

## 4 Estudo das características fosforescentes de cinco fluoroquinolonas

### 4.1 Estudos preliminares de fosforescência

A primeira etapa do trabalho envolveu o estudo de condições para a indução de sinal fosforescente de cinco FQs, pois não se observou fosforescência dessas substâncias quando as mesmas foram colocadas diretamente nos substratos de celulose. Esse estudo foi importante, pois indicou os sais de átomos pesados mais propícios para obtenção de fosforescência e a possibilidade de indução seletiva de sinal fosforescente de uma FQ em relação as outras, além das possíveis diferenças espectrais características de cada FQ em função do sal indutor empregado. Para tal, avaliou-se o efeito da presença de sete sais de átomos pesados no substrato onde as soluções de FQs foram depositadas. Dentre os sais de átomos pesados escolhidos, seis (KI,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{Cd}(\text{OAC})_2$ ,  $\text{AgNO}_3$  e  $\text{TlNO}_3$ ) são tradicionalmente usados para o desenvolvimento de métodos baseados na SS RTP e um, o  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ , que, de acordo com a literatura, nunca teve o efeito indutor de fosforescência avaliado. Das FQs escolhidas para o trabalho, três delas (LEV, MOX e GAT) nunca foram alvo de estudos semelhantes, e as outras duas (CIP e NOR) já foram investigadas quanto a influência do efeito externo do átomo pesado.<sup>10</sup> No entanto, os resultados já reportados para a CIP e para a NOR não incluem o estudo dos efeitos de sais de mercúrio(II), tálio(I), iodeto e o tório(IV).<sup>10</sup>

O estudo envolveu também a avaliação preliminar de três soluções carreadoras de analito, sendo duas delas em meios de acidez ou basicidade relativamente altos. Os meios carreadores testados foram: (i) acetona/água 5/95%, v/v; (ii) solução de meio básico (acetona/ $\text{NaOH}$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  5/95%, v/v) e (iii) solução de meio ácido (acetona/ $\text{HCl}$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  5/95%, v/v). O volume mínimo de 5% de acetona foi usado para garantir a solubilização completa das FQs. Os substratos sólidos escolhidos para o estudo foram papéis-filtro e papéis-filtro tratados com SDS. Como descrito anteriormente, o SDS pode ter um efeito importante na interação efetiva entre a molécula de interesse e o átomo pesado.

De fato, no caso de algumas substâncias na presença de sais de átomos pesado específicos, apenas em substratos modificados com SDS o efeito externo do átomo pesado é efetivo.<sup>85</sup> Os resultados desses estudos preliminares se encontram na Tabela 4.1 e na Tabela 4.2.

Avaliando conjuntamente as tabelas, para GAT e MOX, nenhum sinal fosforescente foi observado em celulose, não importando o sal empregado. No entanto, na presença de SDS, sinais relevantes dessas duas FQs são observadas na presença de nitrato de tálio quando a MOX foi depositada no substrato a partir de solução carreadora em meio ácido ou simplesmente a partir de acetona/água. Esse tipo de comportamento é relativamente comum para o tálio, pois este sal parece ter seu efeito externo muito mais efetivo em substratos contendo SDS.<sup>111,112</sup> No caso da MOX, o nitrato de prata, o nitrato de chumbo e o nitrato de tório também só induziram sinal fosforescente na presença de SDS.

Para as outras três FQs, o nitrato de tálio provocou indução de fosforescência em todos os meios escolhidos para as soluções carreadoras, exceto em meio ácido para a CIP e para a LEV. Nesse caso, o tipo de substrato (com ou sem SDS) não fez diferença. Na presença de SDS, o sinal da NOR que foi observada em papel filtro desaparece. Outro fato interessante é a amplificação de duas vezes no sinal da LEV em meio básico na presença do nitrato de tálio.

Para o nitrato de prata em papel, a fosforescência foi observada para três FQs (NOR, CIP e LEV) quando acetona/água é empregada como solução carreadora. Apenas no caso da NOR, fosforescência foi observada em meio ácido. Já com substratos com SDS, o sinal da LEV não foi observado em nenhum caso e o sinal da NOR em meio ácido desaparece.

No caso do nitrato de chumbo, nota-se um comportamento diferenciado para a NOR, que apresentou fosforescência apenas na presença de SDS quando a solução carreadora foi ácida. Para a LEV, comportamento similar foi verificado quando a solução carreadora era básica e os substratos continham SDS. A partir de solução preparada com acetona/água, sinais fosforescentes foram observados para as três FQs, não importando o tipo de substrato utilizado.

