente, na construção dos eléctrodos de tetraquis(4-clorofenil)borato de atropina em 2-nitrofeniloctiléter (tipo 6A) e de tetraquis(4-clorofenil)borato de atropina em dibutilftalato (tipo 6B).

A construção dos eléctrodos foi efectuada por aplicação directa das soluções sensoras acima referidas, sobre um suporte epoxídico tornado condutor pela adição de grafite (ver 2.5.2., Cap. 2).

Após secagem das membranas, e com o objectivo de promover a sua hidratação e a estabilização da referência interna de O_2/H_2O, as respectivas unidades, foram colocadas numa solução de atropina à concentração de 10^{-2} M, com agitação durante as primeiras 24 horas, sendo mantidas nessa solução sempre que não estavam a ser utilizadas.

Tabela 6.2.3.1. - Composição relativa (percentagem em massa) dos diferentes constituintes, dos sistemas sensores e membranas, utilizados na construção dos eléctrodos de tetraquis(4-clorofenil)borato de atropina em 2-nitrofeniloctiléter (eléctrodo tipo 6A) e de tetraquis(4-clorofenil)borato de atropina em dibutilftalato (eléctrodo tipo 6B).

Constituintes	Eléctrodos tipo 6A		Eléctrodos tipo 6B	
	Sensor 6A	Membrana 6A	Sensor 6B	Membrana 6B
tetraquis(4-clorofenil)-borato de atropina	8,6 %	5,9 %	8,3 %	5,7 %
2-nitrofeniloctiléter	91,4 %	63,1 %	--	--
dibutilftalato	--	--	91,7 %	63,3 %
cloreto de polivinilo	--	31,0 %	--	31,0 %

6.2.4. - Preparação das amostras de formulações farmacêuticas para os doseamentos potenciométricos

Para a determinação de atropina em colírios oftálmicos, as amostras foram preparadas por diluição directa de um volume rigoroso do colírio numa solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3). Para tal mediram-se 2,50 mL de produto, ajustando-se com o referido tampão, no final a um volume de 100,0 mL.

No caso de pomadas oftálmicas, pesaram-se rigorosamente cerca de 10,0 g de pomada, os quais foram adicionados de 25,00 mL de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3). A amostra diluída, foi colocada em banho de ultra sons, de acordo com o descrito em 2.9.1. (ver Cap. 2), para facilitar a homogeneização do produto e dissolução do alcalóide no tampão. Posteriormente, 5,00 mL desta solução foram diluídos, ajustando-se com o tampão a um volume final a 100,0 mL.

O doseamento de atropina nas amostras preparadas conforme se indicou, foi efectuado por potenciometria directa (ver 2.9.2. no Cap. 2), directamente sobre um volume de amostra correspondente a 25,00 mL.

Para testar a precisão e exactidão dos resultados obtidos nas determinações por potenciometria directa, foi utilizado o método da adição da quantidade conhecida, pela adição de duas fracções de 500 μL de uma solução de atropina a 10^{-2} M. Calcularam-se igualmente sobre as amostras adicionadas de uma quantidade conhecida de atropina, os correspondentes valores de recuperação das amostras.

6.3. - Resultados e sua discussão

6.3.1. - Parâmetros das curvas de calibração

A avaliação das características gerais de funcionamento dos eléctrodos construídos, foi efectuada pelo traçado das respectivas curvas de calibração, no intervalo de concentrações entre aproximadamente 4×10^{-7} e 10^{-1} M em atropina, em soluções sem e com a força iónica ajustada a 0,1 M, com sulfato de sódio ou com o tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3). Esta solução tampão foi escolhida, porque, para além de possuir um valor de pH, incluído dentro da zona de operacionalidade do eléctrodo (ver 6.3.3.), a interferência provocada pelo catião sódio não é significativa (ver coeficientes de selectividade potenciométricos em 6.3.4.).

Apresentam-se nas Figs. 6.3.1.1. e 6.3.1.2. as curvas de calibração típicas obtidas respectivamente nas condições de ensaio referidas, para ambos os tipos de eléctrodos.

Na Tabela 6.3.1.1. indicam-se os valores médios dos parâmetros de calibração obtidos, quando se efectuavam duas determinações repetidas com três unidades de cada tipo.

Para ambos os tipos de eléctrodos construídos, verificou-se que a curva de calibração apresentava um declive próximo do teórico, com uma resposta linear até pelo menos 0,1 M. Os valores do limite inferior de resposta linear (L.I.R.L.) e do limite prático de detecção (L.P.D.), eram semelhantes quando os ensaios eram executados sem a força iónica ajustada. No entanto, quando a força iónica era ajustada, verificava-se um acréscimo dos valores de ambos os parâmetros, sendo esse aumento mais acentuado nas unidades do tipo 6B. Para estas, verificava-se uma redução significativa da zona de resposta linear, que correspondia a cerca de

uma década e meia de concentração. Esta diminuição pode ser atribuida à interferência do catião sódio, que se faz sentir de uma forma mais acentuada nas unidades do tipo 6B (ver coeficientes de selectividade potenciométricos em 6.3.4.). Este aspecto é condicionado fundamentalmente pelo solvente mediador, que é directamente responsável pelas características de selectividade dos eléctrodos [15-17]. Devido à menor zona de resposta linear apresentada pelas unidades do tipo 6B, quando a força iónica era ajustada, apenas foram utilizadas as unidades do tipo 6A nos doseamentos efectuados.

Verificou-se também que, o declive das curvas de calibração de ambos os tipos de eléctrodos era semelhante e este aumentava para valores mais próximos do teórico (59,16 mV década^{-1}, T = 25°C), quando a força iónica era ajustada, devendo-se este aspecto ao aumento da condução iónica das soluções, que facilita o equilíbrio de permuta entre os iões da solução e da membrana.

A reprodutibilidade dos potenciais para ambas as unidades, ao longo de um dia de trabalho, foi avaliada pelo traçado de rectas de calibração, uma no princípio e outra no final do dia, em soluções aquosas de sulfato de atropina ou em soluções de ião principal com a força iónica ajustada com sulfato de sódio ou com solução tampão. Nessas condições obtiveram-se os resultados apresentados na Tabela 6.3.1.1., que se revelaram bons atendendo ao tipo de eléctrodos em causa, sendo bastante semelhantes para ambas as unidades.

Para valores de concentração de atropina superiores a 10^{-4} M, zona onde eram efectuadas as determinações analíticas, a reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos era inferior a ±1,5mV.

Verificou-se que, pelo menos durante o período em que decorreu a avaliação e utilização das unidades (cerca de 4 meses), não havia alterações das suas características gerais de funcionamento, pelo que a sua durabilidade poderá ser considerada superior a esse tempo.

Se comparados os resultados obtidos, com os fornecidos por outros autores,

para unidades do mesmo tipo [7-10] (Tabela 6.3.1.2.), verificou-se uma melhoria significativa sobretudo no que diz respeito à zona de resposta linear, onde em alguns casos [7] se obteve um aumento de cerca de duas décadas de concentração. Esse aumento deve-se ao uso de um extractor iónico com características mais hidrofóbicas, que ao permitir o estabelecimento de um equilíbrio de extracção para valores mais baixos [16, 22], favorece a diminuição do limite inferior de resposta linear.

Observa-se também um aumento significativo da durabilidade dos eléctrodos [8, 10]. Tal aumento deve-se, sobretudo, ao tipo de construção utilizada, cuja eliminação da referência interna permite a obtenção de unidades mais duradoiras [19]. Por outro lado a utilização de um solvente mediador bastante viscoso, hidrófobo e que é um bom solvente do extractor iónico, impede que este difunda para a solução aquosa com que os eléctrodos contactam [23]. Também o facto do extractor iónico ser mais lipófilo e mais resistente ao ataque de ácidos [12] favorece a maior durabilidade observada.

A reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos construídos, que é semelhante à referida por outros autores [9, 10], facilita a sua aplicação em análises de rotina.

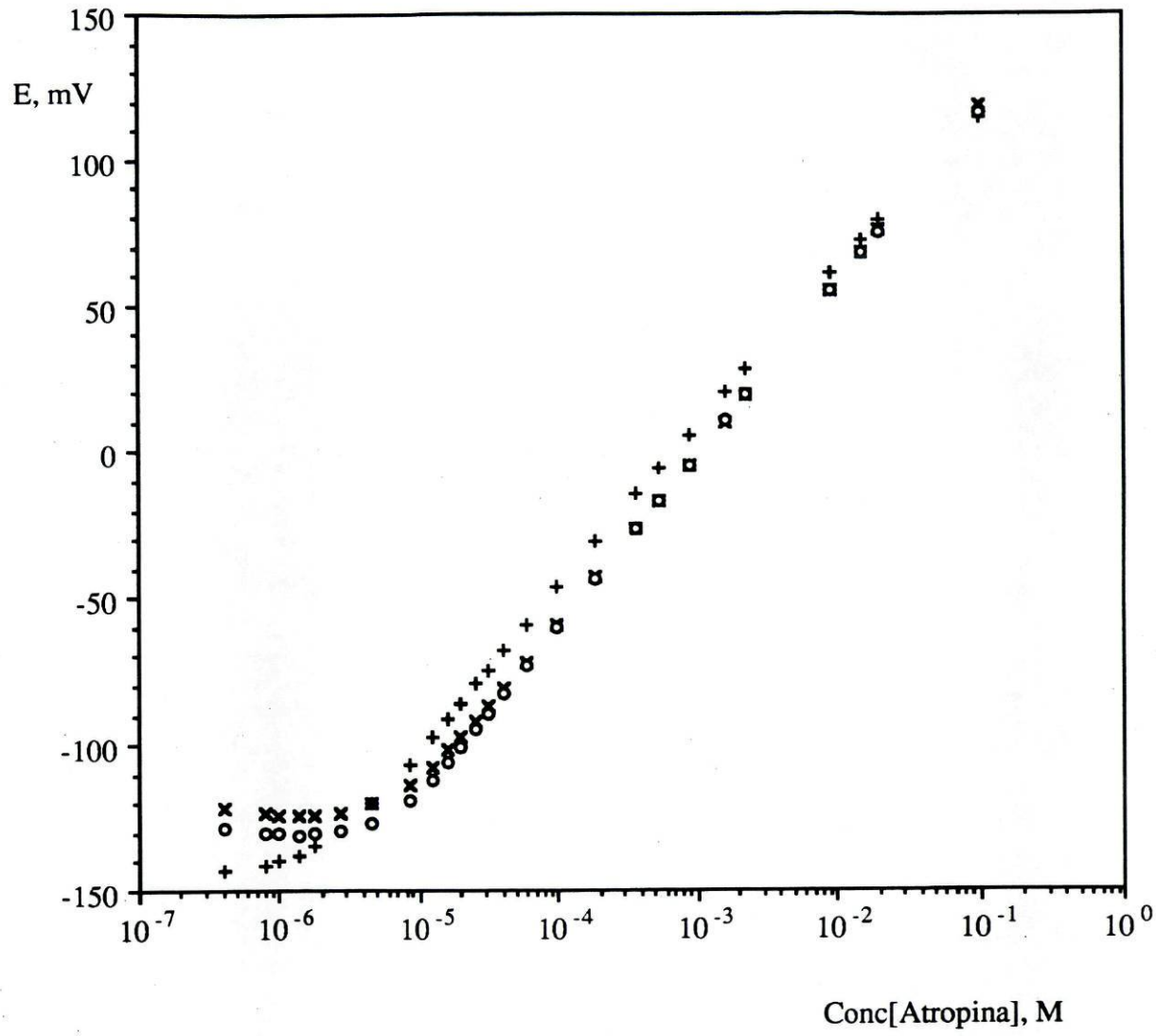


Figura 6.3.1.1. - Curvas de calibração típicas para eléctrodos preparados com 2-nitrofeniloctiléter como solvente mediador (tipo 6A), obtidas em soluções: (+) sem a força iónica ajustada; (×) com ajuste de força iónica a 0,1 M com sulfato de sódio; e (o) em solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M).

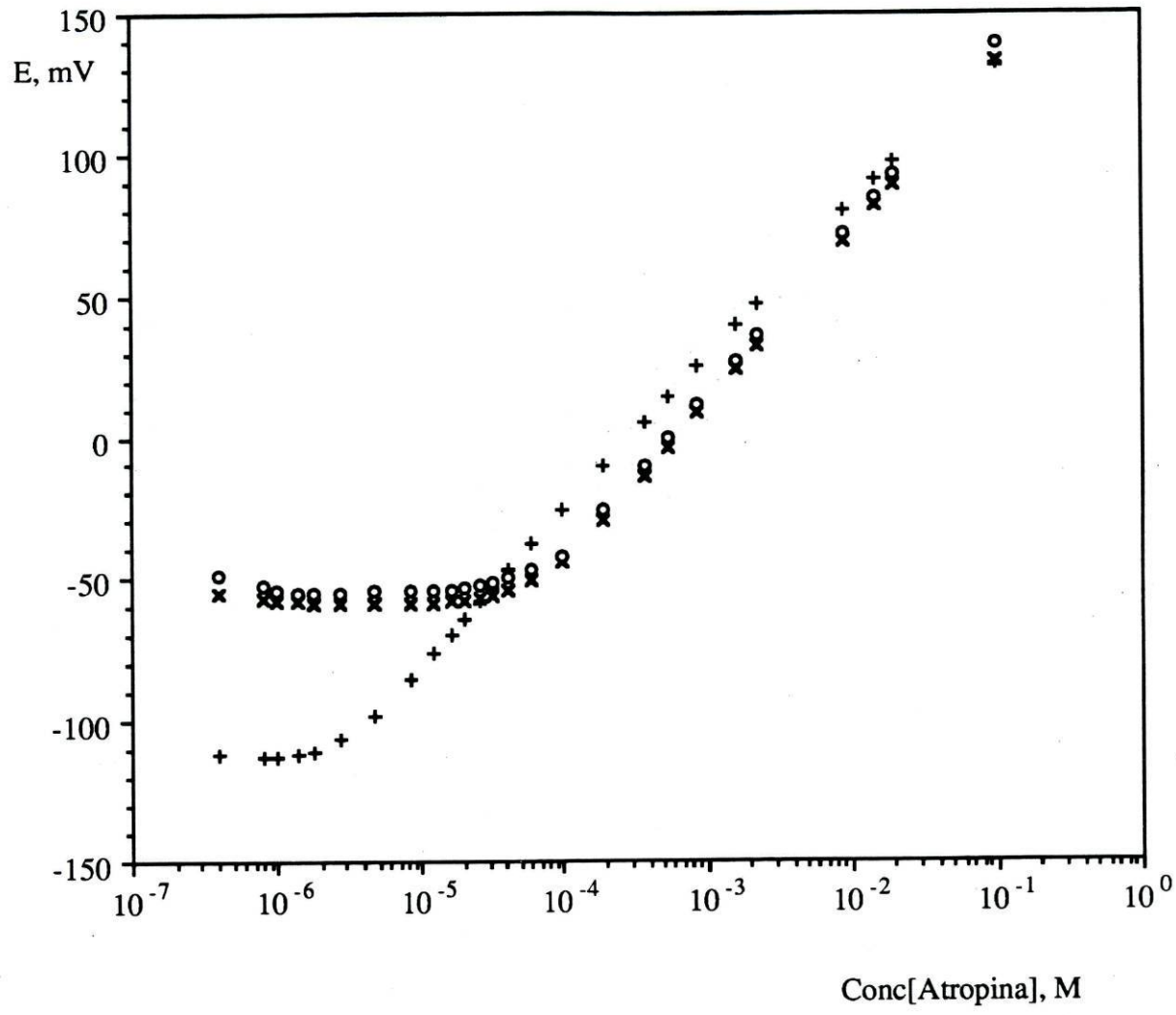


Figura 6.3.1.2. - Curvas de calibração típicas para eléctrodos preparados com dibutilftalato como solvente mediador (tipo 6B), obtidas em soluções: (+) sem a força iónica ajustada; (×) com ajuste de força iónica a 0,1 M com sulfato de sódio; e (o) em solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M).

Tabela 6.3.1.1. - Parâmetros de calibração para os eléctrodos do tipo 6A e 6B sensíveis a atropina (ATR).

Características [a]	Eléctrodos					
	6A			6B		
	I [b]	II [c]	III [d]	I [b]	II [c]	III [d]
Declive (mv/log[ATR])	54,7±0,4	57,7±0,9	58,0±0,2	53,6±1,4	58,1±0,8	58,6±1,4
L.I.R.L. (M)	$5,5\times10^{-6}$ $\pm2,1\times10^{-6}$	$1,2\times10^{-5}$ $\pm0,5\times10^{-5}$	$1,1\times10^{-5}$ $\pm0,9\times10^{-5}$	$4,6\times10^{-6}$ $\pm0,4\times10^{-6}$	$1,4\times10^{-4}$ $\pm0,5\times10^{-4}$	$1,6\times10^{-4}$ $\pm0,5\times10^{-4}$
L.P.D. (M)	$2,6\times10^{-6}$ $\pm0,4\times10^{-6}$	$7,3\times10^{-6}$ $\pm0,9\times10^{-6}$	$7,4\times10^{-6}$ $\pm1,5\times10^{-6}$	$2,8\times10^{-6}$ $\pm0,2\times10^{-6}$	$6,9\times10^{-5}$ $\pm0,6\times10^{-5}$	$7,0\times10^{-5}$ $\pm0,6\times10^{-5}$
Patamar Op. de pH [e]	2,5 - 9,0	2,5 - 9,0	--	2,5 - 9,0	2,5 - 9,0	--
Tempo de resposta (s)	<6	<6	<6	<6	<6	<6
Reprod. (mV/dia) [f]	±3,0	±2,5	±2,0	±3,0	±2,5	±2,5
Durabilidade (meses)	>4	>4	>4	>4	>4	>4

[a] Valores correspondentes a pelo menos duas determinações efectuadas com três eléctrodos de cada tipo; [b] Ensaios efectuados em soluções sem ajuste de força iónica; [c] Ensaios efectuados em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M com sulfato de sódio; [d] Ensaios efectuados com ajuste simultâneo de pH e força iónica com NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M); [e] Patamar operacional deduzido dos traçados dos diagramas de Reilley, obtidos em soluções de concentração 5×10^{-3} M e 5×10^{-4} M em atropina; [f] Valores da reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos, correspondentes a duas determinações ao longo do dia.

Tabela 6.3.1.2. - Comparação das características de resposta dos eléctrodos construídos com outros referidos na literatura [7-10].

Referência	Declive (mv/log[ATR])	Z.R.L. (M) [a]	Patamar de pH	Tempo de resposta (s)	Reprodutibilidade (mV/dia)	Tempo de vida (meses)
tipo 6A	54,7	10^{-1}-5,5×10^{-6}	2,5-9,0	<6	±3,0	>4
tipo 6B	53,6	10^{-1}-4,6×10^{-6}	2,5-9,0	<6	±3,0	>4
[7] [b]	59	10^{-2}-3×10^{-5}	2,0-8,5	15-180	n.r.	n.r.
[8] [c]	56,6	10^{-2}-5×10^{-6}	3,5-8,5	30-240	n.r.	±1
[8] [d]	57	10^{-2}-5×10^{-6}	3,5-8,5	30-240	n.r.	±1
[9] [e]	58,4	10^{-1}-1,3×10^{-5}	2-9	5-30	±2,0	n.r.
[9] [f]	60,2	10^{-1}-1,3×10^{-5}	2-9	5-30	±2,0	n.r.
[9] [g]	56,8	10^{-1}-2,1×10^{-5}	2-9	5-30	±2,0	n.r.
[9] [h]	55,5	10^{-1}-1,3×10^{-5}	2-9	5-30	±2,0	n.r.
[10] [i]	57,5	10^{-2}-10^{-5}	3,2-8,1	30-180	±4	2
[10] [j]	55,7	10^{-2}-10^{-5}	3,2-8,1	30-180	±4	2

n.r. - não refere; [a] Zona de resposta linear dos eléctrodos; [b] Eléctrodos de membrana líquida de tetrafenilborato de atropina em 2-nitrotolueno; [c] Eléctrodos de membrana líquida preparados com reineckato de atropina em álcool benzílico; [d] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em reineckato de atropina em dioctilftalato; [e] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em tetrafenilborato de atropina em dinonilftalato; [f] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em dipicrilaminato de atropina dissolvido em dinonilftalato; [g] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em tetraiodomercurato de atropina em dinonilftalato; [h] Eléctrodos de membrana de PVC, com referência interna e baseados em reineckato de atropina em dinonilftalato; [i] Eléctrodos de membrana líquida de 5-nitrobarbiturato de atropina em n-octanol; [j] Eléctrodos de membrana líquida de picrolonato de atropina em p-nitrotolueno.

6.3.2. - Tempo de resposta dos eléctrodos

O tempo prático de resposta dos eléctrodos, foi avaliado (ver 2.7.2., Cap. 2) registando de forma dinâmica as variações de potencial resultantes de alterações da concentração (em duplicado aproximadamente) de atropina na solução onde os eléctrodos estavam imersos, numa gama compreendida entre 3×10^{-5} e 4×10^{-3} M. Os ensaios foram executados, para ambos tipos de eléctrodos, em soluções sem a força iónica ajustada, com a força iónica ajustada e com o pH e força iónica simultaneamente fixados.

Apresentam-se nas Figs. 6.3.2.1. e 6.3.2.2., os traçados obtidos para a avaliação deste parâmetro, respectivamente para unidades do tipo 6A e 6B. Na zona de resposta linear, as unidades adquiriram um potencial estável (±0,2 mV) em cerca de 6 segundos, estando incluído nesse tempo, a homogeneização da solução.

Por vezes, nos diagramas apresentados observam-se variações bruscas no patamar, devidas às condições experimentais em que foram realizados os ensaios. Tais variações, são representativas do curto tempo de resposta dos eléctrodos, pois traduzem um aumento momentâneo e localizado da concentração de atropina, resultante da adição da solução mais concentrada.

Nos ensaios efecutados com a força iónica ajustada, verificava-se que, para as unidades do tipo 6B, e para valores de concentração inferiores a $1,6\times10^{-4}$ M, o tempo de estabilização dos eléctrodos era consideravelmente maior do que o registado para os eléctrodos tipo 6A, chegando mesmo a atingir cerca de 30 segundos. Estes valores são devidos a uma resposta conjunta dos eléctrodos aos catiões atropina e sódio, pois este último a esse nível de concentração revela-se mais interferente para os eléctrodos 6B do que para os 6A (ver coeficientes de selectividade potenciométricos 6.3.4.).

Comparativamente ao indicado anteriormente por outros autores [7-10] (Tabela 6.3.1.2.), verifica-se que as unidades preparadas tinham um tempo de

resposta inferior às referidas [7-10]. Este facto é devido à imobilização do sensor iónico em PVC e à grande estabilidade mecânica que caracteriza este tipo de eléctrodos.

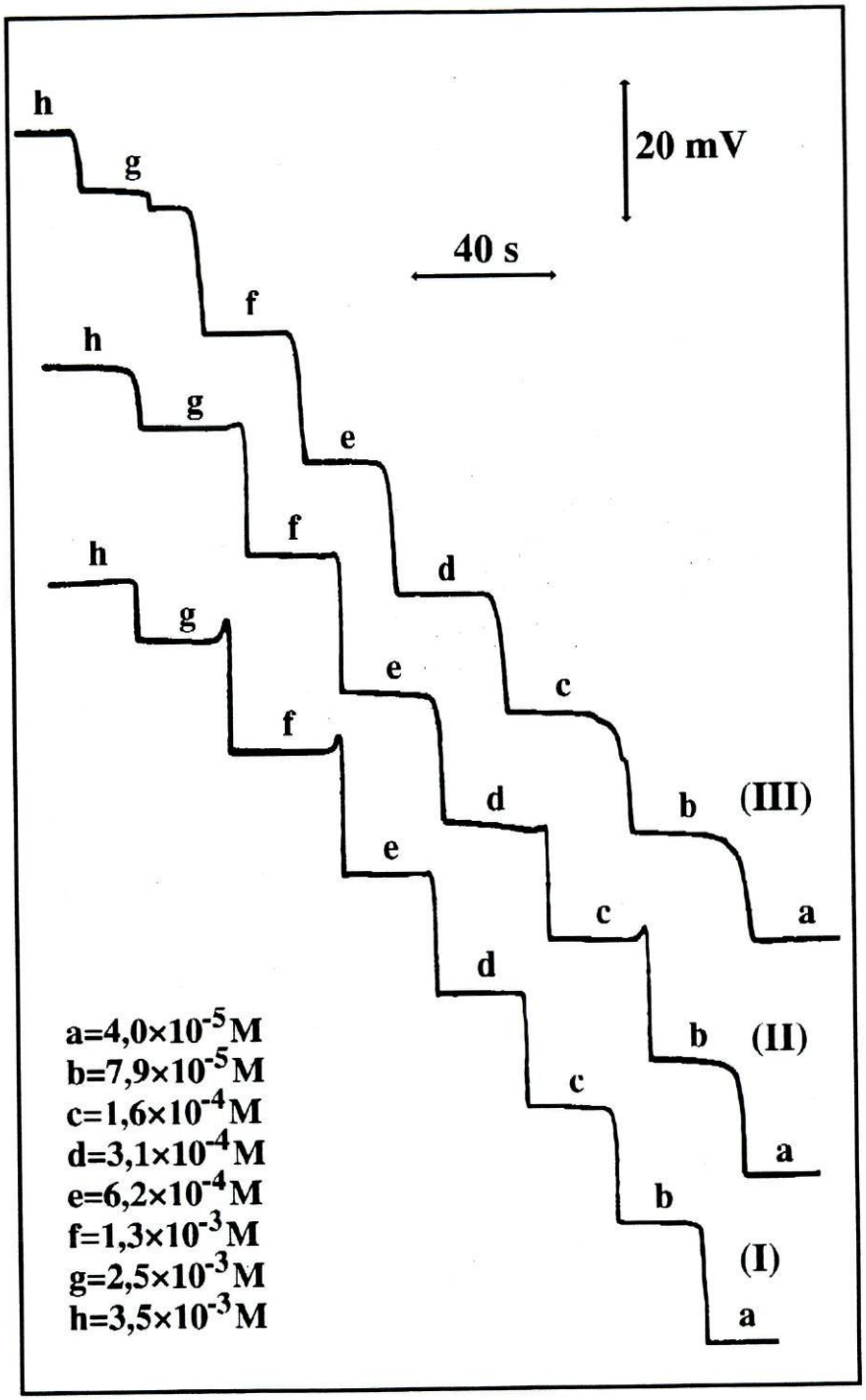


Figura 6.3.2.1. - Tempos de resposta para um eléctrodo cujo extractor iónico era dissolvido em 2-nitrofeniloctiléter (tipo 6A), obtidos em soluções sem (I) e com a força iónica ajustada com sulfato de sódio (II) e em soluções ajustadoras de pH e força iónica (III).

