

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE UM ELETRODO DE PASTA DE
CARBONO MODIFICADO PARA ACUMULAÇÃO E
DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE DIAZEPAM**

TESE DE DOUTORADO

SANDRA TEREZINHA MARQUES GOMES

ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ MANOEL ALEIXO

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. OSWALDO E. S. GODINHO

CAMPINAS
NOVEMBRO/1997



07-11-97

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP

G585d Gomes, Sandra Terezinha Marques
Desenvolvimento de um eletrodo de pasta de
carbono modificado para acumulação e determinação
voltamétrica de diazepam / Sandra Terezinha Mar-
ques Gomes. - - Campinas, [SP : s.n.], 1997.

Orientador: Luiz Manoel Aleixo.
Co-orientador: Oswaldo E.S. Godinho.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas. Instituto de Química.

1.*Determinação eletroanalítica. 2.*Benzodiazepina.
I. Aleixo, Luiz Manoel. II. Godinho, Oswaldo E.S.
III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Química. IV. Título.

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
T/Unicamp	
2585d	
Vj	Ex
TOMBO BC/	33150
PROC.	395/98
C	☐
D	☒
PRECO	R\$ 11,00
DATA	26/03/98
N.º CPD	

CM-00107589-4

Compreender bem o que já se fez antes de nós
aumenta o nosso respeito àqueles cujos pensamentos
originais nos capacita à nossa atividade presente.

Keith Eaton

À MINHA MÃE,
pelo exemplo de vida, que com muito amor me estimulou
sempre a continuar.

ÀS MINHAS IRMÃS,
pelo carinho.

AO MAKOTO,
pela compreensão, colaboração e incentivo.

AO GUSTAVO,
que, pequeno em tamanho, foi grande em espírito.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Manoel Aleixo pela orientação, sugestões, incentivo e amizade.

Ao Prof. Dr. Oswaldo E.S. Godinho pela orientação, apoio e sugestões.

Ao Prof. Dr. Graciliano de Oliveira Neto, pela colaboração.

Ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas.

À Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Brito Souza, pelas sugestões.

As amigas Helena, Iara e Keila pelo carinho, amizade, paciência e estímulo.

Aos colegas do laboratório e funcionários do IQ/Unicamp.

Aos Profs. Carlos Pereira, Jorge Nozaki e Ervim Lenzi, pela colaboração.

Ao senhor Edson Brunhara pela colaboração, compreensão e amizade.

A Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

À CAPES pela bolsa de estudo concedida.

Ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá.

Àqueles cuja convivência, apoio e amizade contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

RESUMO	XI
ABSTRACT	XII
1 APRESENTAÇÃO E OBJETIVOS.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Diazepam.....	4
2.1.1 Generalidades.....	4
2.1.2 Métodos analíticos para determinação de diazepam.....	7
2.2 Voltametria com pré-concentração não eletrolítica.....	17
2.2.1 Introdução	17
2.2.2 Acumulação adsortiva em eletrodos convencionais....	18
2.2.2.1 Adsorção na interface eletrodo-solução.....	19
2.2.2.2 Eletrodos de trabalho e resposta voltamétrica.....	20
2.2.2.3 Problemas e soluções	23
2.2.2.4 Determinação de traços de compostos orgânicos.....	26
2.2.3 Acumulação em eletrodos modificados	29
3 EXPERIMENTAL	33
3.1 Equipamentos	33
3.2 Reagentes.....	34
3.3 Procedimento.....	35
3.3.1 Preparação do eletrodo de trabalho.....	35
3.3.2 Preparação da solução padrão	36
3.3.3 Voltametria cíclica	37
3.3.4 Etapas para otimização das condições de trabalho	37

3.3.5	Determinação de diazepam em produto comercial	38
3.3.6	Limpeza do material.....	39
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1	Escolha do modificador.....	40
4.2.	Preparação do padrão e da amostra	45
4.3	Caracterização eletroquímica do eletrodo	46
4.4	Parâmetros operacionais	51
4.4.1	Geometria do eletrodo	51
4.4.2	Pré-tratamento do eletrodo	51
4.4.3	Velocidade de varredura e amplitude de pulso.....	52
4.5	Fatores que afetaram as etapas de pré-concentração e medida	53
4.5.1	Etapa de pré-concentração.....	53
4.5.1.1	Efeito do pH.....	53
4.5.1.2	Efeito do tempo de acumulação.....	54
4.5.1.3	Seleção da concentração do agente mo- dificador.....	57
4.5.2	Etapa de medida	58
4.5.2.1	Efeito do pH.....	58
4.5.2.2	Efeito do eletrólito de suporte.....	62
4.5.3	Construção de curva de calibração.....	62
4.6	Utilização do EPCM desenvolvido em amostras reais	66
5	CONCLUSÃO	74
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Biotransformação do diazepam.....	6
FIGURA 2.	Transformação do diazepam e seus metabólitos em benzofenonas	9
FIGURA 3.	Representação esquemática do eletrodo de trabalho.....	36
FIGURA 4.	Corrente de pico para diferentes eletrodos de pasta de carbono modificado	43
FIGURA 5.	Voltamograma de pulso diferencial obtido com EPCM, com e sem pré-concentração	44
FIGURA 6.	Voltamograma cíclico repetitivo	48
FIGURA 7.	Variação da corrente anódica com a velocidade de varredura	49
FIGURA 8.	Voltamograma de pulso diferencial obtido com EPCM, com pré-concentração.....	50
FIGURA 9.	Variação da corrente de pico anódica do diazepam com o pH da solução de pré-concentração.....	55
FIGURA 10.	Efeito do tempo de pré-concentração sobre a corrente de pico anódica para diazepam.....	56
FIGURA 11.	Variação de corrente de pico anódica do diazepam com o pH da solução de medida.....	60
FIGURA 12.	Variação do potencial de pico do diazepam com o pH da solução de medida	61
FIGURA 13.	Voltamogramas de pulso diferencial em solução de LiCl 0,1mol·L ⁻¹ (pH 4,0) em diferentes concentrações de diazepam.....	64

FIGURA 14. Efeito da concentração de diazepam sobre a corrente de pico 65

FIGURA 15. Voltamogramas de pulso diferencial para determinação de diazepam em comprimidos pelo método de adição de padrão..... 68

FIGURA 16. Curva de adição de padrão para determinação do diazepam em comprimidos 69

FIGURA 17. Voltamogramas de pulso diferencial para determinação de diazepam em urina 73

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Variação da corrente de pico com a concentração de Carbopack na pasta de carbono	57
TABELA 2. Resultados obtidos para diazepam em comprimidos pelo método de adição de padrão	70
TABELA 3. Teste de recuperação, pelo método de adição de padrão nas determinações de diazepam em comprimidos	70

RESUMO

Um eletrodo de pasta de carbono modificado com 40% de Carbpac foi desenvolvido para a pré-concentração e determinação voltamétrica de diazepam. No método proposto, o diazepam foi analisado a partir de sua benzofenona, obtida após a hidrólise ácida do diazepam, sendo pré-concentrada na superfície do eletrodo, via adsorção, sem aplicação de potencial. A técnica voltamétrica aplicada foi voltametria de pulso diferencial com velocidade de varredura de $5\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ e amplitude de pulso de 25mV . Verificou-se que a adsorção na superfície do eletrodo depende do pH das soluções, do tempo, do solvente utilizado na pré-concentração, composição da pasta e de outras variáveis. A pré-concentração foi realizada em tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (pH 4,0) e a varredura de potencial de 0,50 a 1,30V vs Ag/AgCl, KCl sat. em solução de LiCl $0,10\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (pH 4,0), observando-se uma onda anódica em +1,04V. A irreversibilidade do processo do eletrodo foi verificada pela ausência da onda catódica quando utilizada a voltametria cíclica. Os resultados obtidos indicaram a aplicabilidade do método na faixa de concentração de $0,067$ a $2,02\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e linearidade de $0,067$ a $1,30\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, com 10 minutos de pré-concentração, sendo o limite mínimo detectado de $0,020\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de diazepam. Este eletrodo foi avaliado quanto à possibilidade de ser utilizado para determinação de diazepam em comprimidos comerciais. As determinações foram realizadas pelo método de adição padrão, sendo encontrado $5,21\pm 0,33\text{mg}$ de diazepam por comprimido com valor nominal de $5,00\text{mg}$. O método apresentou uma recuperação média de $102,9\pm 5,6\%$.

ABSTRACT

A carbon paste electrode, modified with 40% of Carbopack, was developed for accumulation and voltammetric determination of diazepam. In the proposed, the diazepam was determined as its benzophenone, after acid hydrolysis, being accumulated at the electrode surface by adsorption, without applied potential. The technique used was differential pulse voltammetry with a scan rate of $5\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ and pulse amplitude of 25mV . The adsorption process depends on pH, time, solvent used, carbon paste composition, and other variables. The accumulation was performed using $0.04\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Britton-Robinson buffer solution, pH 4.0, scan rate of 0.50 to 1.30V versus Ag/AgCl, saturated KCl, and $0.10\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ LiCl (pH 4.0), when an anodic wave at $+1.04\text{V}$ was observed. The electrode process was irreversible, verified by the absence of cathodic wave by cyclic voltammetry. The concentration linear range between 0.067 to $1.30\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of diazepam was obtained with the accumulation time of 10 minutes. However, the lowest concentration detectable of diazepam was $0.020\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The modified electrode was used for the determination of diazepam in pharmaceutical tablets, with a declared value of 5.00mg . Using the standard addition method, it was found $5.21\pm 0.33\text{mg}$ of diazepam per tablet and an recovery of $102.9\pm 5.6\%$.

1. APRESENTAÇÃO E OBJETIVOS

O interesse no desenvolvimento de novas formas de acumulação de analitos eletroativos sobre superfícies de eletrodos antes de sua quantificação voltamétrica é evidenciado pelo grande número de publicações sobre o assunto nos últimos anos. A voltametria adsortiva de redissolução evoluiu como uma técnica eletroanalítica versátil na determinação de substâncias em nível de traços e ultra-traços. A voltametria de pré-concentração não eletrolítica acrescenta novas dimensões à análise voltamétrica de redissolução, estendendo o campo de aplicação para muitos analitos orgânicos e inorgânicos, que não podem ser acumulados pela eletrólise. Para estes analitos, métodos alternativos baseados em acumulação preferencial em eletrodos convencionais e modificados têm sido propostos. Estes novos métodos voltamétricos de pré-concentração oferecem um aumento de sensibilidade e um alto grau de seletividade, comparado à voltametria convencional.

O fenômeno de adsorção, tradicionalmente considerado um problema, tem sido explorado como uma vantagem devido à adsorção deliberada de espécies à superfície do eletrodo. Este fenômeno permite a modificação de superfícies, resultando desta forma na obtenção de eletrodos modificados. Estes eletrodos são empregados como um meio de pré-concentrar seletivamente analitos orgânicos e inorgânicos, oferecendo alta sensibilidade e seletividade, conforme foi mencionado anteriormente.