Tabela 4.1. Estudo do efeito de sais de átomo pesado no sinal fosforescente de norfloxacin (NOR), ciprofloxacina (CIP), levofloxacina (LEV), gatifloxacina (GAT) e moxifloxacina (MOX) em papel filtro.<sup>a</sup>

FQ	Sais de átomos pesados <sup>b</sup>						
	$I_a - I_b$ (u.a) <sup>c</sup>						
	$\lambda_{exc} \backslash \lambda_{em}$ (nm)						
meio <sup>d</sup>	TiNO <sub>3</sub>	AgNO <sub>3</sub>	KI	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Hg <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Cd(OAC) <sub>2</sub>	Th(NO <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>
NOR	-	169,3	43,1	-	183,34	-	175,7
	-	284/450	287/433	-	285/465	-	284/446
	HCl	45,5	61,4	-	51,4	-	80,6
	HCl	284/450	287/433	-	285/465	-	284/446
	NaOH	59,2	-	-	-	-	50
	NaOH	267/514	-	-	-	-	285/467
CIP	-	38,45	28,5	-	44,35	-	31,32
	-	287/500	290/506	-	288/484	-	282/452
	HCl	-	-	-	-	-	-
	NaOH	64,19	-	-	-	-	-
	NaOH	287/459	-	-	-	-	-
	-	90,1	27,3	-	199,5	-	46,6
LEV	-	296/523	296/523	-	296/523	-	296/523
	-	299/527	-	-	-	-	50
	HCl	-	-	-	-	-	-
	NaOH	102,3	-	-	-	-	65
	NaOH	296/523	-	-	-	-	299/527
	-	56	-	-	-	-	-
GAT	-	262/502	-	-	-	-	-
	HCl	-	-	-	-	-	-
	NaOH	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-
MOX	HCl	-	-	-	-	-	-
	NaOH	-	-	-	-	-	-

<sup>a</sup> Concentração da solução carreadora de analito  $1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>

<sup>b</sup> Massas depositada no substrato a partir de 5  $\mu$ L de solução: TiNO<sub>3</sub> (665  $\mu$ g); AgNO<sub>3</sub> (83  $\mu$ g) KI (207  $\mu$ g); Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (414  $\mu$ g); Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (339  $\mu$ g); Cd(OAC)<sub>2</sub> (333  $\mu$ g); Th(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (666  $\mu$ g); SDS (360  $\mu$ g).

<sup>c</sup>  $I_a - I_b$ : sinal fosforescente líquido em unidades arbitrárias.

<sup>d</sup> Meio da solução carreadora de analito: acetona/água 5/95%, v/v onde NaOH ou HCl pode ser adicionado dependendo da faixa de trabalho.

Tabela 4.2. Estudo do efeito de sais de átomo pesado no sinal fosforescente de norfloxacin (NOR), ciprofloxacina (CIP), levofloxacina (LEV), gatifloxacina (GAT) e moxifloxacina (MOX) em papel filtro tratado com SDS.<sup>a</sup>

FQ	Sais de átomos pesados <sup>b</sup>							
	$I_a - I_b$ (u.a) <sup>c</sup>							
	$\lambda_{exc} \backslash \lambda_{em}$ (nm)							
	Meio <sup>d</sup>	TiNO <sub>3</sub>	AgNO <sub>3</sub>	KI	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	HgCl <sub>2</sub>	Cd(OAC) <sub>2</sub>	Th(NO <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>
NOR	-	183,6 282/501	58,0 287/433	-	43,9 283/468	-	102,6 285/443	83,0 285/467
	HCl	-	-	-	-	-	-	40,0 285/467
	NaOH	52,4 282/501	-	-	-	-	-	156,0 285/467
	-	67 263/525	38,5 290/506	-	89,7 288/481	-	55 282/452	119,1 288/447
CIP	HCl	-	-	-	-	-	-	-
	NaOH	51,4 287/487	-	-	-	-	-	-
	-	329,7 296/551	-	-	711,9 297/512	-	113,8 297/512	100,3 295/515
LEV	HCl	-	-	-	-	-	-	-
	NaOH	233,4 296/551	-	-	39,8 297/512	-	-	180,7 297/512
	-	56 262/502	-	-	-	-	-	-
GAT	HCl	-	-	-	-	-	-	-
	NaOH	119,0 276/503	-	-	-	-	-	-
	-	77,3 298/509	50,0 297/513	-	63,4 298/498	-	-	32,7 303/402
MOX	HCl	-	-	-	-	-	-	-
	NaOH	53,2 284/510	-	-	-	-	-	-

<sup>a</sup>Solução carreadora de analito  $1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>

<sup>c</sup> Massas depositada no substrato a partir de 5  $\mu$ L de solução: TiNO<sub>3</sub> (665  $\mu$ g); AgNO<sub>3</sub> (83  $\mu$ g) KI (207  $\mu$ g); Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (414  $\mu$ g); Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (339  $\mu$ g); Cd(OAC)<sub>2</sub> (333  $\mu$ g); Th(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (666  $\mu$ g); SDS (360  $\mu$ g).