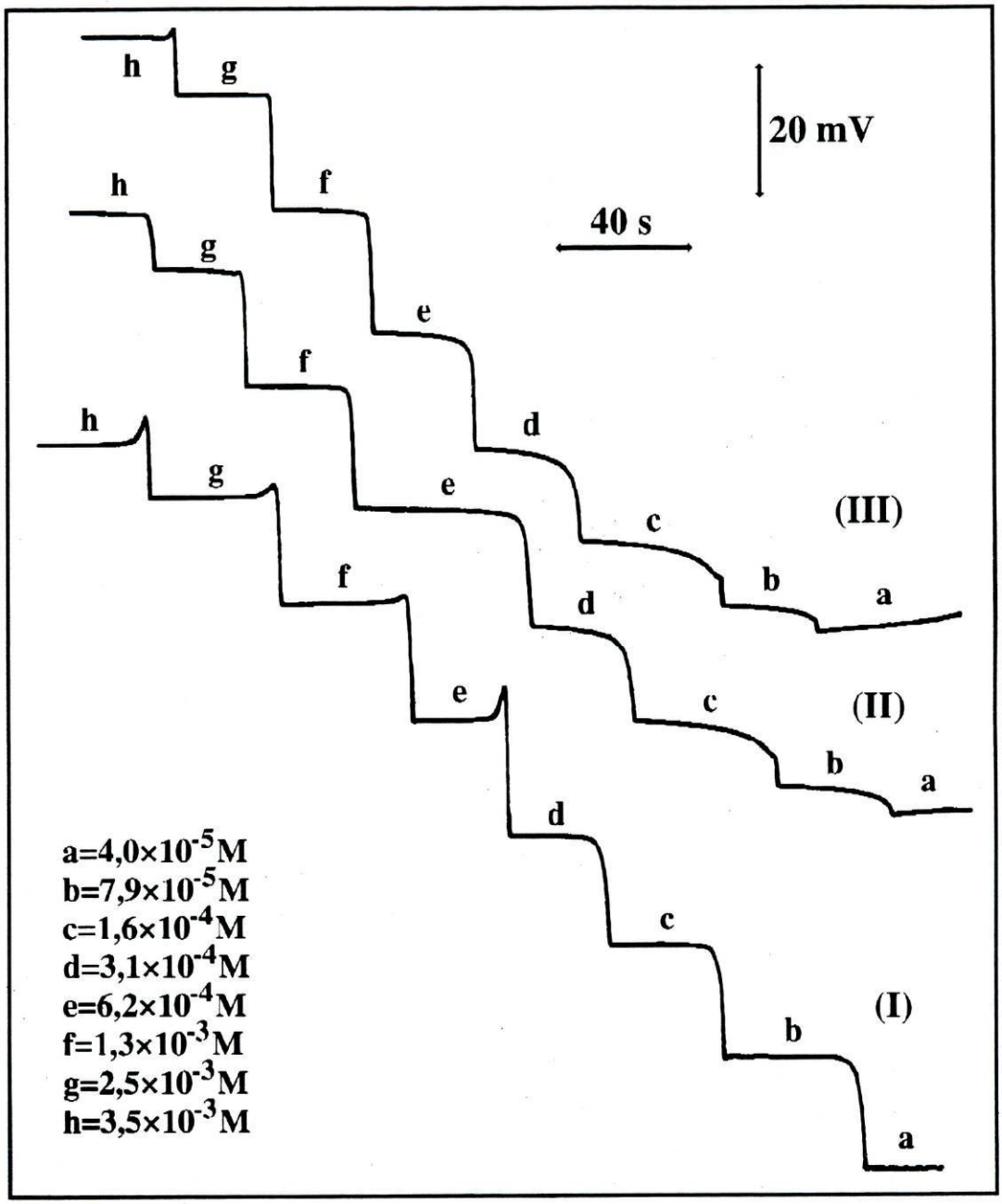


Figura 6.3.2.2. - Tempos de resposta para um eléctrodo cujo extractor iónico era dissolvido em dibutilftalato (tipo 6B), obtidos em soluções sem (I) e com a força iónica ajustada com sulfato de sódio (II) e em soluções ajustadoras de pH e força iónica (III).

6.3.3. - Efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos

O efeito do pH nos valores de potencial dos eléctrodos, foi avaliado pelo traçado dos diagramas de Reilley (ver 2.7.3., Cap. 2), em soluções de atropina com concentração de 5×10^{-3} e 5×10^{-4} M. Os ensaios foram efectuados em soluções sem e com a força iónica ajustada com Na_2SO_4 0,033 M.

O pH da solução inicial foi modificado pela adição de pequenos volumes de soluções concentradas de ácido sulfúrico e posteriormente de hidróxido de sódio. A escolha destas soluções deveu-se aos coeficientes de selectividade potenciométricos determinados para os eléctrodos de atropina em relação ao catião sódio (ver 6.3.4.) e ao facto de ter sido utilizado como ajustador de força iónica o sulfato de sódio.

Os resultados apresentados nas Figs. 6.3.3.1. e 6.3.3.2., demonstraram que o potencial de ambos tipos de eléctrodos e para os dois níveis de concentração de atropina estudados, praticamente não variava (variação inferior a ±2,0 mV) no intervalo de pH entre aproximadamente 2,5 e 9,0 unidades. Para valores de pH acima de 9,0 unidades, ocorre uma diminuição de potencial devido ao aumento da concentração da fracção não protonizada de atropina.

Os resultados obtidos são semelhantes aos apresentados, por outros autores, para unidades que usavam como extractor iónico o tetrafenilborato de atropina [7, 9] (Tabela 6.3.1.2.). Relativamente às outras unidades [8, 10], registou-se uma melhoria significativa no patamar operacional dos eléctrodos.

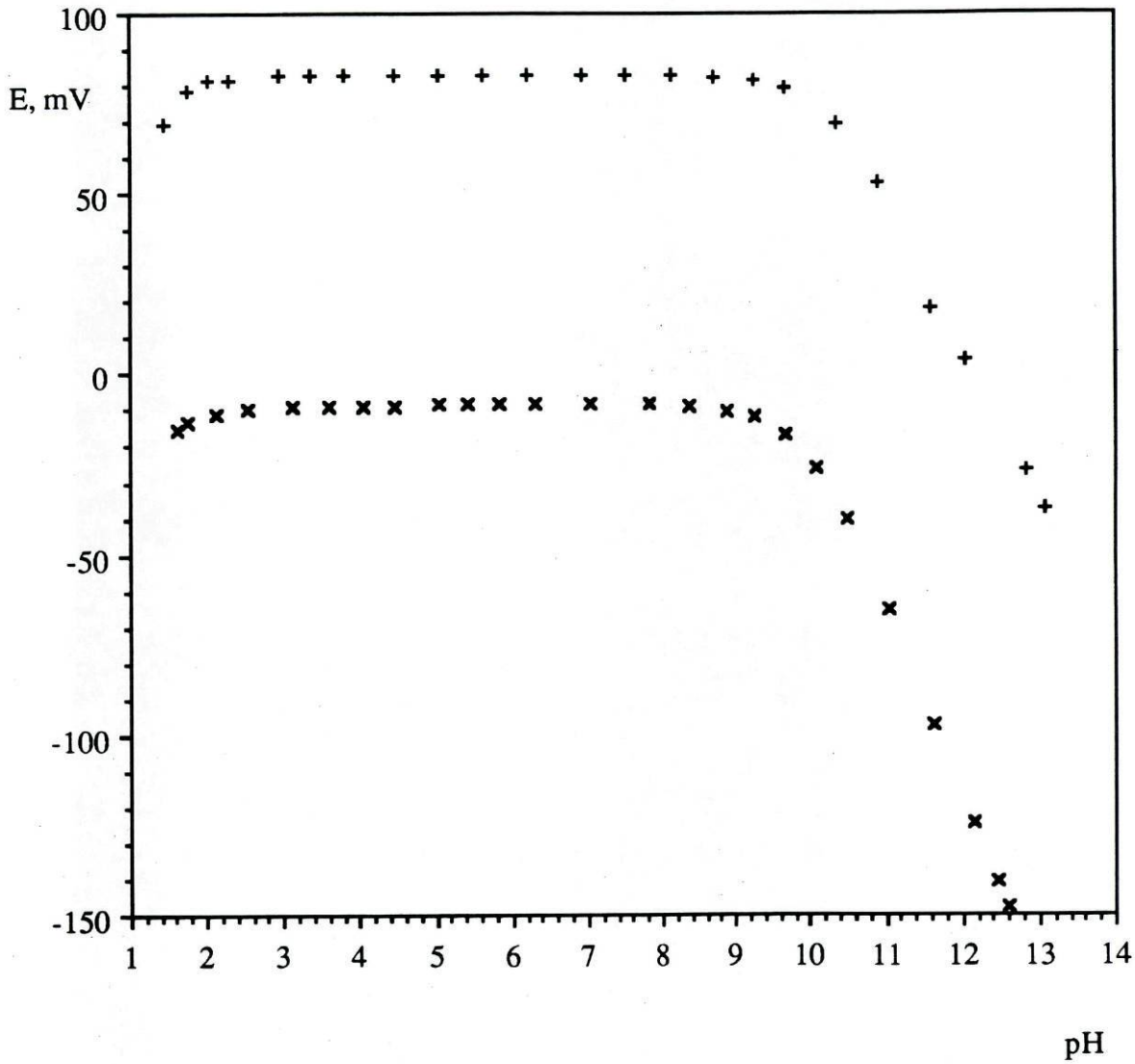


Figura 6.3.3.1. - Diagrama da variação do potencial, com o pH das soluções, para eléctrodos baseados em 2-nitrofeniloctiléter como solvente mediador (tipo 6A), em soluções sem a força iónica ajustada, com a concentração de 5×10^{-3} (+) e 5×10^{-4} M (×) em atropina.

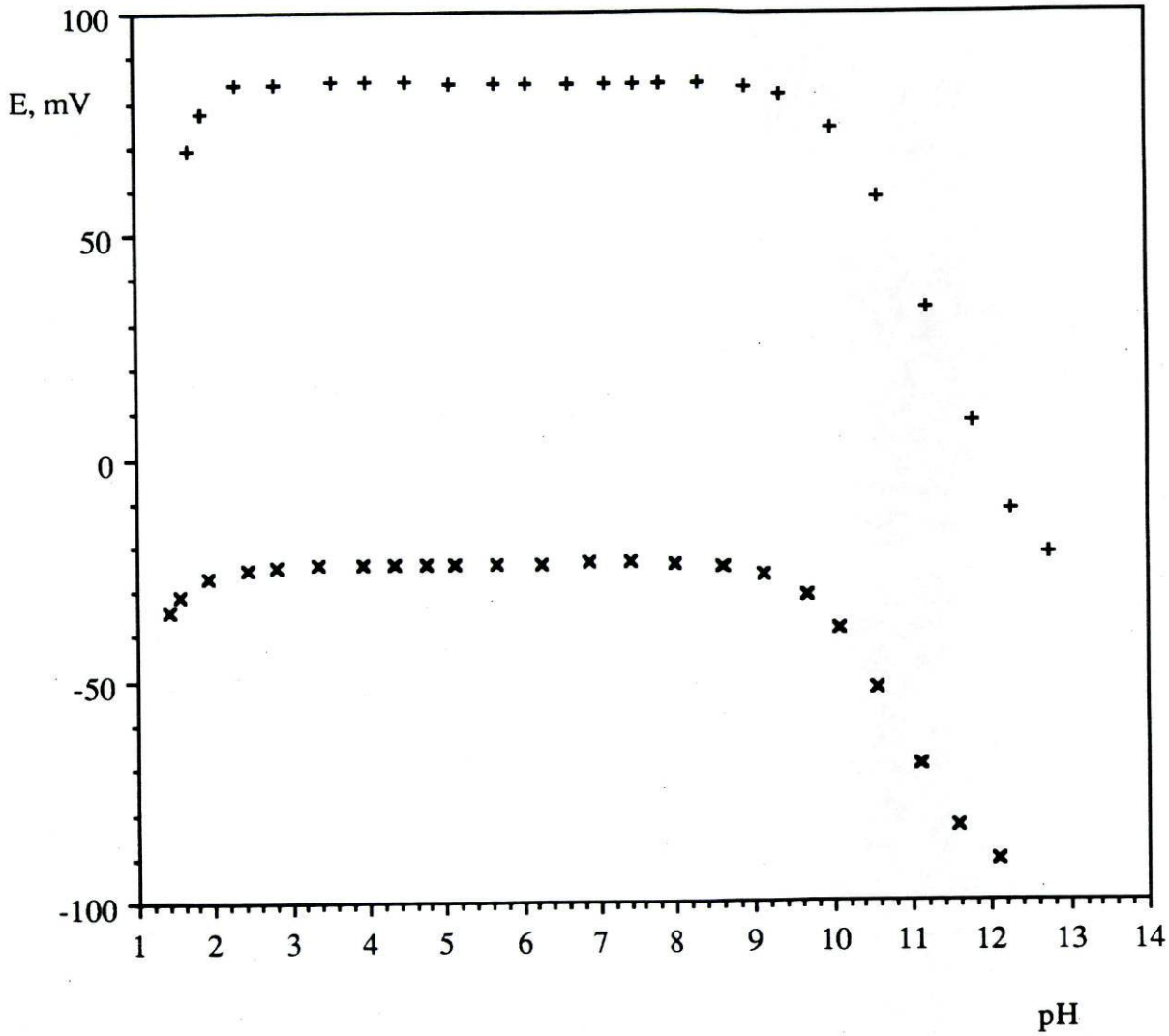


Figura 6.3.3.2. - Diagrama da variação do potencial, com o pH das soluções, para eléctrodos baseados em dibutilftalato como solvente mediador (tipo 6B), em soluções sem a força iónica ajustada, com a concentração de 5×10^{-3} (+) e 5×10^{-4} M (×) em atropina.

6.3.4. - Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos

Para avaliar a extensão da interferência de vários catiões no eléctrodo de atropina, determinaram-se os coeficientes de selectividade potenciométricos ($K^{pot}_{A,B}$), usando o método das soluções separadas (ver 2.7.4., Cap. 2). Para tal efectuaram-se calibrações em soluções puras do ião principal e em soluções puras do ião interferente, ambas no intervalo de concentração entre 2×10^{-5} e 10^{-3} M. Posteriormente, foram calculados os respectivos coeficientes de selectividade potenciométricos a três níveis de concentração (ver 2.7.4., Cap. 2), cujos resultados médios e respectivos desvios padrão de duas determinações com dois eléctrodos de cada tipo se indicam na Tabela 6.3.4.1..

Estudou-se a extensão da interferência de alguns catiões inorgânicos comuns, nomeadamente cálcio, sódio, amónio e potássio, bem como de alguns alcalóides (efedrina, escopolamina, estricnina, pilocarpina e quinidina) e do tetrapentilamónio.

Uma vez que os colírios oftálmicos que contêm atropina, têm igualmente na sua composição o cloreto de sódio, a possível interferência do catião sódio, reveste-se de particular importância. Devido a este facto, foram igualmente determinados os coeficientes de selectividade potenciométricos, para o catião sódio, pelo método da interferência fixada (ver 2.7.4. no Cap. 2) para, de uma forma mais realista se poder apreciar o valor obtido. Com este método e com a concentração do catião sódio fixada a 0,1 M, obtiveram-se os valores para os coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$) de -4,1±0,1 e -3,1±0,2 para respectivamente, as unidades do tipo 6A e 6B. A boa selectividade dos eléctrodos construídos relativamente ao catião sódio justificaram a escolha de sulfato de sódio como solução externa do eléctrodo de referência.

De acordo com alguns autores [24] é possível calcular o coeficiente de selectividade potenciométrico máximo, de modo a que a precisão das medições

efectuadas por potenciometria directa não seja afectada pela presença do catião interferente. Para tal basta aplicar a seguinte equação:

$$K_{A,B,max}^{pot} = \frac{a_{A,min}}{\left(a_{B,max}\right)^{Z_A/Z_B}} \times \left(10^{2\sigma/D} - 1\right) \qquad (6.1.)$$

sendo σ o desvio padrão da medida potenciométrica efectuada, D o declive da curva de calibração do eléctrodo, efectuada em soluções puras do ião principal, Z_A e Z_B, a carga dos iões principal e interferente, $a_{A,min}$ a menor actividade do ião principal, que pode ser encontrada nas amostras e $a_{B,max}$ a maior actividade do ião interferente, que pode ser encontrada nas amostras. Aplicando a eq. 6.1., obteve-se um $\log K_{A,B,max}^{pot}$ = -2,8, que é superior ao encontrado para as unidades do tipo 6A, pelo que é de considerar que essas unidades apresentam uma selectividade óptima para a determinação de atropina em colírios.

Como é possível observar na Tabela 6.3.4.1. os eléctrodos construídos, apresentavam boas características de selectividade, sobretudo em relação aos iões inorgânicos estudados. Verifica-se igualmente, que os eléctrodos que utilizavam como solvente mediador o 2-nitrofeniloctiléter (tipo 6A), apresentavam-se ligeiramente mais selectivos. As diferenças observadas, entre os dois tipos de unidades, devem-se às características físicas do solvente mediador utilizado, principalmente à constante dieléctrica, 23,5 para o 2-nitrofeniloctiléter [21] e 6,44 para o dibutilftalato [20], que condiciona, em maior ou menor extensão, as forças de ligação entre o extractor e as espécies iónicas em solução [15, 17].

A maior selectividade apresentada pelas unidades do tipo 6A, principalmente relativamente ao catião sódio, justificaram a sua utilização analítica.

A interferência apresentada por outros alcalóides, não é significativa relativamente ao tipo de aplicação proposta para os eléctrodos, uma vez que as

formulações que contêm atropina, não contêm outros alcalóides.

Genericamente é difícil uma comparação com os resultados obtidos por outros autores, para outras unidades sensíveis à atropina [7-10] (Tabela 6.3.4.2.), uma vez que os valores que são indicados correspondem a outros métodos de determinação e/ou concentrações de interferentes diferentes.

Onde é possível fazer-se uma comparação dos resultados obtidos [9], poderá afirmar-se que os eléctrodos do tipo 6A, que utilizavam como solvente mediador o 2-nitrofeniloctiléter, apresentam-se mais selectivos que os descritos [9], sobretudo relativamente aos catiões sódio e cálcio. O aumento de selectividade observada, deve-se à constante dieléctrica do 2-nitrofeniloctiléter mais elevada.

Tabela 6.3.4.1. - Coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$) para os eléctrodos de atropina [a].

Interferentes	Eléctrodo do tipo 6A			Eléctrodo do tipo 6B		
	Concentração (M)			Concentração (M)		
	$1x10^{-4}$	$5x10^{-4}$	$1x10^{-3}$	$1x10^{-4}$	$5x10^{-4}$	$1x10^{-3}$
Cálcio	-3,5±0,1	-3,7±0,2	-3,8±0,2	-3,1±0,1	-3,3±0,1	-3,4±0,1
Sódio	-1,7±0,1	-2,4±0,1	-2,7±0,1	-1,3±0,1	-1,8±0,1	-2,0±0,1
Amónio	-1,5±0,1	-2,0±0,1	-2,3±0,1	-1,1±0,1	-1,5±0,1	-1,7±0,1
Potássio	-1,3±0,1	-1,8±0,1	-2,0±0,1	-0,9±0,1	-1,3±0,1	-1,4±0,1
Efedrina	-0,3±0,1	-0,5±0,1	-0,6±0,1	-0,1±0,1	-0,1±0,1	-0,2±0,1
Escopolamina	-0,2±0,1	-0,4±0,1	-0,5±0,1	-0,2±0,1	-0,3±0,1	-0,4±0,1
Pilocarpina	-0,1±0,1	-0,2±0,1	-0,3±0,1	-0,1±0,1	-0,2±0,1	-0,3±0,1
Estricnina	+0,1±0,1	+0,9±0,1	+1,2±0,1	+0,1±0,1	+0,8±0,1	+1,0±0,1
Quinidina	+0,1±0,1	+1,1±0,2	+1,7±0,1	+0,1±0,1	+1,5±0,1	+1,8±0,1
Tetrapentilamónio	+0,1±0,1	+5,4±0,3	+7,1±0,2	+0,1±0,1	+4,6±0,6	+6,1±0,1

[a] Média e desvio padrão de quatro valores obtidos em duas determinações com dois eléctrodos cada.

Tabela 6.3.4.2. - Comparação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$), para eléctrodos sensíveis à atropina, referidos na literatura [7-10].

Referência	Método	Conc.	Cálcio	Sódio	Potássio	Amónio	Estricnina
tipo 6A	Sol. separ.	10^{-3} M	-3,8	-2,5	-2,5	-2,3	+1,2
tipo 6B	Sol. separ.	10^{-3} M	-3,4	-1,7	-1,8	-1,7	+1,0
[7] a)	Int. fixada	10^{-2} M	-3,2	<-4	-4,0	-3,7	n.r.
[8] b)	Int. fixada	10^{-2} M	s.v.	s.v.	s.v.	-2,9	+0,5
[8] c)	Int. fixada	10^{-2} M	s.v.	s.v.	s.v.	-2,5	+0,4
[9] d)	Sol. separ.	10^{-2} M	-0,6	-0,1	-2,7	-2,9	n.r.
[9] e)	Sol. separ.	10^{-2} M	-0,4	-0,1	-2,5	-2,9	n.r.
[9] f)	Sol. separ.	10^{-2} M	-4,5	-0,2	-0,1	-2,9	n.r.
[9] g)	Sol. separ.	10^{-2} M	-0,5	-0,1	-2,6	-2,7	n.r.
[10] h)	Int. fixada	10^{-3} M	s.v.	s.v.	s.v.	-2,8	+0,5
[10] i)	Int. fixada	10^{-3} M	s.v.	s.v.	s.v.	-2,5	+0,4

Sol. separ. - Método das soluções separadas; Int. fixada - Método da interferência fixada; n.r. - não refere; s.v. - não indica valor de interferência, apenas refere que não interfere; a) Eléctrodos de membrana líquida de tetrafenilborato de atropina em 2-nitrotolueno; b) Eléctrodos de reineckato de atropina em álcool benzílico; c) Eléctrodos de reineckato de atropina em dioctilftalato; d) Eléctrodos de tetrafenilborato de atropina em dinonilftalato; e) Eléctrodos de dipicrilaminato de atropina em dinonilftalato; f) Eléctrodos de tetraiodomercurato de atropina em dinonilftalato; g) Eléctrodos de reineckato de atropina em dinonilftalato; h) Eléctrodos de 5-nitrobarbiturato de atropina em n-octanol; i) Eléctrodos de picrolonato de atropina em p-nitrotolueno.

6.3.5. - Doseamento da atropina em formulações farmacêuticas de uso oftálmico

As determinações de atropina em formulações farmacêuticas, foram executadas em soluções com a força iónica e o pH ajustados, para que as soluções padrão e as amostras fossem comparáveis. Como o catião escolhido para efectuar tal ajuste foi o sódio e como este interfere mais nos eléctrodos do tipo 6B, apenas foram utilizadas as unidades do tipo 6A no doseamento de atropina em formulações farmacêuticas comercializadas em Portugal por potenciometria directa (ver 2.9.2. no Cap. 2).

Na ausência de uma metodologia de referência aplicável às formulações comercializadas, a exactidão e precisão dos resultados obtidos, foram avaliadas pelo cálculo dos respectivos valores de recuperação e pela comparação dos valores obtidos por potenciometria directa com os obtidos pelo método da adição da quantidade conhecida. Para o cálculo dos valores pelo método de adição e das percentagens de recuperação foi seguido o processo descrito no Cap. 2 (2.9.3.).

Na Tabela 6.3.5.1., indicam-se as médias e desvios padrões, dos resultados obtidos por potenciometria directa e pelo método de adição e os respectivos valores de recuperação, relativos a quatro determinações efectuadas com três eléctrodos cada. Apresentam-se igualmente, para as determinações por potenciometria directa, os coeficientes de variação.

Os valores indicados na Tabela 6.3.5.1. permitem afirmar que o método proposto permite a obtenção de resultados exactos. Para além disso o baixo coeficiente de variação atesta a boa reprodutibilidade e precisão dos resultados obtidos.

Além da boa precisão e exactidão é de realçar a facilidade de preparação das amostras e o curto espaço de tempo necessário à realização de uma curva de calibração e doseamento de pelo menos 5 amostras (15 minutos).