Um dos mais úteis eletrodos convencionais para acumulação espontânea de compostos orgânicos tem sido o eletrodo de pasta de carbono. A pasta de carbono representa uma matriz conveniente para incorporação de uma variedade de modificadores apropriados, em que o modificador é simplesmente misturado junto com a pasta, grafite e nujol. O eletrodo de pasta de carbono é facilmente construído, oferece uma superfície facilmente renovável e modificada, baixo custo e contribuições de baixa corrente capacitiva.

A finalidade básica deste trabalho consiste na preparação e uso de um eletrodo de pasta de carbono modificado (EPCM) sensível ao diazepam. Isto nos levará a adquirir conhecimentos na preparação e utilização dos eletrodos modificados, resultando no desenvolvimento de um método sensível para a determinação desta droga, para ser aplicado na análise de produtos farmacêuticos.

A voltametria de pulso diferencial foi a técnica escolhida para a quantificação do diazepam através da pré-concentração de sua benzofenona no eletrodo. Com a finalidade de se obter a sensibilidade

máxima, foi necessário encontrar as melhores condições de trabalho, tanto para a etapa de acumulação, como para a etapa voltamétrica. Assim, foram investigadas: a) variáveis que afetam o grau de adsorção (pH, solvente, tempo de acumulação, concentração do agente modificador na pasta) e b) variáveis que afetam a resposta voltamétrica (pH do eletrólito suporte, parâmetros instrumentais como velocidade de varredura e amplitude de pulso).

Visando ilustrar a ampla possibilidade de aplicação analítica oferecida pelo uso do eletrodo de pasta de carbono modificado, o diazepam foi escolhido em razão de seu interesse terapêutico, assim como do uso abusivo do mesmo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. DIAZEPAM

2.1.2. Generalidades

O diazepam, 7-cloro-1,3-diidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona, é membro da série de drogas 1,4-benzodiazepínicas. Ele é freqüentemente prescrito como tranqüilizante para o tratamento de ansiedade, caracterizado por tensão, medo, agitação e agressividade (CLIFFORD e SMYTH, 1974), sendo também recomendado no tratamento do controle do estado epiléptico ou convulsões febris em crianças (LACROIX *et al.*, 1993). Devido às suas propriedades, o consumo de diazepam tem como consequência o uso abusivo da droga. As benzodiazepinas sozinhas ou em combinação com outras drogas ou bebidas alcoólicas são, muitas vezes, causa de intoxicação. Muitos pacientes apresentam certa dependência às drogas benzodiazepínicas.

Por esta razão, elas são freqüentemente encontradas em análises clínicas ou toxicológicas.

O diazepam é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal e após a absorção é geralmente submetido a processos complexos de biotransformação, sendo os principais a N-desmetilação e hidroxilação na posição 3. Os três maiores metabólitos são ativos farmacologicamente (Figura 1). Os compostos hidroxilados são excretados sob forma conjugada como glicuronídeos, enquanto os produtos N-desmetilados parecem ser excretados em ambas as formas, conjugada e não conjugada.

Depois da ingestão de doses de 10mg de diazepam, 71% da droga são excretados na urina e 10% nas fezes. A urina contém cerca de 33% da dose na forma de oxazepam conjugado com o ácido urodindifosfatoglicurônico (UDPGA), 10% na forma de composto N-desmetilado, 10% do composto 3-hidroxilado sob a forma conjugada e de 1% a 2% na forma inalterada.

Em indivíduos submetidos a tratamento contínuo com diazepam, observa-se um aumento considerável da concentração plasmática de N-desmetildiazepam (NDDZ) e acúmulo deste composto no cérebro. Este fato mostra que o diazepam atua como indutor enzimático em nível microssomal, estimulando a sua própria biotransformação (LARINI, 1993).

O diazepam é uma droga básica e, como base livre, é insolúvel em água, praticamente insolúvel em n-heptano e n-hexano, mas solúvel em metanol, etanol e clorofórmio. As soluções estoques de diazepam em

metanol e etanol absoluto são estáveis por várias semanas. As soluções aquosas de diazepam são mais propensas à decomposição, principalmente em condições ácidas ou alcalinas. A hidrólise catalisada por ácido produz as benzofenonas (CLIFFORD e SMYTH, 1974).

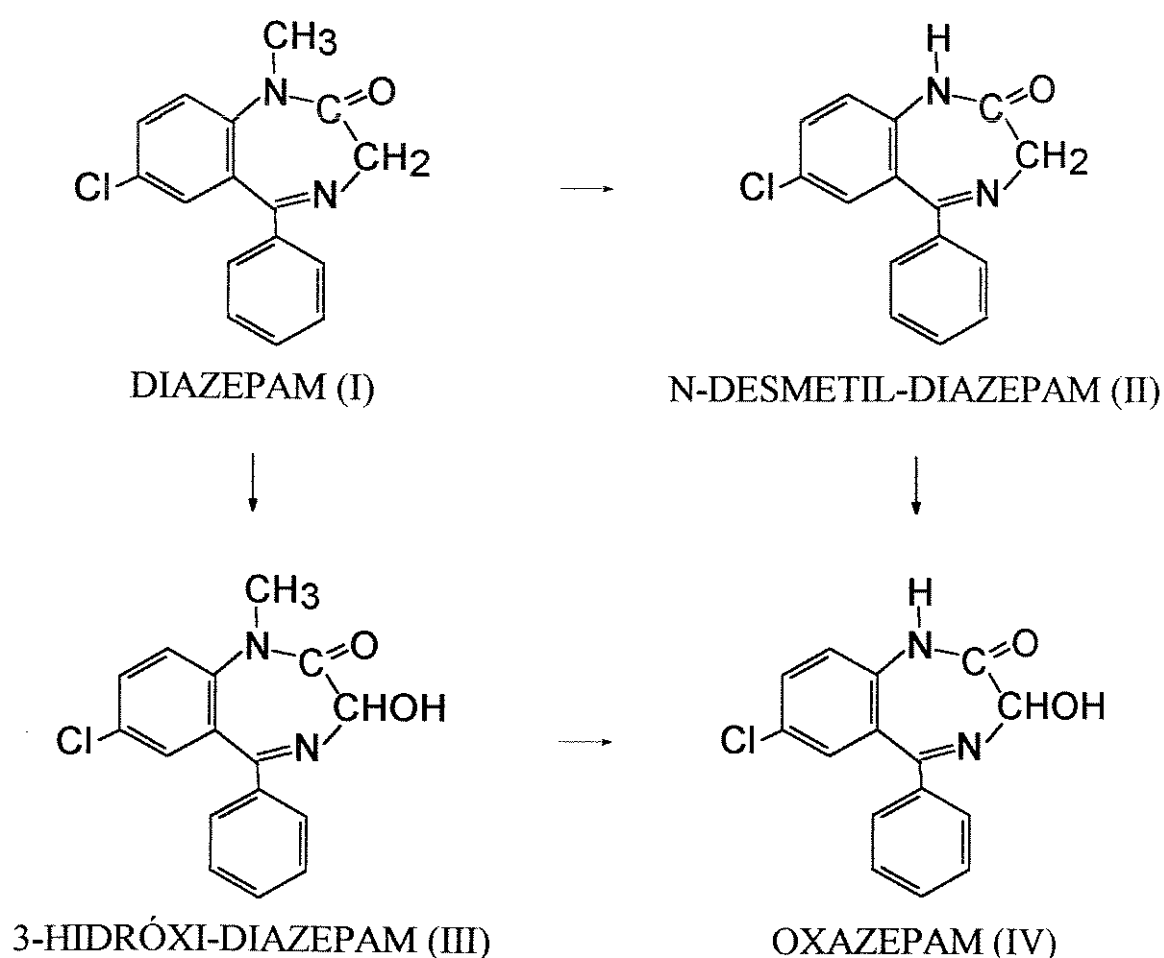


FIGURA 1. Biotransformação do diazepam.

O diazepam é geralmente extraído como molécula neutra de fluidos biológicos, com solventes orgânicos sob condições fracamente alcalinas, com recuperação que excede 80% (MEHTA, 1984). Os solventes orgânicos escolhidos em métodos de extração, em ordem de preferência são: éter dietílico, acetato de etila e clorofórmio.

2.1.2. Métodos analíticos para determinação de diazepam

Desde a introdução de diazepam em uso clínico, em 1959, as benzodiazepinas são amplamente utilizadas como tranqüilizantes e sedativos, e com o uso destes compostos tem havido uma evolução paralela de métodos analíticos para a sua determinação. Estes métodos analíticos são utilizados para estudos clínico, toxicológico, farmacocinético e para o controle de qualidade em formulações (KAUFFMANN e VIRÉ, 1993; FEHÉR *et al.*, 1983).

As 1,4-benzodiazepinas estão geralmente presentes em quantidades traços após administração terapêutica porque estão sob biotransformação extensiva e/ou distribuídas nos tecidos.

A concentração de benzodiazepínicos e seus metabólitos é maior em urina do que em plasma, sendo preferível utilizar a urina para a sua determinação. Alguns benzodiazepínicos e seus metabólitos excretados na urina em forma completamente conjugada podem ser rapidamente clivados pela hidrólise ácida, que pode ser mais rápida que a hidrólise

enzimática (MAUER e PFLEGER, 1987). Em meio fortemente ácido, o diazepam e seus metabólitos livres e conjugados originam benzofenonas (Fig. 2). Por outro lado, a decomposição dos conjugados pela hidrólise enzimática tem a vantagem de manter a molécula de benzodiazepina intacta, porém não resulta em um procedimento rápido.

Muitos dos métodos de análise para a determinação de uma ou de poucas benzodiazepinas são específicos e sensíveis, sendo mais adequados para o uso em monitoramento de drogas ou quando o intoxicante é conhecido.

As análises de benzodiazepinas para o controle de qualidade ou em toxicologia clínica envolvem detecção de drogas em concentração relativamente alta; nelas um procedimento menos complexo e com maior rapidez pode ser útil na separação de um grupo de compostos. Assim, a análise dos produtos de hidrólise é freqüentemente usada, provocando um aumento de sensibilidade

Do ponto de vista de análises em amostras biológicas, há duas considerações importantes. Primeiro, o nível das drogas é baixo, e segundo, seus metabólitos similares quimicamente também podem ser farmacologicamente ativos e, assim, requerem determinações.