<sup>d</sup> $I_a - I_b$ : sinal fosforescente líquido.

<sup>e</sup>solução carreadora de analito: acetona/água 5/95%, v/v onde NaOH ou HCl pode ser adicionado dependendo da faixa de trabalho.

O acetato de cádmio induziu fosforescência para NOR, CIP e LEV quando estes foram depositados no papel (ou papel/SDS) a partir de soluções feitas em acetona/água. No caso da LEV, uma amplificação relevante de sinal (quase três vezes) foi obtida com SDS. Com soluções preparadas em meio ácido e depositadas em papel sem SDS, se observou fosforescência apenas para NOR.

O nitrato de tório apresentou um resultado interessante, onde sinal obtido usando solução carreadora de acetona/água foi apenas observado para a LEV. A CIP não apresentou sinal com nenhum dos tipos de solução carreadora, não importando o substrato. Já para substratos com SDS, seletividade de sinal para NOR em relação às outras FQs foi observada para solução carreadora ácida. Nenhum resultado positivo foi observado na presença de mercúrio.

Na descrição dos resultados da Tabela 4.1 e Tabela 4.2, não foi dada muita atenção para a comparação de eventuais diferenças nos valores de  $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$  das FQs provocadas pelo efeito dos sais. No entanto, mais adiante, durante a escolha do sal(is) indutor(es) para o prosseguimento do trabalho, essa característica será evocada para a otimização de método analítico seletivo. Apenas para fazer uma avaliação superficial desses resultados, os mesmos indicam que em condições onde todos os analitos fosforescem, como é o caso do uso de papel com SDS na presença de nitrato de tório a partir de solução acetona/água, apresentam diferenças relevantes nos pares  $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ , o que a princípio poderia indicar a possibilidade da determinação seletiva utilizando modos de varredura adequados (por exemplo o modo sincronizado). No entanto, devido à largura das bandas espectrais (em termos de FWHM), interferências espectrais relevantes provavelmente ocorrerão na análise de misturas. Maior potencial para determinação seletiva pode ser conseguido em situações onde apenas duas ou três substâncias apresentem fosforescência com valores diferentes de  $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ . Um caso que chama a atenção é o que utiliza o efeito externo do nitrato de tório com deposição em papel a partir de soluções básicas. Uma avaliação mais precisa desses casos poderá ser feita após um estudo mais detalhado do efeito do pH das soluções carreadoras.

A comparação das intensidades relativas de sinal para os analitos em função do tipo de sal de átomo pesado também foi praticamente ignorada, com exceção nos casos onde grande amplificação de fosforescência foi observada em função do uso ou não de SDS no substrato. A explicação para esta aparente negligência é baseada na forte dependência do sinal luminescente dos fósforos em função da quantidade de sal presente no substrato, o que impossibilita que

qualquer observação dessa natureza possa ser relevante no momento, pois os sais não estão na suas condições ideais de massa para indução de fosforescência.

Duas conclusões importantes podem ser tiradas dos estudos preliminares mostrados na Tabela 4.1 e na Tabela 4.2. Primeiramente, observa-se uma forte dependência do efeito externo do átomo pesado com a concentração hidrogeniônica da solução carreadora das FQs. Esse efeito deve ser investigado mais detalhadamente usando uma faixa de pH extensa. Em segundo lugar, o efeito do SDS como modificador de superfície, mais do que apenas promover amplificação adicional de fosforescência, a exemplo de dois casos comentados mais acima, pode vir a ser utilizado como parâmetro seletivo crítico, implicando na indução ou não de fosforescência (vide o caso da GAT e da MOX na presença de tálio).

## **4.2**

### **Avaliação do pH como fator seletivo**

Para auxiliar no critério de escolha dos sistemas para os quais os estudos de seletividade serão desenvolvidos, e por conseqüência quais das FQs serão tratadas como analitos e quais serão consideradas interferentes, os sinais fosforescentes das FQs foram estudados em função do pH para os sais de átomos pesados mais promissores (nitrito de tálio, acetato de cádmio, nitrito de prata, nitrito de chumbo e o nitrito de tório). Esse estudo foi realizado apenas para a NOR, LEV e CIP, pois, sinais fosforescentes da GAT e da MOX são relevantes apenas na presença de nitrito de tálio, sal para o qual o efeito externo de indução de fosforescência foi importante para todas as FQs. A avaliação prévia do desempenho da GAT e da MOX determinou que essas duas FQs fossem tratadas como interferentes nos estudos de caso a serem escolhidos para a continuidade desse trabalho. Assim, o estudo detalhado de fosforescência na faixa de pH entre 2 e 12 poderão ser vistos em seguida apenas para a NOR, LEV e CIP.