Tabela 6.3.5.1. - Valores obtidos (expressos em percentagem em peso) no doseamento de atropina em formas farmacêuticas de uso oftálmico, usando os eléctrodos do tipo 6A, baseados em tetraquis(4-clorofenil)borato de atropina dissolvido em 2-nitrofeniloctiléter.

Preparação [a]	Potenciometria directa [b] (% m/m)	C.V. (%)	Método de adição [b] (% m/m)	Recuperação [b] (% m/m)
Atropocil (solução oftálmica)	0,72±0,03	4,17	0,70±0,05	105,6±6,0
Atropocil (pomada oftálmica)	0,30±0,01	3,33	0,30±0,01	100,3±1,7
Atropoftalmina (pomada oftálmica)	0,43±0,01	2,32	0,43±0,01	100,9±3,7

[a] Nomes comerciais de formulações de uso oftálmico disponíveis no mercado português; [b] Média e desvios padrão de quatro determinações com três eléctrodos cada.

6.4. - Conclusões

Os valores das experiências efectuadas com os eléctrodos preparados, levam-nos a concluir que a utilização de tetraquis(4-clorofenil)borato de atropina como extractor iónico, 2-nitrofeniloctiléter como solvente mediador e eliminação da solução de referência interna, sensíveis à atropina, permitiu a obtenção de unidades com boas características de funcionamento. Entre as melhorias obtidas, realça-se o aumento da zona de resposta linear, a melhor reprodutibilidade dos potenciais, a maior selectividade dos eléctrodos e o tempo de vida das unidades construídas substancialmente maior, representando na globalidade, uma evolução relativamente ao anteriormente descrito na literatura.

Esta evolução deve-se à combinação de um extractor iónico mais hidrófobo, com um solvente mediador de elevada constante dieléctrica e viscosidade, que favorece as capacidades extractivas da membrana para o catião atropina.

Em alternativa ao uso de 2-nitrofeniloctiléter como solvente mediador, poderá ser utilizado na preparação dos eléctrodos o dibutilftalato. Estas unidades apresentavam também genericamente boas características de funcionamento, em grande parte semelhantes aos eléctrodos preparados com 2-nitrofeniloctiléter, mas são menos selectivos, sobretudo relativamente ao catião sódio. Este aspecto é importante, e justificou a utilização apenas das unidades do tipo 6A nos produtos analizados, uma vez que esse catião se encontrava presente em elevadas concentrações.

Relativamente ao catião sódio, é de salientar que o coeficiente de selectividade potenciométrico obtido para as unidades preparadas com 2-nitrofeniloctiléter, é bastante inferior ao coeficiente de selectividade potenciométrico máximo necessário para que a determinação de atropina em formulações farmacêuticas, seja efecutada sem afectar a precisão e exactidão dos resultados.

Por outro lado a eliminação da solução de referência interna contribuiu bastante para o elevado tempo de vida das unidades, bem como a boa reprodutibilidade e tempo de resposta das mesmas.

A globalidade dos resultados obtidos, permite afirmar que a potenciometria directa com eléctrodos de atropina, apresenta-se realmente como uma metodologia alternativa às oficiais, para o doseamento de atropina. A prová-lo estão os resultados precisos e exactos encontrados quando da análise de formulações farmacêuticas comercializadas em Portugal.

Além da exactidão e precisão dos resultados obtidos, é também de realçar a facilidade de preparação das amostras e a simplicidade de execução da metodologia. Destaca-se, ainda, a facilidade de aplicação da potenciometria directa a diferentes fórmulas farmacêuticas, bastando para isso uma simples diluição da amostra.

6.5. - Referências bibliográficas

[1] - *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16ª edição, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvânia (1980)

[2] - A. G. Gilman, L. S. Goodman e A. Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 6ª edição, MacMillan Publishing Company, Inc., Nova York (1980)

[3] - *British Pharmacopoeia 1988*, HM Stationery Office, Londres (1988)

[4] - *U. S. Pharmacopeia, National Formulary 1990*, U. S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville (1990)

[5] - V. V. Cosofret e R. P. Buck, *Ion.-Sel. Electrode Rev.*, **6**, 59 (1984)

[6] - V. V. Cosofret, *Membrane Electrodes in Drug-Substances Analysis*, Pergamon Press, Oxford (1982)

[7] - E. P. Diamandis, E. Athanasiou-Malaki, D. S. Papastathopoulos e T. P. Hadjiioannou, *Anal. Chim. Acta*, **128**, 239 (1981)

[8] - S. S. M. Hassan e F. S. Tadros, *Anal. Chem.*, **56**, 542 (1984)

[9] - H. Lin, H. Liu e G. Shen, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **5**, 150 (1985)

[10] - S. S. M. Hassan, M. A. Ahmed e F. S. Tadros, *Talanta*, **34** (8), 723 (1987)

[11] - E. Halamek, T. Capoun e J. Soucek, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **53**, 912 (1988)

[12] - G. H. Zhang, T. Imato, Y. Asano, T. Sonoda, H. Kobayashi e N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, **62**, 1644 (1990)

[13] - O. F. Schafer, *Anal. Chim. Acta*, **87**, 495 (1976)

[14] - G. J. Moody, B. B. Saad e J. D. R. Thomas, *Sel. Electrode Rev.*, **10**, 71 (1988)

[15] - G. Baum e M. Lynn, *Anal. Chim. Acta*, **65**, 393 (1973)

[16] - L. Cunningham e H. Freiser, *Anal. Chim. Acta*, **139**, 97 (1982)

[17] - C. R. Martin e H. Freiser, *Anal. Chem.*, **52**, 562 (1980)

[18] - K. Vytras, *Ion.-Sel. Electrode Rev.*, **7**, 77 (1985)

[19] - G. J. Moody, J. D. R. Thomas, J. L. F. C. Lima e A. A. S. C. Machado, *Analyst*, **113**, 1023 (1988)

[20] - S.-Z. Yao e G.-H. Liu, *Talanta*, **32**, 1113 (1985)

[21] - A. M. Y. Jaber, G. J. Moody e J. D. R. Thomas, *Analyst*, **101**, 179 (1976)

[22] - G. J. Moody, R. K. Owusu e J. D. R. Thomas, *Analyst*, **112**, 121 (1987)

[23] - A. A. Bouklouze, A. El Jammal, J.-C. Vire e G. J. Patriarche, *Anal. Chim. Acta*, **257**, 41 (1992)

[24] - G. Nagy, K. Toth e E. Pungor, *Anal. Lett.*, **26**, 1391 (1993)

CAPÍTULO 7

ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A TETRAFENILBORATO

7. - ELÉCTRODOS SELECTIVOS DE IÕES SENSÍVEIS A TETRAFENILBORATO

7.1. - Introdução

O tetrafenilborato (BPh4) tem sido largamente utilizado como reagente de precipitação de vários catiões de carga unitária, sais de amónio quaternário, alcalóides e outras bases orgânicas.

Em 1956, Crane [1], efectuando reacções de precipitação de aminas orgânicas com soluções aquosas de tetrafenilborato de sódio concluiu que qualquer amina orgânica, que apresentasse o átomo de azoto protonado, poderia precipitar com o BPh4. Esse mesmo autor teria sido, segundo Vytras [2], o primeiro a utilizar a potenciometria como processo de detecção do ponto final em titulações de precipitação com o BPh4. Nesse trabalho os seus autores [1], após a preparação dos sais de tetrafenilborato de amina, procediam à titulação potenciométrica com uma solução aquosa de nitrato de prata, utilizando um eléctrodo de prata como indicador.

Desde então muitas têm sido as aplicações do BPh4 como titulante para espécies catiónicas [2-4]. Entre as diferentes espécies catiónicas tituladas, destacam-se o catião potássio [5-8], outros catiões inorgânicos [9-12], tensioactivos catiónicos [13, 14], tensioactivos não iónicos [15, 16], corantes [17, 18] e vários alcalóides [9, 13, 19-22].

Igualmente diversificado têm sido os tipos de eléctrodos selectivos de iões utilizados como indicadores dessas titulações [3], nomeadamente eléctrodos sensíveis a potássio [5, 6, 12, 13], tetrafluorborato [12, 13], perclorato [13], cianeto [12, 13] e prata [12, 14]. Contudo foram apenas referidos na literatura dois casos de titulações aplicando eléctrodos sensíveis a BPh4 [19, 23].

Em alternativa, têm sido usados como indicadores de titulações de precipitação com o BPh4, diferentes eléctrodos contendo apenas solvente mediador [7, 8, 10, 18, 21, 24, 25], sem incluirem o extractor iónico. Tal variedade de eléctrodos é justificada pelo facto de que em titulações potenciométricas o importante é a boa definição da variação de potencial junto do ponto de equivalência [3, 4, 26].

Embora seja afirmado que para titulações potenciométricas o declive das curvas de calibração dos eléctrodos não necessita de ser Nernstiano nem reprodutível e que o potencial junto do ponto de equivalência seja igualmente secundário [3, 4, 26], por outro lado e como é óbvio, o declive das curvas de calibração e o limite inferior de resposta linear dos eléctrodos condicionam o potencial antes e depois do ponto final da titulação, bem como a sua variação junto do ponto de equivalência. Assim, a obtenção de unidades sensíveis ao BPh4 com amplas zonas de resposta linear favorecem a obtenção de curvas de titulação mais bem definidas e consequentemente um aumento da precisão dos resultados.

Até ao momento os eléctrodos descritos sensíveis ao BPh4 [19, 23], utilizavam o sensor iónico na forma líquida, incorporado num corpo de eléctrodos da marca Orion, modelo 92. Este tipo de unidades é pouco recomendável em análises de rotina, já que requerem grandes cuidados de manutenção e de utilização [27, 28], uma vez que a sua resposta é fortemente influênciada pela agitação das soluções onde os eléctrodos estão imersos devido à formação e retenção de bolhas de ar na membrana porosa que suporta o sensor [28, 29]. Por outro lado, a constante perda de sensor iónico a que o eléctrodo está sujeito, contribui para a diminuição do tempo de vida das unidades, exigindo um reenchimento periódico do reservatório que o contém (cerca de 0,5 mL), aumentando consideràvelmente os custos das unidades [29].

Esses eléctrodos [19, 23] utilizavam como extractor iónico um sal de amónio quaternário, tetrafenilborato de tetrapentilamónio [19], ou tetrafenilborato

de tris-n-octilmetilamónio [23], dissolvido em 4-nitro-m-xileno [19] ou nitrobenzeno [23], como solventes mediadores. Além das desvantagens associadas ao uso de uma membrana na forma líquida, estas unidades apresentavam igualmente curtas zonas de resposta linear e declives da curva de calibração com valores sub-Nernstiano, devido ao tipo de mistura sensora utilizada. Estes factores são muito importantes para uma boa definição da curva de titulação.

Esta situação justificou a construção de eléctrodos de membrana de PVC sensíveis a BPh4, com permutador iónico e solvente mediador de boas características plastificantes e sem solução de referência interna, visando obter unidades com amplas zonas de resposta linear, boas características de selectividade e boa estabilidade mecânica. Desta forma visava-se tornar atraente a determinação de alcalóides em formulações farmacêuticas por titulações potenciométricas, em análises laboratoriais de rotina. Para tal utilizou-se como solvente mediador o 2-nitrofenilfeniléter e como extractor iónico o tetrafenilborato de tetrapentilamónio ou de tetraoctilamónio.

7.2. - Parte experimental

7.2.1. - Aparelhagem e eléctrodos

Para se efectuarem as medições de potencial entre os eléctrodos de BPh4 construídos e o eléctrodo de referência, utilizou-se o tipo de aparelhagem descrito anteriormente (ver 2.1. no Cap. 2). Em todas as determinações foi utilizado um eléctrodo de referência, de dupla junção, com sulfato de sódio 0,033 M no compartimento exterior.

Para efectuar as titulações potenciométricas, utilizou-se ainda um sistema composto por uma unidade de adição de reagentes, uma unidade de adquisição de dados e outra de tratamento de resultados, de acordo com o anteriormente referido [30] e descrito no Cap. 2 (ver 2.1.).

7.2.2. - Reagentes e soluções

As soluções de tetrafenilborato de sódio (NaBPh4) com concentração igual a 10^{-1} e 10^{-2} M usadas para a avaliação dos eléctrodos, foram preparadas, por diluição rigorosa de NaBPh4 (Fluka, ref. 72020), também este rigorosamente pesado. As diluições foram efectuadas com água desionizada ou com uma solução ajustadora da força iónica, conforme os ensaios eram executados sem ou com ajuste de força iónica. As soluções de menor concentração eram preparadas a partir destas por simples diluição, com água e ajustador respectivamente.

O ajuste da força iónica a 0,1 M, foi efectuado com uma solução de sulfato de sódio. Nas determinações de alcalóides em medicamentos, por titulação, utilizou-se para ajustar a força iónica e o pH das amostras, uma solução tampão de

dihidrogenofosfato de sódio e hidrogenofosfato de sódio (NaH_2PO_4/Na_2HPO_4) (pH = 6,3 e I = 0,1 M), preparada pela adição de 98,00 mL de uma solução de NaH_2PO_4 a 0.5 M, a 34,00 mL de outra solução com igual concentração de Na_2HPO_4, completando-se de seguida o volume de 1000,0 mL com água desionizada.

As soluções de NaBPh4 usadas como titulante em concentração igual a 10^{-1} ou 10^{-2} M, foram preparadas por dissolução rigorosa do sólido numa solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M). Posteriormente, estas soluções foram tituladas com nitrato de tálio, conforme descrito anteriormente [2, 8] para que, com rigor, fosse determinada a sua concentração. A solução padrão de nitrato de tálio, foi preparada após pesagem rigorosa do sólido (Aldrich, ref. 20.460-9, pureza 99,999 %), por diluição num volume rigorosamente conhecido de solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M).

Para a determinação de quinidina ou quinina em formulações, foi usado o NaBPh4 como titulante em concentração igual a 10^{-2} M, enquanto que para a pilocarpina ou atropina a mesma solução tinha uma concentração igual a 10^{-1} M.

7.2.3. - Preparação dos sistemas sensores e membranas

Foram preparados dois tipos de extractores iónicos para a construção dos eléctrodos sensíveis a BPh4, ambos obtidos pela precipitação de respectivamente brometo de tetraoctilamónio e brometo de tetrapentilamónio, com uma solução aquosa de NaBPh4 (ver 2.5.2. no Cap. 2).

Para a preparação do tetrafenilborato de tetraoctilamónio (BPh4-TOA), extractor tipo 7A, procedeu-se à adição de 25,0 mL de uma solução aquosa de NaBPh4 0,1 M, a 20,0 mL de uma solução de brometo de tetraoctilamónio 0,1 M, preparada em acetona. O extractor iónico de tetrafenilborato de tetrapentilamónio

(**BPh4-TPA**), extractor tipo 7B, foi preparado pela adição de 25,0 mL da solução aquosa de NaBPh4 0,1 M, a 20,0 mL de uma solução aquosa de brometo de tetrapentilamónio com a mesma concentração. Por fim, procedeu-se, no caso do BPh4-TOA, a uma separação por filtração, dos cristais formados e no caso do BPh4-TPA, por centrifugação (ver 2.5.2., Cap. 2). Os cristais de BPh4-TPA foram separados por centrifugação em virtude de por filtração se formar uma espuma que dificultava a sua separação. Os cristais foram então secos e guardados em excicador.

Foram preparadas em diferentes proporções, várias misturas sensoras, diluindo respectivamente os extractores iónicos (BPh4-TOA e BPh4-TPA) em 2-nitrofenilfeniléter. Isto tinha como objectivo averiguar a influência da concentração do extractor iónico nas características dos eléctrodos. Indicam-se na Tabela 7.2.3.1. as composições das várias misturas sensoras (tipo $7A_1$, $7A_2$, $7A_3$, $7B_1$, $7B_2$, $7B_3$ e $7B_4$) estudadas. O sistema sensor de concentração mais elevada correspondia a uma solução próxima da saturação no par iónico correspondente.

Para a preparação dos eléctrodos, misturaram-se 0,40 mL de cada solução sensora, cuja composição se indicou, a 0,18 g de cloreto de polivinilo (PVC) prèviamente dissolvido em tetrahidrofurano (6 mL). Estas soluções eram depois aplicadas directamente sobre o suporte epoxídico condutor do corpo dos eléctrodos (**ver 2.5.2., Cap. 2**). Na Tabela 7.2.3.1. apresentam-se igualmente as composições **das membranas** usadas na construção dos correspondentes eléctrodos de tetrafenilborato (Tipo $7A_1$, $7A_2$, $7A_3$, $7B_1$, $7B_2$, $7B_3$ e $7B_4$).

Após secagem das membranas, e para promover a sua hidratação e consequente estabilização do sistema de referência interna, as respectivas unidades foram colocadas numa solução de NaBPh4 com concentração de 10^{-2} M, sendo mantidas nela sempre que não estavam a ser utilizadas.

Tabela 7.2.3.1. - Composição relativa (percentagem em massa) dos diferentes constituintes. dos sistemas sensores e membranas utilizados na construção dos eléctrodos de tetrafenilborato.

Tipo de Eléctrodos		Extractor iónico		2-Nitrofenilfeniléter		PVC
		Sensor	Membrana	Sensor	Membrana	
Eléctrodos tipo 7A [a)]	$7A_1$	3,2 %	2,2 %	96,8 %	66,3 %	31,5 %
	$7A_2$	2,4 %	1,7 %	97,6 %	66,6 %	31,7 %
	$7A_3$	1,6 %	1,1 %	98,4 %	67,8 %	31,1 %
Eléctrodos tipo 7B [b)]	$7B_1$	5,8 %	4,0 %	94,2 %	64,9 %	31,1 %
	$7B_2$	3,9 %	2,7 %	96,1 %	66,1 %	31,2 %
	$7B_3$	2,4 %	1,7 %	97,6 %	66,7 %	31,6 %
	$7B_4$	1,6 %	1,1 %	98,4 %	67,6 %	31,3 %

[a)] eléctrodos que utilizavam como extractor iónico o tetrafenilborato de tetraoctilamónio;

[b)] eléctrodos que utilizavam como extractor iónico o tetrafenilborato de tetrapentilamónio.

7.2.4. - Preparação das amostras de formulações farmacêuticas para as titulações potenciométricas com tetrafenilborato

Para a determinação por titulação de alcalóides em formulações contendo quinidina ou quinina (comprimidos, supositórios e bálsamos), dissolveu-se uma quantidade de produto, rigorosamente pesada, correspondente a cerca de 0.04 g de sulfato de quinidina, na solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6.3), até um volume final de 50.00 mL.

Para os colírios oftálmicos contendo atropina ou pilocarpina, mediu-se rigorosamente um volume equivalente a 0,06 g de cloridrato de pilocarpina ou 0,025 g de sulfato de atropina, que foi diluido até um volume de 100.0 mL com o referido tampão.

No caso das pomadas oftálmicas, foi pesado o equivalente a 0.05 g de cloridrato de pilocarpina ou 0,005 g de sulfato de atropina, que foram adicionados da referida solução tampão até completar um volume de 50.00 mL.

Por forma a liquefazer os excipientes sólidos e facilitar a homogeneização do produto e dissolução dos respectivos alcalóides no tampão, as amostras de bálsamos, supositórios e pomadas diluídas, foram colocadas em banho de ultra sons a cerca de 37°C (ver 2.9.1., Cap. 2).

Por fim, retiraram-se 20,00 mL de cada uma das soluções preparadas anteriormente que foram diluídas com o tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6.3) até o volume final de 50,00 mL. As titulações potenciométricas foram efectuadas sobre tomas de 20,00 mL de cada destas soluções (ver 2.9.2., Cap. 2).

Para avaliar a qualidade dos resultados obtidos por titulação, foram determinados os respectivos valores de recuperação sobre amostras adicionadas de uma quantidade conhecida do alcalóide.

7.3. - Resultados e sua discussão

7.3.1. - Parâmetros das curvas de calibração

A avaliação das características gerais de funcionamento dos eléctrodos construídos, foi efectuada pelo traçado das respectivas curvas de calibração, no intervalo de concentrações entre aproximadamente 10^{-6} e 10^{-1} M em BPh4, em soluções sem e com a força iónica ajustada a 0,1 M com sulfato de sódio. Apresentam-se nas Figs. 7.3.1.1. e 7.3.1.2. as curvas de calibração típicas obtidas nessas condições de ensaio, respectivamente para as unidades preparadas utilizando como extractor iónico o tetrafenilborato de tetraoctilamónio (Tipo 7A) e o tetrafenilborato de tetrapentilamónio (Tipo 7B).

Nas Tabelas 7.3.1.1. e 7.3.1.2. indicam-se os valores médios dos parâmetros de calibração obtidos, e respectivos desvios padrão, quando se efectuavam pelo menos duas determinações repetidas com três unidades de cada tipo.

Para todos os tipos de eléctrodos, verificou-se que os declives das curvas de calibração eram semelhantes quando avaliados nas mesmas condições de ensaio. Os valores dos limites inferiores de resposta linear (L.I.R.L.) e dos limites práticos de detecção (L.P.D.), eram da mesma ordem de grandeza, quando os ensaios eram executados nas mesmas condições analíticas. Contudo, a diminuição da concentração do sensor iónico na membrana provocava uma diminuição, embora pouco significativa, dos valores de L.I.R.L. e L.I.D.. Esta diminuição era máxima para uma percentagem de extractor da ordem de 1.7 %, valor a partir do qual se registava um acréscimo daqueles parâmetros.

Quando a força iónica era ajustada, verificava-se, em todas as unidades, uma diminuição dos valores de L.I.R.L. e um aumento do declive das curvas de calibração.

Para avaliar a reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos, ao longo de um dia de trabalho, procedeu-se ao traçado de três rectas de calibração, em soluções sem e com a força iónica ajustada, duas realizadas no início do dia e a terceira cerca de 6 horas após a primeira, no intervalo de concentrações compreendido entre 4×10^{-5} M e 2×10^{-2} M em NaBPh4. Nestas condições e para todos os eléctrodos, nunca foram observadas, em toda a gama de concentrações estudadas, variações de potencial superiores a ±1 mV.

Verificou-se que as unidades mantinham as suas características de funcionamento durante pelo menos 18 meses, pois não se registaram alterações das suas características de funcionamento durante esse espaço de tempo. Este longo tempo de vida deve-se sobretudo ao tipo de construção utilizada, uma vez que a eliminação da solução de referência interna permite a obtenção de unidades mecânicamente mais estáveis [31].

Como para as titulações das formulações farmacêuticas foi utilizado para ajustar o pH e a força iónica das amostras uma solução de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M), foram igualmente avaliadas, nestas condições, as características dos eléctrodos utilizados nas titulações potenciométricas de alcalóides. Verificou-se que para as unidades do tipo $7A_2$ o limite inferior de resposta linear era de $3,7\times10^{-6}$ M e o declive da curva de calibração de **-55,7±1,0 mV/log[BPh4]**, enquanto que os eléctrodos do tipo $7B_3$ esses valores **eram, respectivamente**, de $4,1\times10^{-6}$ M e -54,4±0,9 mV/log[BPh4].

Quando comparadas as características das unidades baseadas em extractores iónicos diferentes (7A e 7B), não se observaram diferenças significativas, pelo que será indiferente utilizar qualquer um dos extractores.

Quando comparados com os resultados fornecidos por outros autores, para unidades do mesmo tipo [19, 23] (Tabela 7.3.1.3.), verifica-se que houve melhoras significativas nas características gerais de funcionamento dos eléctrodos. Entre as melhoras obtidas, destaca-se o alargamento da zona de resposta linear, que em

alguns casos [19] chega a duas décadas de concentração, o aumento do declive das curvas de calibração para valores mais próximos do valor teórico (59.16 mV década^{-1}, t=25°C) e uma melhor reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos. Estes parâmetros, especialmente o alargamento da zona de resposta linear e o aumento do declive das curvas de calibração são muito importantes em titulações potenciométricas, pois favorecem uma melhor definição do ponto de equivalência e consequentemente a qualidade dos resultados melhora.