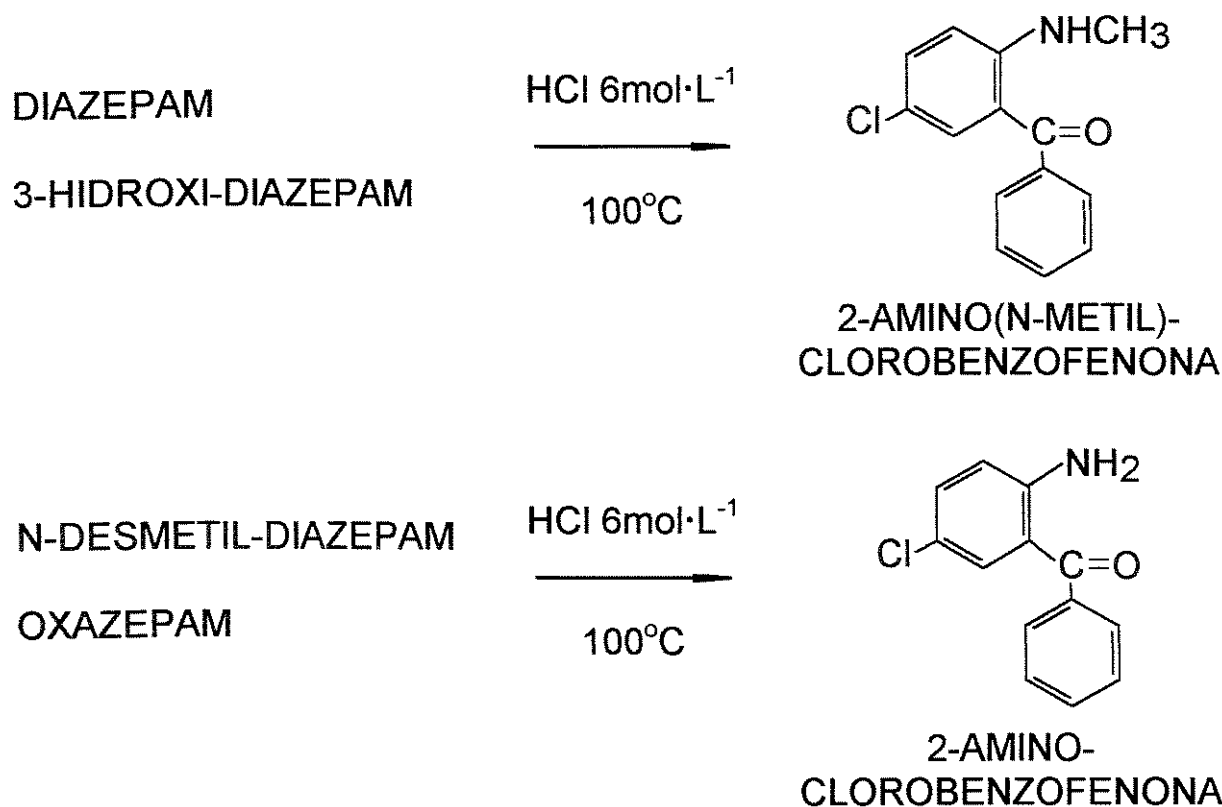


FIGURA 2. Transformação do diazepam e seus metabólitos em benzofenonas.

Vários métodos para a determinação de diazepam, seus metabólitos ou produtos de hidrólise em produtos farmacêuticos e/ou fluidos biológicos têm sido desenvolvidos, tais como, cromatografia gasosa (HEWALA, 1992); cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (MAURER e PFLEGER, 1981); cromatografia em camada delgada (JAIN, 1993); cromatografia líquida de alta eficiência (VREE *et al.*, 1979; LIU e STWART, 1997); espectrofotometria (CRUZ *et al.*, 1992; EL-BARDICY *et al.*, 1993) e polarografia (BROOKS e SILVA, 1975; GARCIA *et al.*, 1993; KALVODA, 1984). Estas técnicas, quando aplicadas a matrizes complexas, como fluidos biológicos, requerem

procedimentos para preparação da amostra baseados na extração com solventes em meio alcalino, extração em fase sólida ou processador automático para a amostra (LACROIX *et al.*, 1993). A derivatização é utilizada em alguns casos. Estes passos requerem um tempo maior, maior custo e, algumas vezes, diminuem a recuperação da amostra.

Algumas revisões são apresentadas para a determinação de 1,4-benzodiazepinas utilizando métodos cromatográficos (HAILEY, 1974; METHA, 1984, SILVA, 1983). Além dos métodos cromatográficos, as técnicas colorimétrica, gravimétrica e titulométrica são apresentadas por CLIFFORD e SMYTH (1974).

As titulações visual e potenciométrica de benzodiazepinas também são citadas na literatura (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1980; BARBOSA E SANZ-NEBOT, 1989; PIETROGRANDE *et al.*, 1984). No entanto, estes métodos, na maioria das vezes, apresentam baixa sensibilidade e seletividade. A titulação termométrica catalítica foi utilizada na determinação de 1,4-benzodiazepinas em solução não-aquosa, usando o ácido perclórico em ácido acético como titulante e catalisador (GREENHOW e LADIPO, 1985). A determinação potenciométrica de diazepam utilizando eletrodos de íon-seletivo para diazepam com diferentes materiais eletroativos em matriz de PVC, foi investigada por NIE *et al.* (1990). A maioria dos eletrodos apresentaram resposta Nernstiana entre 10^{-2} a 10^{-5} mol.L⁻¹, um tempo de vida de 3 meses e um desvio padrão de 2,3%. O diazepam também foi determinado pela titulação potenciométrica com tetrafenilborato de sódio utilizando estes eletrodos como eletrodo indicador.

As farmacopéias oficiais (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1980; UNITED STATES PHARMACOPOEIA XXI, 1985) descrevem análises espectrofotométricas para medida de diazepam e oxazepam em forma de dosagens. Estes métodos requerem uma dissolução prévia em meio de ácido sulfúrico ou clorídrico. Estas drogas são susceptíveis à hidrólise ácida com subsequente ruptura do anel. A cinética da hidrólise de tais compostos tem sido exaustivamente estudada (MORO *et al.*, 1991; NUDELMAN e WAISBAUM, 1995a e 1995b). ABDEL-HAMID e ABUIRJEIE (1988) relataram que os métodos espectrofotométricos apresentaram resultados variáveis e não significativos, indicando que os procedimentos oficiais não são específicos para drogas intactas e não revelam a presença dos produtos de degradação. Por esta razão, é necessário o desenvolvimento de procedimentos para solucionar estes problemas.

A polarografia tem sido considerada como um método analítico excelente para a determinação de 1,4-benzodiazepinas em fluidos biológicos. É de utilidade clínica, possuindo maior sensibilidade que as análises espectrofotométricas e apresenta sensibilidade comparável à maioria dos métodos espectrofluorimétricos e de cromatografia gasosa com detector de ionização de chama. A técnica é útil para medidas simples e rápidas de excreção urinária e quando os níveis no sangue e no plasma de 1,4-benzodiazepinas e seus metabólitos estão na faixa de 50 a 100ng.L⁻¹ ou acima, em situações toxicológicas (BROOKS e SILVA, 1975; PATRIARCHE *et al.*, 1979).

O diazepam é analisado pela técnica polarográfica, com ênfase no fenômeno de redução no eletrodo de mercúrio. O grupo funcional $>C=N-$

dá origem a uma onda polarográfica de redução com dois elétrons, que é utilizado em métodos de análise nas formulações e fluidos biológicos.

JACOBSEN e JACOBSEN determinaram a concentração de diazepam em produtos farmacêuticos (1972) e em amostras biológicas (1973), utilizando a técnica polarográfica, com extração prévia, porém utilizando eletrólitos que levaram à hidrólise do diazepam. Esta hidrólise pode afetar a exatidão da análise polarográfica. Um polarograma obtido em meio ácido apresentou duas ondas catódicas indicando que o ingrediente ativo encontrava-se sob reação de hidrólise (SMYTH e GROVES, 1982).

A técnica polarográfica foi aplicada no estudo de metabólitos urinários de diazepam em seres humanos (DUGAL *et al.*, 1973) e na identificação e determinação dos metabólitos biliares de diazepam em ratos (BESNER *et al.*, 1973). Nas duas situações, os metabólitos urinários foram convertidos em suas respectivas amino e metilaminoclorobenzofenonas e a sua soma foi determinada polarograficamente através do pico catódico da benzofenona total. Os resultados foram comparados aos obtidos pela análise das benzofenonas separadas pela cromatografia gasosa com detector de ionização de chama, apresentando boa concordância com os obtidos pela cromatografia gasosa.

BROOKS e SILVA (1975) apresentam uma revisão sobre a aplicação da polarografia de pulso diferencial na determinação de 1,4-benzodiazepinas e seus metabólitos, comparando-a a outros métodos em termos de simplicidade e flexibilidade. Contudo, os

problemas relacionados com a extração da droga em produtos farmacêuticos não são profundamente discutidos.

A polarografia de pulso diferencial foi aplicada na determinação de diazepam em urina. Este método apresentou-se mais adequado em análises toxicológicas (ELLAITHY *et al.*, 1977).

A polarografia de pulso diferencial foi utilizada na determinação de diazepam em formulações farmacêuticas. Um pico bem definido foi obtido pela redução do grupo azometino. O procedimento analítico foi descrito para a determinação da droga, apresentando um desvio padrão de 1,2% e um limite de detecção de $2,4 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (SREEDHAR e REDDY, 1992).

GARCIA *et al.* (1993) apresentaram um método para a extração e separação do diazepam em comprimidos e sua quantificação com técnicas eletroanalíticas. O eletrólito suporte utilizado foi uma solução tampão acetato pH 4,6 e o ingrediente ativo foi dissolvido em dimetilsulfóxido. Este método evita a hidrólise de diazepam. O estudo de redução polarográfica em eletrodo de mercúrio utilizando a técnica de pulso diferencial apresentou uma correlação linear na faixa de concentração de $4,8-96 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, e os erros foram menores que os obtidos pelo método espectrofotométrico.

Entre as muitas publicações que surgiram na literatura em que a eletroquímica é usada para a identificação e determinação de drogas, a eletrorredução destas substâncias foi feita em eletrodo gotejante de mercúrio (EGM). Mas o uso deste eletrodo foi limitado na região de

potencial anódico, devido à oxidação do mercúrio. É por esta razão que eletrodos sólidos são empregados na oxidação de compostos.

Menor atenção tem sido dada ao estudo da oxidação eletroquímica em eletrodos sólidos (SMYTH *et al.*, 1982; SMYTH e IVASKA., 1985; VOLKE *et al.*, 1975), os quais fornecem informações complementares aos dados de redução e assim expandem a aplicabilidade do método analítico para estas moléculas e seus metabólitos.

Em estudos realizados por BISHOP e HUSSEIN (1984), o diazepam não apresentou atividade anódica em eletrodos clássicos, utilizando-se solução aquosa.

O procedimento oxidativo de 1,4-benzodiazepinas, em particular, em um eletrodo rotatório de disco de ouro e platina foi investigado por VOLKE *et al.* (1975), o qual encontrou resposta no eletrodo para oxazepam, diazepam e flurazepam no eletrólito suporte de perclorato de tetraetilamônio $0,1\text{mol.L}^{-1}$ em acetonitrila. O diazepam apresentou uma onda anódica definida com um mínimo típico e um potencial de meia onda em $+1,50\text{V}$ vs ECS. O oxazepam e o N-desmetildiazepam foram razoavelmente difíceis de oxidar, sendo o oxazepam oxidado a $+1,55\text{V}$ em eletrodo rotatório de platina. A presença de apenas 5% de água causam o desaparecimento da onda anódica. Das benzodiazepinas estudadas, apenas o flurazepam foi oxidado no eletrodo de disco de ouro ($E_{1/2}=+1,0\text{V}$).

