

4

Determinação do ciclofenil utilizando o fotoproduto eletroativo no eletrodo de mercúrio.

4.1

Estudos preliminares

Estudos preliminares foram realizados para encontrar condições experimentais ótimas que permitam a determinação sensível do ciclofenil utilizando as técnicas voltamétricas específicas, seja diretamente ou a partir de um produto do ciclofenil obtido por derivatização. Desde que o eletrodo de gota pendente de mercúrio (EGPM), usado como eletrodo de trabalho, permite a utilização de três tamanhos de gota, é necessário a escolha prévia desse parâmetro. Muito embora maior sinal analítico seja obtido com maiores áreas de superfície, a gota de tamanho médio (área de superfície de $1,56 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$) foi utilizada por permitir a obtenção um menor desvio padrão dos resultados. Esse fato já havia concluído em um estudo anterior, realizado com o mesmo equipamento usado no presente trabalho^{72 73}.

4.1.1

Estudo do eletrólito suporte.

O eletrólito suporte é uma solução de substância iônica cuja concentração costuma ser tipicamente entre 10 a 100 vezes maior que as demais espécies na cela eletroquímica. O eletrólito suporte deve ser eletroinativo na janela de potencial do eletrodo na qual os estudos com o analito de interesse são realizados. Além disto, o eletrólito suporte deve ser neutro, não reagindo com o analito eletroativo ou nenhum de seus subprodutos.

As funções principais do eletrólito suporte são, primeiramente ser responsável por quase a totalidade da corrente iônica da cela, uma vez que ele está em grande excesso em relação às demais substâncias em solução. A alta concentração do eletrólito suporte mantém baixa a resistência da cela. Em

segundo lugar, o eletrólito suporte mantém a força iônica da solução constante, impedindo que a composição da interface entre a solução e o eletrodo mude significativamente com a corrente proveniente da reação. Como a composição desta região influi nas medidas elétricas é necessário que ela se mantenha constante durante todo o tempo da análise, fornecendo assim resultados reprodutíveis. Finalmente, o eletrólito suporte suprime a contribuição da corrente de migração (formação de um gradiente de carga elétrica) no transporte do analito para a superfície do eletrodo.

A primeira etapa dessa otimização foi encontrar o melhor eletrólito suporte visando obter um sinal eletroanalítico relevante de soluções padrões de ciclofenil. Estabeleceram-se como características para escolha do melhor eletrólito correntes faradaicas estáveis, reprodutíveis e de maior intensidade para o ciclofenil. Além disso, o aparecimento no voltamograma de picos bem definidos e afastados das barreiras de oxiredução do solvente, foi fator relevante na comparação dos resultados. Na Tabela 1 é apresentado uma relação dos eletrólitos testados e os respectivos valores de correntes (três medidas sequenciais) e potencial do pico de corrente obtida por varredura de pulso diferencial (DPV). É importante salientar que tipos diferentes de eletrólito podem afetar diferentemente as condições da reação eletródica, afetando o mecanismo da interação entre a superfície do eletrodo e por consequência a resposta voltamétrica. Evitou-se manter as concentrações dos eletrólitos utilizados em grande excesso, pois segundo Wang e Farias ⁷⁴, soluções eletródicas relativamente diluídas são mais apropriadas para se efetuar medições eletroquímicas usando técnicas de redissolução.

Tabela 1 – Estudo do eletrólito de suporte para o ciclofenil no EGPM. Condições experimentais: modo DPV; tempo de deposição 0 s; velocidade de varredura 10 mV/s; potencial inicial 0,1 V; potencial final - 1,7 V; amplitude 100 mV.

Eletrólito	Corrente (nA)		
	$E_{\text{máx}}$		
	1º medida	2º medida	3º medida
Britton–Robbinson, pH 7	463 -1,300 V	75 -1,306 V	-
Britton–Robbinson, pH 4	-	-	-
Britton–Robbinson, pH 9	662 -1,294 V	66 -1,282 V	-
NaOH 0,2 mol L ⁻¹	-	-	-
HCl 0,01 mol L ⁻¹	-	-	-
H ₂ SO ₄ 0,001 mol L ⁻¹	-	-	-
KCl 0,1 mol L ⁻¹ ; pH 5,1	-	-	-
KCl 0,1 mol L ⁻¹ ; pH 11,8 (NaOH)	-	-	-
KNO ₃ 0,1 mol L ⁻¹ ; pH 5,1	-	-	-
KNO ₃ 0,1 mol L ⁻¹ ; pH 11,8 (NaOH)	-	-	-

Eletrólitos de suporte em meios ácidos, neutro e alcalino foram testados para se avaliar a influência do pH no sinal. Ficou claro que as melhores respostas de corrente (levando em consideração a 1º medida de corrente) foram obtidos em tampão Britton-Robbinson em pH's neutro e alcalino. Outros eletrólitos em meio básico foram testados para verificar se o fator determinante do aparecimento do sinal era o pH da solução. Porém, resposta melhor que a observada no Britton-Robbinson, que possibilitou um sinal analítico intenso na 1ª medida de corrente, não foi obtida. No entanto, ao se tentar reproduzir o sinal analítico no tampão Britton-Robbinson (pH=9 ou pH=7), em uma 2ª e 3ª medida de corrente subsequente na mesma solução, a magnitude do sinal caiu significativamente, indicando a degradação do analito nesses dois meios. A queda de corrente nas três medidas subsequentes pode ser verificado na Figura 13. Outro estudo, utilizando

a medição de corrente de soluções de ciclofenil após diferentes tempos de preparação indicou que a queda de sinal era realmente devido à degradação do analito no meio aquoso. Tentou-se então aumentar a porcentagem de solvente orgânico (metanol, etanol, acetona e acetonitrila) na composição da solução na cela, no entanto, o sinal analítico piorava, devido principalmente ao aumento do ruído.

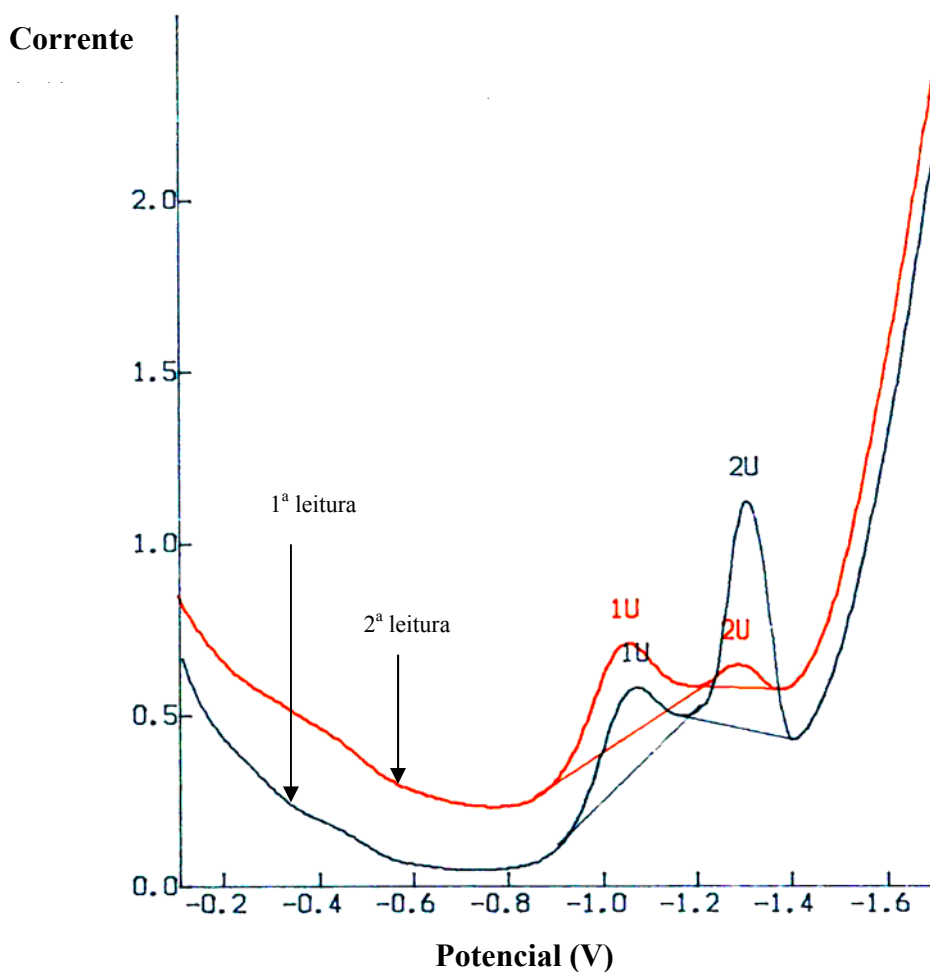


Figura 13 – Voltamogramas do ciclofenil em Britton-Robinson pH 9, demonstrando a diminuição da corrente faradaica como o tempo. Ciclofenil (pico 2U), oxigênio dissolvido (pico 1U).