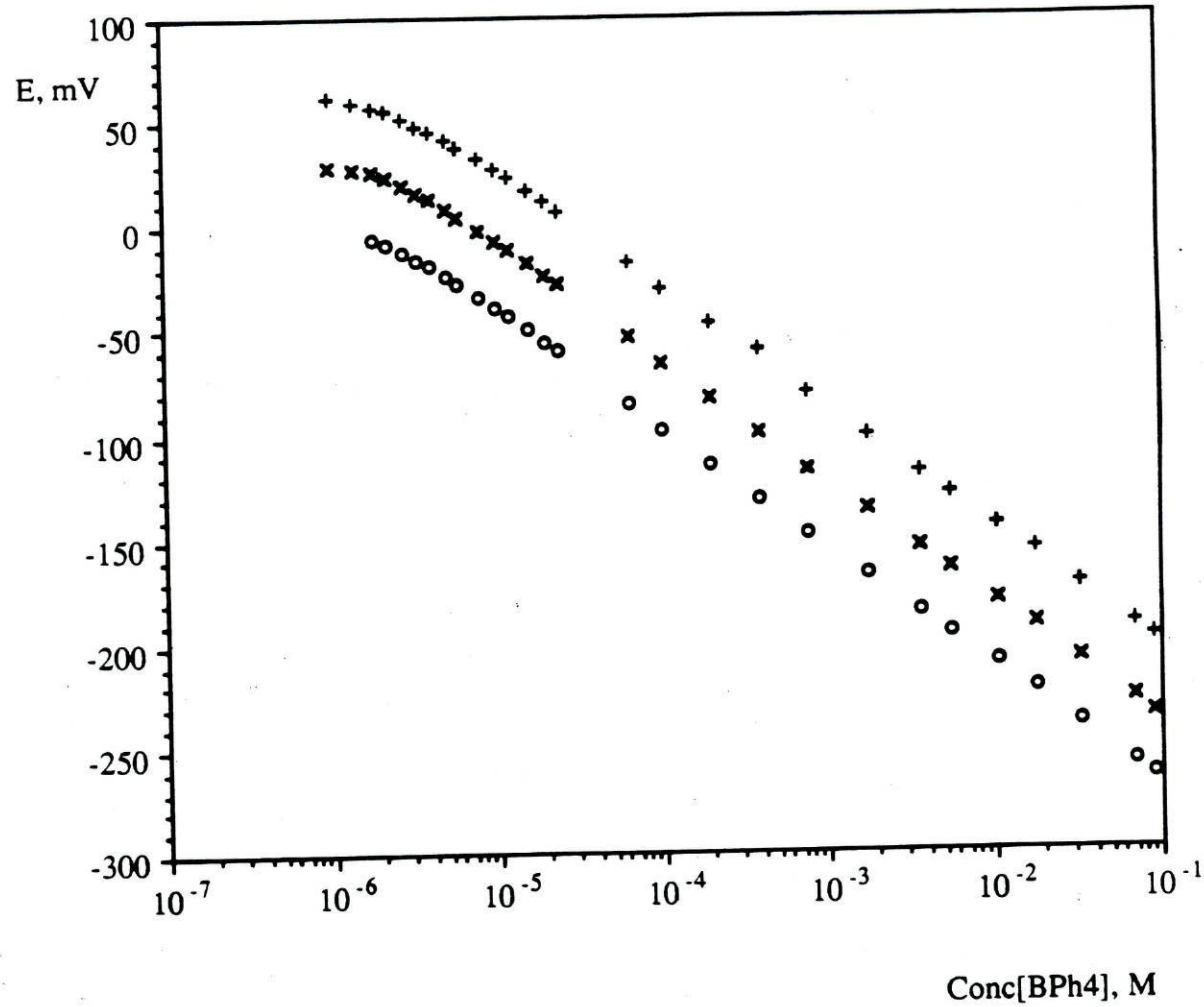


Figura 7.3.1.1. - Curvas de calibração típicas para eléctrodos preparados com tetrafenilborato de tetraoctilamónio (tipo 7A), (+) $7A_1$, (×) $7A_2$ e (o) $7A_3$, obtidas em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M com sulfato de sódio.

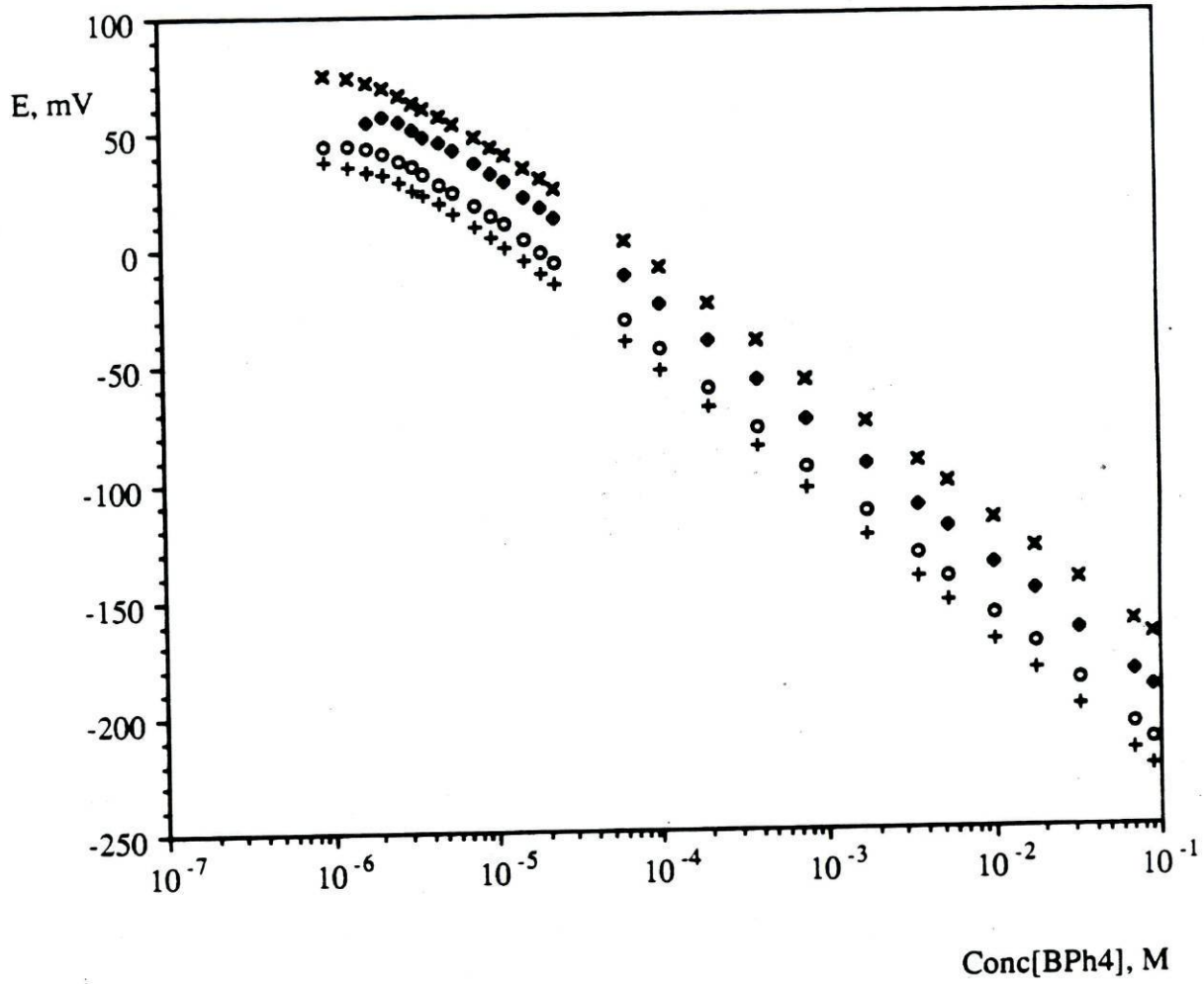


Figura 7.3.1.2. - Curvas de calibração típicas para os eléctrodos preparados com tetrafenilborato de tetrapentilamónio (tipo 7B), (+) $7B_1$, (×) $7B_2$, (o) $7B_3$ e (♦) $7B_4$, obtidas em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M com sulfato de sódio.

Tabela 7.3.1.1. - Parâmetros de calibração para os eléctrodos sensíveis a BPh4 do tipo 7A, que utilizavam o tetrafenilborato de tetraoctilamónio como extractor iónico.

Características [a]	Eléctrodos					
	$7A_1$		$7A_2$		$7A_3$	
	I [b]	II [c]	I [b]	II [c]	I [b]	II [c]
Declive (mv/log[BPh4])	-62,4±1,8	-55,2±0,4	-62,3±1,3	-56,5±0,1	-61,6±2,5	-55,7±0,2
L.I.R.L. (M)	$1,5\times10^{-5}$ $\pm0,9\times10^{-5}$	$2,5\times10^{-6}$ $\pm0,4\times10^{-6}$	$1,4\times10^{-5}$ $\pm0,8\times10^{-5}$	$2,5\times10^{-6}$ $\pm0,4\times10^{-6}$	$1,7\times10^{-5}$ $\pm0,8\times10^{-5}$	$2,6\times10^{-6}$ $\pm0,9\times10^{-6}$
L.P.D. (M)	$9,4\times10^{-6}$ $\pm5,6\times10^{-6}$	--	$8,8\times10^{-6}$ $\pm6,7\times10^{-6}$	--	$1,5\times10^{-5}$ $\pm0,9\times10^{-5}$	--
Patamar Op. de pH [d]	2,5 - 11,5	--	2,5 - 11,5	--	2,5 - 11,5	--
Tempo de resposta (s)	<3	--	<3	--	<3	--
Reprod. (mV/dia) [e]	±1,0	±1,0	±1,0	±1,0	±1,0	±1,0
Durabilidade (meses)	≅18	≅18	≅18	≅18	≅18	≅18

[a] **Valores** correspondentes a pelo menos duas determinações efectuadas com três eléctrodos de cada tipo: [b] **Ensaios efectuados** em soluções sem ajuste de força iónica: [c] Ensaios efectuados em soluções com a força **iónica ajustada** a 0,1 M com sulfato de sódio: [d] Patamar operacional deduzido dos traçados dos diagramas de Reilley, obtidos em soluções de concentração 10^{-2} M e 10^{-4} M em tetrafenilborato: [e] Valores da reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos, correspondentes a três determinações ao longo de um dia de trabalho.

Tabela 7.3.1.2. - Parâmetros de calibração para os eléctrodos sensíveis a **BPh4** do tipo 7B, que utilizavam o tetrafenilborato de tetrapentilamónio como extractor iónico.

Características [a]	Eléctrodos							
	$7B_1$		$7B_2$		$7B_3$		$7B_4$	
	I [b]	II [c]	I [b]	II [c]	I [b]	II [c]	I [b]	II [c]
Declive (mv/log[BPh4])	-62,2±1,4	-56,4±0,1	-62,7±1,4	-55,1±0,9	-64,0±1,8	-55,6±0,4	-62,7±1,9	-54,7±0,1
L.I.R.L. (M)	$1,6\times10^{-5}$ $\pm0,6\times10^{-5}$	$3,1\times10^{-6}$ $\pm0,9\times10^{-6}$	$1,2\times10^{-5}$ $\pm0,8\times10^{-5}$	$2,8\times10^{-6}$ $\pm0,3\times10^{-6}$	$1,1\times10^{-5}$ $\pm0,8\times10^{-5}$	$2,5\times10^{-6}$ $\pm0,4\times10^{-6}$	$1,9\times10^{-5}$ $\pm0,8\times10^{-5}$	$2,8\times10^{-6}$ $\pm0,3\times10^{-6}$
L.P.D. (M)	$1,3\times10^{-5}$ $\pm0,5\times10^{-5}$	--	$1,1\times10^{-5}$ $\pm0,7\times10^{-5}$	--	$1,0\times10^{-5}$ $\pm0,9\times10^{-5}$	--	$1,7\times10^{-5}$ $\pm0,8\times10^{-5}$	--
Pat. Op. de pH [d]	2,5 - 11,5	--	2,5 - 11,5	--	2,5 - 11,5	--	2,5 - 11,5	--
Tempo de resposta (s)	<3	--	<3	--	<3	--	<3	--
Reprod. (mV/dia) [e]	±1,0	±1,0	±1,0	±1,0	±1,0	±1,0	±1,0	±1,0
Durabilidade (meses)	≡18	≡18	≡18	≡18	≡18	≡18	≡18	≡18

[a] **Valores** correspondentes a duas determinações efectuadas com três eléctrodos de cada tipo separadamente: [b] **Ensaios efectuados** em soluções sem ajuste de força iónica; [c] Ensaios efectuados em soluções com a força **iónica ajustada** a 0,1 M com sulfato de sódio; [d] Patamar operacional deduzido dos traçados dos diagramas de Reilley, obtidos em soluções de concentração 10^{-2} M e 10^{-4} M em tetrafenilborato; [e] Valores da reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos, correspondentes a três determinações ao longo de um dia de trabalho.

Tabela 7.3.1.3. - Comparação da resposta dos eléctrodos construídos com a de outros referidos na literatura [19, 23].

Referência	Declive (mv/log[BPh4])	Z.R.L. (M) [a]	Patamar de pH	Tempo de resposta (s)	Reprodutibilidade (mV/dia)	Tempo de vida (meses)
Tipo $7A_1$	-62,4	10^{-1}-1,5×10^{-5}	2,5-11,5	<3	±1,0	≅18
Tipo $7A_2$	-62,3	10^{-1}-1,4×10^{-5}	2,5-11,5	<3	±1,0	≅18
Tipo $7A_3$	-61,6	10^{-1}-1,7×10^{-5}	2,5-11,5	<3	±1,0	≅18
Tipo $7B_1$	-62,2	10^{-1}-1,6×10^{-5}	2,5-11,5	<3	±1,0	≅18
Tipo $7B_2$	-62,7	10^{-1}-1,2×10^{-5}	2,5-11,5	<3	±1,0	≅18
Tipo $7B_3$	-64,0	10^{-1}-1,1×10^{-5}	2,5-11,5	<3	±1,0	≅18
Tipo $7B_4$	-62,7	10^{-1}-1,9×10^{-5}	2,5-11,5	<3	±1,0	≅18
[19] [b]	-51	3×10^{-4}-5×10^{-6}	3-12	3-10	±5,0	n.r.
[23] [c]	-48	10^{-3}- ≅10^{-7}	2-12	5-30	n.r.	n.r.

n.r. - não refere: [a] Zona de resposta linear dos eléctrodos: [b] Eléctrodos de membrana líquida de tetrafenilborato de tetrapentilamónio em 4-nitroxileno; [c] Eléctrodos de membrana líquida de tetrafenilborato de trioctilmetilamónio em nitrobenzeno.

7.3.2. - Tempo de resposta dos eléctrodos

Para avaliar o tempo prático de resposta dos eléctrodos, procedeu-se ao registo, de uma forma dinâmica, das variações de potencial resultantes de alterações da concentração (em duplicado aproximadamente) de tetrafenilborato na solução onde os eléctrodos estavam imersos. Os ensaios foram executados numa gama de concentrações compreendida entre 1×10^{-5} e 2×10^{-2} M (ver 2.7.2., Cap. 2), em soluções sem a força iónica ajustada. Verificou-se um tempo de resposta inferior a 3 segundos em toda a gama de concentrações testada e para todos os tipos de unidades, estando incluído neste tempo o necessário à homogeneização da solução e estabilização dos eléctrodos.

Apresentam-se nas Figs. 7.3.2.1. e 7.3.2.2., os diagramas obtidos para a avaliação deste parâmetro, respectivamente para unidades do tipo 7A e 7B.

As unidades construídas apresentavam um tempo de resposta excelente, factor que é muito importante na redução do tempo necessário à execução de uma titulação, permitindo a sua diminuição entre cada adição.

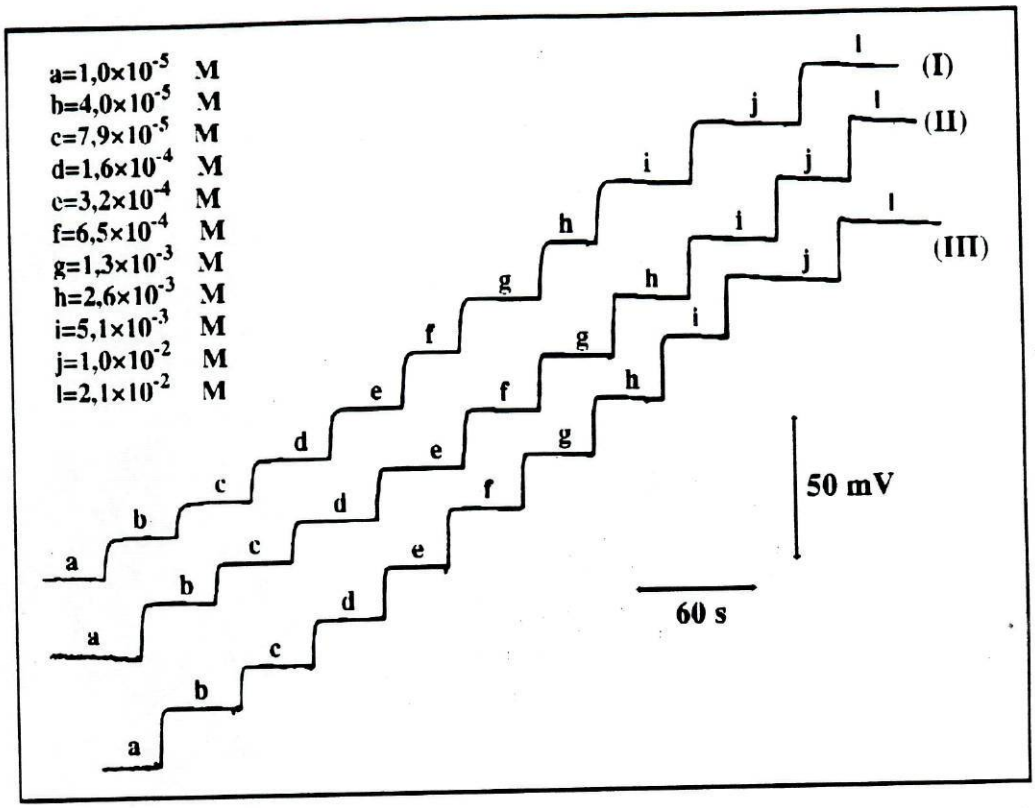


Figura 7.3.2.1. - Tempos de resposta para eléctrodos do tipo 7A. (I) $7A_1$, (II) $7A_2$ e (III) $7A_3$, obtidos em soluções sem a força iónica ajustada.

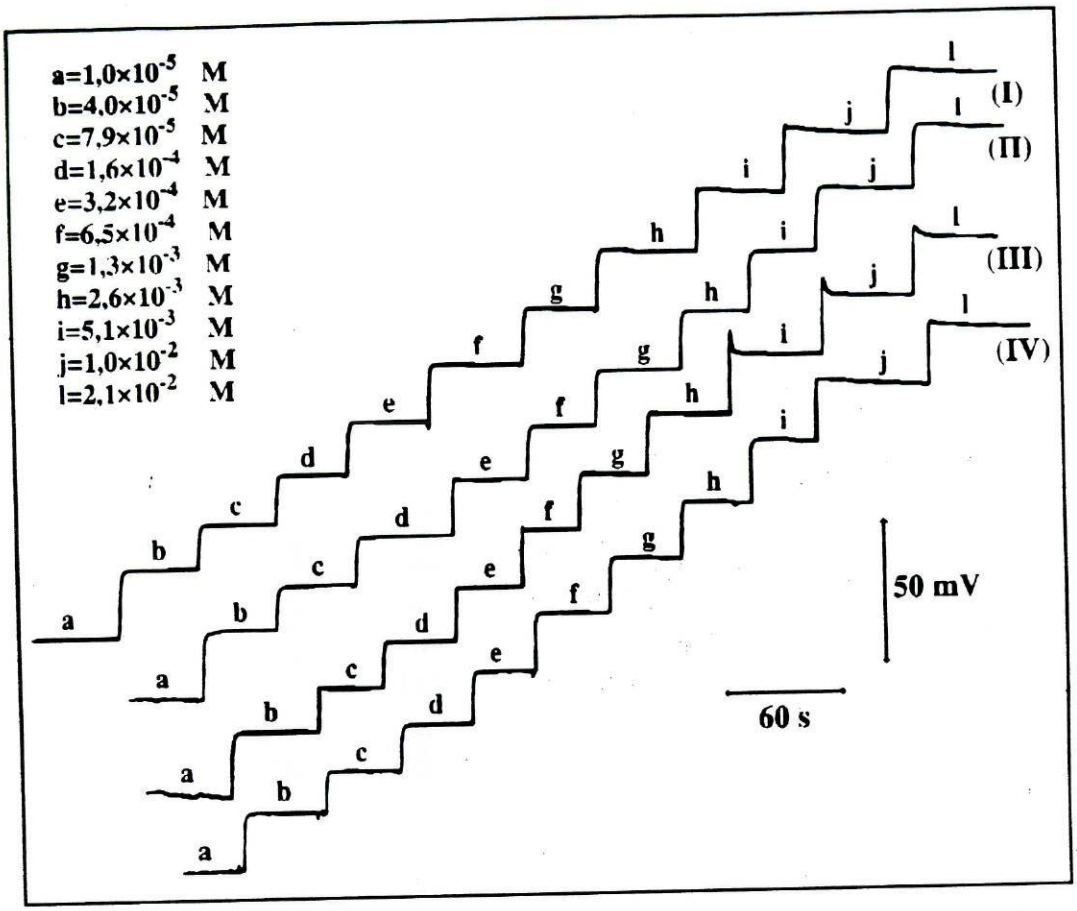


Figura 7.3.2.2. - Tempos de resposta para eléctrodos do tipo 7B, (I) $7B_1$, (II) $7B_2$, (III) $7B_3$ e (IV) $7B_4$, obtidos em soluções sem a força iónica ajustada.

7.3.3. - Efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos

O efeito do pH no potencial dos eléctrodos de BPh4 foi determinado pelo traçado dos diagramas de Reilley (ver 2.7.3., Cap. 2), em soluções de BPh4 com concentrações de 10^{-2} M e 10^{-4} M, sem ter sido ajustada a força iónica.

Para modificar o pH das soluções procedeu-se à adição de pequenos volumes de soluções concentradas de hidróxido de sódio e ácido sulfúrico. A escolha destas soluções deveu-se aos baixos coeficientes de selectividade potenciométricos determinados relativamente ao anião sulfato para os eléctrodos de BPh4 (ver 7.3.4.) e ao facto de o catião sódio não precipitar com o BPh4.

Os resultados obtidos, demonstraram que, para os dois níveis de concentração de BPh4 estudados, o potencial de todos os tipos de eléctrodos pràticamente não variava (variações inferiores a ±1,5 mV) no intervalo de pH entre aproximadamente 2,5 e 11,5 unidades. Apresentam-se nas Figs. 7.3.3.1. e 7.3.3.2. os diagramas obtidos para o tipo $7A_2$ e $7B_3$, respectivamente. Apesar deste parâmetro ter sido avaliado para todos os tipos de unidades, devido à semelhança de resultados obtidos, optou-se por apresentar apenas os diagramas correspondentes às unidades que foram seleccionadas para os ensaios de titulação.

Para valores de pH inferiores a 2,5 ocorre uma diminuição do potencial devido à decomposição do BPh4 [23] e à interferência do anião hidrogenosulfato [32, 33] que a este nível de pH se faz sentir com alguma intensidade, enquanto que para valores superiores a 11,5 unidades, ocorre um acréscimo do potencial.

Os resultados obtidos não se afastam significativamente dos valores apresentados, por outros autores, para unidades sensíveis à mesma espécie aniónica [19, 23] (ver Tabela 7.3.1.3.).

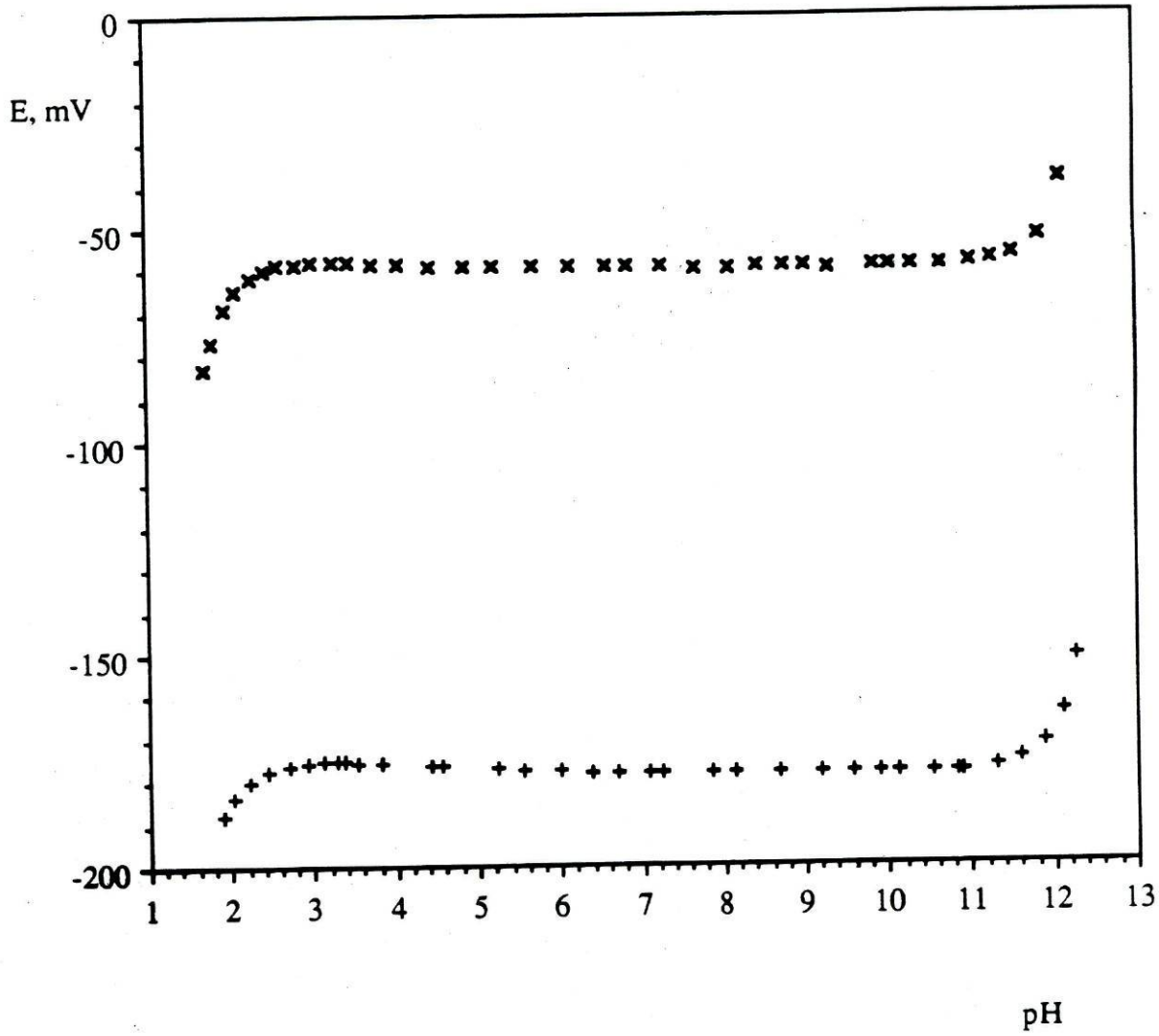


Figura 7.3.3.1. - Diagrama da variação do potencial com o pH, para eléctrodos do tipo $7A_2$, em soluções de BPh4 com concentração de (+) 10^{-2} M e (×) 10^{-4} M, sem a força iónica ajustada.