O comportamento de eletrodos de pasta de carbono e carbono vítreo foi investigado e comparado com os resultados obtidos com eletrodo à

base de grafite misturado com polietileno de baixa densidade e aplicado a drogas. Observou-se que a resposta do eletrodo foi grandemente influenciada pela natureza do substrato. Na oxidação de diazepam, utilizando a técnica de pulso diferencial, nenhum pico anódico foi observado para eletrodo de pasta de carbono, mas um pico foi observado e detectado em EPCM com polietileno, uma vez que a oxidação do solvente ocorreu em potencial altamente positivo (PRETE *et al.*, 1984; KAUFFMANN *et al.*, 1985).

SMYTH e IVASKA (1985) investigaram a oxidação eletroquímica de 1,4-benzodiazepinas e alguns de seus metabólitos, utilizando um eletrodo de carbono vítreo e o eletrólito de suporte solução tampão Britton-Robinson (pH 2 a 10), e também NaOH com 10% de metanol. Diferentes mecanismos de oxidação foram evidentes, tais como, a N-oxidação e a formação de cátion radicalar no átomo de N-1 com subseqüentes reações de acoplamento. O diazepam apresentou-se eletroinativo sob estas condições, devido ao fato de a densidade eletrônica do átomo N-1 ser reduzida pela deslocalização do grupo carbonila e/ou efeito estérico neste átomo pelo substituinte metila.

O estudo das propriedades oxidativas da aminoclorobenzofenona (produto final da hidrólise de diazepam) torna-se um método alternativo para sua determinação voltamétrica. Estudos voltamétricos sobre aminoclorobenzofenona são escassos. Um estudo eletroanalítico foi apresentado para três aminoclorobenzofenonas, metabólitos de oxazolam, cloxazolam e haloxazolam e de benzodiazepinas como clordiazepam, nordiazepam, oxazepam e demoxazepam (FERNANDEZ *et al.*, 1995). Este estudo foi realizado utilizando eletrodo de carbono

vítreo com diferentes técnicas voltamétricas. O objetivo foi o de conseguir informações sobre o comportamento oxidativo destes compostos, servindo de base para o desenvolvimento de métodos voltamétricos para a determinação dos mesmos, por um caminho indireto. O comportamento oxidativo apresentado pelas três amino-halobenzofenonas (2-amino-2',5-diclorobenzofenona, 2-amino-5-bromo-2'-fluorbenzofenona e 2-amino-clorobenzofenona) é muito complexo e a elucidação dos mecanismos da reação requer o isolamento dos produtos de oxidação seguido de caracterização espectroscópica.

Nos últimos anos, com o desenvolvimento de novos eletrodos e instrumentos, a técnica voltamétrica adsortiva alcançou grande destaque na química analítica. O grande número de métodos de determinação de cátions e compostos orgânicos consolida a técnica como adequada para as determinações de pequenas quantidades ($10^{-9}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e $10^{-12}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). A sua principal vantagem é o fator sensibilidade por custo investido (WANG, 1989).

Esta técnica foi utilizada com vários compostos redutíveis (diazepam, nitrazepam, papaverina e outros compostos nitroaromáticos) em eletrodo de mercúrio de gota pendente (EMGP), no modo pulso diferencial e corrente contínua. As determinações foram realizadas na faixa de 10^{-9} a $10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, com erros de 5-7%. Foram considerados os efeitos da mudança do potencial e do tempo de acumulação. O diazepam foi determinado em solução tampão acetato pH 4,6, com potencial de acumulação em -0,5V, sem troca do meio (KALVODA, 1984).

A voltametria adsortiva de redissolução foi utilizada para o estudo de imunoglobulina A e sua interação com drogas benzodiazepínicas, observando-se a formação de um composto fortemente redutível com diazepam em EMGP (RODRÍGUEZ *et al.*, 1989).

2.2. VOLTAMETRIA COM PRÉ-CONCENTRAÇÃO NÃO ELETROLÍTICA

2.2.1. Introdução

A demanda para a quantificação de substâncias em nível de traços e ultra-traços de importâncias ambiental, industrial e biológica está crescendo continuamente. Na análise de amostras diluídas é freqüentemente necessário empregar algum tipo de pré-concentração, antes da quantificação. A etapa de pré-concentração, além de possibilitar um aumento na sensibilidade pela acumulação da espécie de interesse, pode servir também para isolar o analito da matriz complexa. A técnica da análise de redissolução tem recebido considerável atenção entre as técnicas eletroanalíticas, em que a substância a ser determinada é pré-concentrada no eletrodo de trabalho antes da quantificação eletroquímica. A maioria das aplicações são referentes aos íons de metais pesados, os quais são depositados eletroliticamente e formam amálgama de mercúrio.

Nos últimos anos, houve interesse na análise de importantes analitos orgânicos e inorgânicos que não são acessíveis às medidas de redissolução convencional, devido à natureza eletrolítica da etapa de acumulação. O aumento da sensibilidade pela acumulação do analito antes da etapa de medida voltamétrica tem levado ao desenvolvimento de métodos alternativos de pré-concentração, baseados principalmente na acumulação adsortiva.

A voltametria, quando seguida de pré-concentração não eletrolítica, apresenta dois caminhos de pré-concentração efetiva, que incluem a acumulação adsortiva em eletrodos convencionais e reações específicas em eletrodos quimicamente modificados.

2.2.2. Acumulação adsortiva em eletrodos convencionais

Em voltametria adsortiva, um processo de adsorção espontânea em um eletrodo estacionário é utilizado como etapa de pré-concentração efetiva para medir traços de importantes espécies que não podem ser acumuladas pela eletrólise. A pré-concentração é baseada na acumulação interfacial, isto é, não inclui qualquer processo faradaico (WANG, 1989).

2.2.2.1. Adsorção na interface eletrodo-solução

Em eletroquímica, a adsorção à superfície do eletrodo, geralmente significa a atração de moléculas ou íons a esta superfície. A resposta voltamétrica resultante das espécies adsorvidas é muito maior que da espécie na solução e, conseqüentemente, o limite de detecção é melhorado em várias ordens de magnitude.

Anson (1975) desenvolveu generalização sistemática para a base química de adsorção, estabelecendo regras para prever a adsorção de espécies nos eletrodos. Experimentos preliminares referentes à natureza da adsorção e do processo redox são usualmente realizados empregando-se técnicas como cronocoulometria, voltametria cíclica ou pulso diferencial.

A extensão da adsorção é frequentemente relacionada com a solubilidade do reagente no solvente. Solubilidades menores tendem a promover fortes adsorções. Além da hidrofobicidade do adsorbato, outras forças podem conduzir à adsorção na superfície do eletrodo. Estas incluem atração eletrostática entre o adsorbato iônico e um eletrodo carregado, interações campo-dipolo entre a dupla camada do eletrodo e os grupos funcionais dos reagentes orgânicos, ou a quimissorção de certos elétrons ou grupos atômicos sobre superfícies de eletrodos metálicos. A extensão destas interações e, conseqüentemente, o resultado da resposta adsortiva de redissolução depende de várias condições experimentais.

2.2.2.2. Eletrodos de trabalho e resposta voltamétrica

O uso de eletrodos estacionários na voltametria adsortiva de redissolução (VAR) possibilita o aumento na concentração superficial, oferecendo baixo limite de detecção. De um modo geral, o eletrodo de mercúrio de gota pendente (EMGP) é o mais utilizado para a determinação de espécies redutíveis, enquanto eletrodos de platina, de carbono (fibra de carbono, pasta de carbono e grafite impregnado com parafina), são empregados para medir espécies oxidáveis (WANG, 1985b). O eletrodo de mercúrio oferece melhor limite de detecção (10^{-10} a $10^{-11} \text{ mol.L}^{-1}$) devido à sua baixa corrente de fundo, quando comparados com os obtidos em eletrodos sólidos (10^{-8} a $10^{-9} \text{ mol.L}^{-1}$). Desvios padrões relativos a medidas em replicatas em eletrodo de mercúrio estão na faixa de 2 a 6% e de 5 a 12% em eletrodos sólidos (WANG, 1985a).

Em eletroanálises, tem aumentado o uso de eletrodos de pasta de carbono (EPC), devido à sua aplicabilidade em oxidações anódicas, envolvendo baixa corrente capacitiva e oferecendo uma superfície facilmente renovável e modificada e de baixo custo. A pré-concentração de certos analitos orgânicos hidrofóbicos em eletrodos de pasta de carbono envolve um processo de acumulação extrativa. Como a pasta de carbono consiste em uma mistura de grafite em pó com um líquido orgânico aglutinante (nujol, silicone, vaselina), existe sempre a possibilidade de algum composto orgânico eletroativo ser extraído pela pasta, devido à sua solubilidade na fase orgânica (WANG *et al.*, 1985a). O alto grau de seletividade em misturas com espécies adsorvidas e extraídas pode ser alcançado com o ajuste cuidadoso das condições experimentais. Assim, a etapa de acumulação extrativa pode ser utilizada

para separar, "in situ", uma espécie eletroativa da outra (WANG *et al.*, 1985b; WANG e LUO, 1984).

A escolha do líquido da pasta é possível, mas considerações práticas de baixa volatilidade, pureza e economia estreitam a escolha para poucos líquidos. A composição da pasta afeta fortemente a reatividade do eletrodo porque o aumento no conteúdo do líquido diminui a taxa de transferência de elétrons, assim como a contribuição da corrente. Na ausência do líquido, o eletrodo de grafite seco produz rápida transferência de elétrons. Apesar de sua popularidade crescente, o funcionamento exato do EPC ainda não é totalmente entendido.

A pasta de carbono representa uma matriz conveniente para incorporação de uma variedade de modificadores apropriados, em que o modificador é simplesmente misturado com a pasta grafite/nujol, não necessitando ataques químicos individualizados para cada modificação. Uma desvantagem da pasta de carbono é a tendência do líquido orgânico se dissolver em soluções contendo uma fração apreciável de solvente orgânico.

A sensibilidade máxima da resposta voltamétrica pode ser obtida otimizando-se as condições de acumulação durante a etapa de pré-concentração. As melhores condições para acumulação máxima são normalmente encontradas examinando-se o aumento da corrente de pico. Em geral, apenas espécies adsorvidas fortemente, com coeficiente de adsorção grande ($>10^{-4}\text{cm}$), são adequadas a medidas adsorptivas de redissolução e a adsorção pode proceder de maneira reprodutível (WANG, 1985b).

A deposição do analito à superfície do eletrodo é função de vários parâmetros, como solvente, material do eletrodo, potencial, tempo, pH, força iônica, transporte de massa e temperatura (WANG, 1985a; WANG *et al.*, 1993; Hu *et al.*, 1993). Analitos diferentes podem responder diferentemente às mudanças nestes parâmetros, os quais podem ser úteis analiticamente.

Além das variáveis envolvidas na etapa de adsorção, outros parâmetros, como velocidade de varredura, amplitude ou frequência, que estão diretamente relacionados com a medida voltamétrica, podem ser otimizados, influenciando outras características de resposta, como a linha de base, forma de pico, seletividade e reprodutibilidade (HERNANDEZ *et al.*, 1992a).