A forte relação entre pH e sinal luminescente é comum para muitas classes de substâncias, principalmente quando as medições são feitas diretamente em solução. Esse tipo de influência é observado também quando as soluções de analito são depositadas em substrato, onde o solvente é posteriormente evaporado. Isso pode indicar que reações-ácido-base nessas moléculas podem provocar modificações estruturais que são em parte preservadas quando as

moléculas, inicialmente em meio aquoso, são transferidas e adsorvidas no substrato sólido. Para as FQs, a influência da variação da concentração hidrogeniônica é explicável por causa da presença de um ou mais prótons lábeis presentes em grupos carboxílicos e pela presença de oxigênio de carbonilas.

O pH medido nas soluções de FQs ( $5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) preparadas em acetona/água 5/95%, v/v foram: pH 6,5 (NOR), pH 7,2 (LEV), pH 5,8 (CIP). Esses valores não são compatíveis com os valores de pH calculados baseados no pK<sub>a</sub> da NOR (em torno de 6,3 para a primeira dissociação), no pK<sub>a</sub> da LEV (7,9) e no pK<sub>a</sub> da CIP (em torno de 6 para a primeira dissociação) nas concentrações utilizadas e considerando solução aquosa. Os valores calculados (pH 5,5 para a NOR, pH 6,2 para a LEV e pH 4,8 para a CIP) são uma unidade de pH inferior ao esperado. No entanto, ao relacionar os valores para as FQs entre si, pode-se ver que os resultados experimentais e calculados são proporcionais e explicam a observação de valores diferentes do pH natural das soluções desses compostos. A presença de acetona como parte do sistema de solventes pode explicar em parte as diferenças de valores de pH experimentais e calculados indicadas acima.

Foram construídos cinco gráficos, um para cada sal de átomo pesado, indicando o comportamento do sinal fosforescente da NOR, LEV e da CIP em função do pH das soluções carreadoras. Os pHs das soluções carreadoras foram ajustadas com tampão Britton-Robinson e as massas de sais de átomos pesados depositadas no papel foram as mesmas indicadas nos estudos preliminares de fosforescência. Apenas substratos de papel sem SDS foram utilizados nessa etapa. Os pares  $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$  usados para medir o sinal apresentado no gráfico foi o característico de cada meio, isto é, em cada solução carreadora de pH definido foi feita a varredura, sendo usada o par  $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$  característico para cada situação. Assim, é possível que em alguns casos, faixas diferentes do gráfico de um composto para um específico sal tenham sido medidas usando diferentes  $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ . A partir desses resultados, a seleção dos sistemas analito-interferentes pôde ser feita e os métodos desenvolvidos e validados.

#### 4.2.1

##### **Variação do sinal fosforescente em função do pH da solução carreadora de analito na presença de nitrato de prata**

Os estudos envolvendo o nitrato de prata mostraram que a fosforescência da LEV possui um pico característico em torno do pH 7. Pela Figura 4.1, observa-se que em meio mais básico o sinal diminui sistematicamente, e em

meio ácido observa-se um segundo máximo em pH 4, mas com um terço do sinal observado em pH 7. A fosforescência do CIP pareceu não ser significativamente modificada na faixa estudada e seu sinal não passou de 15% do sinal máximo observado para a LEV (7% em pH 7,2). No caso da NOR, o sinal máximo foi obtido a partir da solução de pH mais ácido, diminuindo sistematicamente em função do aumento do pH. Em torno do pH 8, o sinal da NOR é similar ao da CIP, e em pH 7,2, o sinal da NOR é em torno de 15% do sinal da LEV. Como o  $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$  da LEV (296/523 nm) é razoavelmente diferente do da CIP (287/500 nm) e significativamente diferente do da NOR (287/433 nm) poder-se-ia ter uma condição seletiva interessante para a determinação seletiva da LEV usando soluções tamponadas em pH 7. No entanto, experimentos adicionais indicaram que os papéis impregnados com nitrato de prata e que receberam soluções nessa faixa de pH escureceram rapidamente devido à formação de óxido de prata. Nessa situação, a observação de fosforescência fica impossibilitada devido a um efeito filtro da radiação de excitação.