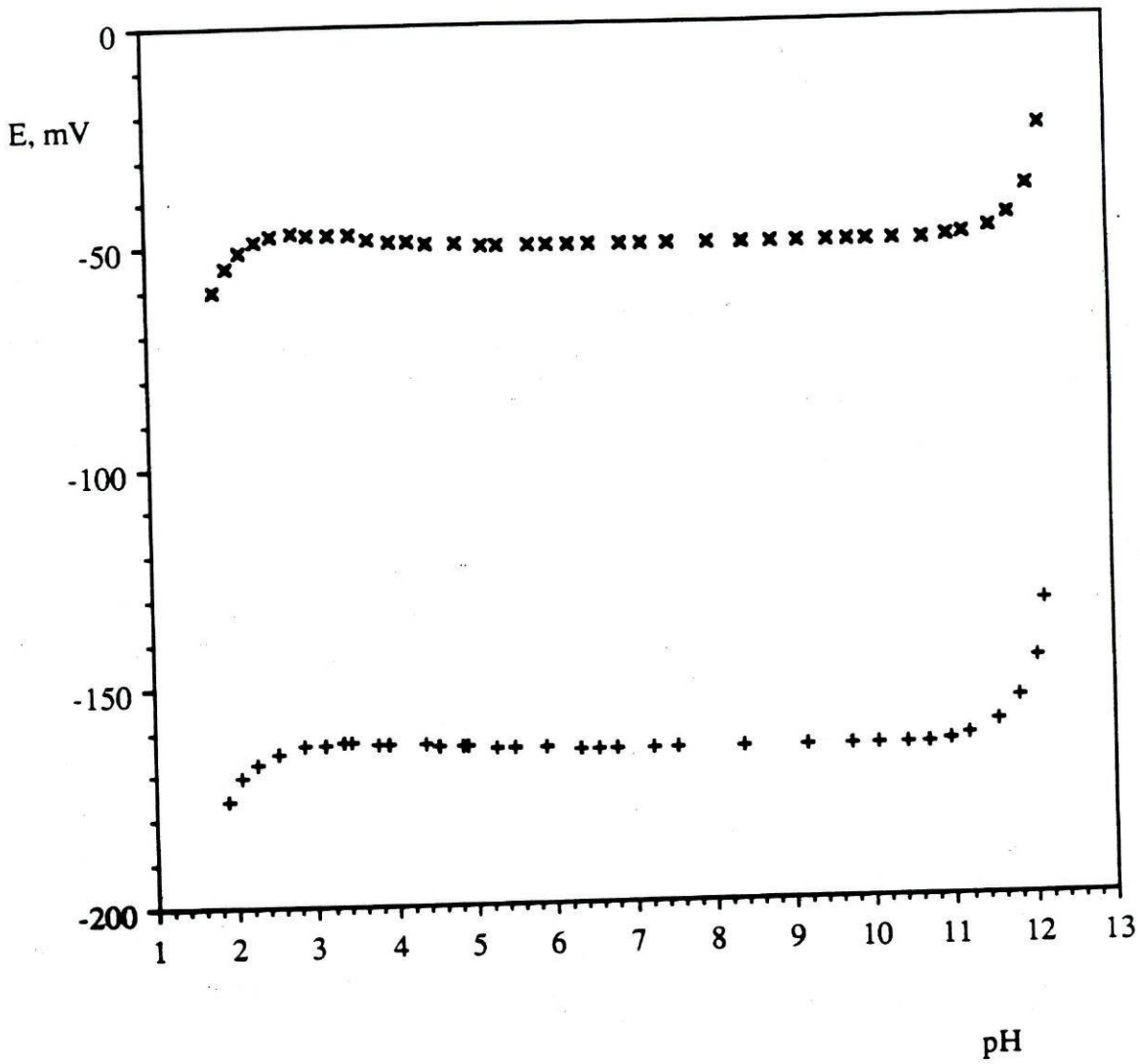


Figura 7.3.3.2. - Diagrama da variação do potencial com o pH, para eléctrodos do tipo $7B_3$, em soluções de BPh4 com concentração de (+) 10^{-2} M e (×) 10^{-4} M, sem a força iónica ajustada.

7.3.4. - Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos

Para avaliar a extensão da interferência de alguns aniões, efectuou-se a determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ($K^{pot}_{A,B}$), utilizando o método das soluções separadas (ver 2.7.4., Cap. 2). Para tal, foram efectuadas calibrações em soluções puras do ião principal e em soluções puras do ião interferente, ambas no intervalo de concentração entre 1×10^{-4} e 3×10^{-2} M. Seguidamente, calcularam-se os respectivos coeficientes de selectividade potenciométricos a três níveis de concentração (ver 2.7.4., Cap. 2), apresentando-se na Tabela 7.3.4.1. os resultados médios e respectivos desvios padrão obtidos em duas determinações com dois eléctrodos de cada tipo.

A gama de concentrações escolhidas para a avaliação deste parâmetro tinha como base as prováveis concentrações de interferentes nas formulações farmacêuticas analisadas.

Não foram registadas interferências significativas para os iões estudados, verificando-se entretanto que a interferência diminuia com o aumento da concentração das espécies em solução. Os baixos coeficientes de selectividade potenciométricos encontrados para o anião sulfato, justificam a sua escolha como anião da solução externa do eléctrodo de referência e da solução ajustadora de força iónica.

Relativamente ao anteriormente descrito por outros autores, para unidades sensíveis a BPh4 [23] (Tabela 7.3.4.2.), a falta de indicação acerca da concentração a que foram efectuados os ensaios, dificulta uma comparação objectiva dos resultados apresentados, já que se registou uma dependência dos valores deste parâmetro relativamente à concentração a que são determinados.

Tabela 7.3.4.1. - Coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$) para os eléctrodos de BPh4 [a].

Eléctrodo do tipo	Concentração (M)	Sulfato	Cloreto	Nitrato	Perclorato
$7A_1$	$1x10^{-4}$	-3,5±0,1	-1,8±0,2	-1,5±0,1	-1,4±0,2
	$1x10^{-3}$	-3,9±0,1	-2,7±0,1	-2,5±0,1	-2,3±0,2
	$1x10^{-2}$	-4,4±0,1	-3,8±0,2	-3,6±0,1	-3,4±0,2
$7A_2$	$1x10^{-4}$	-3,7±0,1	-1,9±0,3	-1,6±0,1	-1,5±0,1
	$1x10^{-3}$	-4,0±0,1	-2,8±0,3	-2,6±0,1	-2,3±0,1
	$1x10^{-2}$	-4,4±0,2	-3,9±0,3	-3,6±0,1	-3,4±0,1
$7A_3$	$1x10^{-4}$	-3,6±0,1	-1,6±0,1	-1,6±0,1	-1,6±0,1
	$1x10^{-3}$	-4,0±0,2	-2,6±0,2	-2,6±0,1	-2,4±0,1
	$1x10^{-2}$	-4,5±0,2	-3,7±0,2	-3,7±0,2	-3,4±0,2
$7B_1$	$1x10^{-4}$	-3,2±0,2	-1,5±0,2	-1,4±0,1	-0.9±0,1
	$1x10^{-3}$	-3,7±0,2	-2,5±0,1	-2,3±0,1	-1,7±0,1
	$1x10^{-2}$	-4,2±0,2	-3,6±0,2	-3,4±0,1	-2,7±0,1
$7B_2$	$1x10^{-4}$	-3,4±0,1	-1,7±0,2	-1,8±0,1	-1,3±0,1
	$1x10^{-3}$	-3,8±0,1	-2,7±0,1	-2,7±0,1	-2,0±0,1
	$1x10^{-2}$	-4,3±0,1	-3,8±0,3	-3,6±0,2	-3,0±0,1
$7B_3$	$1x10^{-4}$	-3,4±0,1	-1,9±0,1	-1,4±0,1	-1,3±0,1
	$1x10^{-3}$	-3,9±0,1	-2,8±0,1	-2,4±0,1	-2,3±0,1
	$1x10^{-2}$	-4,4±0,1	-3,7±0,1	-3,4±0,1	-3,3±0,1
$7B_4$	$1x10^{-4}$	-3,4±0,3	-1,2±0,3	-1,6±0,1	-1,2±0,1
	$1x10^{-3}$	-3,7±0,4	-2,3±0,3	-2,6±0,2	-2,2±0,1
	$1x10^{-2}$	-4,2±0,4	-3,4±0,3	-3,6±0,2	-3,2±0,1

[a] Média e desvio padrão de quatro valores obtidos em duas determinações com dois eléctrodos independentes.

Tabela 7.3.4.2. - Comparação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$) determinados, com os apresentados na literatura para unidades sensíveis à mesma espécie aniónica [23] [a].

Referência	Concentração (M)	Sulfato	Cloreto	Nitrato	Perclorato
$7A_1$	$1x10^{-2}$ M	-4,4±0,1	-3,8±0,2	-3,6±0,1	-3,4±0,2
$7A_2$	$1x10^{-2}$ M	-4,4±0,2	-3,9±0,3	-3,6±0,1	-3,4±0,1
$7A_3$	$1x10^{-2}$ M	-4,5±0,2	-3,7±0,2	-3,7±0,2	-3,4±0,2
$7B_1$	$1x10^{-2}$ M	-4,2±0,2	-3,6±0,2	-3,4±0,1	-2,7±0,1
$7B_2$	$1x10^{-2}$ M	-4,3±0,1	-3,8±0,3	-3,6±0,2	-3,0±0,1
$7B_3$	$1x10^{-2}$ M	-4,4±0,1	-3,7±0,1	-3,4±0,1	-3,3±0,1
$7B_4$	$1x10^{-2}$ M	-4,2±0,4	-3,4±0,3	-3,6±0,2	-3,2±0,1
[23] [b]	--	<-5	<-5	<-5	-3,3

[a] Determinações efectuadas pelo método das soluções separadas; [b] Eléctrodos de membrana líquida de tetrafenilborato de trioctilmetilamónio em nitrobenzeno.

7.3.5. - Doseamento de alcalóides em formulações farmacêuticas por titulação potenciométrica

Os resultados obtidos da avaliação dos eléctrodos sugerem que as características de funcionamento são adequadas à sua aplicação nas determinações de alcalóides em formulações farmacêuticas por titulação potenciométrica.

Uma vez que todas as unidades apresentavam características de funcionamento semelhantes, escolheram-se as do tipo $7A_2$ e $7B_3$, para efectuar as titulações potenciométricas, pois eram as que apresentavam o menor limite inferior de resposta linear.

Efectuaram-se determinações potenciométricas de diferentes alcalóides, nomeadamente quinidina, pilocarpina e atropina, por titulação utilizando o BPh4 como titulante. Na Tabela 7.3.5.1. indicam-se os resultados obtidos quando se titulavam os referidos alcalóides (25,00 mL) em concentração de $2,5\times10^{-3}$ M (2.5×10^{-4} M no caso da quinidina), usando o BPh4 com concentração igual a 10^{-1} ou 10^{-2} M.

Os resultados obtidos revelavam que os eléctrodos apresentavam variações de potencial na proximidade do ponto de equivalência bastante acentuadas, o que permitiu a obtenção de boas percentagens de recuperação. Observou-se que as unidades baseadas em tetrafenilborato de tetrapentilamónio apresentavam uma maior variação de potencial junto do ponto de equivalência. Não existem dados experimentais suficientes que expliquem tal facto uma vez que ambos os eléctrodos apresentavam características gerais de funcionamento muito semelhantes.

Face aos bons resultados obtidos, procedeu-se ao doseamento desses mesmos alcalóides em formulações farmacêuticas. Além destes alcalóides, tentou-se também a titulação potenciométrica de efedrina com tetrafenilborato, mas à semelhança do anteriormente referido por outros autores [13], tal doseamento não foi possível devido à má definição das curvas de titulação obtidas, apesar da

formação de um precipitado. Apesar de não existir uma explicação para este facto pensamos que se deve a uma relativamente baixa insolubilidade do tetrafenilborato de efedrina. Contudo as poucas referências que existem nesse sentido apenas afirmam que "as reacções da efedrina com os reagente gerais dos alcalóides são pouco sensíveis" [34], que "os precipitados formados são muito ténues (extremely shallow), conduzindo a curvas de titulação sem utilidade analítica" [13] e que "as curvas de titulação eram mal defenidas (schlecht ausgebildete)" [35].

Pelos resultados da Tabela 7.3.5.2., que apresentam um baixo desvio padrão e valores de recuperação próximos do obtido nas titulações dos alcalóides padrão, ficou demonstrado que a titulação potenciométrica de alcalóides em formulações farmacêuticas fornece resultados exactos e precisos. Verificou-se, igualmente, não existirem diferenças significativas entre os resultados obtidos com os dois tipos de eléctrodos descritos (ver resultado do teste *t* de Student nas Tabelas 7.3.5.4., 7.3.5.5. e 7.3.5.6.). Contudo à semelhança do anteriormente obtido nas titulações de soluções padrão de alcalóides, observaram-se variações de potencial junto do ponto de equivalência superiores para as unidades do tipo $7B_3$.

Nos capítulos anteriores foram efectuados vários doseamentos dos diferentes alcalóides em formulações farmacêuticas tendo sido obtidos, em cada caso, resultados exactos e precisos. Uma vez que as titulações agora descritas foram executadas sobre tomas dos mesmos lotes de medicamentos, é possível efectuar uma comparação dos resultados obtidos pelos diferentes eléctrodos.

Por forma a comparar objectivamente os valores dos diferentes métodos, apresentados na Tabela 7.3.5.3., recorreu-se ao teste *t* de Student, que permitiu afirmar, para um nível de significância de 95,0 %, que as diferenças encontradas não eram estatisticamente significativas, pelo que se confirmou a hipótese nula (ver Tabelas 7.3.5.4., 7.3.5.5. e 7.3.5.6.).

Apesar de desconhecidos os respectivos valores dos produtos de solubilidade dos sais de tetrafenilborato de alcalóide, será de prever que o valor

para o tetrafenilborato de quinidina será bastante inferior ao de atropina que por sua vez será ligeiramente inferior ao do sal de pilocarpina. Tal facto justifica-se pelos respectivos valores de variação de potencial junto do ponto de equivalência, e pelo facto de ter sido necessário uma solução titulante de BPh4 mais concentrada para titular a atropina e pilocarpina do que para a quinidina.

Em relação ao apresentado anteriormente por outros autores que efectuaram titulações potenciométricas de alcalóides com eléctrodos de BPh4 [19, 36], verificou-se um aumento significativo da variação de potencial na proximidade do ponto de equivalência, que se traduziu numa maior precisão dos resultados obtidos. Esta maior variação de potencial deveu-se ao aumento da zona de resposta linear dos eléctrodos e ao maior declive das suas curvas de calibração quando comparados com os anteriormente descritos [19, 36].

Tabela 7.3.5.1. - Percentagens de recuperação e variação de potencial na proximidade de ±2 % do ponto de equivalência (ΔE2%), obtidos nas titulações potenciométricas de alcalóides, com os eléctrodos sensíveis a BPh4 [a].

Alcalóide	Eléctrodo do tipo 7A [b]		Eléctrodo do tipo 7B [c]	
	Recuperação	ΔE2%	Recuperação	ΔE2%
Quinidina	100,8±1,1 %	25,0±9,9	100,8±1,3 %	29,1±6,4
Pilocarpina	95,4±0,4 %	9,4±4,2	95,3±0,5 %	17,6±4,1
Atropina	95,1±0,7 %	12,9±7,5	95,4±0,8 %	22,0±11,4

[a] Média e desvio padrão correspondentes a 4 titulações com dois eléctrodos cada (8 determinações); [b] Eléctrodos baseados em tetrafenilborato de tetraoctilamónio com extractor iónico; [c] Eléctrodos baseados em tetrafenilborato de tetrapentilamónio com extractor iónico.

Tabela 7.3.5.2. - Resultados obtidos (expressos em percentagem em peso) nas titulações potenciométricas de alcalóides presentes em formulações farmacêuticas com o tetrafenilborato [a].

Preparação	Eléctrodo Tipo 7A			Eléctrodo Tipo 7B		
	Titulação (% m/m)	Recup. (% m/m)	ΔE2% b)	Titulação (% m/m)	Recup. (% m/m)	ΔE2% b)
Quinicardine (comprimido)	64,9±1,1	96,2±2,3	12,8±2,6	64,7±1,1	97,0±2,2	14,4±3,2
Natisedine (comprimido)	26,9±0,9	99,0±2,2	10,6±2,5	26,6±0,9	98,3±2,0	11,5±3,4
Transpulmina (supositório)	4,1±0,4	94,9±4,6	8,9±3,8	4,1±0,5	95,8±2,0	9,6±3,9
Transpulmina (bálsamo)	3,9±0,3	103,0±4,5	7,6±3,0	4,0±0,3	98,7±8,3	10,1±3,2
Recto-bronco-tosse (supositório)	1,0±0,1	99,2±2,8	6,1±2,1	1,0±0,1	99,1±2,8	6,9±2,1
Recto-pulmo (supositório)	2,2±0,2	100,4±3,7	7,0±4,1	2,2±0,1	102,8±2,8	6,2±3,0
Piloplex (solução oftálmica)	2,3±0,1	94,5±0,9	8,8±2,7	2,3±0,1	94,6±0,5	13,3±2,0
Pilocarcil 2% (solução oftálmica)	1,6±0,1	93,8±1,8	20,6±8,0	1,6±0,1	92,9±1,4	20,5±5,1
Pilocarcil 4% (solução oftálmica)	3,6±0,1	91,8±2,3	10,3±4,4	3,6±0,1	91,2±2,2	14,8±6,1
Pilocarcil 5% (solução oftálmica)	4,2±0,1	93,3±0,4	9,9±3,3	4,2±0,1	92,8±1,0	14,2±2,2
Pilocarcil 3% (pomada oftálmica)	1,1±0,1	93,9±0,8	4,4±0,9	1,1±0,1	93,0±0,6	6,1±1,3
Atropocil (solução oftálmica)	0,9±0,1	95,4±0,9	2,1±0,9	0,9±0,1	94,6±0,8	3,6±1,8
Atropocil (pomada oftálmica)	0,4±0,1	93,0±1,2	3,7±1,9	0,4±0,1	93,0±2,0	3,5±1,3
Atropoftalmina (solução oftálmica)	0,3±0,1	106,2±0,9	4,7±2,8	0,3±0,1	107,0±0,6	5,5±3,3
Atropoftalmina (pomada oftálmica)	1,0±0,1	94,4±0,8	3,8±1,6	1,0±0,1	93,5±0,7	3,4±1,1

[a] Média e desvios padrão de quatro titulações com dois eléctrodos cada (8 determinações);

[b] Variação de potencial na proximidade de ±2 % do ponto de equivalência.

Tabela 7.3.5.4. - Comparação dos resultados obtidos por titulação potenciométrica com os eléctrodos de BPh4 e os determinados com os eléctrodos sensíveis a quinidina (ver Cap. 4), em medicamentos contendo quinidina ou quinina, recorrendo-se ao teste *t* de Student, para um valor tabelado de $t_{0.025,\ 6}$=2,571.

Eléctrodo	Tipo 7B [a)]	Tipo 4 [b)]	Tipo 4 [c)]
Tipo 7A [d)]	1,353	0,627	1,685
Tipo 7B [a)]	--	0,559	2,458

[a)] Resultados obtidos por titulação potenciométrica utilizando os eléctrodos do tipo 7B, descritos neste Cap.; [b)] Resultados obtidos por potenciometria directa com os eléctrodos sensíveis a quinidina descritos no Cap. 4; [c)] Resultados obtidos por titulação potenciométrica utilizando os eléctrodos sensíveis a quinidina descritos no Cap. 4; [d)] Resultados obtidos por titulação potenciométrica utilizando os eléctrodos do tipo 7A, descritos neste Cap..

Tabela 7.3.5.5. - Comparação dos resultados obtidos por titulação potenciométrica com os eléctrodos de BPh4 e os determinados com os eléctrodos sensíveis a pilocarpina (ver Cap. 5), em medicamentos contendo esse alcalóide, recorrendo-se ao teste *t* de Student, para um valor tabelado de $t_{0.025,\ 5}$=2,776.

Eléctrodo	Tipo 7B [a)]	Tipo 5A [b)]	Tipo 5B [c)]
Tipo 7A [d)]	0,614	2,706	2,611
Tipo 7B [a)]	--	2,758	2,703

[a)] Resultados obtidos por titulação potenciométrica utilizando os eléctrodos do tipo 7B, descritos neste Cap.; [b)] Resultados obtidos por potenciometria directa com os eléctrodos do tipo 5A, sensíveis a pilocarpina, descritos no Cap. 5; [c)] Resultados obtidos por potenciometria directa com os eléctrodos do tipo 5B, sensíveis a pilocarpina, descritos no Cap. 5; [d)] Resultados obtidos por titulação potenciométrica utilizando os eléctrodos do tipo 7A, descritos neste Cap..

Tabela 7.3.5.6. - Comparação dos resultados obtidos por titulação potenciométrica com os eléctrodos de BPh4 e os determinados com os eléctrodos sensíveis a atropina (ver Cap. 6), em medicamentos contendo esse alcalóide, recorrendo-se ao teste *t* de Student, para um valor tabelado de $t_{0.025,\ 3}$=4.303.

Eléctrodo	Tipo 7B [a)]	Tipo 6 [b)]
Tipo 7A [c)]	1,278	1,657
Tipo 7B [a)]	--	1,876

[a)] Resultados obtidos por titulação potenciométrica utilizando os eléctrodos do tipo 7B, descritos neste Cap.; [b)] Resultados obtidos por potenciometria directa com os eléctrodos do tipo 6A, sensíveis a atropina, descritos no Cap. 6; [c)] Resultados obtidos por titulação potenciométrica utilizando os eléctrodos do ttipo 7A, descritos neste Cap..

7.4. - Conclusões

Dos resultados obtidos conclui-se que o uso de tetrafenilborato de tetraoctilamónio (TOABPh4) ou de tetrapentilamónio (TPABPh4) como extractores iónicos, permitem a obtenção de eléctrodos de tetrafenilborato com amplas zonas de resposta linear e declives das curvas de calibração próximos do valor teórico. Também importante foi o uso de 2-nitrofenilfeniléter, como solvente mediador, a imobilização do sensor iónico em PVC e a eliminação da solução de referência interna, que permitiram o aumento da reprodutibilidade, durabilidade e selectividade das unidades e a diminuição do seu tempo de resposta.

Verificou-se ainda que as características de resposta dos eléctrodos não se alteravam significativamente quando a concentração do extractor iónico variava entre 2,2 e 1,1 % ou 4,0 e 1,1 % para as unidades baseadas em TOABPh4 e TPABPh4, respectivamente.

Devido às boas características de funcionamento dos eléctrodos, estes foram aplicados com sucesso no doseamento de alcalóides em formulações farmacêuticas por titulação potenciométrica com tetrafenilborato de sódio. As amostras eram preparadas por simples diluição, sendo os resultados obtidos exactos e precisos e comparáveis com os obtidos por potenciometria directa com os eléctrodos sensíveis a esses alcalóides. Também importante é o facto das titulações serem executadas com o auxílio de um microcomputador, pelo que se torna possível a sua automatização, bastando para tal o acoplamento de um amostrador automático.

Por tudo isto é possível afirmar que o uso de eléctrodos de tetrafenilborato como indicadores de titulações de alcalóides são um método alternativo para a excução de análises laboratoriais de rotina.