Em um trabalho publicado por Dwivedi³⁵, esse problema da degradação é contornado por meio de um produto derivado da degradação ácida do ciclofenil para fazer a sua determinação espectrofométrica. No entanto, este produto de derivatização ácida não se mostrou eletroativo no EGPM.

4.1.2

Estudo do efeito da irradiação e do pH.

A incidência de radiação eletromagnética na região do ultravioleta sobre uma substância pode mudar as suas características químicas por meio da indução de reações fotoquímicas. Esta mudança na identidade das substâncias, e consequentemente nas suas propriedades, é usada não somente para a determinação direta desses analitos de interesse, mas também utilizados para aumentar a seletividade da determinação de um analito específico por meio da eliminação do sinal de substâncias interferentes.

Cavicchioli e colaboradores⁷⁵ revisaram a aplicação de radiação UV como pré-tratamento em métodos analíticos para compostos inorgânicos em diversas amostras, por diversas técnicas analíticas. No caso das técnicas voltamétricas, existe grande sensibilidade à presença de matéria orgânica dissolvida que causam interferência tanto pela geração de sinais espúrios quanto pela possibilidade de interação com o analito formando adutos eletroquimicamente inertes. Nesse caso, o tratamento UV tem sido usado com sucesso para minimização de interferências por meio da degradação da matéria orgânica. No entanto, esta não é a única aplicação da radiação UV como artifício em química analítica. A sua utilização na derivatização da amostra, conversão química do composto em uma forma mais apropriada para uma detecção específica, também vem sendo muito utilizada. Diversos trabalhos a respeito tendo sido publicados^{76 77 78 79 80 81 82} que tiram vantagem das propriedades espectroscópicas (eficiência quântica luminescente e absorptividade molar) e eletroquímicas (propriedades oxiredutoras) desses derivados mais atrativas do ponto de vista analítico.

Na busca de um derivado do ciclofenil, que fosse estável durante o tempo necessário para se realizar a determinação voltamétrica indireta do analito, o tratamento fotoquímico com radiação UV de soluções padrões do analito foi feito no reator disponível em nosso laboratório (descrito no capítulo 3).

A irradiação do ciclofenil gerou um composto estável nas condições de trabalho na cela eletroquímica, permitindo a obtenção sucessiva de sinal sem a degradação observada anteriormente. A influência do tempo de irradiação sobre a estabilidade do derivado fotoquímico bem como sobre a intensidade da corrente de pico estão apresentadas na Tabela 2 Este fotoproduto possui potencial de pico

idêntico ao ciclofenil. Leituras espectrométricas na região do UV-visível da solução antes e depois de ser irradiada indicam a derivatização do ciclofenil. Esta alteração (Figura 14) é indicada pelo alargamento da região de absorção, pelo deslocamento do máximo de absorção (de 216 para 242 nm) e pelo aumento do máximo de absorção (de 1563 para 2.815 u.a.).

Absorvância

(ua)

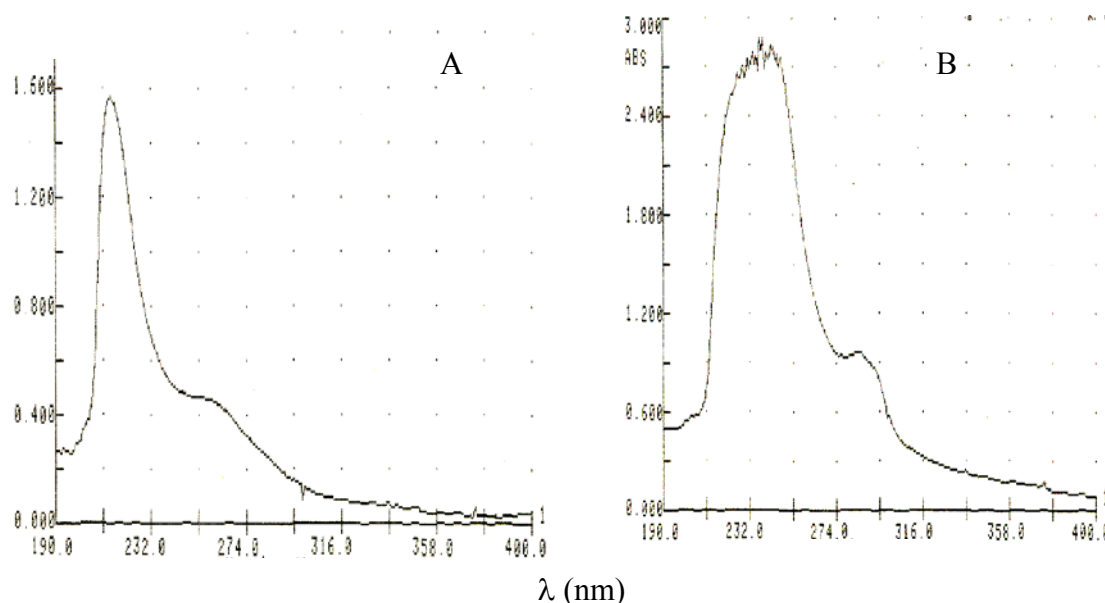


Figura 14 - Espectros de absorção molecular na região do uv-visível para A) ciclofenil semirradiação e B) ciclofenil irradiado. Condições: meio metanol/água 1:1, ciclofenil $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 2 – Efeito do tempo de irradiação UV no sinal de uma solução de ciclofenil (quatro medidas subsequentes do fotoproduto do ciclofenil). Condições experimentais: concentração de ciclofenil $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; tempo de deposição 30 s; incremento = 10 mV; frequência 100 Hz; amplitude 250 mV.

Tempo (min)	Sinal (nA)				Sinal médio (nA)	Desvio padrão (nA)	Desvio padrão relativo (%)
	1 ^o medida	2 ^o medida	3 ^o medida	4 ^o medida			
15	2370	2420	2320	2310	2355,0	50,7	2,2
30	2110	1960	2140	2200	2102,5	102	4,8
45	2460	2520	2420	2480	2470,0	42	1,7
60	2240	1930	2010	1900	2020,0	154	7,6
90	2200	1950	1940	1970	2015,0	124	6,1

Baseado nos resultados da Tabela 2, escolheu-se o tempo de 45 minutos como ideal para se irradiar a solução e dar prosseguimento aos demais experimentos.

Um estudo da estabilidade do fotoproduto e da magnitude do sinal como função do pH do eletrolítico foi feito nos intervalos de pH entre 6 e 11. A variação do pH foi feito pela adição de solução de NaOH 10% ao eletrólito suporte (Britton-Robbinson) A influência do pH sobre a corrente de pico está representado na Figura 15.

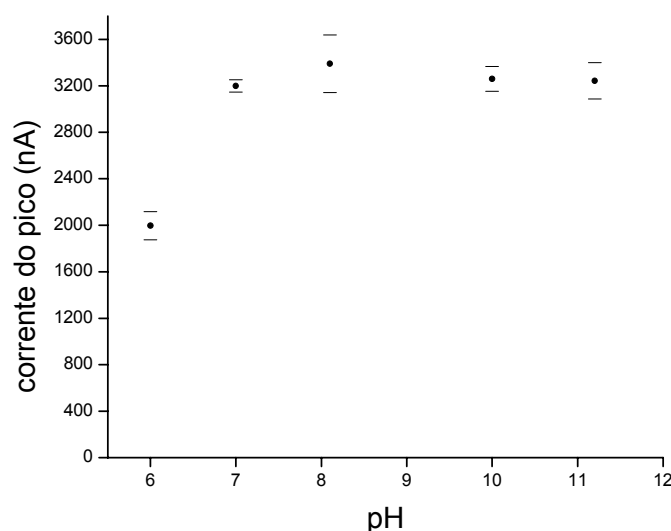


Figura 15 - Influência do pH sobre o sinal de uma solução de ciclofenil. Condições experimentais: ciclofenil $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; tempo de deposição 30 s; incremento 10 mV; frequência 100 Hz, amplitude 250 mV, modo de varredura de potencial SWV.