Dependendo das propriedades redox das espécies acumuladas, estas podem ser quantificadas pela varredura de potencial nas direções catódica ou anódica. Entre os vários modos voltamétricos, os mais utilizados são varredura linear, pulso diferencial e onda quadrada. A etapa de medida pode ser realizada em uma solução mais favorável que a original, como a transferência de uma amostra mais complexa para uma solução apenas do eletrólito (troca do meio), entre a etapa de pré-concentração e medida. A seletividade é melhorada desde que interferências das espécies eletroativas da solução sejam eliminadas. Tais operações podem ser acompanhadas usando-se sistemas de injeção em fluxo, oferecendo-se vantagens adicionais de rapidez, reprodutibilidade, volumes pequenos da amostra e automação (VILLAR *et al.*, 1992; KALVODA, 1994).

Independentemente do modo voltamétrico empregado, a saturação da superfície do eletrodo resulta em desvio da linearidade na curva de calibração. Isotermas de adsorção linear são obedecidas e a resposta é linear para níveis baixos do analito (10^{-7} a 10^{-10} mol.L⁻¹), para os quais o método é usualmente empregado. Dependendo das condições de operação, são observados desvios da linearidade a altas concentrações. A faixa linear varia entre diferentes substâncias, baseada em sua hidrofobicidade, tamanho ou orientação na superfície (WANG, 1985a). Meios para estender a faixa linear incluem o uso de tempo de pré-concentração curto, velocidade de agitação baixa e amostras diluídas. O uso da curva de calibração permite quantificar sobre toda a faixa de concentração (WANG *et al.*, 1985b). O método de adição de padrão é adequado para quantificar na faixa linear, onde três adições são recomendadas para assegurar que a resposta esteja na porção linear (ZENG *et al.*, 1993).

2.2.2.3. Problemas e soluções

O maior tipo de interferência em medidas adsorptivas de redissolução é a presença de outras espécies de superfície ativa na solução que contém a amostra. Tais espécies competem com os sítios de adsorção, resultando na diminuição da sensibilidade (GRATTERI *et al.*, 1991). A afinidade, com relação à superfície, depende não apenas das espécies envolvidas mas também das condições experimentais.

Conhecidos os efeitos de co-adsorção, torna-se necessário eliminar ou minimizar estes efeitos. Interferências causadas por surfactantes podem ser reduzidas diminuindo-se o tempo de pré-concentração (KALVODA, 1984). Podem ocorrer diferenças quando o equilíbrio de adsorção para o analito e interferentes é atingido após diferentes períodos. Em situações onde há uma diminuição do pico, curvas de calibração e adição de padrão feitas uniformemente podem corrigir esses efeitos observando-se, porém, uma alteração na faixa linear (WANG, 1985a).

Os efeitos dos interferentes neste tipo de voltametria podem levar a sérios problemas, especialmente quando amostras biológicas são de interesse (ZAPARDIEL *et al.*, 1992; WANG *et al.*, 1993). São sugeridas técnicas de separação para isolar o analito de interferentes, como extração com éter etílico, seguido pela evaporação e dissolução (HERNANDEZ *et al.*, 1988b); tratamento pela cromatografia de exclusão molecular (sobre Sephadex) (KALVODA, 1984), ou em coluna de extração Sep-Pak (O'DEA *et al.*, 1991).

Além da competição sobre os sítios da superfície, o interferente pode produzir um pico de redissolução. Desta forma, duas espécies podem ser determinadas simultaneamente, dependendo de seus potenciais de pico e concentrações relativas (VILLAMIL *et al.*, 1993). Se os componentes da mistura apresentam o mesmo potencial de pico adsorativo, a sua altura depende da concentração total; porém, se seus picos não são aditivos, torna-se necessário uma separação (Hu *et al.*, 1992). Espécies eletroativas que não adsorvam na superfície do eletrodo podem interferir, dependendo de seu potencial de pico e de sua concentração. Uma

possível solução para eliminar este tipo de interferência é o procedimento com troca de meio. Após a adsorção sob condições controladas, o eletrodo é transferido para a solução de eletrólito adequado, onde a medida voltamétrica é realizada, resultando na eliminação da corrente da outra espécie. Esta operação requer a lavagem do eletrodo durante a transferência para remover soluções da amostra aderida na superfície. Por causa da instabilidade mecânica do eletrodo de mercúrio de gota pendente (EMGP), muitas aplicações com troca de meio têm envolvido medidas de espécies oxidáveis em eletrodos sólidos (WANG, 1989).

A utilidade dos eletrodos sólidos é geralmente dificultada pela gradual passivação da superfície do eletrodo. Esta diminuição de atividade do eletrodo é muitas vezes atribuída à adsorção de produtos de reação, do próprio analito ou da grande variedade de surfactantes orgânicos eletroinativos. A redução da corrente de pico ou, em casos extremos, a completa inibição de transferência de elétrons pode ser observada. Nestes casos, o método não pode ser utilizado. Contudo, a superfície do eletrodo pode ser tratada antes da etapa de medida para se obter uma superfície reprodutiva e, assim, conseguir correntes de pico reprodutíveis semelhantes às obtidas por EMGP. Geralmente, é requerida uma etapa eletroquímica, seguida de varredura voltamétrica, para remover os adsorbatos remanescentes da superfície (VILLAR *et al.*, 1993).

Uma vantagem da VAR é a possibilidade de se trabalhar com amostras diluídas, com decréscimo de interferências (BERZAS *et al.*, 1993).

2.2.2.4. Determinação de traços de compostos orgânicos

A análise por redissolução convencional refere-se tradicionalmente à determinação de metais traços. Em alguns casos, traços de compostos orgânicos são determinados pela formação de filme pelo método de redissolução catódica, baseado na reação com íons mercúrio formados eletroliticamente. Nos últimos anos, a VAR tem se mostrado adequada a medidas de compostos orgânicos que exibem propriedades de superfície ativa.

Moléculas orgânicas adsorvem sobre superfícies de eletrodos em soluções aquosas, principalmente devido à sua hidrofobicidade. Em geral, a menor solubilidade de compostos orgânicos resulta em maior adsorção. Além deste efeito pronunciado de hidrofobicidade, a estrutura molecular tem outros efeitos importantes, como a presença de sistemas com anéis aromáticos, que conduzem a uma boa adsorção da molécula num eletrodo de mercúrio, permitindo a pré-concentração e posterior medida voltamétrica. Tal comportamento é atribuído aos elétrons livres do orbital *p* (VILLAMIL *et al.*, 1993; LE GALL e VAN DER BERG, 1993).

Compostos orgânicos não eletroativos também podem ser quantificados, usando-se procedimentos que envolvem reações de derivatização apropriada antes do passo de pré-concentração (HU *et al.*, 1992).

A atividade interfacial de numerosos compostos orgânicos de importância farmacêutica, biológica e ambiental tem sido explorada em sua medida adsortiva de redissolução à nível de traços. Estudos

eletroquímicos têm sido realizados em grupos de drogas psicoterapêuticas, as benzodiazepinas, por HENANDEZ *et al.* (1988b), KAVOLDA (1984) e ZAPARDIEL *et al.* (1992), com determinação na faixa de ng/mL. Outra droga terapêutica do grupo tioxanteno, o cloroprotixeno, apresenta forte adsorção em carbono vítreo, sendo detectado em nível de 2ng/mL, pelo procedimento adsortivo de redissolução (TUZHI *et al.*, 1991). Estudos têm demonstrado que drogas do tipo fenotiazina, como cloropromazina, podem ser pré-concentradas em eletrodo de pasta de carbono pela extração e adsorção (WANG *et al.*, 1985b). O cloroprotixeno tem uma estrutura similar à da cloropromazina, contudo não apresenta resposta voltamétrica em EPC. A diferença em procedimentos eletroquímicos sugere que a extração de cloroprotixeno da solução para pasta de carbono é dificultada. A pré-concentração do cloroprotixeno é atribuída à adsorção na superfície do carbono vítreo.

Procedimentos adsortivos de redissolução têm permitido a determinação de compostos de importância ambiental. O uso de herbicidas e inseticidas nas lavouras conduz a uma acumulação em solos e sementes, podendo estar presentes como poluentes em água, frutas e leites. Estudos a baixas concentrações foram realizados com metoprotina e terbutina (PEDRERO *et al.*, 1993), em águas de irrigação; tetrametrina (HERNANDEZ *et al.*, 1993), em solos cultivados; e dinoseb (PEDRERO *et al.*, 1991), em maçãs. Uma substância potencialmente carcinogênica, 4-nitro-bifenil, à qual a população é exposta diariamente, originária de máquinas industriais, veículos a diesel e sistemas de aquecimento, foi determinada por VAR. Os níveis existentes na atmosfera foram de $\mu\text{g/mL}$ ou ng/mL (níveis de ultra-traços). Usando-se ótimas condições de adsorção em EMGP, limites de determinação de

120pg/mL foram obtidos. O método foi aplicado em água de chuva em área com possível fonte de contaminação (HERNANDEZ *et al.*, 1993).

Embora a VAR tenha sido voltada inicialmente para a determinação de compostos de baixo peso molecular, atualmente são realizados estudos com macromoléculas biológicas. Biomacromoléculas quase sempre possuem atividade superficial; assim, elas são muito adequadas a medidas adsorptivas de redissolução. Estudos de macromoléculas biológicas, tais como proteínas e ácidos nucleicos, são de importância fundamental para o entendimento biológico, bem como para o desenvolvimento de metodologia eletroanalítica. Porém, estudos de adsorção de macromoléculas são muitas vezes difíceis de explicar. A principal razão está nas mudanças conformacionais que ocorrem quando a proteína ou ácido nucleico é adsorvido na superfície do eletrodo. A soro albumina bovina (FLORES *et al.*, 1991) foi determinada pelo procedimento voltamétrico adsorptivo de redissolução no modo onda quadrada, que oferece vantagens de rapidez e sensibilidade para monitorar proteínas adsorvidas. FLORES e ALVAREZ (1992) realizaram um estudo voltamétrico comparativo de uma enzima globular, adenosina deaminase, pelo uso de duas técnicas sensíveis: pulso diferencial e onda quadrada, em que o composto foi pré-concentrado em eletrodo de mercúrio de gota estática pela adsorção. A aplicação do modo onda quadrada para a redissolução da enzima adsorvida apresentou-se mais sensível com sinal 50 vezes maior que o obtido em pulso diferencial.

2.2.3. Acumulação sobre eletrodos modificados

A investigação ampla e crescente de eletrodos modificados mostra as novas perspectivas e o sucesso destes eletrodos na solução de problemas analíticos. Além da eletroanálise, que tem se destacado como uma das áreas mais ativas neste campo, os eletrodos quimicamente modificados (EQM) têm sido utilizados para outros fins que não analíticos, incluindo estudos básicos de eletrocatalise, de cinética de transferência de elétrons, de permeação de membranas, de síntese eletroorgânica e fotoeletroquímica (SOUZA, 1997).

A maioria das aplicações analíticas de eletrodos modificados envolve técnicas voltamétricas ou amperométricas, sendo também descritos na literatura alguns casos como eletrodos seletivos. Um poderoso recurso aplicado a detectores em fluxo é a utilização de EQM. Um estudo foi apresentado por BALDWIN e THOMSEN (1991) sobre a utilização destes detectores em análise de injeção em fluxo e em cromatografia líquida de alta eficiência.