7.5. - Referências bibliográficas

[1] - F. E. Crane, Jr., *Anal. Chem.*, **28**, 1794 (1956)

[2] - K. Vytras, *Int. Lab.*, **9**, 35 (1979); *Amer. Lab.*, **11**, 93 (1979)

[3] - K. Vytras, *Ion.-Sel. Electrode Rev.*, **7**, 77 (1985)

[4] - K. Vytras, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **7**, 789 (1989)

[5] - E. Hopirtean, C. Liteanu e E. Stefaniga, *Rev. Roumaine Chim.*, **19**, 1651 (1974)

[6] - A. Tateda, A. Matsubara e T. Suenaga, *Memoirs Fac. Sci. Kyushu Univ.*, **9**, 9 (1974)

[7] - W. S. Selig, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **327**, 561 (1987)

[8] - K. Vytras, V. Riha e S. Kotrly, *Sb. Ved. Pr., Vys. Sk. Chemickotechnol., Pardubice*, **35**, 41 (1976)

[9] - W. J. Kirsten, A. Berggren e K. Nilsson, *Anal. Chem.*, **30**, 237 (1958)

[10] - M. L. R. Sanchez e K. Vytras, *Analyst*, **113**, 959 (1988)

[11] - E. Hopirtean e E. Stefaniga, *Rev. Roumaine Chim.*, **20**, 863 (1975)

[12] - W. Selig, *Talanta*, **27**, 914 (1980)

[13] - W. Selig, *Mikrochim. Acta* [Wien], **II**, 133 (1980)

[14] - S. Pinzauti e E. La Porta, *Analyst*, **102**, 938 (1977)

[15] - R. D. Gallegos, *Analyst*, **118**, 1137 (1993)

[16] - K. Vytras, V. Dvorakova e I. Zeman, *Analyst*, **114**, 1435 (1989)

[17] - A. G. Fogg e K. S. Yoo, *Anal. Chim. Acta*, **113**, 165 (1980)

[18] - K. Vytras e M. Kaderabkova, *Chem. Prum.*, **36**, 137 (1986)

[19] - T. K. Christopoulos, E. P. Diamandis e T. P. Hadjiioannou, *Anal. Chim. Acta*, **143**, 143 (1982)

[20] - E. Hopirtean e E. Stefaniga, *Rev. Roumaine Chim.*, **21**, 305 (1976)

[21] - K. Vytras, *Mikrochim. Acta* [Wien], **III**, 139 (1984)

[22] - S. S. M. Hassan e M. B. Elsayes, *Anal. Chem.*, **51**, 1651 (1979)

[23] - M. Kataoka, M. Kudoh e T. Kambara, *Denki Kagaku*, **46**, 548 (1978)

[24] - J. Dohnal, K. Vytras, Z. Roubal e I. Zemanova, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **7**, 835 (1989)

[25] - J. Dohnal, Z. Volkova e K. Vytras, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **7**, 755 (1989)

[26] - W. S. Selig, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **329**, 486 (1987)

[27] - G. H. Zhang, T. Imato, Y. Asano, T. Sonoda, H. Kobayashi e N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, **62**, 1644 (1990)

[28] - O. F. Schafer, *Anal. Chim. Acta*, **87**, 495 (1976)

[29] - G. J. Moody, B. B. Saad e J. D. R. Thomas, *Sel. Electrode Rev.*, **10**, 71 (1988)

[30] - R. A. S. Lapa, Dissertação de Doutoramento, *Instrumentação e Detectores para Potenciometria - Desenvolvimento e Aplicação*, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, 1994

[31] - G. J. Moody, J. D. R. Thomas, J. L. F. C. Lima e A. A. S. C. Machado, *Analyst*, **113**, 1023 (1988)

[32] - J. Senkyr e Z. Malá, *J. Electroanal. Chem.*, **233**, 267 (1987)

[33] - Z. Malá e J. Senkyr, *Talanta*, **35**, 591 (1988)

[34] - R. R. Paris e H. Moyse, *Collection de Precis de Pharmacie: Matière **Médicale***, Masson Cie, Éditeurs, Paris (1965)

[35] - K. Selinger e R. Staroscik, *Pharmazie*, **33**, 208 (1978)

[36] - E. P. Diamandis e T. K. Christopoulos, *Anal. Chim. Acta*, **152**, 281 (1983)

CAPÍTULO 8

DETECTORES POTENCIOMÉTRICOS TUBULARES SENSÍVEIS A TETRAFENILBORATO

8. - DETECTORES POTENCIOMÉTRICOS TUBULARES SENSÍVEIS A TETRAFENILBORATO

8.1. - Introdução

No capítulo anterior foram efectuadas titulações de vários alcalóides com tetrafenilborato, usando um eléctrodo sensível a tetrafenilborato como indicador. Contudo, não foi possível efectuar titulações de efedrina, devido provavelmente a uma relativa baixa insolubilidade do tetrafenilborato de efedrina e à má definição das curvas de titulação obtidas (ver Cap. 7).

Numa tentativa de solucionar este problema recorreu-se à análise por injecção em fluxo (FIA - Flow Injection Analysis), uma vez que as titulações em FIA não requerem obrigatóriamente a obtenção de um equílibrio químico ou físico [1]. Simultâneamente fornecia-se uma metodologia rápida e fácilmente automatizável.

De acordo com alguns autores, muitas das titulações convencionais podem ser executadas em sistema FIA [1,2], no entanto poucas têm sido as referências a esse tipo de titulação utilizando a potenciometria como processo de detecção. Das **poucas** referências a titulações potenciométricas de precipitação em FIA **encontradas** na literatura [3-5], nenhuma utilizava eléctrodos de membrana de PVC.

Desta forma proceder-se-á à construção e avaliação de um detector tubular sensível ao tetrafenilborato, sem solução de referência interna, utilizando uma das membranas sensoras estudadas anteriormente (ver Cap. 7). De seguida, o detector será incorporado numa montagem FIA que permita a execução de titulações FIA, baseadas em medição de tempo, para a determinação de efedrina em produtos farmacêuticos.

8.2. - Parte experimental

8.2.1. - Aparelhagem e eléctrodos

Para as medidas de potencial efectuadas entre os eléctrodos tubulares de tetrafenilborato (BPh4) construídos e o eléctrodo de referência, colocado em linha, utilizou-se a aparelhagem descrita anteriormente (ver 2.1. no Cap. 2). Em todas as medidas foi utilizado um eléctrodo de referência de cloreto de prata/prata.

Nas montagens FIA foi utilizada uma bomba peristáltica, uma válvula de injecção, um "eléctrodo de ligação à terra", tubos de teflon® e vários dispositivos de perspex®, cuja descrição promenorizada foi efectuada em 2.3. (ver Cap. 2).

8.2.2. - Reagentes e soluções

As soluções de tetrafenilborato de sódio com concentração igual a 10^{-1} e 10^{-2} M usadas na avaliação dos eléctrodos, foram preparadas por pesagem rigorosa do sólido (Fluka, ref. 72020) e posterior diluição a um volume rigoroso com uma solução ajustadora da força iónica. As soluções de menor concentração eram preparadas a partir destas por simples diluição, também com o ajustador. Este era constituido por uma solução de sulfato de sódio em concentração tal que a força iónica resultante era de 0,1 M.

As titulações potenciométricas de efedrina em medicamentos foram efectuadas utilizando-se para ajustar a força iónica e o pH, uma solução tampão de dihidrogenofosfato de sódio e hidrogenofosfato de sódio (NaH_2PO_4/Na_2HPO_4) (pH = 6,3 e I = 0,1 M). Esta, era preparada de acordo com o descrito no capítulo 7 (ver 7.2.2.).

As soluções de efedrina com concentração igual a 10^{-2} M foram preparadas, pela diluição, a um volume rigoroso, de cloridrato de efedrina (May & Baker, ref. 77007) rigorosamente pesado, utilizando para tal a solução tampão referida. As soluções de concentração inferior, eram preparadas a partir das mais concentradas por simples diluição com o referido tampão. Todas as soluções eram guardadas ao abrigo da luz.

8.2.3. - Preparação dos sistemas sensores e membranas

A membrana utilizada era constituida por 1,7% (m/m) de tetrafenilborato de tetrapentilamónio, 66,7% (m/m) de 2-nitrofenilfeniléter e 31,6% (m/m) de cloreto de polivinilo (PVC), cuja preparação ficou indicada no Cap. 7 (ver 7.2.3., membrana tipo $7B_3$). Das várias membranas sensíveis a BPh4 preparadas e cuja avaliação se indicou no Cap. 7, foi escolhida a $7B_3$ porque permitia a obtenção de unidades convencionais com boas características de funcionamento e que apresentavam uma maior variação de potencial na proximidade do ponto de equivalência em titulações potenciométricas com tetrafenilborato (ver 7.3.5., Cap. 7).

Após a sua preparação, a membrana foi aplicada no orifício central efectuado longitudinalmente no suporte condutor do corpo do módulo tubular, de acordo com o descrito em 2.6.2. (ver Cap. 2). Depois de secas as membranas e antes da sua utilização, os detectores tubulares eram condicionados, fazendo-se fluir, com o auxílio de uma bomba peristáltica, a um caudal de cerca de 1 mL $minuto^{-1}$ e durante cerca de 12 horas, uma solução aquosa de tetrafenilborato de sódio a $5x10^{-2}$ M.

8.2.4. - Preparação das amostras de formulações farmacêuticas para o doseamento da efedrina

Para a determinação de efedrina em formulações líquidas (gotas nasais e xaropes), mediu-se rigorosamente um volume do produto comercializado equivalente a 2.5 mg de cloridrato de efedrina, que foi diluído a 25.00 mL com tampão NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3).

No caso das formas sólidas, comprimidos e drageias, após pesagem e pulverização do conteúdo de uma embalagem, pesou-se, rigorosamente, uma quantidade de produto correspondente a cerca de 12,6 mg de cloridrato de efedrina, adicionando-se solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3) até um volume final de 25,00 mL. Posteriormente, 5,00 mL desta solução foram diluídos com a referida solução tampão até um volume final de 25,00 mL, tendo as determinações por FIA (ver 2.9.2., Cap. 2) sido executadas directamente sobre as soluções resultantes destas diluições.

Para avaliar a exactidão dos resultados obtidos, executaram-se ensaios de recuperação, efectuados de acordo com o indicado anteriormente em 2.9.3., no Cap. 2.

Os resultados obtidos em sistema FIA foram comparados com os obtidos por potenciometria directa com os eléctrodos de efedrina, cujos valores se encontram descritos no Cap. 3 (ver 3.3.5.), uma vez que as tomas de medicamentos utilizadas provinham das mesmas embalagens.

8.2.5. - *Montagens FIA utilizadas*

A avaliação das características gerais de funcionamento dos detectores tubulares foi efectuada, utilizando um sistema FIA de canal único e de baixa dispersão (Fig. 8.2.5.5.), onde se procuravam reproduzir condições experimentais semelhantes tanto quanto possível, às usadas na avaliação dos eléctrodos de configuração convencional.

A solução transportadora da amostra era constituida por sulfato de sódio 0.033 M e tetrafenilborato de sódio 10^{-6} M, fluindo com um caudal de 6.8 mL $minuto^{-1}$. A presença de ião principal na solução de transporte, em pequena concentração, visava a estabilização da linha base e a redução da extensão da solubilização da membrana. A ausência do ião principal, na solução transportadora, para além de causar uma instabilidade do potencial que definia a linha de base, também originava um retorno, bastante lento, a esse potencial após passagem de cada amostra. Contudo, a concentração fixada condiciona o valor do limite inferior de resposta linear dos detectores tubulares. Por forma a afectar o menos possível este parâmetro, seleccionou-se uma concentração de BPh4 (10^{-6} M) ligeiramente inferior ao limite inferior de resposta linear do eléctrodo de configuração convencional baseado no mesmo sensor iónico (ver 7.3.1., Cap. 7).

A utilização de uma solução transportadora constituida apenas pelo ião principal e respectivo contra-ião não é, na maioria das vezes, suficiente para promover um bom contacto eléctrico entre o eléctrodo indicador e o de referência. Para isso, é necessário a utilização de um electrólito com uma concentração relativamente elevada. A escolha deste deve ser feita de modo a que as espécies que o constituam, interfiram, o menos possível, no comportamento do sistema sensor. Os valores obtidos para os coeficientes de selectividade potenciométricos de eléctrodos de configuração convencional sensíveis ao BPh4 (ver 7.3.4., Cap. 7) sugeriam a escolha de anião sulfato como espécie química a utilizar na solução

transportadora.

Visando a avaliação das características intrínsecas do detector tubular em fluxo e a sua comparação com os correspondentes eléctrodos de configuração convencional, seleccionou-se uma montagem FIA onde a diluição da amostra fosse mínima. Para garantir o menor valor de dispersão possível do troço de amostra, no interior da montagem, o comprimento da tubagem entre a válvula de injecção e o detector, foi reduzido ao mínimo (18 cm) imposto pelo estabelecimento das ligações entre os diferentes componentes do sistema FIA.

Os restantes parâmetros da montagem FIA, foram determinados seguindo o processo univariante indicado em 2.8.1. (ver Cap. 2). Assim, variava-se a velocidade de escoamento (8,6; 6,8; 5,9; 4,2 e 2,5 mL minuto^{-1}) e o volume de injecção (84, 134, 184, 234, 384, 584 e 1084 µL), mantendo constante todos os outros factores, e determinava-se a sua influência na amplitude do sinal transiente fornecido pelo detector.

Os resultados obtidos eram expressos em percentagem relativamente ao estado estacionário, obtido quando a solução transportadora era substituida pela solução de BPh4 com concentração de 10^{-2} ou 10^{-4} M, respectivamente. Nas Figs. 8.2.5.1. e 8.2.5.2. representam-se as percentagens relativas do sinal analítico, obtidas em função do volume de injecção utilizado, para as diferentes velocidades de escoamento ensaiadas. Das referidas Figs. deduz-se que a partir do volume de injecção escolhido e igual a 234 µL, a altura do sinal analítico tornava-se praticamente independente do volume de amostra injectado.

A velocidade de escoamento escolhida para as determinações posteriores era igual a 6.8 mL minuto^{-1}, pois verificou-se, a partir dos resultados representados nas Figs. 8.2.5.3. e 8.2.5.4., que de uma forma geral esta velocidade permitia obter resultados muito semelhantes aos obtidos com velocidades superiores.

Assim sendo, fixou-se um caudal da solução transportadora de

6,8 mL minuto^{-1} e um volume de injecção correspondente a 234 µL, condições que permitiam obter um sinal analítico muito próximo do estacionário (>95%) e, por outro lado, um baixo consumo de reagentes e um rápido retorno à linha base. Na Fig. 8.2.5.5. representa-se o sistema FIA de baixa dispersão utilizado.

Os volumes de injecção indicados foram determinados, por pesagem rigorosa de um volume de água desionizada, correspondente a 25 injecções sucessivas e por interpolação numa curva de calibração de massa em função do volume rigorosamente conhecido de água.

O caudal da solução transportadora foi determinado medindo, durante 5 minutos, um volume de solução que escoava à saída do eléctrodo de referência.

Uma vez estudadas as características do detector potenciométrico tubular de BPh4, num sistema de baixa dispersão, desenvolveu-se um sistema para os ensaios de titulação de efedrina em fórmulas farmacêuticas.

Para isso, modificou-se ligeiramente a montagem FIA usada na avaliação dos eléctrodos colocando-se entre o local de injecção e o detector tubular, uma câmara de mistura (M), para criar no troço da amostra um gradiente exponencial de concentração e garantir uma boa dispersão do precipitado de tetrafenilborato de efedrina formado, na solução transportadora (ver Fig. 8.2.5.6.). A câmara de mistura, construída de acordo com o anteriormente referido [3], tinha um diâmetro de 10 mm de base e uma altura regulável, que foi fixada de modo a garantir um volume total de cerca de 160 µL.

De seguida, procedeu-se à optimização do sistema, de modo a obter uma dependência linear entre a largura de pico (intervalo de tempo medido a um valor fixo de altura do sinal) e o logaritmo da concentração de efedrina para a zona de concentrações onde se efectuariam as determinações.

Para a optimização do sistema foi estudada a influência da velocidade de escoamento (8.8, 6.8 e 4.2 mL minuto^{-1}), do volume de injecção (84, 107 e 134 µL), da concentração de tetrafenilborato de sódio (NaBPh4) no transportador

(10^{-3}, 10^{-4} e 10^{-5} M) e do efeito da velocidade de agitação do magnete (sem agitação, 320 e 700 rotações por minuto). Avaliou-se ainda o efeito da substituição da câmara de mistura por um tubo de reacção de 198 cm.

A avaliação da influência das variáveis referidas era efectuada tendo em atenção as características da zona de resposta linear (nomeadamente declive da recta de calibração e zona de resposta linear), a reprodutibilidade dos ensaios, a forma dos picos (que afecta a reprodutibilidade dos ensaios e a precisão na medição da largura dos picos) e o tempo de duração de cada ensaio. Isto porque, neste tipo de titulações, o resultado das amostras é determinado por interpolação gráfica numa curva de calibração efectuada com soluções padrão de efedrina. Devido a este facto, o declive, a zona de resposta linear e a reprodutibilidade são factores determinantes na obtenção de resultados exactos e precisos. Por outro lado, como a largura dos picos é a medida efectuada, a forma dos mesmos é fundamental.

Observou-se que, a substituição da câmara de reacção por um tubo de reacção, além de provocar alguma instabilidade da linha base, não permitia uma mistura tão perfeita entre a solução injectada e a solução transportadora, provocando o aparecimento de "picos duplos". Nesta situação as titulações eram muito irreprodutíveis, pelo que se optou pelo uso da câmara de mistura.

Das restantes variáveis, como era de esperar, a que mais influia na qualidade dos resultados era a concentração de NaBPh4 no transportador. Das três concentrações de NaBPh4 estudadas, escolheu-se a de 10^{-4} M porque representava um compromisso entre a sensibilidade do detector e o ritmo de amostragem fornecido pela montagem. De facto, uma concentração de 10^{-5} M permitia a obtenção de curvas de calibração com maiores declives e factores de correlação mais próximos da unidade. Contudo, o ritmo de amostragem era consideravelmente menor, pois os picos tornavam-se mais largos e achatados. Pelo contrário, uma concentração de 10^{-3} M não permitia a determinação de baixas

concentrações de efedrina. A concentração de NaBPh4 escolhida, proporcionava além de uma resposta linear no intervalo de concentrações de 10^{-4} a 5×10^{-3} M em efedrina, uma melhor reprodutibilidade dos resultados.

A diminuição do caudal além de aumentar o tempo necessário para a saída do sinal analítico, permitia uma melhor mistura dos reagentes e consequentemente provocava um aumento do declive das curvas de calibração. De modo a atender aos dois factores, escolheu-se para as determinações efectuadas, a velocidade de escoamento intermédia correspondente a 6,8 mL minuto^{-1}.

Entre os diferentes volumes de injecção testados (84, 107 e 134 µL), não se observaram alterações significativas nas características de linearidade obtidas, verificando-se apenas uma diminuição do ritmo de amostragem com o aumento do volume de amostra introduzida no sistema. Desta forma, optou-se pelo menor volume de injecção que permitia além de aumentar o ritmo de amostragem, economizar reagentes.

Por fim e quanto à agitação, verificou-se que esta era fundamental para garantir uma boa homogeneização do precipitado e influenciava sobretudo a reprodutibilidade dos resultados obtidos. Optou-se no final pela velocidade de agitação do magnete de 320 r.p.m. pois era a que oferecia melhores resultados, uma vez que, sendo o formato dos picos mais constante, a reprodutibilidade dos resultados era maior.

Assim utilizou-se como solução transportadora um tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M) com NaBPh4 a 10^{-4} M, que fluia a uma velocidade de 6,8 mL minuto^{-1}, num sistema FIA monocanal, em direcção a uma câmara de mistura provida de um magnete a rodar a uma velocidade de cerca de 320 r.p.m. por acção de um agitador magnético. Nessa solução procedia-se à injecção de 84 µL das soluções padrão e problema contendo efedrina (ver Fig. 8.2.5.6.).

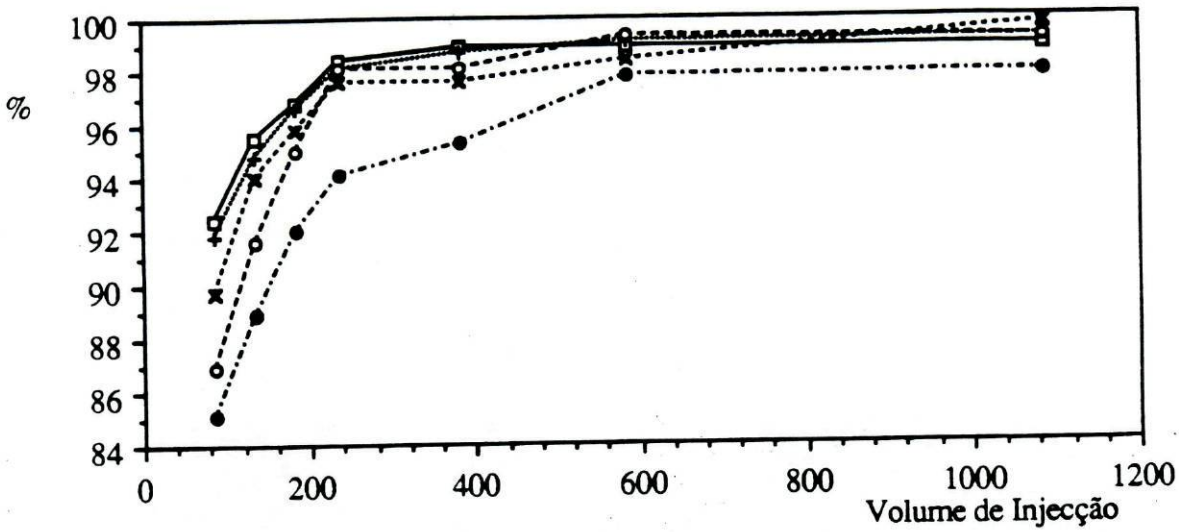


Figura 8.2.5.1. - Curvas representativas de variação do sinal analítico (% relativa) em função do volume de injecção (solução de NaBPh4 10^{-2} M), para diferentes caudais (8,6 (□); 6,8 (+); 5,9 (×); 4,2 (o) e 2,5 (•) mL minuto^{-1}).

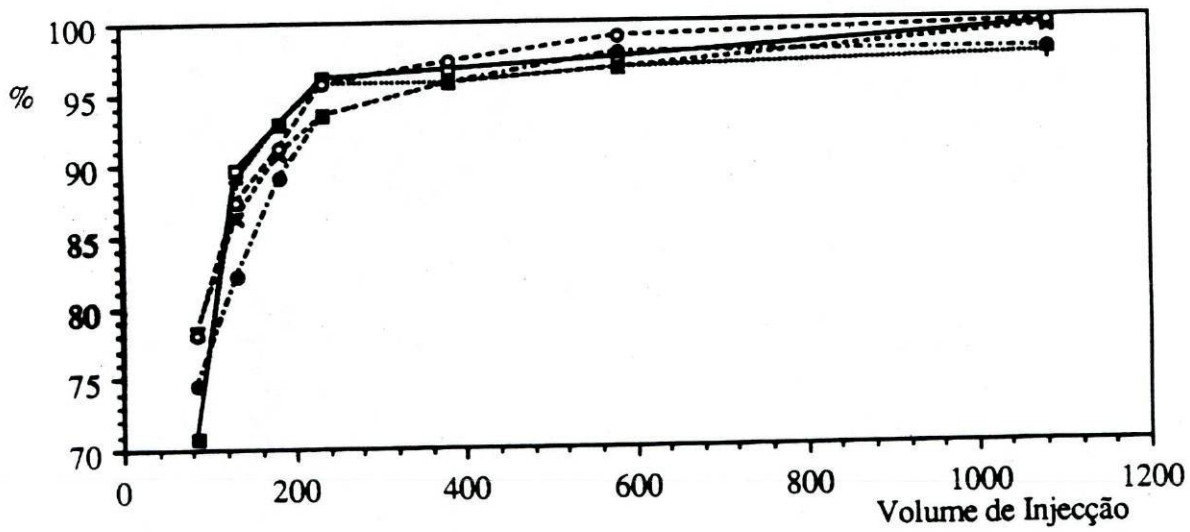


Figura 8.2.5.2. - Curvas representativas de variação do sinal analítico (% relativa) em função do volume de injecção (solução de NaBPh4 10^{-4} M), para diferentes caudais (8,6 (□); 6,8 (+); 5,9 (×); 4,2 (o) e 2,5 (•) mL minuto^{-1}).

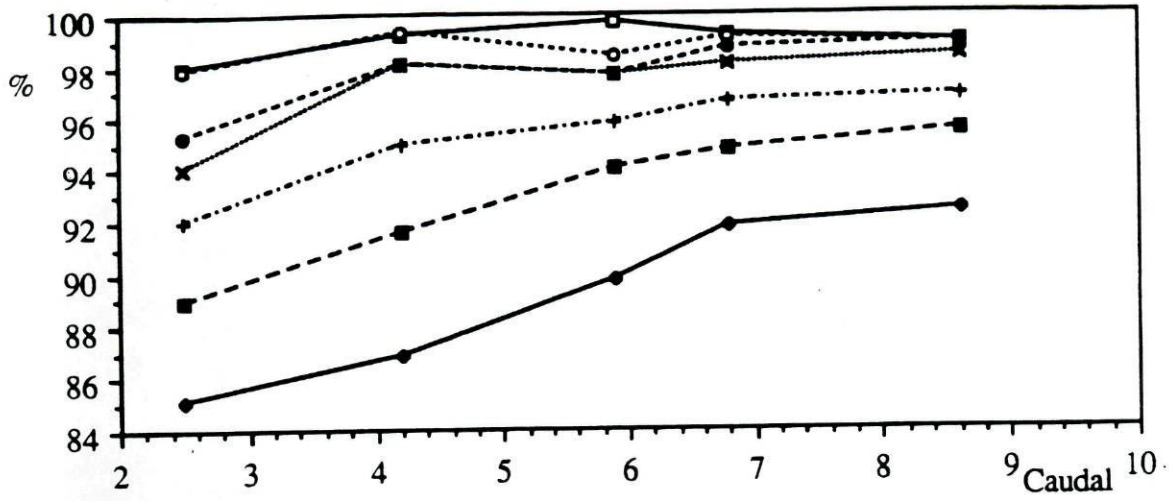


Figura 8.2.5.3. - Curvas representativas de variação do sinal analítico (% relativa) em função do caudal, para diferentes volumes de injecção de uma solução de NaBPh4 10^{-2} M (84 (♦), 134 (■), 184 (+), 234 (×), 384 (•), 584 (o) e 1084 (□) μL).