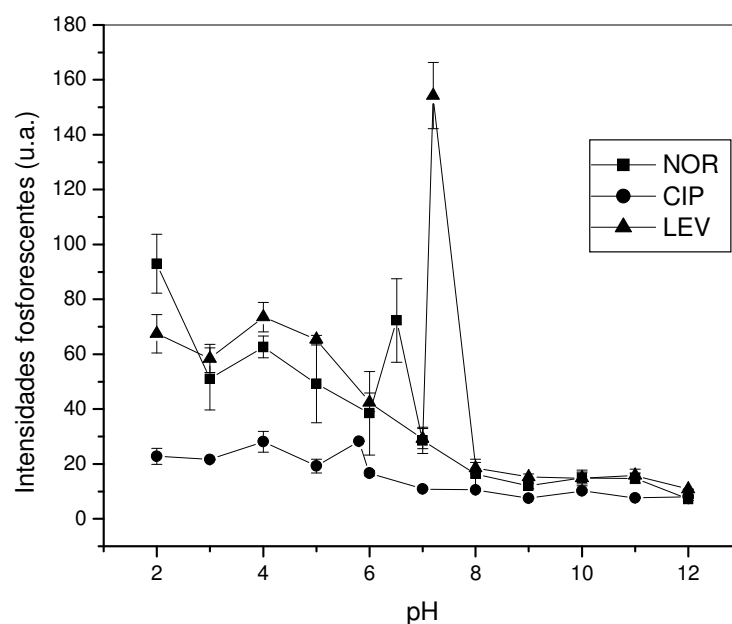


Figura 4.1. Variação da fosforescência das fluoroquinolonas em função do pH das soluções carreadoras de analito ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de nitrato de prata.



#### 4.2.2.

#### Varição do sinal fosforescente em função do pH da solução carreadora de analito na presença dos nitratos de chumbo e tálio

O comportamento das três FQs em função do pH das soluções carreadoras em substratos contendo nitrato de chumbo ou nitrato de tálio foi bastante semelhante, como pode ser visto na Figura 4.2 e Figura 4.3. Em ambos os casos, a LEV apresenta fosforescência significativamente maior (de 2 a 9 vezes o sinal observado para NOR e CIP) em praticamente toda a faixa estudada, considerando quantidades molares equivalentes das FQs. Para o nitrato de chumbo (Figura 4.2), assim como observado anteriormente para o nitrato de prata, o sinal máximo para a LEV foi em pH 7. No entanto, um segundo máximo ocorre em pH 12. Os sinais da NOR e da CIP, embora comparativamente significativamente menores que o da LEV, são razoavelmente intensos e se comportam quase que de maneira invariável na faixa de pH estudada.

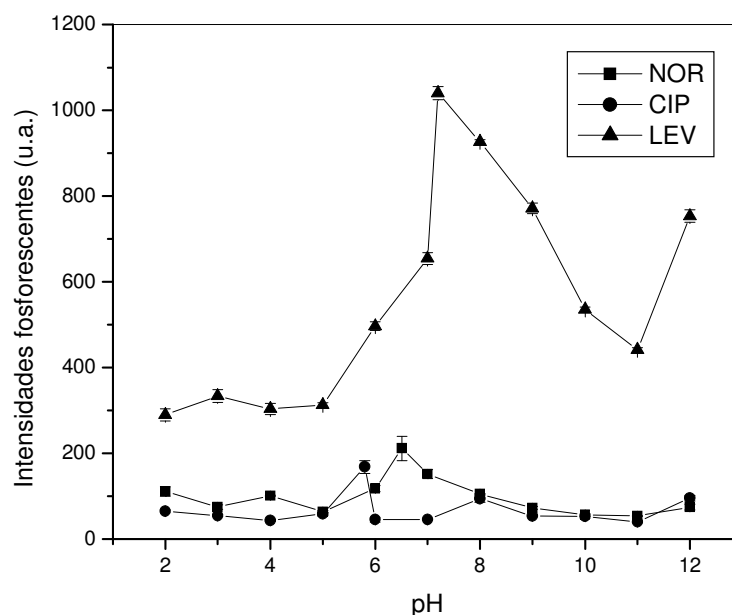


Figura 4.2. Varição da fosforescência das FQs em função do pH das soluções carreadoras de analito ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de nitrato de chumbo.