A alta sensibilidade, combinada com a seletividade da medida eletroquímica, é a principal razão da utilização dos eletrodos modificados. Isto pode ser obtido por meio da pré-concentração da espécie de interesse ou por eletrocatalise. A utilização de recobrimento com membranas poliméricas que bloqueiam o acesso de espécies interferentes à superfície do eletrodo também leva ao aumento da sensibilidade e da seletividade. Embora a utilização de EQM não seja restrita à pré-concentração, apenas esta aplicação será considerada neste estudo.

Em EQM, o fenômeno de pré-concentração envolve uma interação entre a espécie a ser pré-concentrada e um agente modificador. O processo de acumulação pode ocorrer via complexação, adsorção, troca iônica ou ligação covalente. Este agente modificador apresenta, sob condições específicas, envolvendo ou não a aplicação de potencial, uma particular afinidade pela espécie alvo, o que confere seletividade à medida voltamétrica. A espécie assim pré-concentrada pode ser determinada por uma técnica voltamétrica apropriada.

Informações detalhadas sobre as formas de aplicação eletroanalíticas e os métodos de preparação mais comuns de EQM podem ser encontradas em excelentes artigos disponíveis na literatura (BARD, 1983; MURRAY *et al.*, 1987; REDEPENNING, 1987; MERZ, 1990). Entre os aspectos mais importantes da preparação dos eletrodos modificados encontra-se a escolha do material para o eletrodo de base, cuja superfície sofrerá modificação. Este substrato deve apresentar características eletroquímicas apropriadas e deve ser adequado ao método de imobilização escolhido. Entre os materiais convencionais estão o ouro, a platina, o carbono vítreo, o mercúrio na forma de filme e a pasta de carbono.

Os métodos utilizados para imobilizar um modificador na superfície do eletrodo incluem adsorção irreversível, polimerização eletroquímica, cobertura com polieletrólitos funcionalizados, ataque covalente e incorporação na matriz de pasta de carbono.

Comparados a outros tipos de eletrodos modificados, são de interesse especial aqueles formados com pasta de carbono, devido à sua preparação simples com uma grande variedade de modificadores, sua fácil regeneração, por troca de superfície ou através de limpeza eletroquímica e mesmo química, e sua baixa corrente de fundo observada.

Um método simples de preparação é misturar o modificador com a pasta de carbono, quando se obtém o eletrodo de pasta de carbono modificado (EPCM). O modificador, sendo um componente eletroativo ou não, fornece ao eletrodo uma característica específica para a determinação de certas substâncias, tornando possível a realização simultânea de separação e pré-concentração em matrizes complexas.

O uso da pasta de carbono como um material de eletrodo para sensores eletroquímicos, no período de 1990 a 1993, foi apresentado por Kalcher *et al.* (1995); numerosas publicações demonstram a ampla aplicabilidade de pasta de carbono no campo da análise eletroquímica, tais como voltametria, amperometria e potenciometria, e também como um eletrodo para detecção em sistemas em fluxo.

Os modificadores como trocadores iônicos, adsorventes e ligantes têm sido amplamente empregados para controlar uma pré-concentração preferencial do analito.

Modificações em eletrodos de pasta de carbono têm sido realizadas com C₁₈, uma fase estacionária de cromatografia líquida, na determinação de tifluadon (GONZALES *et al.*, 1990). A base deste

procedimento é a retenção e acumulação do analito sobre o modificador, seguidas pela medida de sua concentração, usando-se a voltametria cíclica. Foram utilizados eletrodos com este mesmo modificador na determinação de bentazepam (HERNANDEZ *et al.*, 1992c), inseticidas organofosforados (HERNANDEZ *et al.*, 1993) e efedrina (CHICHARRO *et al.*, 1994). Na determinação do pesticida benomil, foi utilizada uma fase estacionária de colunas de cromatografia gasosa, OV-17, para a modificação do eletrodo de pasta de carbono (HERNANDEZ *et al.*, 1992b).

HERNANDEZ *et al.* (1990) realizaram modificações em eletrodos de pasta de carbono com sepiolites para determinação de linuron; bentonites e hectorites para determinação de compostos orgânicos (HERNANDEZ *et al.*, 1988a). Uma resina trocadora de cátions com grupo funcional $-\text{CO}_2\text{Na}$, Acell Plus CN, foi utilizada como modificador para a determinação de fenilefrina (PERLADO *et al.*, 1995).

Eletrodos de pasta de carbono também têm recebido grande atenção no campo de biosensores (GORTON, 1995). Estes eletrodos são atrativos para modificação com uma variedade de materiais biológicos, como proteínas, tecidos de plantas e células, principalmente, pelo fato de que podem ser facilmente modificados sem a necessidade de métodos químicos rigorosos.

3. EXPERIMENTAL

3.1. EQUIPAMENTOS

As medidas voltamétricas no modo pulso diferencial foram feitas em um polarógrafo EG & Princeton Applied Research (PAR) modelo 264A acoplado a um registrador X-Y PAR modelo RE 0089. Duas células foram utilizadas, uma na qual a solução foi pré-concentrada e a outra contendo um eletrólito adequado para a medida voltamétrica. Os eletrodos componentes da célula voltamétrica foram os seguintes:

- a. eletrodo de trabalho - eletrodo de pasta de carbono modificado;
- b. eletrodo de referência - eletrodo de Ag/AgCl, KCl saturado da Methrom (mod. 6.0724.140);
- c. eletrodo auxiliar - eletrodo de platina da Radelkis (mod. OH - 0961P).

Os voltamogramas cíclicos foram obtidos em um Potenciostato Ecochemie Autolab PGSTAT 20 interfaciado com microcomputador, sendo utilizado o mesmo conjunto de eletrodos.

Os ajustes de pH foram feitos com um eletrodo de vidro combinado em pH-metro B274 Micronal.

3.2. REAGENTES

As pastas de carbono modificadas foram preparadas a partir das seguintes substâncias:

- grafite em pó, Fluka;
- óleo mineral, Sigma;
- Carbopack B, 60-80 mesh, Supelco.

Outros modificadores utilizados foram: crisolita; sílica, Davisil; C₁₈, fase estacionária de cromatografia líquida preparada com 50% de PMODS (polimetiloctadecilsiloxano) sobre sílica Davisil (tamanho de partículas de 10µm e diâmetro de poros de 6nm) preparada de acordo com Hespanhol (1993); Montmorinolita, Aldrich; Carbowax 20M, Altec; Cromorsob T, 40-60 mesh, ANSPEC, sílica funcionalizada com óxido de titânio preparada de acordo com KUBOTA et al. (1991); Alumina, 10 µm, Phase separation.

A solução tampão Britton-Robinson foi preparada a partir de ácido acético glacial, ácido fosfórico e ácido bórico. As soluções foram

preparadas adicionando-se a quantidade necessária de NaOH ou HCl 10mol.L^{-1} para obter o valor de pH apropriado.

Na preparação da solução de eletrólito suporte foi utilizado cloreto de lítio em solução aquosa $0,1\text{mol.L}^{-1}$ e solução de HCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ em etanol 30%.

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

3.3. PROCEDIMENTO

3.3.1. Preparação do eletrodo de trabalho

As pastas de carbono foram preparadas misturando-se 50% de grafite em pó, 40% de óleo mineral e posteriormente 10% do agente modificador, na quantidade necessária para se obter a proporção em massa desejada. Após homogeneização, preencheu-se com cada pasta a ponta de um tubo de vidro de 12cm de altura e diâmetro interno de 3mm, com a base inclinada. O contato elétrico foi feito através de um fio de platina, inserido na pasta e soldado a um fio de Ni/Cr (Fig. 3). A superfície da pasta foi polida sobre papel sulfite apoiado em uma placa de vidro lisa.

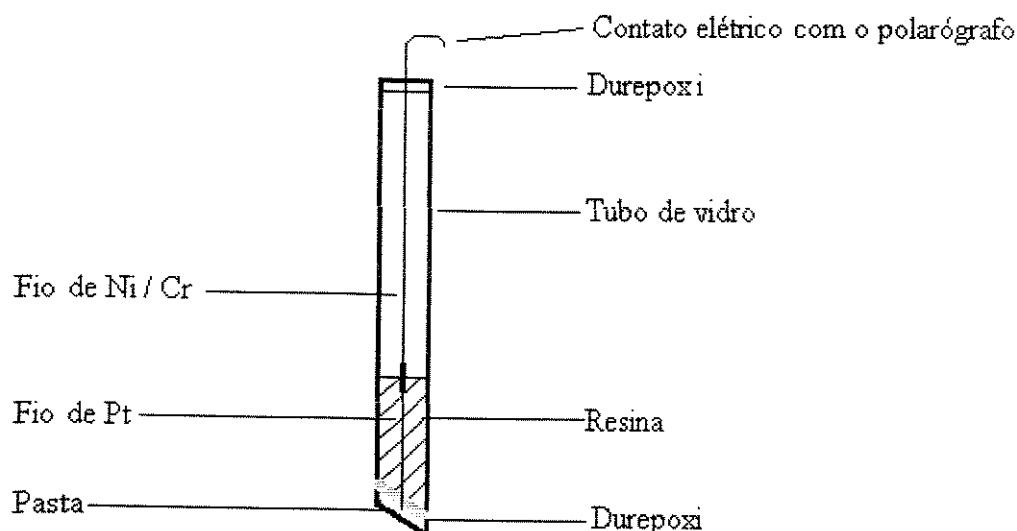


FIGURA 3. Representação esquemática do eletrodo de trabalho.

3.3.2. Preparação da solução padrão.

O padrão de diazepam utilizado foi da Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda, grau de pureza 98,8%.

Foram pesados 0,00300g de diazepam, solubilizados e diluídos a 100mL em etanol. As benzofenonas foram obtidas a partir de alíquotas desta solução submetida à hidrólise ácida (solução de HCl 6,0mol.L⁻¹) por um tempo mínimo de 1 hora, neutralizada com hidróxido de sódio (NaOH 10,0mol.L⁻¹) e o volume completado com tampão Britton-Robinson 0,04mol.L⁻¹ (pH 4,0).

3.3.3. Voltametria cíclica

O eletrodo de pasta de carbono modificado foi submetido à etapa de pré-concentração contendo $6,29\text{mg.L}^{-1}$ de diazepam em tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0) e transferido para a célula de medida com 5mL de solução de LiCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos foram registrados, com velocidade de varredura linear de 1 a 100mV.s^{-1} , na faixa de potencial de 0,5 a 1,3V.

3.3.4. Etapas para otimização das condições de trabalho

Para a realização de medidas efetivas, o eletrodo foi imerso na solução do eletrólito de suporte e submetido a várias varreduras (condicionamento da superfície) e, posteriormente, às etapas de pré-concentração em circuito aberto, medida voltamétrica e renovação da superfície.

- a. Pré-concentração (acumulação): o eletrodo modificado foi imerso em 5,00mL de solução padrão de diazepam ($0,067$ a $2,02\text{mg.L}^{-1}$) diluída em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ com pH entre 1,8 a 11,0 (ajustado com NaOH). A solução foi agitada e o circuito mantido aberto durante um tempo pré-determinado (5 a 30 minutos). Após este tempo, o eletrodo foi seco com papel absorvente, para eliminar qualquer resíduo da solução de acumulação.