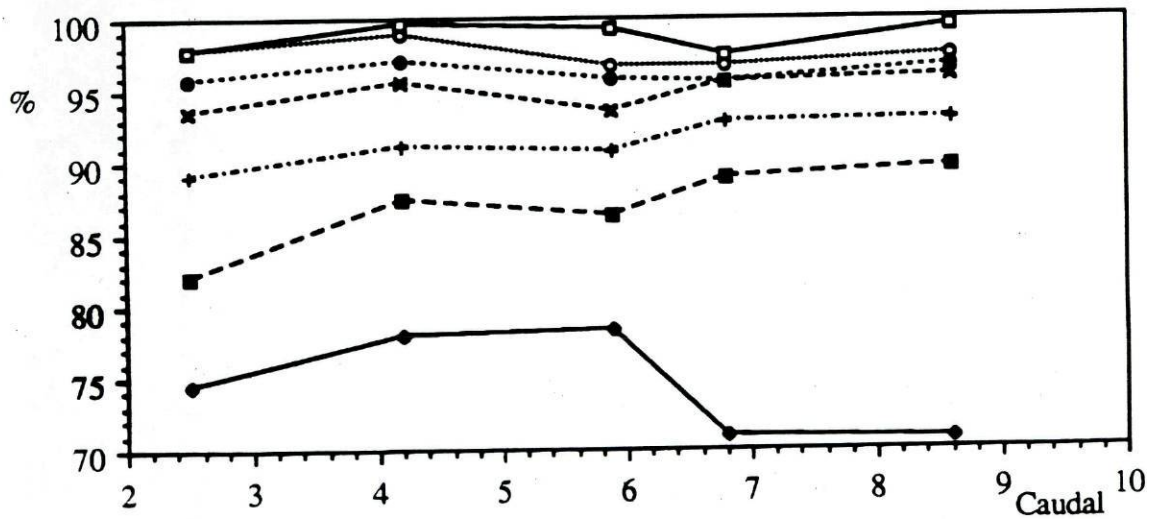


Figura 8.2.5.4. - Curvas representativas de variação do sinal analítico (% relativa) em função do caudal, para diferentes volumes de injecção de uma solução de NaBPh4 10^{-4} M (84 (♦), 134 (■), 184 (+), 234 (×), 384 (•), 584 (o) e 1084 (□) μL).

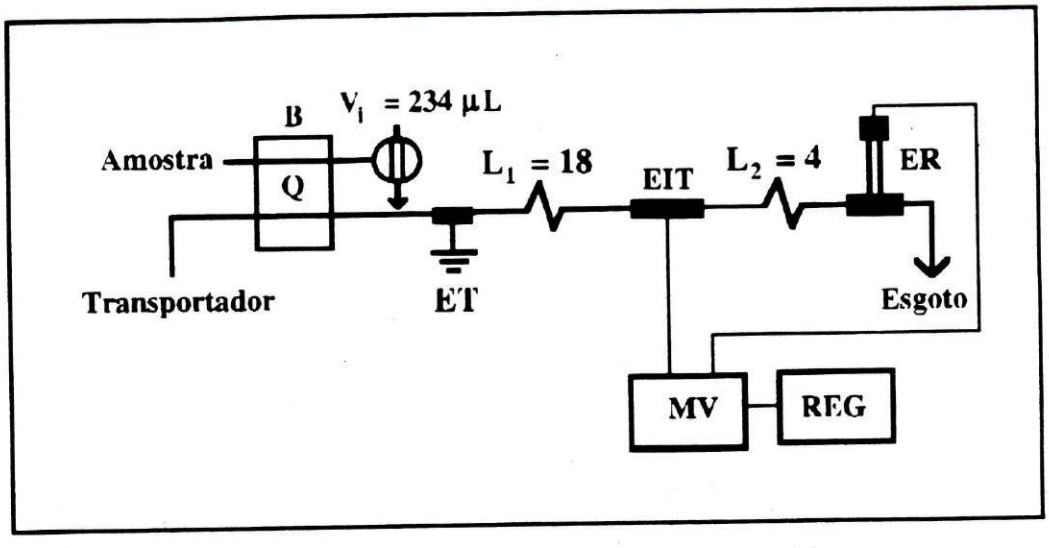


Figura 8.2.5.5. - Sistema FIA de baixa dispersão utilizado na avaliação dos eléctrodos tubulares sensíveis a BPh4: B - bomba peristáltica; V_i - volume de injecção; EIT - eléctrodo indicador tubular; ER - eléctrodo de referência; ET - "eléctrodo de ligação à terra"; MV - decimilivoltímetro; REG - registador; Q - caudal da solução transportadora (6,8 mL minuto^{-1}); L_i - comprimento do tubo/cm (0,8 mm d.i.).

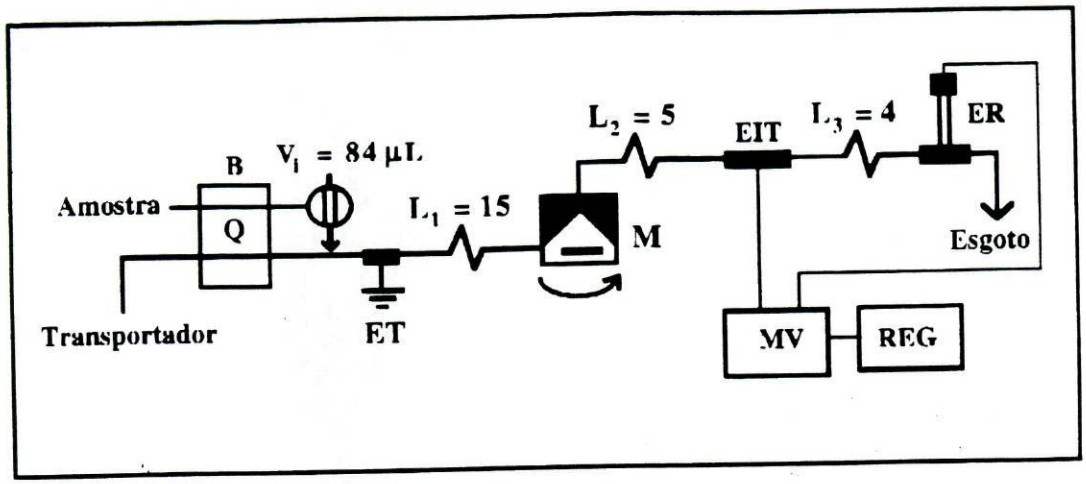


Figura 8.2.5.6. - Sistema de titulação em FIA: B - bomba peristáltica; V_i - volume de injecção; EIT - eléctrodo indicador tubular; ER - eléctrodo de referência; ET - "eléctrodo de ligação à terra"; MV - decimilivoltímetro; REG - registador; M - câmara de mistura com agitação; Q - caudal da solução transportadora (6.8 mL minuto^{-1}); L_i - comprimento do tubo/cm (0.8 mm d.i.).

8.3. - Resultados e sua discussão

8.3.1. - Avaliação das características do detector tubular

Para a determinação das características de resposta dos detectores tubulares de BPh4, utilizou-se o sistema de fluxo de baixa dispersão, representado na Fig. 8.2.5.5., onde, por injecções sucessivas de soluções de tetrafenilborato de sódio com diferentes concentrações, de 2×10^{-6} a 5×10^{-2} M, se efectuou o traçado das curvas de calibração correspondentes (Fig. 8.3.1.1.). Posteriormente, e a partir delas, determinaram-se as características de resposta dos eléctrodos tubulares, indicando-se na Tabela 8.3.1.1. os valores médios e respectivos desvios padrão obtidos. Na referida Tabela incluem-se igualmente, para efeitos de comparação, os mesmos parâmetros retirados dos correspondentes eléctrodos convencionais (descritos no Cap. 7).

Os ensaios foram executados com ajuste de força iónica utilizando sulfato de sódio e com ajuste simultâneo de pH e força iónica com a solução de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M). Verificou-se que os resultados obtidos para os eléctrodos tubulares em ambas as condições eram semelhantes, tendo sido obtidas respostas lineares até o valor de concentração de BPh4 igual a 0,1 M.

Os resultados obtidos mostram que, quando os eléctrodos tubulares sensíveis ao BPh4 são avaliados em sistemas de fluxo que mimetizam as condições experimentais, usadas para as avaliações dos eléctrodos convencionais, as características dos dois tipos de eléctrodos são muito semelhantes. A ligeira diferença registada nos valores dos limites de resposta linear que nos eléctrodos tubulares era maior, decorre do modo como esta característica foi avaliada. Assim, para os eléctrodos tubulares, este parâmetro está condicionado pela concentração de tetrafenilborato de sódio no transportador.

É de destacar um elevado ritmo de amostragem do sistema monocanal utilizado na avaliação dos eléctrodos (120 amostras $hora^{-1}$) que é consequência da rapidez de resposta que caracteriza os detectores.

Para avaliar a reprodutibilidade dos potenciais dos eléctrodos tubulares efectuaram-se vinte injecções sucessivas de soluções de NaBPh4 a diferentes concentrações. Foram utilizadas soluções a 10^{-5}, 10^{-4} e 5×10^{-3} M, apresentando-se na Fig. 8.3.1.2. o registo obtido com um dos dois eléctrodos testados, que permitiu observar uma variação do sinal inferior a ±0.15 cm, correspondente a uma variação de potencial inferior a ±1,5 mV.

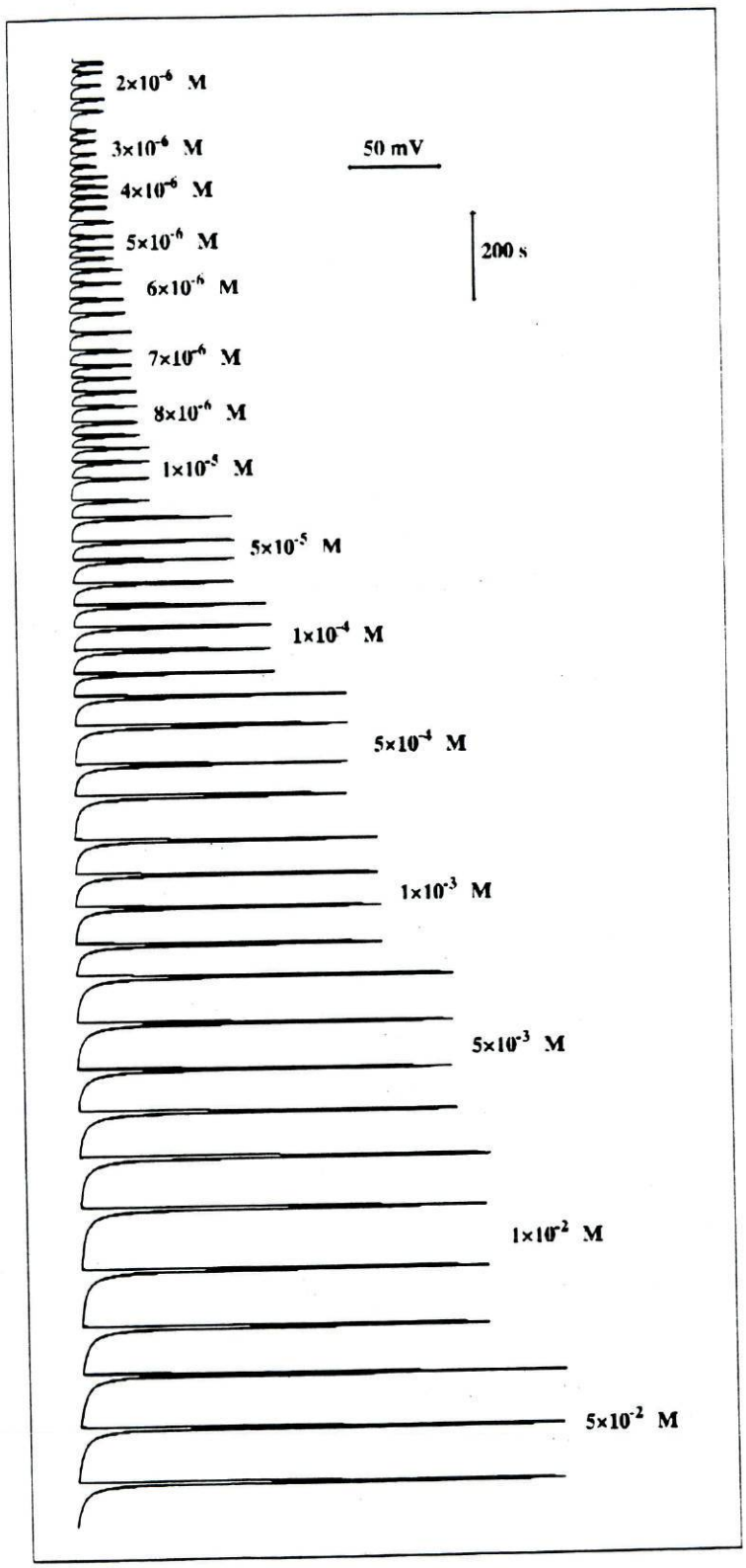


Figura 8.3.1.1. - Registo de uma curva de calibração para o eléctrodo tubular de BPh4, obtida em sistema de baixa dispersão.

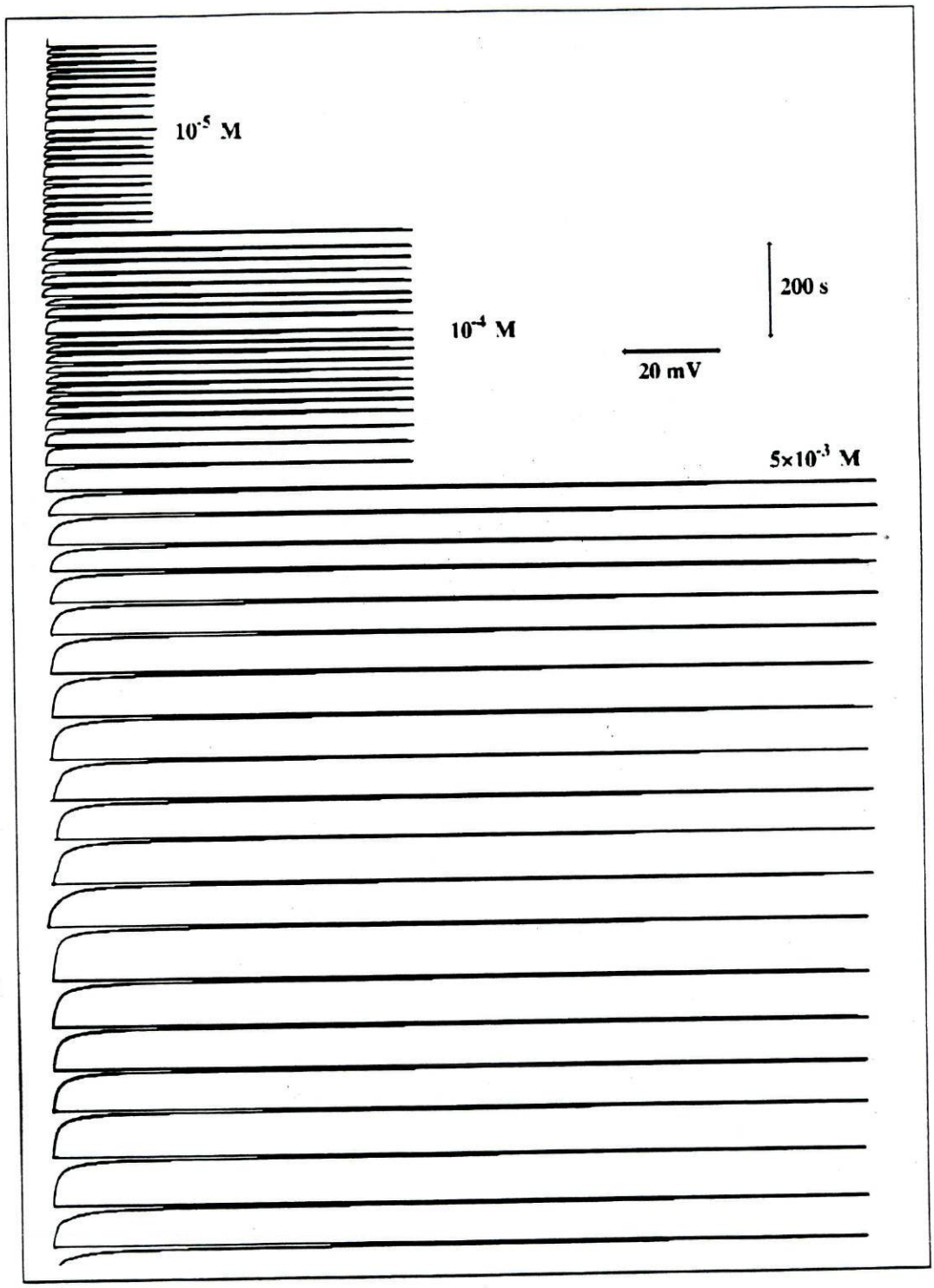


Figura 8.3.1.2. - Avaliação da reprodutibilidade dos sinais analíticos fornecidos por um detector tubular sensível ao tetrafenilborato.

Tabela 8.3.1.1. - Parâmetros de calibração para os eléctrodos tubulares sensíveis ao tetrafenilborato, em sistema FIA de baixa dispersão e correspondentes eléctrodos convencionais.

Características [a]	I [b]	II [c]	Eléctrodo $7B_3$ [d]
Declive (mV/log[BPh4])	-56,4±0,9	-54,4±0,9	-55,6±0,4
L.I.R.L. (M)	(3,8±0,6)x10^{-6}	(3,0±0,6)x10^{-6}	(2,5±0,4)x10^{-6}
Pat. Op. de pH [e]	2,5-11,5	--	2,5-11,5
Reprodutibilidade (mV/dia)	±1,5	±1,5	±1,0
Ritmo de amostragem ($hora^{-1}$)	120	120	--
Tempo de resposta (s)	--	--	<3

[a] Valores correspondentes a três determinações efectuadas com dois eléctrodos; [b] Ensaios efectuados em soluções com a força iónica ajustada a 0,1 M com sulfato de sódio; [c] Ensaios efectuados em soluções com o pH e a força iónica ajustados com tampão NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M); [d] Resultados obtidos com os eléctrodos convencionais sensíveis ao BPh4, descritos no Cap. 7; [e] Patamar operacional deduzido dos traçados dos diagramas de Reilley, obtidos em soluções de concentração 10^{-2} e 10^{-4} M em tetrafenilborato.

8.3.2. - *Efeito do pH no valor do potencial dos eléctrodos*

Para avaliar a zona de pH em que o sinal analítico dos detectores potenciométricos não era significativamente alterado, utilizou-se a montagem FIA representada na Fig. 8.3.2.1., semelhante à utilizada para a avaliação dos parâmetros das curvas de calibração (Fig. 8.2.5.5.) e anteriormente descrita [6]. As determinações foram realizadas em soluções de NaBPh4 com concentração de 10^{-2} e 10^{-4} M, com a força iónica ajustada a 0.1 M com sulfato de sódio, tendo sido utilizadas soluções concentradas de hidróxido de sódio e ácido sulfúrico, para provocar as alterações de pH (ver 2.8.4., Cap. 2).

Os diagramas obtidos nestas condições e apresentados nas Figs. 8.3.2.2. e 8.3.2.3. permitem afirmar que quando se alterava o pH das soluções entre 2,5 e 11,5 unidades (ver Tabela 8.3.1.1.) o potencial dos detectores tubulares não variava mais do que ±2 mV. Os resultados obtidos são muito semelhantes aos anteriormente referidos para os eléctrodos de configuração convencional (ver 7.3.3., Cap. 7), o que apesar de não ser muito comum é demonstrativo das boas características das unidades tubulares.

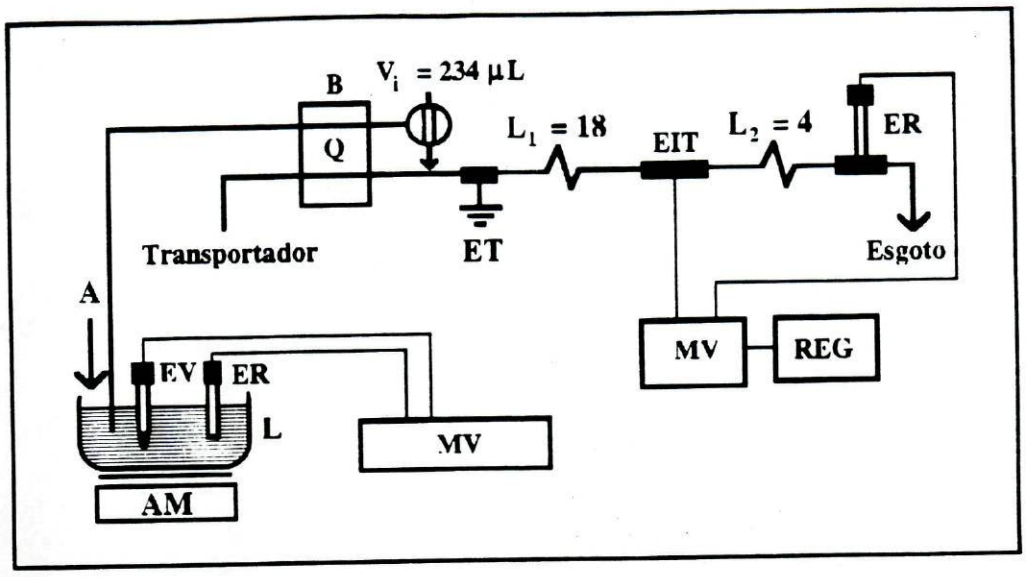


Figura 8.3.2.1. - Sistema FIA de baixa dispersão utilizado na avaliação do efeito do pH no sinal analítico dos eléctrodos tubulares sensíveis ao BPh4: B - bomba peristáltica; V_i - volume de injecção; EIT - eléctrodo indicador tubular; ER - eléctrodo de referência; EV - eléctrodo de vidro; ET - "eléctrodo de ligação à terra"; MV - decimilivoltímetro; REG - registador; AM - agitador magnético; L - recipiente de grande volume; A - pequenas adições de ácido ou base; Q - caudal da solução transportadora (6,8 mL minuto^{-1}); L_i - comprimento do tubo/cm (0,8 mm d.i.).

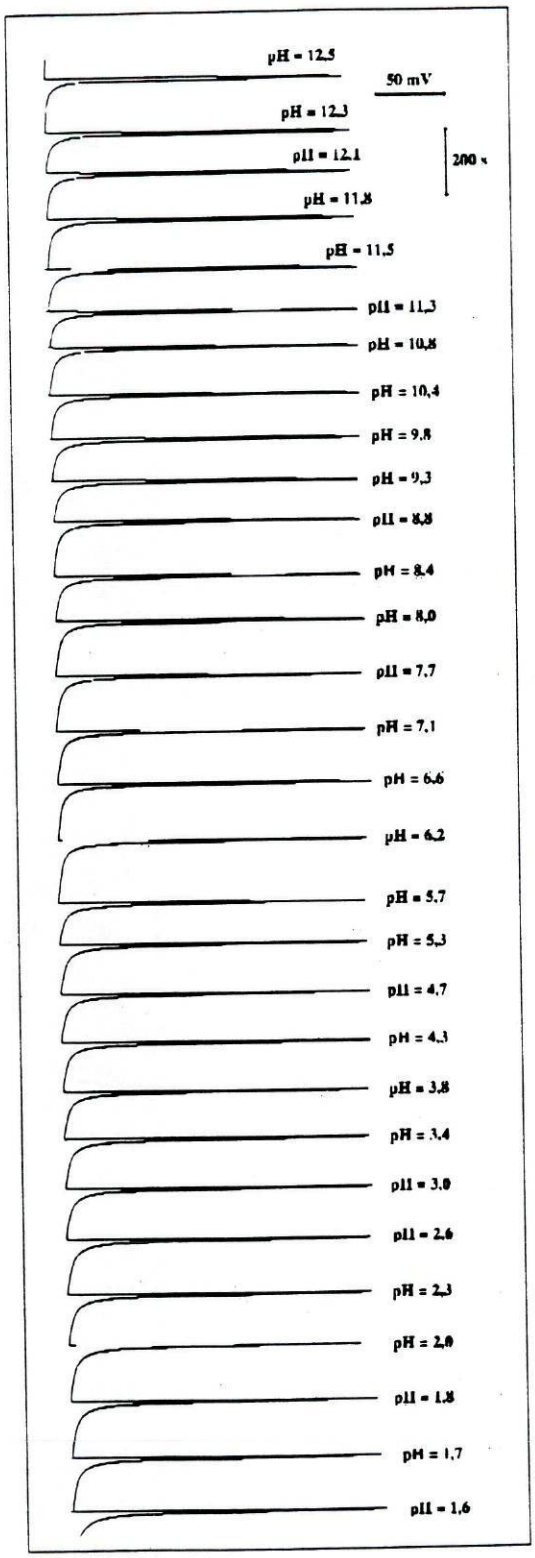


Figura 8.3.2.2. - Diagrama da variação do potencial dos detectores tubulares sensíveis ao tetrafenilborato com o pH em soluções com concentração igual a 10^{-2} M.