Baseado nos resultados, e buscando a maior sensibilidade para a determinação do ciclofenil, escolheu-se trabalhar utilizando como eletrólito suporte a solução de Britton-Robbinson pH 9,0. Por coincidência esse pH é o mesmo pH no qual se fez o teste do tempo de irradiação.

4.2 Voltametria de pulso diferencial (DPV)

4.2.1 Estudo do potencial de deposição

Estudos mostraram que o fotoproduto do ciclofenil pode ser acumulado no eletrodo de mercúrio, possibilitando que o mesmo seja pré-concentrado, permitindo que uma maior sensibilidade nas determinações analíticas seja alcançada. O potencial de deposição do analito (também chamado de potencial de acumulação) é o potencial que se aplica ao eletrodo de trabalho antes de se iniciar as medidas voltamétricas. Como a aplicação deste potencial altera o valor da capacitância da dupla camada, altera também a capacidade que o analito tem de adsorver no eletrodo de trabalho, seja esta uma adsorção específica ou não. A etapa de pré-concentração é realizada com a solução sob agitação para que aumentar o transporte de massa do analito (no caso o fotoproduto do ciclofenil) da solução para o eletrodo, de forma a maximizar a quantidade de material depositado.

Para voltametria de redissolução catódica (varredura em direção a potenciais mais negativos), o potencial de deposição é mais positivo que o potencial de pico, e normalmente escolhe-se um potencial de apenas 0,2 ou 0,3 V mais positivo que o potencial de pico para se minimizar a possibilidade de que interferentes sejam adsorvidos concomitantemente no eletrodo de trabalho. Essa pequena diferença de potencial é mantida também para se obter um ganho na velocidade da análise.

Visando encontrar o potencial ótimo para a acumulação do fotoproduto do ciclofenil, utilizou-se o modo DPV de varredura com a variação de potencial de acumulação de $-1,0$ a $-0,2$ V, fixando as demais condições experimentais (concentração de analito, velocidade de varredura e amplitude do pulso). O resultado deste estudo está representado na Figura 16. Baseado nesses resultados, escolheu-se o potencial de acumulação de $-0,600$ V para o modo de varredura por pulso diferencial.

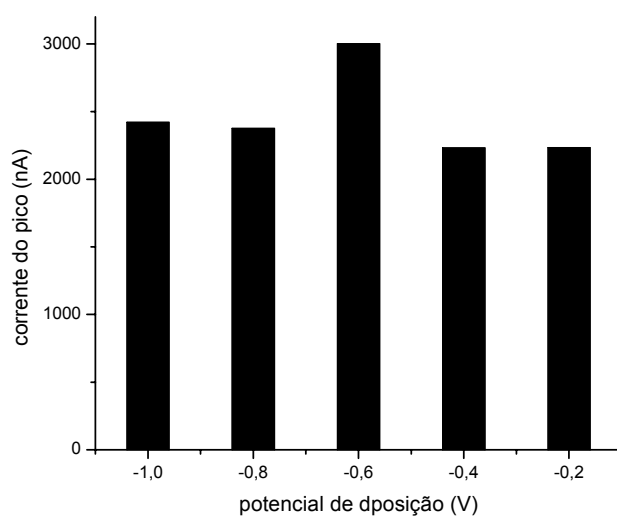


Figura 16 – Influência do potencial de deposição sobre o sinal eletroanalítico de uma solução de ciclofenil tratado com radiação UV. Condições experimentais: Ciclofenil $2,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ irradiado por 45 min; tempo de deposição 30 s; velocidade de varredura 10 mV/s; amplitude 100 mV.

4.2.2 Estudo do tempo de deposição

O tempo de deposição do analito no eletrodo de trabalho (EGPM) é um parâmetro a ser determinado experimentalmente. Caso a substância em estudo possua uma enorme tendência de sofrer adsorção no mercúrio, sem saturação da superfície do mesmo, o tempo de deposição será relativamente alto (podendo atingir valores de até 20 ou 30 minutos), possibilitando um incrível aumento da quantidade do analito na gota de mercúrio. Porém, em geral, esse tempo de deposição não passa de alguns poucos minutos. Esse processo acarreta uma pré-concentração da espécie em estudo com consequente aumento da corrente de pico quando da redissolução da espécie para a solução.

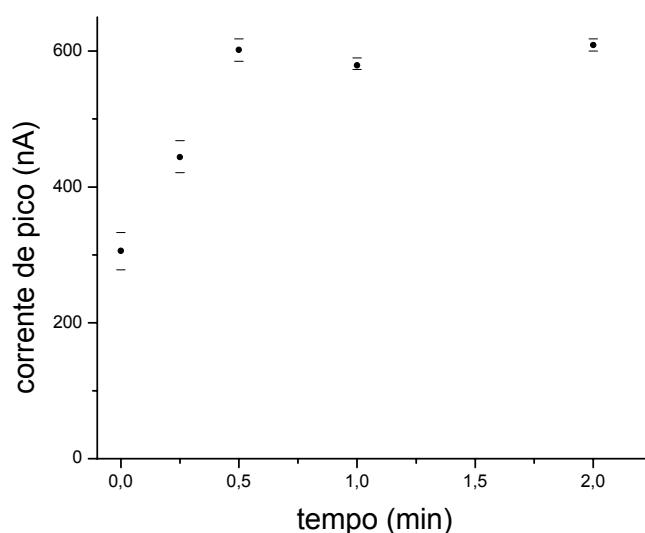


Figura 17 - Influência do tempo de deposição sobre o sinal de uma solução de ciclofenil irradiado. Condições experimentais: velocidade de varredura 10 mV/s; amplitude = 100 mV; potencial de deposição -0,600 V; concentração de ciclofenil 6.6×10^{-6} .

O estudo do tempo de deposição foi feito fixando os demais parâmetros instrumentais (amplitude de pulso, concentração do analito, velocidade de varredura e potencial de deposição) e variando o tempo de deposição. A Figura 17 representa o resultado deste estudo.

A Figura 17 sugere que o fotoproduto do ciclofenil não possui uma tendência muito grande de adsorver na gota de mercúrio, pois com apenas 30 s de deposição o valor da corrente de pico atingiu um patamar máximo. Isso sugere que a gota de mercúrio já estava saturada com ciclofenil, não adiantando usar um tempo de deposição maior. Por este motivo utilizou-se o tempo de 30 s como tempo de deposição.

4.2.3 Estudo da influência da amplitude

A voltametria por pulso diferencial é caracterizada pela aplicação de potenciais de mesma intensidade (mesma amplitude) sobrepostos a uma rampa de potencial crescente. Estes pulsos costumam ter intensidade de 25 ou 50 mV, ocorrendo em intervalos que variam de 0,5 a 5 segundos ⁵¹. A amplitude de 100 mV também é usada, porém costuma acarretar perda na resolução do sinal.

A influência do valor da amplitude pode ser entendida pela equação derivada por Lund e Onshus ⁸³ para o valor da corrente de pico (i_{pc}) medida por voltametria de pulso diferencial no eletrodo de gota pendente de mercúrio.

$$\Delta i_{pc} = kn^2r \Delta EU^{1/2}t_d C_b \quad (26)$$

Sendo ΔE a amplitude do potencial aplicado, (k uma constante, n é o número de elétrons envolvido no processo, U é a velocidade de agitação, t_d é o tempo de deposição e C_b é a concentração do composto). Para valores altos de amplitude esta equação não é mais válida, pois ocorre perda da linearidade da corrente de pico em função da amplitude.

Deve haver um compromisso quando se escolhe a melhor amplitude do potencial, pois enquanto valores altos de amplitude implicam em um ganho de sensibilidade, valores baixos de amplitude implicam em um ganho em definição do pico ⁵¹.

Foram testadas as amplitudes de 25, 50 e 100 mV para o modo de pulso diferencial, Figura 18 apresenta o resultado deste estudo.