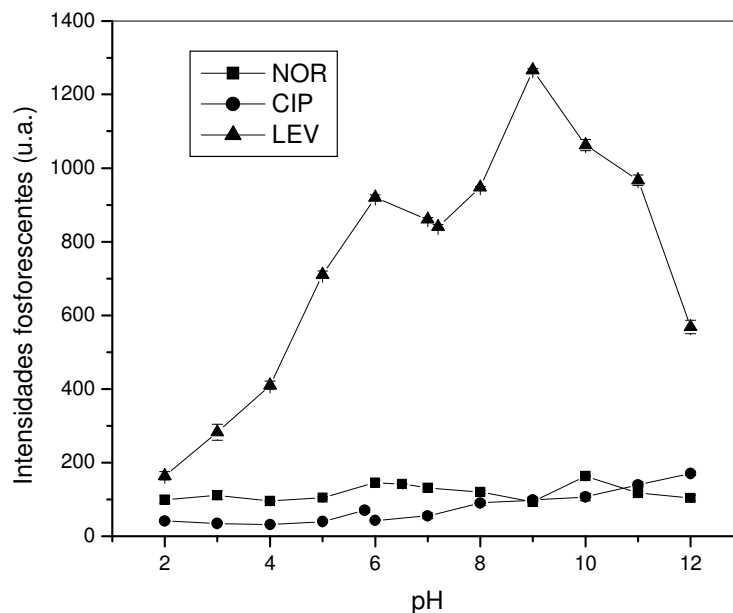


Figura 4.3. Variação da fosforescência das FQs em função do pH das soluções carreadoras de analito ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de nitrato de tálio.

Para o nitrato de tálio (Figura 4.3), observa-se situação semelhante ao de nitrato de chumbo onde para NOR e para a CIP são observados sinais equivalentes e independentes da variação de pH dentro da faixa estudada. Para a LEV, sinais muito mais intensos que o da CIP e o da NOR são observados em praticamente toda a faixa de pH, sendo isto mais destacado entre o pH 5 e o pH 12. No entanto, ao contrário do que foi visto nos casos dos nitratos de prata ou de chumbo, o sinal mais intenso aparece em pH 9. A Tabela 4.3 mostra o efeito do pH da solução carreadora nos valores de  $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{em}}$  da LEV, NOR e CIP nas presenças e de tálio e chumbo.

Do ponto de vista da determinação da LEV, esses dois sais de átomos pesados são potencialmente interessantes por causa da grande diferença de sinal entre os compostos. No entanto, somente essa característica não implicaria em garantia de seletividade, pois os sinais de NOR e CIP são significativamente maiores que o sinal dos brancos, podendo impor interferências espectrais na medida em que as quantidades de NOR e CIP nas misturas aumentam em relação à quantidade de LEV. Nesses casos, o uso da varredura sincronizada seria interessante se os valores de  $\Delta\lambda$  (diferença entre  $\lambda_{\text{exc}}$  e  $\lambda_{\text{em}}$ ) dos compostos forem significativamente diferentes. Esse é o caso entre a LEV e a NOR ( $\Delta\lambda_{\text{LEV}} -$

$\Delta\lambda_{\text{NOR}} = 57 \text{ nm}$ ) e LEV e CIP ( $\Delta\lambda_{\text{LEV}} - \Delta\lambda_{\text{NOR}} = 64 \text{ nm}$ ) na presença de tálio. Casos semelhantes ocorrem para chumbo.

Tabela 4.3. Efeito do pH da solução carreadora de FQs no sinal fosforescente em papel contendo  $\text{TlNO}_3$  ou  $\text{Pb(NO}_3)_2$ .

Fluorquinolona	Sal	Faixa de pHs $\lambda_{\text{exc}}\lambda_{\text{em}}$ (nm)		
		LEV	$\text{TlNO}_3$	pH 7,2 $\lambda_{\text{exc}}\lambda_{\text{em}}=297\backslash 538$
NOR	$\text{TlNO}_3$	pH 2 – 12 $\lambda_{\text{exc}}\lambda_{\text{em}}=283\backslash 447$		
CIP	$\text{TlNO}_3$	pH 2 – 12 $\lambda_{\text{exc}}\lambda_{\text{em}}=290\backslash 467$		
LEV	$\text{Pb(NO}_3)_2$	pH 2 – 12 $\lambda_{\text{exc}}\lambda_{\text{em}}=299\backslash 522$		
NOR	$\text{Pb(NO}_3)_2$	pH 2 – 6 $\lambda_{\text{exc}}\lambda_{\text{em}}=283\backslash 460$	pH nat – 12 $\lambda_{\text{exc}}\lambda_{\text{em}}=291\backslash 468$	
CIP	$\text{Pb(NO}_3)_2$	pH 2 – 12 $\lambda_{\text{exc}}\lambda_{\text{em}}=288\backslash 457$		

Devido a proximidade dos valores de  $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{em}}$  da NOR e da CIP e dos FWHM's característicos dessas substâncias ( $100 \text{ nm}$  a  $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), interferências espectrais são esperadas para essas duas espécies ao longo da faixa de pH estudada. Em algumas regiões, os valores de  $\Delta\lambda$  são muito parecidos, mas com nitrato de tálio, na faixa mais básica, a diferença entre os valores de  $\Delta\lambda$  dos dois compostos pode chegar a  $50 \text{ nm}$ , o que poderia minimizar essas interferências se a varredura sincronizada fosse aplicada.