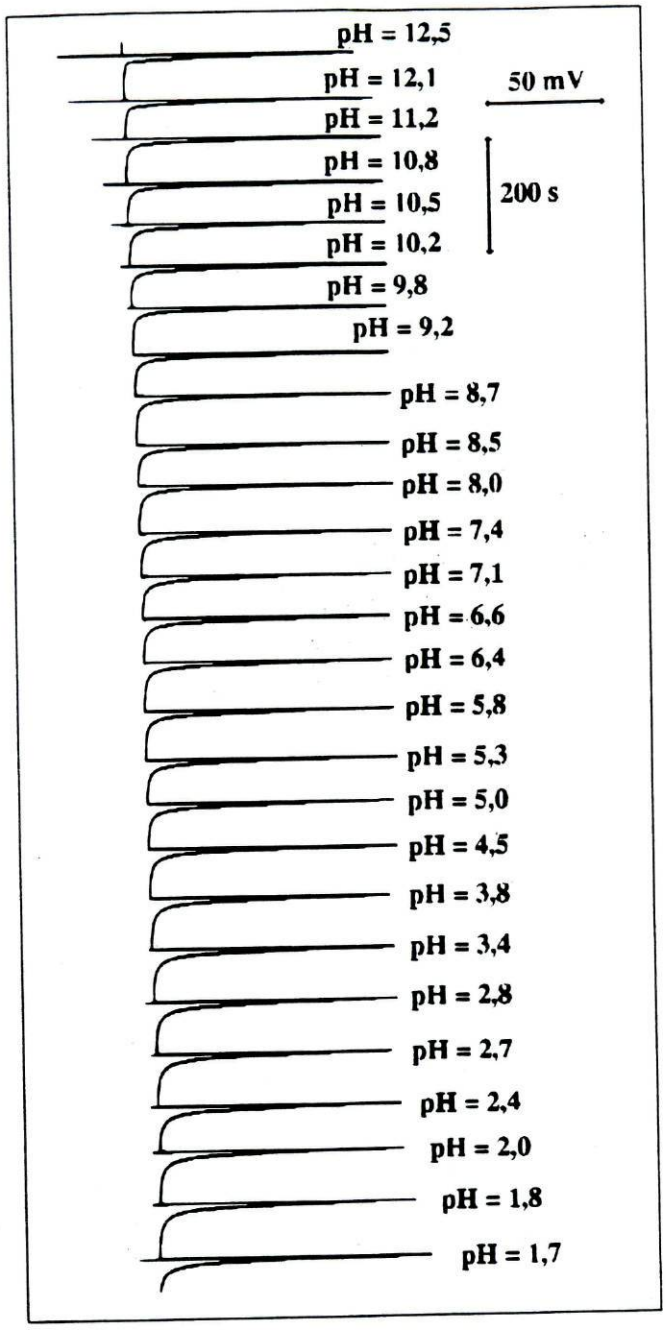


Figura 8.3.2.3. - Diagrama da variação do potencial dos detectores tubulares sensíveis ao tetrafenilborato com o pH em soluções com concentração igual a 10^{-4} M.

8.3.3. - Determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos

Para avaliar a extensão da interferência de alguns aniões nos eléctrodos tubulares de BPh4, procedeu-se à determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos ($K^{pot}_{A,B}$), seguindo um processo que se procurou que fosse tão semelhante, quanto possível, ao método das soluções separadas, usado na determinação das interferências com eléctrodos de configuração convencional (ver 2.7.4. e 2.8.5., Cap. 2).

Para tal foram injectadas soluções do ião principal e do ião interferente, ambas no intervalo de concentração compreendida entre 5×10^{-5} e 5×10^{-2} M, zona onde se iriam efectuar as determinações nos medicamentos. Seguidamente, calcularam-se os respectivos coeficientes de selectividade potenciométricos a três níveis de concentração (ver 2.8.5., Cap. 2), apresentando-se na Tabela 8.3.3.1. os resultados médios e respectivos desvios padrão correspondentes a duas determinações com dois eléctrodos (4 resultados). Também na mesma Tabela são indicados os resultados referentes aos eléctrodos de configuração convencional baseados no mesmo sistema sensor (ver 7.3.4., Cap. 7).

Como se pode observar os eléctrodos de configuração tubular apresentam boas características de selectividade.

Tendo em conta que os coeficientes de selectividade potenciométricos **dependem** grandemente das condições experimentais em que são determinados, e que, no caso particular das determinações por FIA, as avaliações foram executadas com a força iónica ajustada, é difícil uma comparação objectiva entre resultados obtidos com os eléctrodos tubulares e os dos eléctrodos de configuração convencional. O ligeiro aumento da selectividade registada para os detectores tubulares, quando incorporados no sistema FIA, deve-se provavelmente ao facto de, com esta metodologia, o tempo de contacto da membrana sensora com o interferente, não ser suficiente para que se efectue uma permuta extensa entre o ião

principal e o interferente. Esta observação confirma o anteriormente descrito por outros autores [7], que constataram que para espécies fracamente interferentes a permuta era maior em sistemas estáticos pelo que a selectividade era maior em sistemas dinâmicos [7].

Tabela 8.3.3.1. - Coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$) para os eléctrodos tubulares sensíveis ao BPh4 [a)] e dos correspondentes eléctrodos convencionais.

Interferentes	Eléctrodo tubular			Eléctrodo Convencional $7B_3$		
	Concentração (M)			Concentração (M)		
	$1x10^{-4}$	$1x10^{-3}$	$1x10^{-2}$	$1x10^{-4}$	$1x10^{-3}$	$1x10^{-2}$
Cloreto	-2,1±0,1	-3,2±0,1	-4,2±0,1	-1,9±0,1	-2,8±0,1	-3,7±0,1
Nitrato	-2,0±0,3	-3,1±0,2	-4,1±0,2	-1,4±0,1	-2,4±0,1	-3,4±0,1
Perclorato	-1,7±0,3	-2,9±0,3	-3,9±0,3	-1,3±0,1	-2,3±0,1	-3,3±0,1

[a)] Média e desvio padrão de quatro valores obtidos em duas determinações com dois eléctrodos.

8.3.4. - Doseamento da efedrina em formulações farmacêuticas por titulação em sistema FIA

Os resultados da avaliação das características de funcionamento dos eléctrodos tubulares construídos, sugeriam a possibilidade de poderem ser aplicados em determinações analíticas.

Por forma a garantir que a efedrina se encontrasse numa forma ionizada, a solução transportadora, os padrões de efedrina e as amostras eram sempre preparadas numa solução tampão de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 (pH = 6,3 e I = 0,1 M). A solução tampão utilizada foi escolhida com base nos resultados obtidos na avaliação dos detectores tubulares, nomeadamente zona de pH que não afectava o potencial dos eléctrodos.

Após o desenvolvimento do sistema FIA adequado, descrito anteriormente (8.2.5.), procedia-se à sua calibração pela injecção (em triplicado) de diferentes padrões de efedrina com concentrações variáveis entre aproximadamente 2×10^{-4} e 2×10^{-3} M. A avaliação quantitativa, dos sinais analíticos obtidos, foi baseada na medição da largura de pico em mm (velocidade de registo = 10 mm s^{-1}) a uma altura constante. Nas condições de ensaio definidas, a curva de calibração originava uma recta cujo coeficiente de regressão linear era pelo menos igual a **r=0,9997** (N=15) incluído na gama de concentrações estudada e permitia um ritmo **de cerca de** 60 amostras por hora (ver Fig. 8.3.4.1.).

A reprodutibilidade do sistema foi avaliada por sucessivas injecções, 20 vezes, de soluções padrão de efedrina com concentrações de cerca de 4×10^{-4} e 10^{-3} M. Obteve-se para as medidas de largura de pico efectuadas, uma variação inferior a ±0,25 cm, que correspondia a um coeficiente de variação inferior a 2.8 % (Fig. 8.3.4.2.).

A aplicabilidade do sistema FIA descrito, foi testado efectuando análises de diversas fórmulas farmacêuticas de diferentes composições contendo efedrina,

cuja comercialização é corrente no nosso País. Na Tabela 8.3.4.1. apresentam-se os resultados médios e os correspondentes desvios padrão obtidos com três eléctrodos em três determinações independentes da mesma amostra (9 valores).

Para avaliar a exactidão do sistema FIA, procedeu-se ao cálculo das respectivas percentagens de recuperação das amostras (ver Tabela 8.3.4.1.). Os valores médios de recuperação de 98,6% com um desvio padrão de 2.5%, permitem certificar a boa exactidão e precisão da metodologia proposta.

Para efeitos de comparação, incluem-se igualmente na referida Tabela os resultados obtidos por potenciometria directa com os eléctrodos convencionais sensíveis a efedrina (ver 3.3.5., Cap. 3). O cálculo do valor *t* de Student na análise comparada dos resultados obtidos por titulação em FIA com os fornecidos por potenciometria directa, originou um valor de $t = 0{,}815$. Para um nível de confiança de 95,0 % ($t_{0.025,\,6} = 2{,}571$) confirma-se a hipótese nula, ou seja, podem considerar-se equivalentes os resultados fornecidos pelos dois métodos .

Os valores relativamente elevados obtidos para o Codeisan xarope, quando comparados com os obtidos por potenciometria directa, devem-se à presença de codeína que precipita conjuntamente com a efedrina. Isto explica o grau de recuperação de cerca de 95%, uma vez que o eléctrodo responde a uma diminuição de tetrafenilborato de sódio proporcional à quantidade de ambos alcalóides presentes na formulação.

A utilização de titulações em FIA permitiu efectuar o doseamento de algumas formulações farmacêuticas (Congestan xarope e Constipal dragéias), cuja determinação não tinha sido possível efectuar por potenciometria directa. Tal facto deve-se provavelmente à presença de substâncias interferentes no eléctrodo de efedrina descrito no Cap. 3, mas que por não precipitarem com o tetrafenilborato, não interferem nesta metodologia.

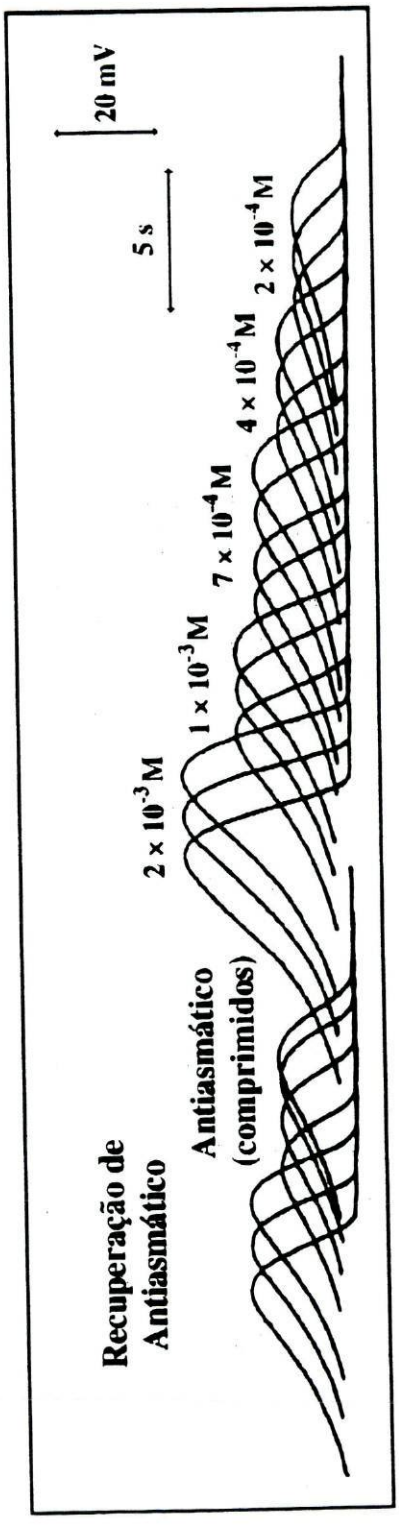


Figura 8.3.4.1. - Calibração dos detectores tubulares de tetrafenilborato e análise de uma amostra real (Antiasmático comprimidos).

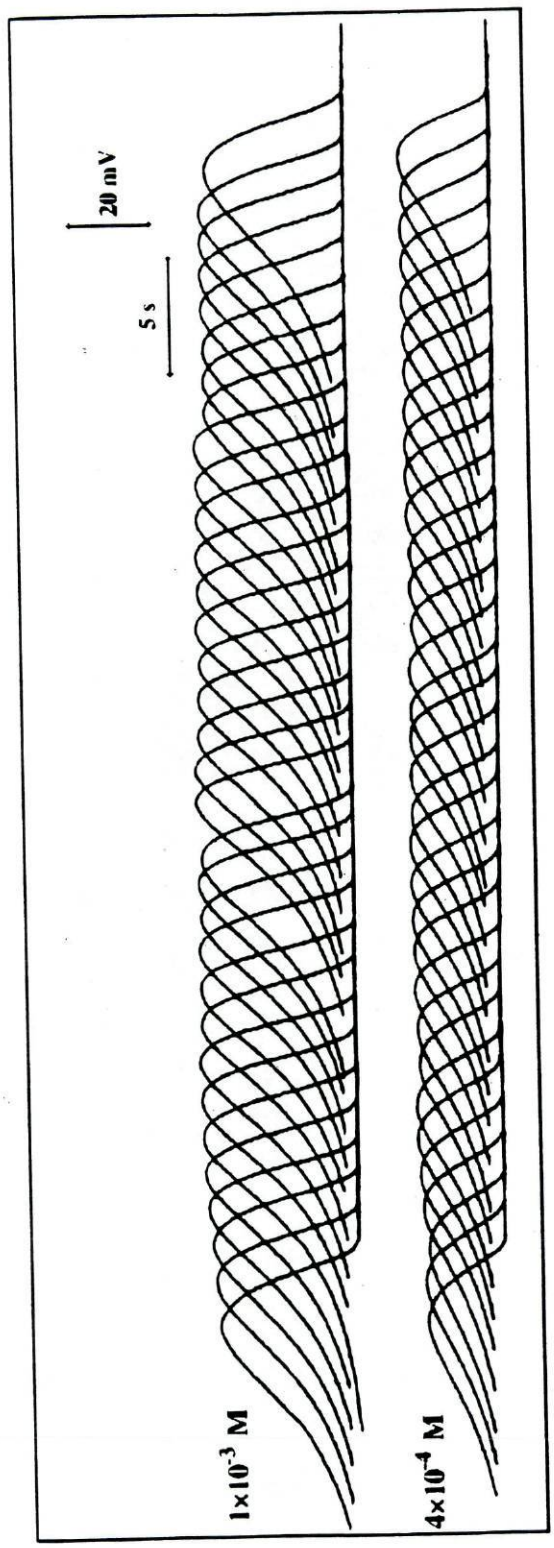


Figura 8.3.4.2. - Avaliação da reprodutibilidade dos sinais analíticos fornecidos por um detector tubular sensível ao tetrafenilborato, em titulação de efedrina.

Tabela 8.3.4.1. - Resultados obtidos (expressos em percentagem em peso) nas titulações com o tetrafenilborato em FIA, da efedrina presente em formulações farmacêuticas.

Preparação [b]	FIA		Potenciometra Directa [a]	
	Obtido [c] (% m/m)	Recuperação [c] (% m/m)	Obtido [c] (% m/m)	Recuperação [c] (% m/m)
Antiasmático (comprimidos)	9,03±0,31	98,9±5,6	9,26±0,07	96,4±1,6
Argotone (gotas nasais)	0,98±0,06	98,0±3,6	0,93±0,02	99,3±1,5
Nasocalma (gotas nasais)	1,06±0,03	94,3±4,2	1,00±0,02	99,7±2,8
Efedril (xarope)	0,11±0,01	98,4±3,3	0,09±0,01	101,7±2,0
Congestan (xarope)	0,60±0,04	101,5±5,3	--	--
Codofosfol (xarope)	0,15±0,02	97,7±4,4	0,13±0,01	107,4±1,7
Constipal (dragéias)	17,7±2,9	101,7±2,6	--	--
Codeisan (xarope)	0,88±0,04	95,2±5,1	0,17±0,02	98,6±3,4

[a] **Resultados** obtidos por potenciometria directa com os eléctrodos sensíveis a efedrina descritos no Cap. 3; [b] **Nomes** comerciais de formulações contendo efedrina disponíveis no mercado português; [b] Média e desvios padrão de três determinações efectuadas com três eléctrodos (nove resultados).

8.4. - Conclusões

Os resultados obtidos permitiram concluir que é possível obter eléctrodos de configuração tubular com características equivalentes a unidades convencionais, baseadas no mesmo extractor iónico, quando inseridos num sistema FIA de baixa dispersão.

As boas características apresentadas pelos detectores tubulares permitiram a construção de um sistema FIA simples e mecânicamente estável que foi, depois de optimizado, utilizado na determinação de efedrina em formulações farmacêuticas com diferentes composições. Os resultados revelaram-se equivalentes aos obtidos em potenciometria directa.

Desta forma, fornece-se um sistema de determinação de efedrina em formulações que é alternativo à potenciometria directa ou às titulações potenciométricas, com a vantagem de ser mais rápido (60 amostras $hora^{-1}$), economizar reagentes e cujos resultados são exactos e precisos. A metodologia proposta é simples e fácil de implementar em qualquer laboratório onde seja normal a rotina laboratorial.

8.5. - Referências bibliográficas

[1] - K. K. Stewart, *Anal. Chim. Acta*, **179**, 59 (1986)

[2] - J. Ruzicka e E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2ª edição, J. Wiley and Sons, Nova York (1988)

[3] - J. L. F. C. Lima e A. O. S. S. Rangel, *J. Food Comp. Anal.*, **2**, 356 (1989)

[4] - S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J. García-Raurich e E. Martines-Fàbregas, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **6**, 749 (1988)

[5] - I. M. P. L. V. O. Ferreira, J. L. F. C. Lima e A. O. S. S. Rangel, *Food Chem.*, **50**, 423 (1994)

[6] - S. Alegret, J. Alonso, J. Bartroli, J. L. F. C. Lima, A. A. S. C. Machado e J. M. Paulis, *Anal. Lett.*, **18**, 2291 (1985)

[7] - R. E. Reinsfelder e F. A. Schultz, *Anal. Chim. Acta*, **65**, 425 (1973)

CAPÍTULO 9

CONCLUSÕES GLOBAIS

9. - CONCLUSÕES GLOBAIS

Na elaboração desta dissertação optou-se por, nos diversos capítulos, apresentar a discussão dos resultados e retirar as respectivas conclusões à medida que iam sendo progressivamente descritos. Procurou-se deste modo vincar as conclusões específicas de cada caso considerado, justificando-se que neste capítulo somente se evidenciem muito brevemente as conclusões de índole geral do trabalho desenvolvido.

A construção de eléctrodos sem solução de referência interna, permitiu que fossem desenvolvidas unidades sensíveis a diferentes alcalóides (efedrina, quinidina, pilocarpina e atropina) e ao tetrafenilborato com boas características de funcionamento.

O processo de construção utilizado na preparação dos eléctrodos era simples, económico, fácil de implementar e versátil, pois permitia a adaptação dos eléctrodos a novas configurações, nomeadamente configuração tubular. Adicionalmente, o tipo de construção utilizado juntamente com a imobilização do sensor iónico em PVC, permitiram a obtenção de unidades mecânicamente mais estáveis, com tempos de vida mais longos e com baixos tempos de resposta.

Na preparação dos sistemas sensores para os eléctrodos sensíveis a alcalóides construídos, a utilização de derivados halogenados do tetrafenilborato relativamente mais hidrófobos, como por exemplo o tetraquis(4-clorofenil)borato ou o tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato), aliado ao uso de 2-nitrofenil-octiléter como solvente mediador, permitiram a obtenção de eléctrodos com melhores características de funcionamento. Entre as melhorias obtidas assinala-se o aumento da zona de resposta linear, reprodutibilidade dos potenciais, durabilidade e selectividade dos eléctrodos.

A melhoria global das características de funcionamento dos eléctrodos

tornou mais fácil a sua aplicação a situações concretas, nomeadamente ao doseamento de alcalóides em medicamentos por potenciometria directa. O procedimento proposto permitia a obtenção de resultados exactos e precisos, sem a necessidade de utilizar instrumentos sofisticados e dispendiosos. Como as determinações eram efectuadas após uma simples dissolução das amostras, era possível em tempos relativamente curtos a execução de elevado número de determinações.

Para os eléctrodos sensíveis a tetrafenilborato o uso de extractores iónicos bastante hidrofóbicos, particularmente tetrapentilamónio e tetraoctilamónio, dissolvidos em 2-nitrofenilfeniléter e imobilizados em PVC, permitiram a construção de eléctrodos com boas características de funcionamento. Desta forma foi possível efectuar doseamentos de vários alcalóides por titulações potenciométricas e fornecer uma alternativa às metodologias, por potenciometria directa, propostas.

Devido à grande maleabilidade do tipo de construção usada para os eléctrodos de configuração convencional, foi possível a obtenção de eléctrodos tubulares sensíveis ao tetrafenilborato com boas características de funcionamento. Desta forma conseguiu-se executar titulações de efedrina em formulações farmacêuticas num sistema de análise por injecção em fluxo (FIA). Os resultados obtidos no Cap. 8, não só confirmaram a grande maleabilidade do tipo de construção utilizada, como demonstraram a possibilidade de se executarem titulações em FIA, utilizando eléctrodos de membrana de PVC. Este tipo de titulações apresentam a vantagem de serem extremamente rápidas, além de fácilmente automatizáveis.

Ao longo desta dissertação, e durante a avaliação da selectividade dos eléctrodos sensíveis a alcalóides, procedeu-se à determinação dos coeficientes de selectividade potenciométricos relativamente a outros alcalóides. Na Tabela 9.1, apresentam-se, para efeitos de comparação, os resultados obtidos para cada caso.

Esta avaliação comparativa permitiu confirmar as igualdades $\log K^{pot}_{A,B} = -\log K^{pot}_{B,A}$ e $\log K^{pot}_{A,C} = \log K^{pot}_{A,B} + \log K^{pot}_{B,C}$ anteriormente descritas [1-4]. Assim por exemplo pode-se verificar que $\log K^{pot}_{Atropina,Efedrina} = -\log K^{pot}_{Efedrina,Atropina}$ e que $\log K^{pot}_{Quinidina,Efedrina} = \log K^{pot}_{Quinidina,Pilocarpina} + \log K^{pot}_{Pilocarpina,Efedrina}$, entre outras.

É também interessante verificar que existe uma relação entre a selectividade dos eléctrodos e a variação de potencial na proximidade do ponto de equivalência quando se efectuavam titulações dos alcalóides com os eléctrodos de tetrafenilborato. Como se pode observar pelos resultados apresentados na Tabela 9.1. em ambos os casos os valores obtidos seguem a seguinte ordem: quinidina>atropina>pilocarpina>efedrina. O facto destes parâmetros estarem relacionados, permite afirmar que a selectividade está também relacionada com a maior insolubilidade dos extractores utilizados, logo com uma maior afinidade dos extractores para uma fase orgânica hidrofóbica relativamente à fase aquosa.

Quanto ao limite inferior de resposta linear (L.I.R.L.) observou-se que os eléctrodos que permitiam a obtenção de menores L.I.R.L eram os sensíveis a atropina, seguido-se os sensíveis a pilocarpina, efedrina e por último os a quinidina. Este resultado não corresponde ao esperado para a quinidina, uma vez que a uma maior insolubilidade do extractor iónico corresponde normalmente um L.I.R.L. inferior. Seria útil tentar explicar este fenómeno, que pode eventualmente ocorrer devido à menor solubilidade em água da quinidina, relativamente aos outros alcalóides.

Finalmente, pelos resultados apresentados pode-se afirmar que quer a potenciometria directa com eléctrodos convencionais, quer a titulação potenciométrica com eléctrodos convencionais ou tubulares são técnicas analíticas vantajosas, e como tal podem ser consideradas como alternativa às metodologias oficiais para o doseamento de alcalóides em formulações farmacêuticas.

Tabela 9.1. - Valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos ($\log K^{pot}_{A,B}$) e limites inferiores de resposta linear (L.I.R.L.) obtidos para os eléctrodos sensíveis a alcalóides e correspondentes variações de potencial na proximidade de ±2 % do ponto de equivalência (ΔE2%), obtidas nas titulações potenciométricas de alcalóides, com os eléctrodos sensíveis a tetrafenilborato.

		Efedrina	Pilocarpina	Atropina	Quinidina
$\log K^{pot}_{A,Efedrina}$ [a]	5×10^{-4} M	-	-0,2	-0,5	-1.5
	10^{-3} M	-	-0,2	-0,6	-1.8
$\log K^{pot}_{A,Pilocarpina}$ [a]	5×10^{-4} M	+0,4	-	-0,2	-1.4
	10^{-3} M	+0,4	-	-0,3	-1.6
$\log K^{pot}_{A,Atropina}$ [a]	5×10^{-4} M	+0,4	+0,4	-	-1.1
	10^{-3} M	+0,6	+0,4	-	-1.3
$\log K^{pot}_{A,Quinidina}$ [a]	5×10^{-4} M	+2,0	+1,7	+1,1	-
	10^{-3} M	+2,2	+1,7	+1,7	-
ΔE2% [b]	7A	n.t.	9,4	12,9	25.0
	7B	n.t.	17,6	22,0	29.1
L.I.R.L. (M)	c)	$2,0\times10^{-5}$	$9,5\times10^{-6}$	$5,5\times10^{-6}$	$3,1\times10^{-5}$
	d)	$3,2\times10^{-5}$	$1,4\times10^{-5}$	$1,2\times10^{-5}$	$3,2\times10^{-5}$

n.t. - não foi possível efectuar titulações potenciométricas; [a] Valores dos coeficientes de selectividade potenciométricos para dois níveis de concentração estudados; [b] Valores de ΔE2% obtidos nas titulações de alcalóides com os eléctrodos do tipo 7A e 7B apresentados no Cap. 7; [c] Valores obtidos em soluções sem a força iónica ajustada; [d] Valores obtidos em soluções com a força iónica ajustada.

9.1. - Referências bibliográficas

[1] - G. J. Moody, R. K. Owusu e J. D. R. Thomas, *Analyst*, **112**, 121 (1987)

[2] - V. Sustacek e J. Senkyr, *J. Electroanal. Chem.*, **279**, 31 (1990)

[3] - J. Senkyr e Z. Malá, *J. Electroanal. Chem.*, **233**, 267 (1987)

[4] - Z. Malá e J. Senkyr, *Talanta*, **35**, 591 (1988)