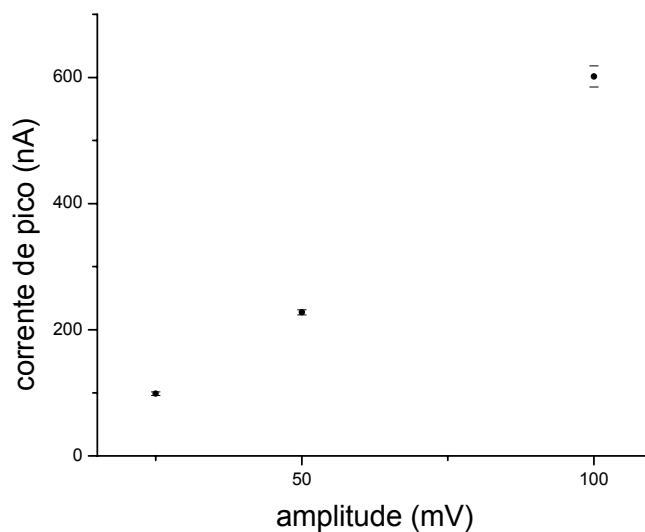


Figura 18 – Influência da amplitude sobre o sinal lido de uma solução de ciclofenil irradiado. Condições experimentais: concentração de ciclofenil $6.6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; velocidade de varredura 10 mV.s^{-1} , tempo de deposição 30 s; potencial de deposição – 0,600 V.

Como as larguras dos pulsos se mantiveram praticamente constante (largura de pico na meia altura), Figura 19, a resolução do pico não foi afetada. Assim, escolheu-se o valor de 100 mV para a amplitude do potencial.

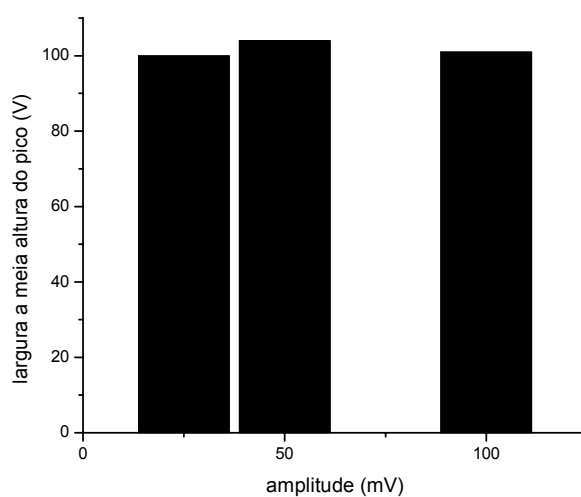


Figura 19 – Largura do pico a meia altura em função da amplitude utilizada.

4.2.4

Estudo da influência da velocidade de varredura

A velocidade de varredura típica para DPV compreende o intervalo de 2 a 10 mV s^{-1} . Esta velocidade relativamente lenta (se comparada com a técnica de voltametria de onda quadrada, cujas velocidades de varredura típicas estão entre 100 a 1000 mV s^{-1}) é necessária para impedir que a rampa de potencial não sofra variações drásticas durante o tempo de vida do pulso ⁵¹.

A Figura 20 apresenta o resultado das leituras de corrente de pico em função da velocidade de varredura. O maior valor de corrente ($n = 3$, 95%) foi obtido para a velocidade de varredura de 10 mVs^{-1} . Com o objetivo de conseguir a maior sensibilidade para esta técnica, utilizou-se esta velocidade para os demais experimentos.

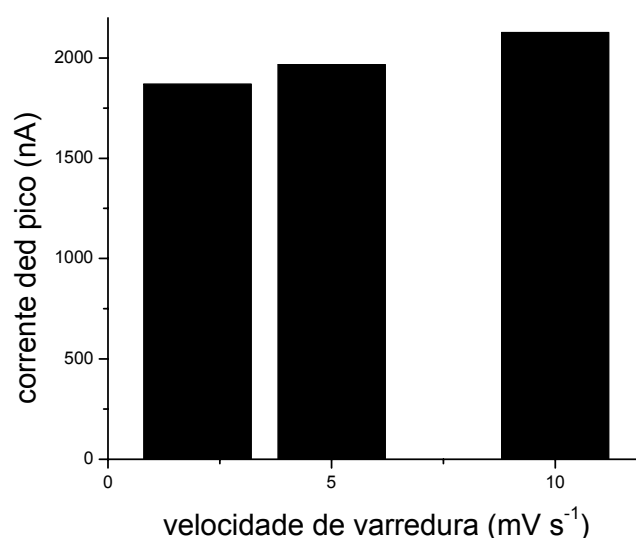


Figura 20 - Efeito da velocidade de varredura sobre a leitura de uma solução de ciclofenil irradiado. Condições: concentração de ciclofenil $1,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, tempo de deposição de 30 s amplitude de 100 mV.

Informações sobre o mecanismo de controle do processo de oxiredução podem ser obtidas com base no estudo da velocidade de varredura para o modo de pulso diferencial ⁸⁴. Para processos controlados por adsorção existe uma relação linear entre a corrente e a velocidade de varredura. A Figura 21 apresenta esta relação obtida experimentalmente.

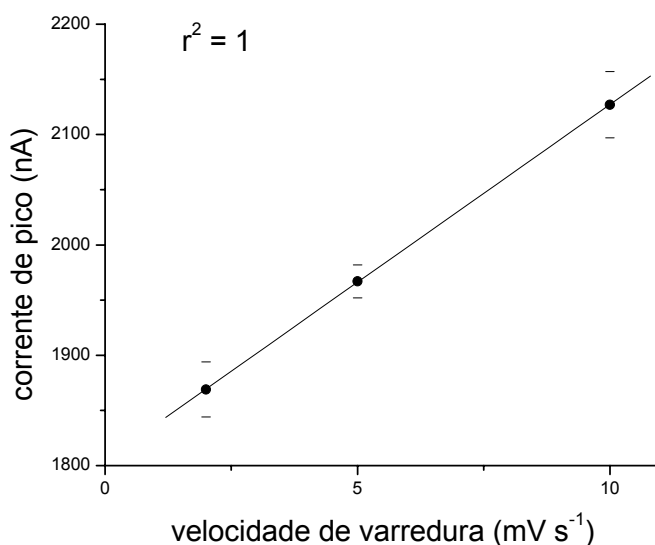


Figura 21 – Relação entre a corrente de pico e a velocidade de varredura. Condições: concentração de ciclofenil irradiado $1,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, tempo de deposição de 30 s amplitude de 100 mV.

Pela análise deste comportamentos (Figura 21), pode-se observar que uma relação linear ($r^2 = 1$) existe entre a corrente e a velocidade de varredura, o que sugere que exista um processo adsorbtivo controlando o processo de oxiredução.

Além das informações sobre este mecanismo de controle do processo de oxiredução, o estudo da velocidade de varredura também fornece informações sobre a reversibilidade do processo oxiredução. Quando o processo é reversível o potencial de redução independe da velocidade de varredura, uma vez que não há contribuição cinética, o potencial da reação pode ser determinado apenas por fatores termodinâmicos, no caso, a equação de Nernst. Para um comportamento Nernstiano, a relação entre o logaritmo da velocidade de varredura e o potencial de pico deve ser uma linha reta sem inclinação, pois como as velocidades de redução e reoxidação são iguais, não há nenhuma contribuição cinética e o potencial é dado apenas pela equação de Nernst. No entanto, este comportamento não foi verificado (Figura 22), não houve na verdade nenhuma relação entre o logaritmo da velocidade e potencial de pico, o que sugere, a princípio, que houve algum desvio do comportamento ideal. A questão da reversibilidade então poderá ser desvendada utilizando informações obtidas a partir de experimentos com a voltametria cíclica e com a voltametria de onda quadrada.

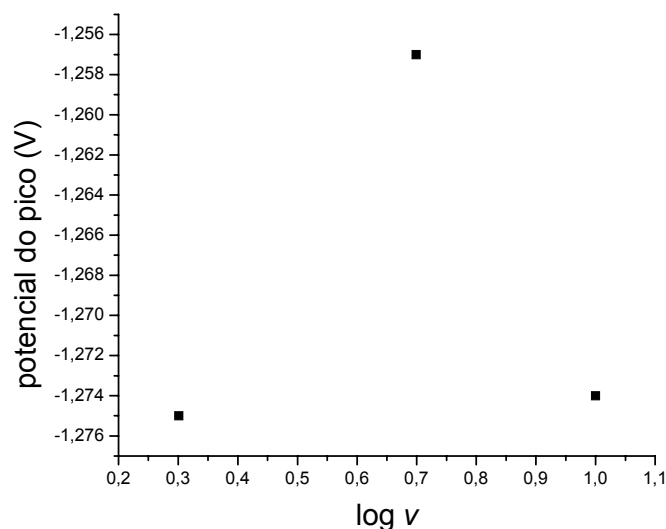


Figura 22 – Influência da velocidade de varredura sobre o potencial do pico.