#### 4.2.3

#### Variação do sinal fosforescente em função do pH da solução carreadora de analito na presença de nitrato de cádmio e tório

A Figura 4.4 e a Figura 4.5 mostram que o efeito externo do acetato de cádmio e do nitrato de tório provoca situações mais interessantes do ponto de vista do desenvolvimento de método seletivo. Vale lembrar que o cádmio já foi utilizado como indutor de fosforescência para o desenvolvimento de métodos para determinar individualmente sete FQs, entre eles a NOR e a CIP.<sup>10</sup> De fato, no caso do acetato de cádmio, a determinação de NOR na presença de CIP apenas pelo ajuste de condições experimentais seria impossível por causa do

signal da CIP que é relevante e constante dentro de toda a faixa de pH e por possuir  $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$  muito semelhante ao da NOR (ver Tabela 4.5). Para a LEV, a possibilidade da determinação seletiva é viável devido ao diferente  $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$  e se a varredura sincronizada for utilizada. De fato, devido a magnitude dos sinais de LEV e de NOR na presença desse sal de átomo pesado, essa condição parece ser interessante do ponto de vista da determinação seqüencial de LEV e de NOR se o CIP estiver ausente da composição da mistura.

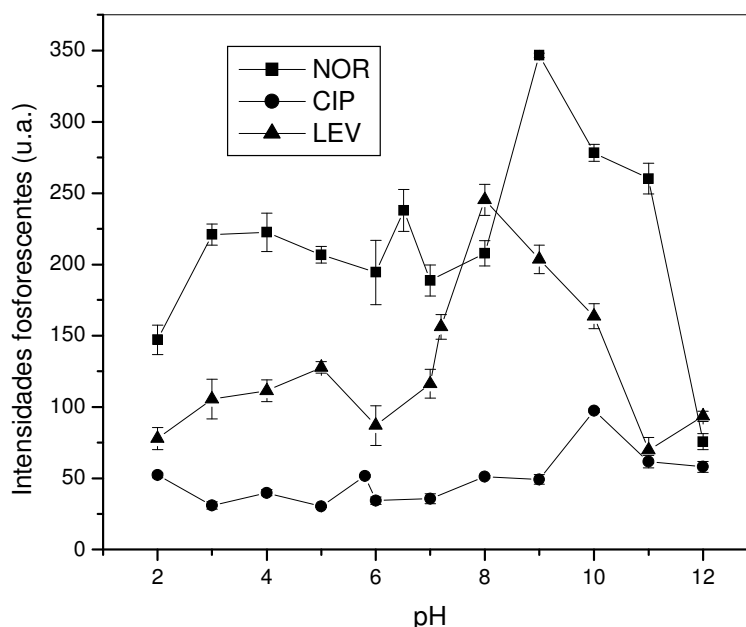


Figura 4.4. Variação da fosforescência das FQs em função do pH das soluções carreadoras de analito ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de acetato de cádmio.

No caso do nitrato de tório, os sinais de LEV e de NOR aumentam em função do aumento do pH enquanto que o sinal da CIP caminha no sentido inverso a partir de seu máximo em pH 5 diminuindo até o desaparecimento do sinal (sinal não distinto em relação ao branco) quando se chega em pH 12. Essa situação é interessante, pois usando solução carreadora em pH 12, potencialmente se poderia determinar a NOR e a LEV usando varredura sincronizada, sem a preocupação da interferência direta do sinal da CIP, que não possui sinal acima de pH 8.

Tabela 4.5: Efeito do pH da solução carreadora de FQs no sinal fosforescente em papel contendo  $\text{Cd}(\text{OAc})_2$  ou  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ .

Fluoroquinolona	Sal	Faixa de pHs		
		$\lambda_{\text{exc}} \backslash \lambda_{\text{em}}$ (nm)		
LEV	$\text{CdCl}_2$	pH 2 – 6 $\lambda_{\text{exc}} \backslash \lambda_{\text{em}} = 299 \backslash 539$	pH 7 $\lambda_{\text{exc}} \backslash \lambda_{\text{em}} = 284 \backslash 524$	pH 7 – 12 $\lambda_{\text{exc}} \backslash \lambda_{\text{em}} = 276 \backslash 516$
NOR	$\text{CdCl}_2$	pH 2 – 12 $\lambda_{\text{exc}} \backslash \lambda_{\text{em}} = 285 \backslash 438$		
CIP	$\text{CdCl}_2$	pH 2 – 12 $\lambda_{\text{exc}} \backslash \lambda_{\text{em}} = 285 \backslash 450$		
LEV	$\text{Th}(\text{NO}_3)_4$	pH 2 – 12 $\lambda_{\text{exc}} \backslash \lambda_{\text{em}} = 289 \backslash 531$		
NOR	$\text{Th}(\text{NO}_3)_4$	pH 2 – 12 $\lambda_{\text{exc}} \backslash \lambda_{\text{em}} = 276 \backslash 452$		
CIP	$\text{Th}(\text{NO}_3)_4$	pH 2 – 8 $\lambda_{\text{exc}} \backslash \lambda_{\text{em}} = 284 \backslash 440$		

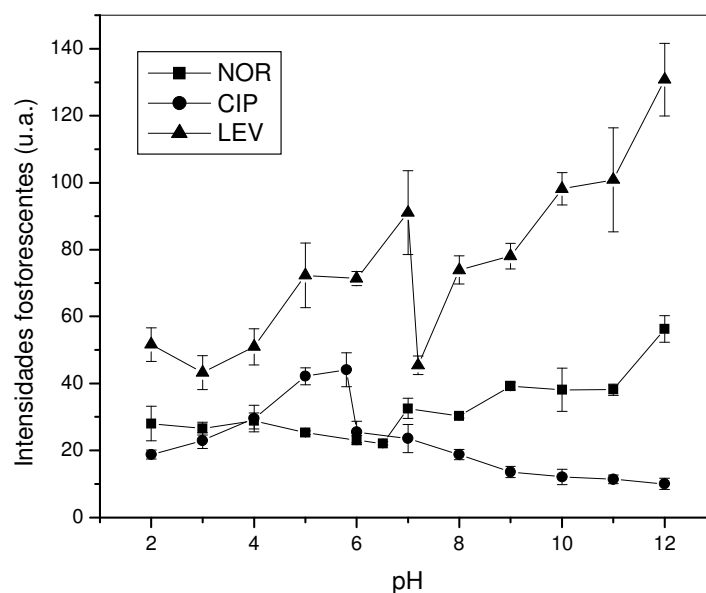


Figura 4.5. Variação da fosforescência das fluoroquinolonas em função do pH das soluções carreadoras de analito ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de nitrato de tório.

### 4.3

#### Escolha de casos para desenvolvimento de métodos seletivos

Por causa do tempo limitado disponível para a obtenção de dados para a dissertação de mestrado, apenas dois estudos de caso foram escolhidos. Pela análise dos resultados dos estudos preliminares, uma gama de possibilidades pode ser considerada para a continuação desse trabalho. Um caso óbvio seria o desenvolvimento de método para LEV na presença das outras quatro FQs. Isto seria viável, pois a varredura sincronizada aliada ao intenso sinal da LEV em relação a NOR e CIP com  $\text{TINO}_3$  ou com  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  facilitaria essa tarefa. Nesse caso, a MOX e a GAT não seriam problemas, por exemplo, na presença de  $\text{PbNO}_3$ . No entanto outros dois casos foram os escolhidos, um devido à possibilidade de determinação seqüencial e por ser um desafio analítico mais interessante que o do mencionado para a LEV, e o segundo por causa da importância de ser ter uma ferramenta de averiguação de falsificações de medicamentos a base de FQs de quarta geração (MOX e GAT) com uma FQ de menor custo de terceira geração (CIP).

No primeiro caso escolhido, procurou-se verificar a viabilidade de se determinar NOR e LEV de modo seqüencial na presença de CIP, GAT e MOX. Para isso, dois sais indutores de fosforescência foram usados, o  $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ , por ter sido indicado por J. Li<sup>10</sup> como indutor para determinação de NOR individualmente, e o  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$  para se avaliar as possíveis vantagens do emprego desse indutor de fosforescência.

No segundo caso, um método para determinação de CIP (FQ de geração mais antiga) em matrizes contendo MOX e GAT (FQs de geração mais nova). Novamente, o  $\text{Cd}(\text{OAc})_2$  foi usado como indutor seletivo de fosforescência, de acordo com o indicado pelos resultados preliminares e o  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$  foi usado em termos de avaliação de seu desempenho.