- b. Medida eletroquímica: a seguir o eletrodo foi transferido para a célula de medida, contendo 25,0mL de solução de LiCl 0,1mol.L⁻¹ (pH 4,0), renovada a cada medida, iniciando a varredura de potencial no modo pulso diferencial de 0,5V a 1,3V versus Ag/AgCl. Utilizou-se uma velocidade de varredura de 5mV.s⁻¹ e a amplitude de pulso de 25mV. Este procedimento é conhecido como “troca de meio”, ou seja, a pré-concentração é feita em um meio e a medida voltamétrica em outro. Isto permite eliminar interferências e escolher eletrólitos de suporte mais adequados à medida voltamétrica, entre outros procedimentos.
- c. Renovação da superfície: após a determinação voltamétrica, a superfície do eletrodo foi renovada através da troca total da pasta. A quantidade da pasta para renovação da superfície foi de aproximadamente 15,62mg.

3.3.5. Determinação de diazepam em produto comercial

Para cada série de análise foram utilizados dez comprimidos de diazepam adquiridos aleatoriamente em farmácias de Campinas. Os comprimidos de diazepam da Windson Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda foram os únicos adquiridos sem receituário médico.

Os comprimidos, de 5mg cada, foram pesados ($\pm 0,01$ mg) e triturados até a obtenção de um pó fino. Pesou-se a quantidade necessária para preparar uma solução de aproximadamente 10⁻⁴mol.L⁻¹ (28,45mg.L⁻¹), que foi tratada com etanol sob agitação por 20 minutos. A

solução foi filtrada e diluída para 50mL. Alíquotas da solução etanólica foram hidrolisadas e, posteriormente, neutralizadas com NaOH em fenolftaleína e diluídas em solução tampão Britton-Robinson 0,04mol.L⁻¹ (pH 4,0). A concentração de diazepam foi determinada pelo método da adição de padrão usando as mesmas condições experimentais do padrão.

3.3.6. Limpeza do material

Os materiais utilizados nas etapas de pré-concentração e medida voltamétrica foram lavados com HNO₃ 40% e, a seguir, várias vezes com água destilada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. ESCOLHA DO MODIFICADOR

A fim de encontrar as melhores condições para a determinação do hidrolisado de diazepam sobre a superfície do eletrodo, foram realizados estudos preliminares com diversos eletrodos de pasta de carbono modificada. Os modificadores selecionados foram suporte ou fase estacionária de cromatografia (líquida ou gasosa) ou adsorventes, que têm sido usados em separações ou em determinações de compostos orgânicos. Os modificadores foram sílica, alumina, Carbowax 20M, C₁₈, crisolita, montmorilonita. Todos os eletrodos foram preparados com 10% do modificador. Pôde-se observar que os modificadores de maior polaridade (por exemplo, alumina e sílica) apresentaram menor repetibilidade, quando se tentou a regeneração da superfície. Isto pode ter acontecido devido às mudanças nas propriedades das superfícies destes sólidos pois a atividade, algumas vezes, se encontra afetada pela retenção de moléculas de alta polaridade. Em outras técnicas analíticas a superfície da sílica é submetida a determinados processos de

desativação, com o propósito de diminuir a retenção de moléculas muito polares, mantendo assim a superfície uniforme, contribuindo para melhorar a reprodutibilidade das análises (COLLINS *et al*, 1990).

Nestes estudos preliminares utilizou-se solução de pré-concentração HCl 0,1 mol.L⁻¹/etanol 30% (DUGAL *et al*, 1973). A utilização de eletrodo de pasta de carbono para voltametria em soluções ácidas contribuiu para uma baixa reprodutibilidade, devido à penetração do ácido no eletrodo, obtendo-se assim, resultados mais satisfatórios em meios levemente ácidos ou neutros (ELVING e KRIVIS, 1958).

A corrente de pico obtida com eletrodos modificados com sílica, alumina, sílica funcionalizada com TiO₂ e Carbopack foram maiores que as obtidas com eletrodo de pasta de carbono sem modificador. Crisolita e montmorinolita, apesar da grande adsorção, não possibilitaram a obtenção de uma pasta homogênea e uma linha base linear. O EPCM com Carbowax 20M apresentou uma linha base que se alterava a cada varredura. Apenas C₁₈ e Carbopack apresentaram boa resolução para o pico anódico e melhor linha base. As correntes de pico para estes modificadores são mostradas na Figura 4.

O eletrodo modificado com Carbopack foi selecionado para este estudo por possibilitar a obtenção de uma pasta bem homogênea e por ter apresentado boa reprodutibilidade nas determinações. Outro aspecto considerado quanto à escolha do Carbopack foi o fato de que a utilização deste material como modificador em pasta de carbono não se encontrava na literatura.

O Carbopack B é um carvão grafitizado. Este adsorvente é obtido a partir do aquecimento prolongado do material inicial, geralmente, petróleo ou gás natural à temperatura de 2700-3000⁰C em atmosfera inerte, gerando um material cuja superfície é praticamente livre de ligações insaturadas, radicais livres e íons, consistindo-se de átomos na mesma configuração eletrônica sp^2 . É um adsorvente não poroso, caracterizado por uma superfície altamente homogênea (ENGEWALD *et al.*, 1990). Este adsorvente tem se mostrado uma fase estacionária valiosa em colunas empacotadas e capilares. Algumas de suas propriedades tornam este material diferente de outros adsorventes afetando seu comportamento cromatográfico. Possui também propriedades hidrofóbicas, podendo ser utilizado para retenção e pré-concentração de compostos orgânicos contidos no ar e em amostras de água (BRUNER *et al.*, 1990). Ele tem sido utilizado em extração líquido-sólido de pesticidas (DI CORCIA e MARCHETTI, 1991), benzeno e sulfonatos aromáticos (ALTENBACH e GIGER, 1995).

A Figura 4 apresenta uma comparação das correntes obtidas entre os diferentes modificadores, usando-se o procedimento descrito na parte experimental (3.3). Inclui também a resposta obtida com eletrodo de pasta de carbono sem modificador e com Carbopack na quantidade selecionada (40%).

A incorporação de diazepam na superfície do EPCM é ilustrada na Figura 5. A vantagem de se utilizar o estágio de pré-concentração antes da etapa de medida torna-se evidente.

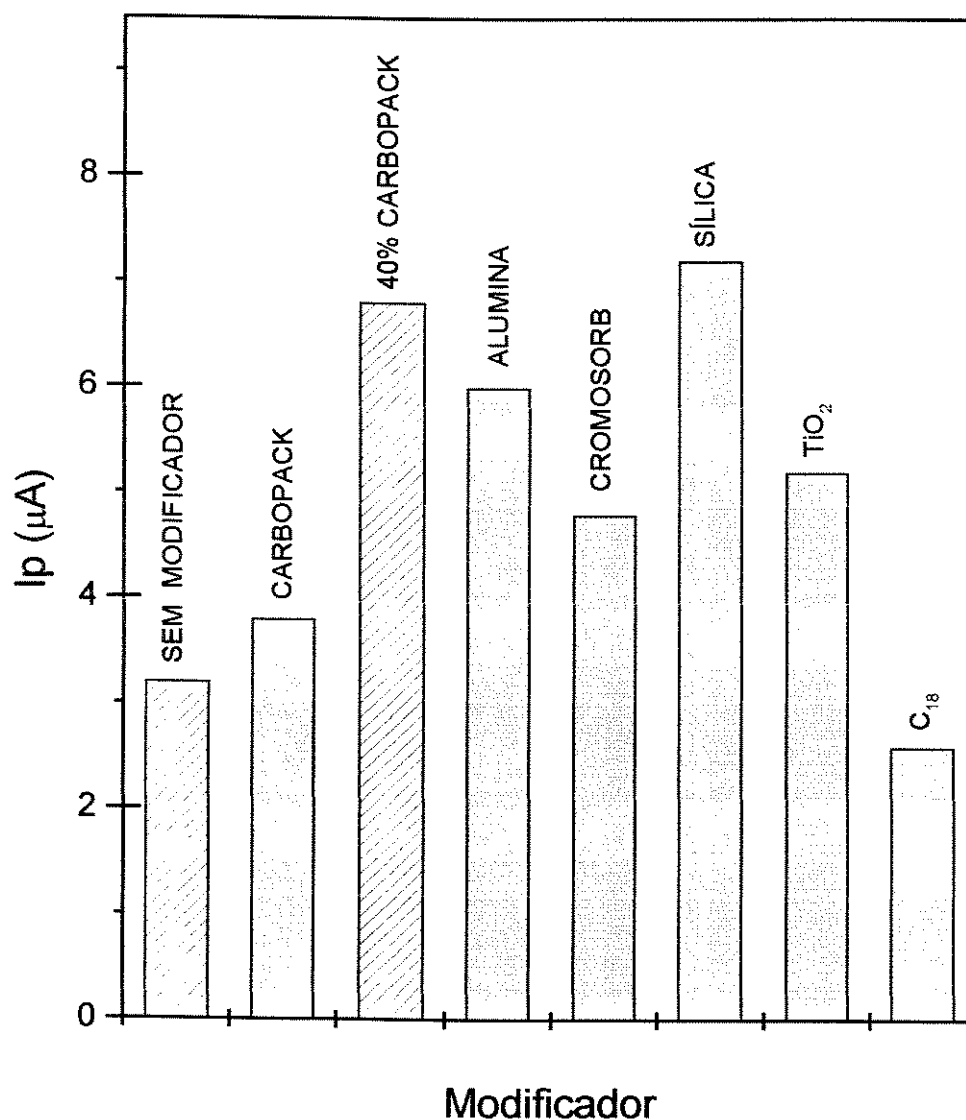


FIGURA 4. Corrente de pico para diferentes eletrodos de pasta de carbono modificados com 10% do modificador.

Modo: voltametria de pulso diferencial; $t_{ac} = 10$ minutos; célula de pré-concentração: $0,67 mg.L^{-1}$ de diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04 mol.L^{-1}$ (pH 4,0); célula de medida: $LiCl$ $0,1 mol.L^{-1}$ (pH 4,0); velocidade de varredura, $5 mV.s^{-1}$; amplitude de pulso = $25 mV$.