Outra informação interessante sobre o mecanismo do processo redox que pode ser obtida pela voltametria de pulso diferencial é sobre a quantidade de elétrons envolvida no processo, esta informação é obtida com base na largura do pico a meia altura ($W_{1/2}$), de acordo com a seguinte equação:

$$W_{1/2} = \frac{3,52RT}{nF} \quad (27)$$

A Figura 23 representa o voltamograma no modo pulso diferencial para uma solução de ciclofenil irradiada, com base neste voltamograma, o número de elétrons envolvidos no processo redox é 1.

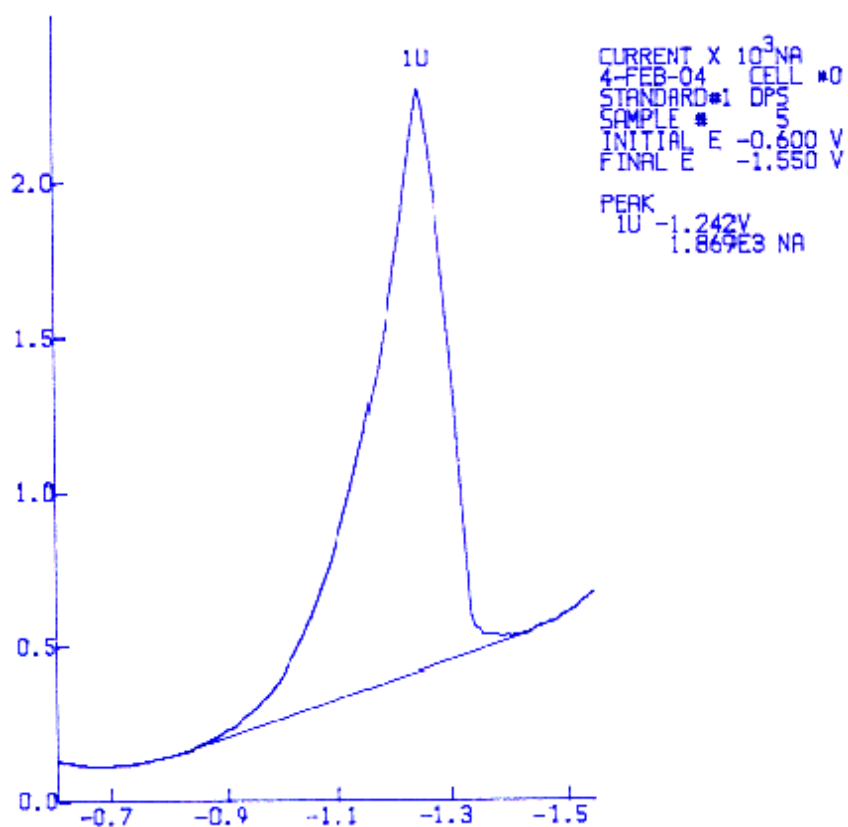


Figura 23 – voltamograma no modo de pulso diferencial de solução irradiada de ciclofenil. Condições: concentração de ciclofenil = $1,35 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, tempo de deposição 30 s, velocidade de varredura 10 mV/s.

4.2.5 Parâmetros analíticos de mérito para DPV

Tendo sido estabelecidas as melhores condições experimentais para a determinação de ciclofenil, por meio de seu fotoproduto estável, utilizando voltametria adsorptiva de redissolução catódica no modo de varredura de pulso diferencial, foi construída uma curva analítica para se estabelecer os parâmetros analíticos de mérito. Esta curva analítica é apresentada na Figura 24.

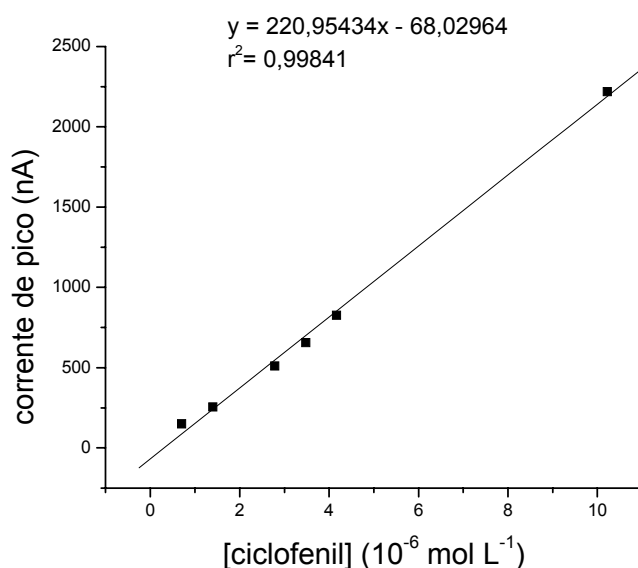


Figura 24 – curva analítica para o modo de pulso diferencial nas condições otimizadas.

Os dados utilizados para construir esta curva provêm dos valores médios de três leituras para cada valor de concentração. A melhor reta entre os pontos experimentais foi traçada através do método dos mínimos quadrados⁸⁵. O limite de detecção (L.D.) foi de $8,3 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, o L.D. foi estimado usando o critério de $3S_b/m$, sendo S_b o desvio padrão de 10 leituras do branco e m é a inclinação da curva analítica. O limite de quantificação foi de $2,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Para $20 \mu\text{l}$ de amostra, o limite de detecção absoluto foi de $0,6 \text{ pg}$, a faixa linear dinâmica se estendeu por 2 ordens de grandeza, e o coeficiente de correlação (r^2) foi de 0,99841.

4.3

Voltametria de onda quadrada (SWV)

4.3.1

Estudo do potencial de deposição

O estudo do melhor potencial de deposição para o modo de varredura de onda quadrada (SWV) foi feito da mesma forma que para o modo DPV, fixando-se as demais condições. Neste caso, além da concentração e amplitude, fixou-se também o incremento de potencial e a frequência de aplicação dos pulsos, parâmetros exclusivos da varredura SWV.

A Figura 25 representa o estudo do potencial de acumulação para o modo de varredura SWV. Para SWV, verificou-se que o potencial de $-0,900\text{ V}$ mostrou-se melhor para a pré-concentração do fotoproduto do ciclofenil no eletrodo de mercúrio.

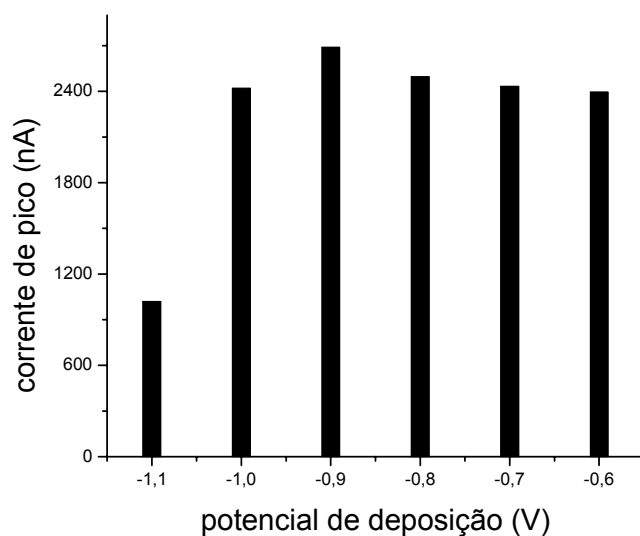


Figura 25 - Efeito do potencial de deposição sobre a corrente lida de uma solução irradiada de ciclofenil. Condições experimentais: concentração de ciclofenil $1,0 \times 10^{-6}\text{ mol L}^{-1}$, tempo de deposição 30 s; frequência 100 Hz; incremento = 10 mV.

4.3.2

Estudo da influência do incremento da varredura.

A voltametria de onda quadrada é uma técnica onde se aplica altos valores de amplitude e de velocidade. A velocidade desta técnica é dada pelo produto $f\Delta E_s$, sendo f a frequência de aplicação dos pulsos de potenciais e ΔE_s o incremento da varredura. Este incremento indica o quanto o potencial irá variar (em volts) por unidade de tempo (segundo). Os valores típicos de incremento de varredura são de 2, 4, 6, 8 e 10 mV. Com o aumento do incremento de varredura costuma haver um aumento da sensibilidade da técnica, porém, em geral existe a contrapartida da perda na resolução do pico⁸⁶.

A Figura 26 representa o estudo da influência do incremento da varredura. Apesar do aumento da sensibilidade com o aumento da varredura, escolheu-se o valor de 2 mV como incremento, pois houve um significativo alargamento do pico, o que acarreta uma perda de resolução muito grande, como pode ser visualizado na Figura 27.

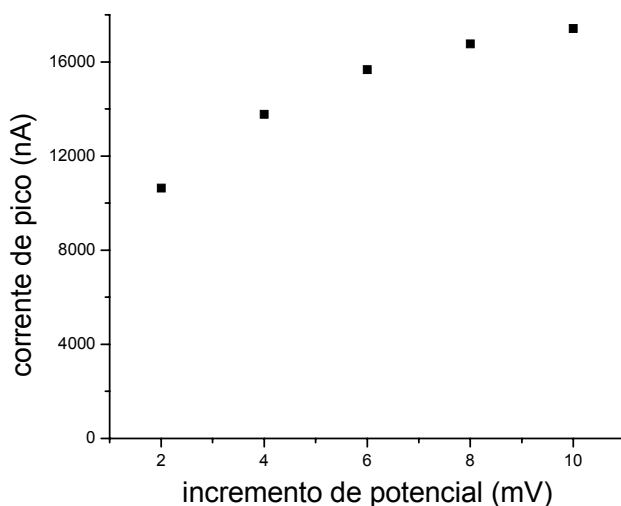


Figura 26 - Efeito do incremento da varredura para a leitura de uma solução de ciclofenil. Condições experimentais: concentração de ciclofenil $6,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ tempo de deposição de 30 s, amplitude de potencial de 250 mV, frequência de 100 Hz.

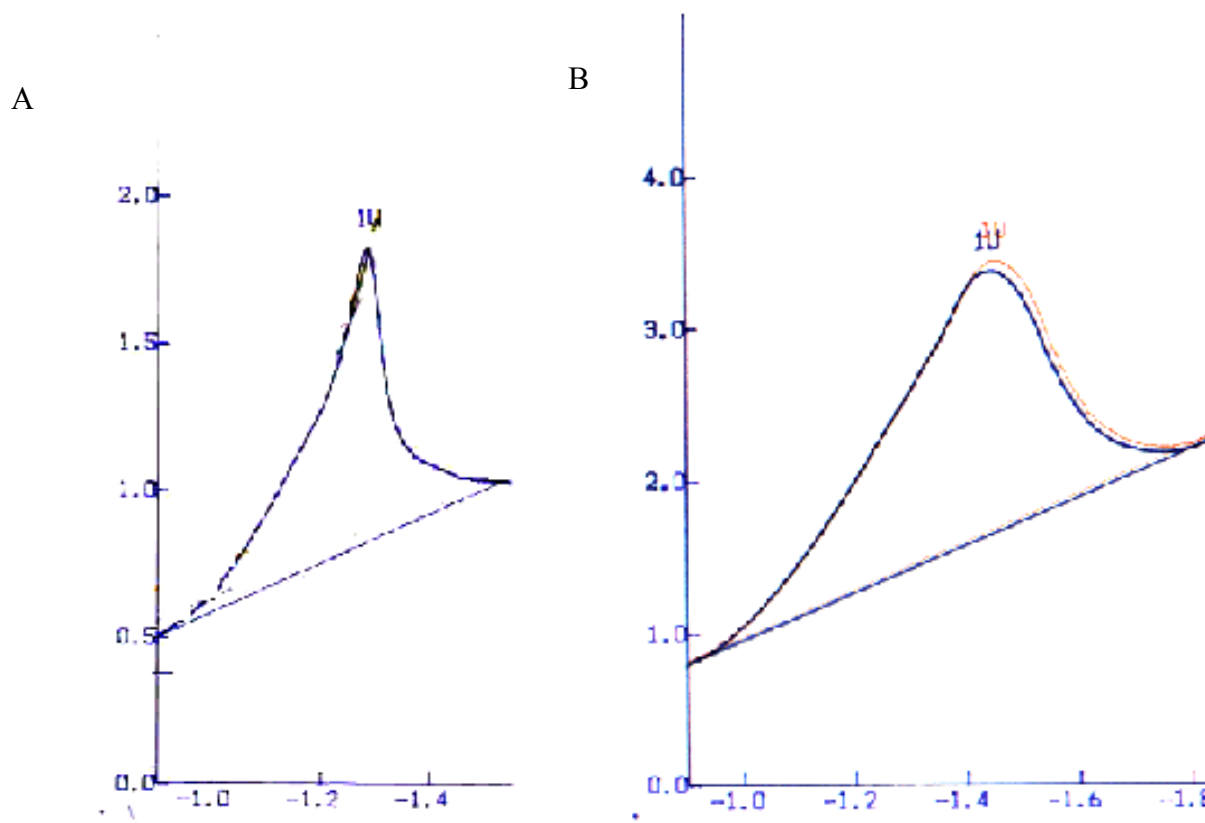


Figura 27 – Voltamogramas da mesma solução de ciclofenil, com incremento de (A) 2 e (B) 10 mV.

A reação da redução que ocorre na superfície do eletrodo de mercúrio (Equação 1) implica na formação de um novo composto, este novo composto, que é o produto da reação de redução, pode competir com o reagente (a forma inicialmente oxidada do fotoproduto do ciclofenil) pela superfície do eletrodo de mercúrio, se adsorvendo a ele, ou pode não sofrer nenhuma interação com o mesmo nas condições de trabalho.

Esta informação sobre o mecanismo do processo redox pode ser obtida do estudo do incremento da varredura ⁸⁷, ao se relacionar com a corrente de pico normalizada (ϕ). Quando reagente e produto adsorvem na superfície do eletrodo de trabalho, o valor de ϕ não depende da variação do incremento da varredura, porém, quando apenas o reagente sofre adsorção, a relação entre a corrente de

pico normalizada e o incremento da varredura é linear, independente da reversibilidade da reação redox. ($\phi = k\Delta E$). Sendo ΔE o incremento de potencial.

A corrente de pico normalizada é definida como:

$$\phi = \frac{i\sqrt{\pi}}{nFqA^0\sqrt{2fD_A}} \quad (28)$$

Sendo ϕ a corrente de pico normalizada, q a área do eletrodo, A^0 a concentração do reagente no seio da solução e D_A o coeficiente de difusão.

Como no estudo do incremento da varredura os valores de q , A^0 , D_A e f se mantiveram constante (além dos valores de n , π e F que são constantes) pode-se dizer que a corrente de pico normalizada é diretamente proporcional a corrente do pico. A Figura 26 indica uma relação linear entre o incremento da varredura e o sinal, o que indica que o produto da reação de redução do fotoproducto do ciclofenil não adsorve no eletrodo de trabalho.

4.3.3 Estudo da influência da frequência

A frequência indica a quantidade de pulsos de potencial que serão aplicados por segundos ao eletrodo de trabalho. Segundo revisão de Sousa ⁴⁹ algumas informações sobre o mecanismo do processo redox podem ser obtidas pelo estudo da influência da frequência. Além disso, como os demais parâmetros experimentais que estão sendo otimizados, a sensibilidade da técnica também depende deste fator.

Para um processo de oxiredução reversível, a corrente de pico varia linearmente com a raiz quadrada da frequência. Já, para um processo irreversível, a corrente varia linearmente com a frequência, e para um processo quase-reversível, a corrente de pico aumenta, porém não possui nenhuma relação linear com a frequência. As relações experimentalmente obtidas entre a corrente do pico e a frequência de aplicação dos potenciais estão representados na Figura 28.

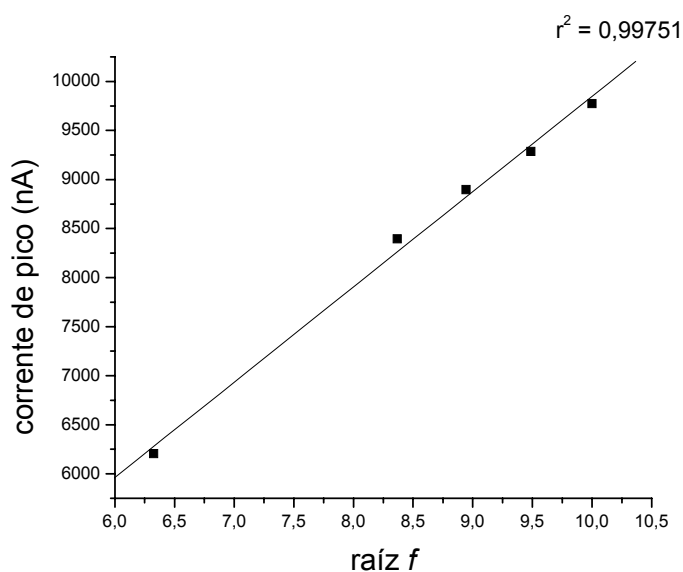


Figura 28– Relações experimentais obtidas entre a corrente do pico e a raiz quadrada da frequência de aplicação do pulso de potencial para uma solução de ciclofenil. Condições experimentais: concentração de ciclofenil $6,88 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, tempo de deposição de 30 s, incremento de varredura de 2 mV.

Pela Figura 28 observa-se uma relação linear entre a corrente de pico e a raiz quadrada da frequência de aplicação do pulso de potencial, o que sugere uma reação reversível.

Buscando a maior sensibilidade analítica em função da maior corrente escolheu-se a frequência de 100 Hz para se dar procedimento aos demais experimentos.

4.3.4 Estudo da influência da amplitude

Na técnica SWV, amplitudes de pulso muito mais altas do que as aplicadas em DPV podem ser usadas sem que haja perda de linearidade da técnica, e sem substancial perda de resolução no pico. A Figura 29 representa o estudo da influência da amplitude. Por esta figura pode-se observar que houve um comportamento linear no aumento da corrente de pico em função do aumento da amplitude. Tal comportamento é típico de sistemas de oxirredução reversíveis ⁴⁹.

Buscando a maior sensibilidade da técnica, a amplitude utilizada no decorrer dos experimentos foi a de 250 mV.

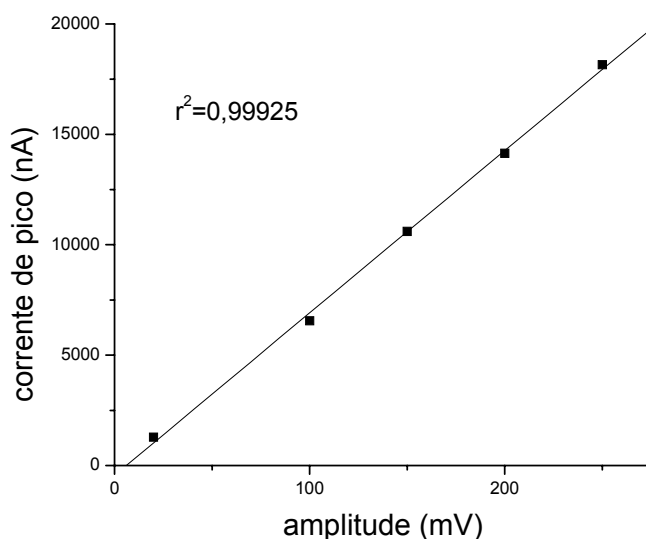


Figura 29– Efeito da amplitude para uma solução irradiada de ciclofenil. Condições experimentais: tempo de deposição 30 s; frequência 100 Hz; incremento 10 mV; concentração de ciclofenil $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

4.3.5 Parâmetros analíticos de mérito para SWV

Tendo sido estabelecido as melhores condições experimentais para a determinação do ciclofenil por voltametria adsorptiva de redissolução catódica no modo SWV, foi construída uma curva analítica para se estabelecer os parâmetros analíticos de mérito. A curva de calibração mostrada na Figura 30 foi usada para se estimar alguns desses parâmetros.

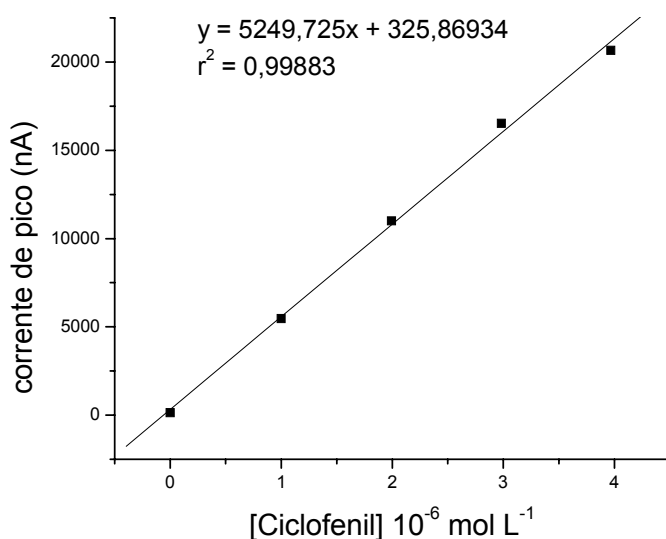


Figura 30– curva analítica para determinação de ciclofenil nas condições otimizadas para onda quadrada.

Os dados utilizados para a construir esta curva provêm dos valores médios de três leituras para cada valor de concentração. A melhor reta entre os pontos experimentais foi traçada através do método dos mínimos quadrados⁸⁵. O limite de detecção (LD) foi estimado usando o critério de $3S_b/m$. O limite de detecção foi de $4,3 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, o limite de detecção absoluto para $20 \mu\text{L}$ de amostra foi $0,3 \text{ pg}$. O limite de quantificação foi de $1,4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, a faixa linear dinâmica se estendeu por 2 ordens de grandeza.

4.4 Voltametria cíclica

Algumas informações sobre a reversibilidade do sistema podem ser obtidas dos estudos com voltametria cíclica.

Os resultados aqui apresentados foram obtidos por voltametria cíclica “stair case”, sem tempo de deposição, com um intervalo de equilíbrio de 30 segundos, e o potencial foi varrido de $-0,800$ a $-1,600$ V.

O objetivo deste estudo com voltametria cíclica foi o de obter algumas informações sobre a reversibilidade do sistema. A Figura 31 representa um voltamograma cíclico para uma solução irradiada de ciclofenil.

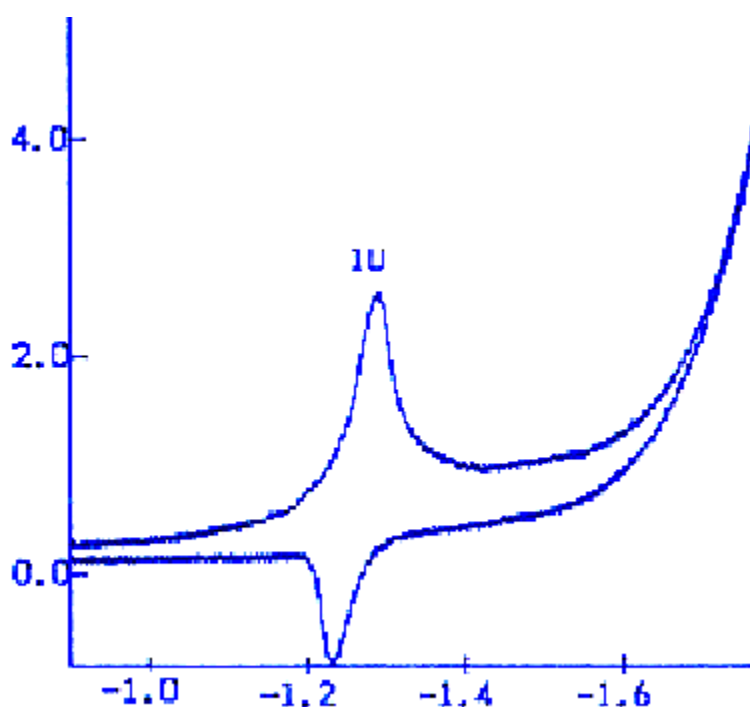


Figura 31 – voltamograma cíclico para uma solução irradiada de ciclofenil

Foi constatada a presença de um pico catódico, e quando o potencial é revertido, observa-se a presença de um pico anódico quase simétrico, indicando a reversibilidade do processo. Dos resultados provenientes das otimizações para voltametria DPV e SWV já se determinou que o composto possui um comportamento reversível, com adsorção apenas do reagente, e não do produto da reação de oxiredução, e que o processo de redução do composto apresenta a transferência de apenas 1 elétron. Alguns experimentos foram realizados para se comprovar este comportamento, agora pela voltametria cíclica.

Para um processo reversível, a corrente de pico varia linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura (observado, Figura 32), possui uma diferença de potencial entre o pico catódico e anódico de aproximadamente 59 mV para um processo que envolve a transferência de 1 elétron (observado, Figura 31), os potenciais de pico não apresentam nenhuma dependência com a velocidade de varredura (não observado), e possui uma relação de intensidade de pico catódico / intensidade de pico anódico igual a 1, independente da velocidade de varredura, fato este também não observado.

Pelo resultado da voltametria cíclica, não se pode confirmar o comportamento reversível do composto, no entanto, vale ressaltar, que efeitos distorcivos sobre o voltamograma podem ocorrer, fazendo com que o composto não se comporte idealmente. Entre estes efeitos existe o causado pelas reações químicas acopladas, o sobrepotencial causado pela resistência não compensada (R_u) da solução e a capacitância da dupla camada (C_d). O sistema do potenciostado com três eletrodo foi projetado para minimizar a queda ôhmica do potencial causada a esta resistência, no entanto existe sempre uma parcela desta resistência que não é compensada ⁸⁴.

Na prática, os efeitos de R_u são de achatar a onda e deslocar o potencial de redução na direção catódica, desta forma os valores do potencial do pico, e a razão entre o pico catódico e anódico passem a variar com a velocidade de varredura, mesmo quando o composto apresenta um comportamento nernstisiano. Isto poderia explicar o comportamento do fotoproduto do ciclofenil nas condições de trabalho.

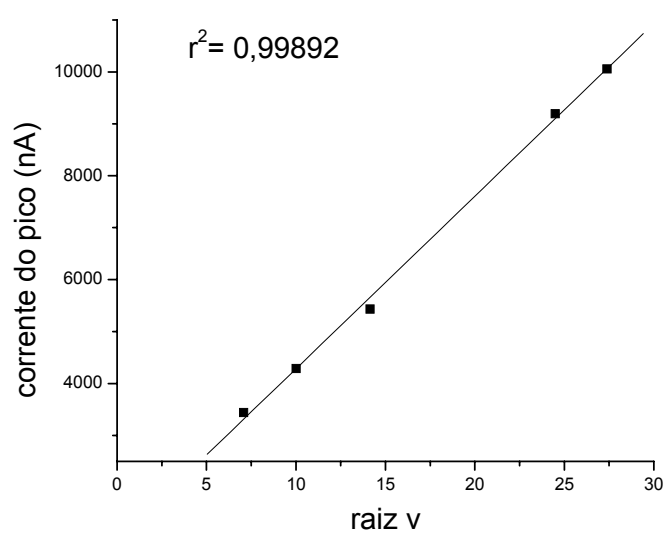


Figura 32– Relação entre a raiz quadrada da velocidade de varredura e a corrente do pico.

4.5

Determinação do ciclofenil utilizando o seu fotoproduto estável

4.5.1 Determinação em formulações farmacêuticas

Para se testar a aplicabilidade do método voltamétrico para a determinação do ciclofenil a partir do sinal de seu fotoproduto estável em formulações farmacêuticas, utilizou-se o medicamento Menopax® para se realizar o teste de recuperação.

Para a determinação, a amostra foi pulverizada (pelo menos 5 comprimidos). Uma alíquota desse material foi dissolvida em metanol, filtrada e avolumada também com metanol. Alíquotas destas soluções foram tratadas com radiação UV e usadas na determinação do princípio ativo por voltametria adsortiva com redissolução catódica, com varredura de potencial no modo de onda quadrada nas condições otimizadas. O modo SWV foi pois segundo os testes preliminares este modo se mostrou mais sensível para a determinação do ciclofenil, como pode ser visualizado pela Figura 33.

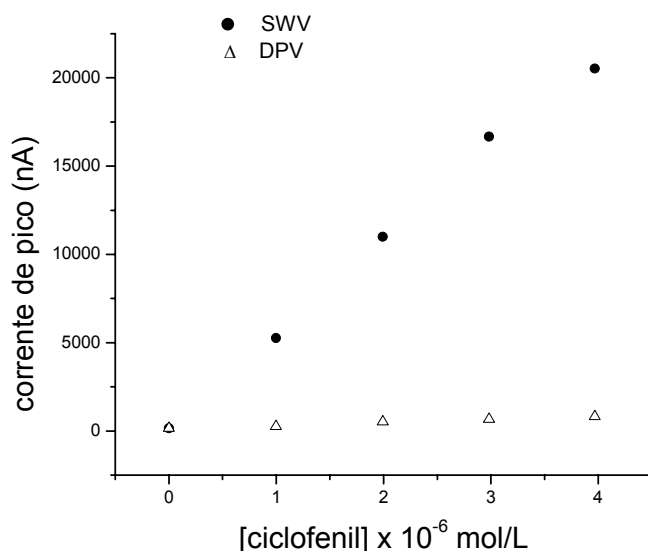


Figura 33 – Comparação entre as curvas analíticas obtidas no modo DPV e SWV.

As amostras foram irradiadas pelo mesmo período de tempo que as soluções padrões usadas na curva de calibração. As determinações foram feitas

para três soluções preparadas com alíquotas diferentes de massa de comprimidos pulverizados e lida em triplicata em três dias diferentes. As leituras foram realizadas utilizando-se curvas analíticas preparadas em uma cela separada, e os resultados destas determinações estão expostos na Tabela 3, na forma de percentual recuperado com base na concentração de analito na solução da amostra, que por sua vez, foi calculada levando em consideração na massa de referência descrita na bula do medicamento.

Tabela 3 – Resultado da recuperação do ciclofenil em medicamentos.

Amostra		Recuperação (%)		media	Desvio padrão
1	105,5	99,2	106,5	103,7	3,95
2	94,5	102,7	95,5	97,6	4,47
3	107	96,8	100,7	101,5	3,37

Tendo em vista a excelente resultado em termos de recuperação do analito, mostrado na Tabela 3, pode-se concluir que o método pode ser aplicado para a determinação do ciclofenil em formulações farmacêuticas. A repetibilidade dos resultados também foi bastante satisfatória, levando em consideração os desvios padrões para a mesma amostra analisadas em dias diferentes. Pela comparação do valor recuperado com o valor de referência também pode-se concluir que o método é livre de interferência dos componentes da matriz da formulação.

Segundo a bula deste medicamento, cada comprimido (massa em torno de 300 mg) contém 200 mg do principio ativo e o restante da formulação é formada por excipientes (amido de milho, celulose microcristalina, estearato de magnésio, glicolato de amido sódico, polvidona e manitol). Destes, apenas o manitol é solúvel em metanol. Para se avaliar o potencial efeito interferente do manitol, em uma cela contendo $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de ciclofenil foi adicionado quantidades de manitol (irradiado nas mesmas condições que o padrão) até a razão molar de 1:1 e constatou-se que pelo menos até este valor o manitol não interfere no sinal de redução do ciclofenil.

4.5.2

Determinação em urina.

Amostras de urina, obtidas por voluntários do próprio laboratório, foram fortificadas com ciclofenil e submetidas à irradiação UV para a posterior análise. Testou-se primeiro a determinação direta da amostra, sem nenhum pré-tratamento, exceto a irradiação UV, que também foi utilizado nas soluções padrões de ciclofenil preparadas em metanol. Com esse procedimento, observou-se uma queda do sinal do fotoproduto do ciclofenil em urina em torno de 40% quando comparado com o sinal de solução padrão de mesma. Este comportamento indica a existência de interferência de matriz.

Com o intuito de se eliminar esta interferência, utilizou-se o procedimento de clarificação da amostra ou “clean-up” com sulfato de amônio que serve para precipitar parte das proteínas presentes na urina. A análise do sobrenadante resultante do processo de clarificação, descrito no capítulo 3, indicou que este procedimento não reduz a interferência de matriz. Assim, decidiu-se realizar as determinações do ciclofenil com alíquotas de urina enriquecida sem nenhum tratamento prévio. Para corrigir a interferência da matriz de urina, utilizou-se o procedimento de adição de analito. As análises foram então realizadas fazendo adição de 200 µL da amostra de urina, seguido de adição de porções de 20 µL de solução padrão de ciclofenil ($5,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). Assim como na determinação em formulações farmacêuticas, analisou-se três soluções de amostra, cada uma sendo analisada em triplicata em dias diferentes. Os resultados destas análises estão expressas na Tabela 4 na forma de percentual recuperado.

Tabela 4 - Resultado da recuperação do ciclofenil em urina enriquecida

Amostras		Recuperação (%)		media	Desvio padrão
1	98.1	94.9	93.6	95,5	2,32
2	98.2	101.1	95.1	98,1	3,00
3	100.5	96.8	100.1	99,1	2,03