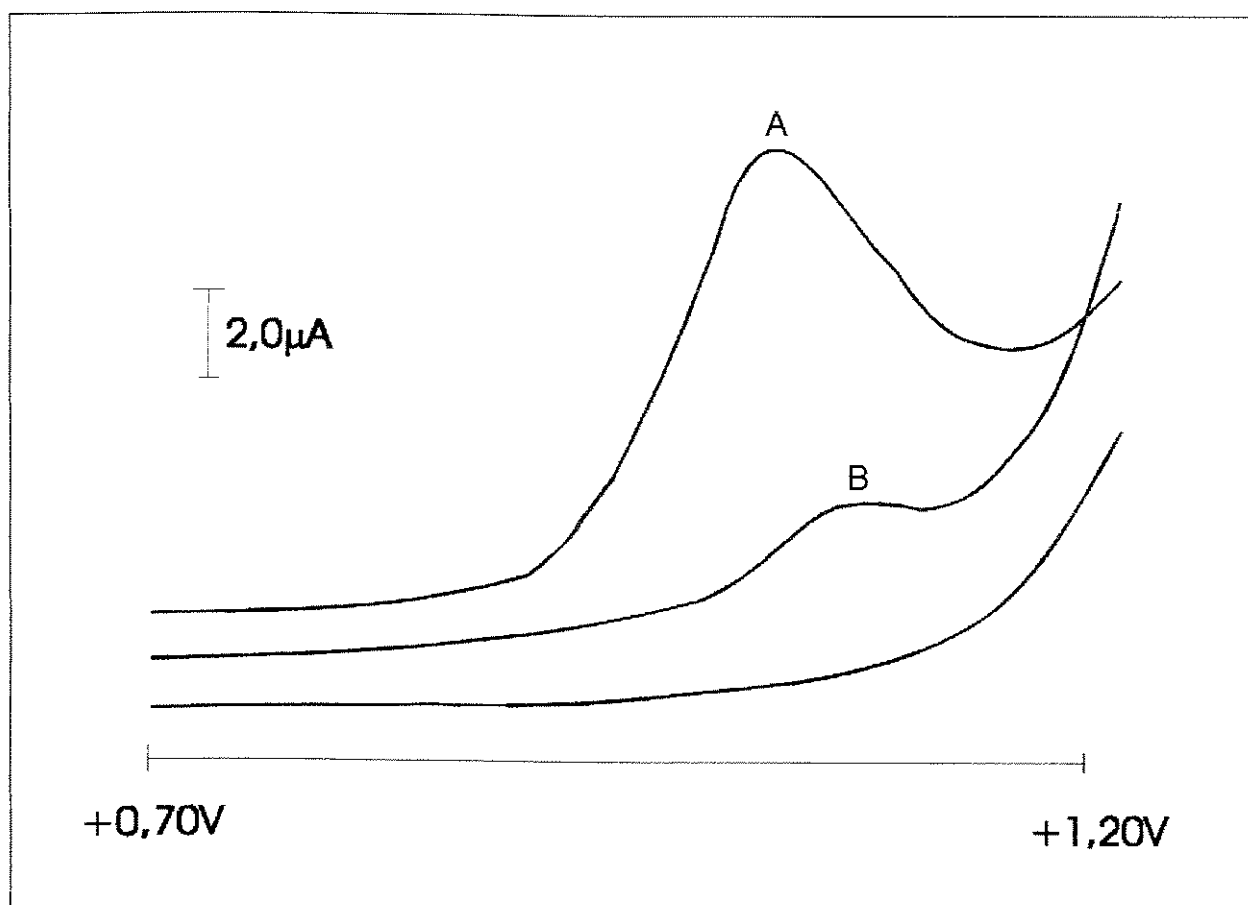


FIGURA 5. Voltamograma de pulso diferencial obtido com EPCM, com 10 minutos de pré-concentração (curva A) e sem pré-concentração (curva B).

Modo: EPC com 40% de Carbopack; célula de pré-concentração: $0,58\text{mg.L}^{-1}$ de diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); célula de medida: LiCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$; velocidade de varredura 5mV.s^{-1} ; amplitude de pulso = 25mV .

4.2. PREPARAÇÃO DO PADRÃO E DA AMOSTRA

O diazepam não apresentou pico de oxidação na faixa de potencial estudada, porém a hidrólise do diazepam permitiu que a benzofenona formada fosse oxidada.

A hidrólise de diazepam ocorre em HCl em temperaturas elevadas. Um dos métodos propostos para se obter a benzofenona (DUGAL *et al.*, 1973) envolve o tratamento de diazepam em solução de HCl $6\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ por uma hora a 100°C em banho-maria. Nesta pesquisa, após a hidrólise ácida, foi necessária a diluição em solvente adequado, porém o ajuste de pH foi dificultado pela solução fortemente ácida. Na maioria dos trabalhos, adota-se o procedimento de evaporação, mas neste caso, além de ser lento, verificou-se perda do material e, portanto, optou-se por um procedimento alternativo. Neste procedimento, o produto da hidrólise foi neutralizado com NaOH (utilizando fenolftaleína como indicador) e diluído em solução tampão adequada, o que resultou num menor gasto de tempo, sem o inconveniente de haver perda de material.

A solução de HCl $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ em etanol 30% também foi utilizada para diluir as amostras de padrão para a etapa de acumulação (DUGAL *et al.* 1973), porém foi observada uma diminuição na corrente, da ordem de três vezes a corrente de pico em relação à solução tampão Britton-Robinson. O uso do solvente orgânico não aumenta apenas a solubilidade do diazepam, mas também reduz a possibilidade de forte adsorção na superfície do eletrodo, sendo esta uma diferença marcante para meios aquosos onde a adsorção é comum (EVANS, 1979). Assim,

verificou-se que a acumulação de diazepam à superfície do eletrodo era dependente da natureza do solvente utilizado.

4.3. CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS PROCESSOS ELETRÓDICOS

A Figura 6 mostra um voltamograma cíclico repetitivo obtido em LiCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0) com eletrodo de pasta de carbono (modificado com 40% de Carbopack), mantido em contato com uma solução contendo $6,26\text{mg.L}^{-1}$ de diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0), durante 10 minutos de pré-concentração. Numa primeira varredura de potencial foi observado um pico anódico com decréscimo na corrente de pico em varreduras sucessivas. Isto é uma indicação de eliminação do produto da superfície ou a formação de substância não eletroativa.

Os voltamogramas da Figura 6 demonstram também a irreversibilidade do processo devido à ausência da onda catódica. A ausência total do pico reverso em um voltamograma cíclico é o aspecto mais marcante de um sistema irreversível.

Entretanto, outros pontos precisam ser considerados para a caracterização de processos eletródicos, pois há situações em que a ausência do pico reverso é devida à velocidade da reação química ou à natureza dos produtos formados, como mencionado acima, em relação aos produtos não eletroativos.

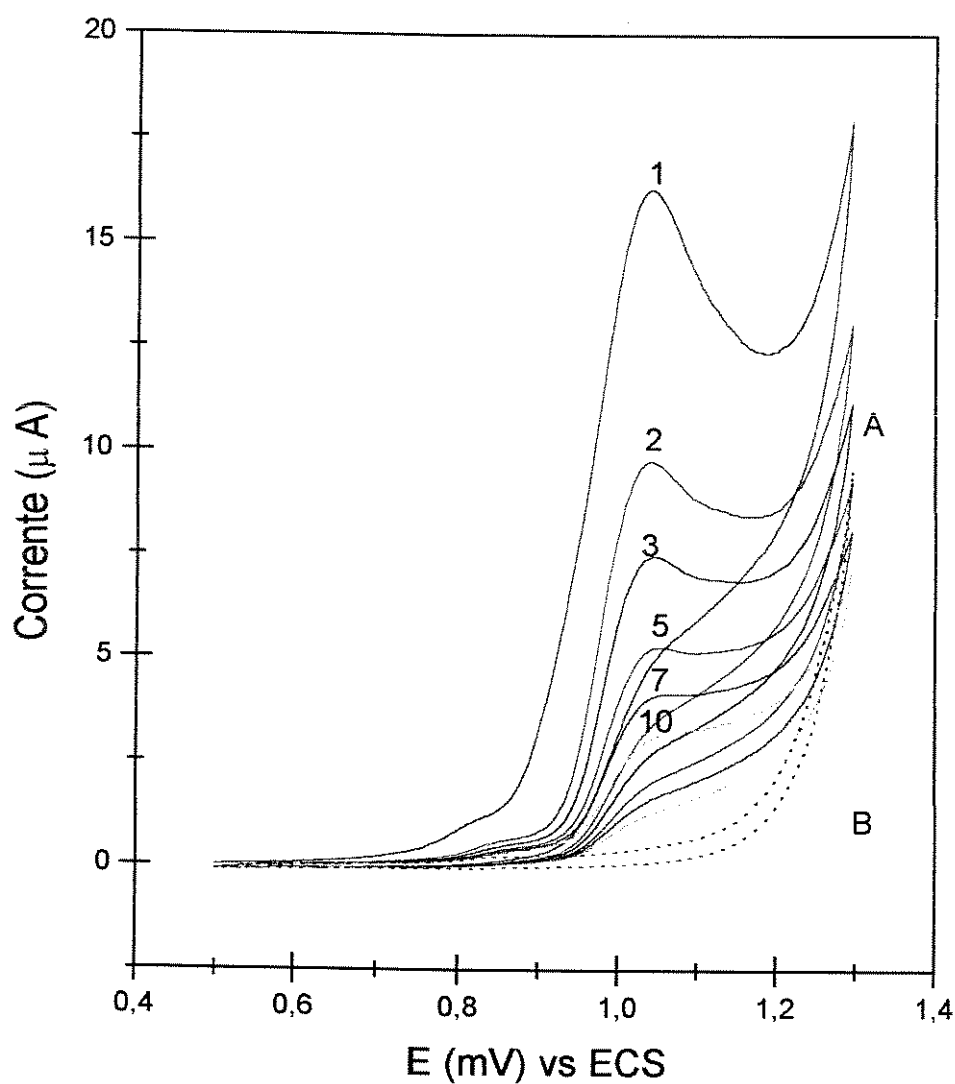


FIGURA 6. Voltamograma cíclico repetitivo.

Modo: EPC com 40% de Carbpac; $t_{ac} = 10$ minutos; célula de pré-concentração: $6,26\text{mg.L}^{-1}$ de diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); célula de medida: LiCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); velocidade de varredura: 50mV.s^{-1} ; A = 10 varreduras sucessivas sobre a mesma superfície do eletrodo, onde o número indica a varredura; B = branco.

Na Figura 7 é apresentado um gráfico referente ao estudo do efeito da velocidade de varredura sobre a corrente de pico na faixa de 1 a 100mV.s^{-1} . Na curva apresentada, a corrente de pico é diretamente proporcional à raiz quadrada da velocidade de varredura, sendo obtida uma reta, o que também é um indicativo de processo irreversível.

Segundo a literatura, os grupos aminos aromáticos são oxidados irreversivelmente em potenciais altos, e outras reações que quebram a molécula podem ocorrer sobre a superfície do eletrodo, como é o caso do diazepam, resultando em uma perda do pico de redução na varredura reversa (VILLAR *et al.*, 1992; ELVING e KRIVIS, 1958; LEE e ADAMS, 1962; ROSS *et al.*, 1975).

No presente caso, um estudo mais detalhado do processo eletródico não é necessário, sendo suficiente a caracterização de um pico bem definido, quer seja catódico ou anódico (dependerá do sistema), para que as medidas de corrente de pico, em função da concentração, possam ser feitas, permitindo a construção de curvas de calibração e/ou de adições de padrão.

A Figura 8 mostra um voltamograma de pulso diferencial obtido em $\text{LiCl } 0,1\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0), quando o eletrodo permanece 10 minutos imerso em uma solução contendo $1,30\text{mg.L}^{-1}$ de diazepam. Um pico bem definido é observado com um máximo de intensidade a um potencial de pico em 1,04V.

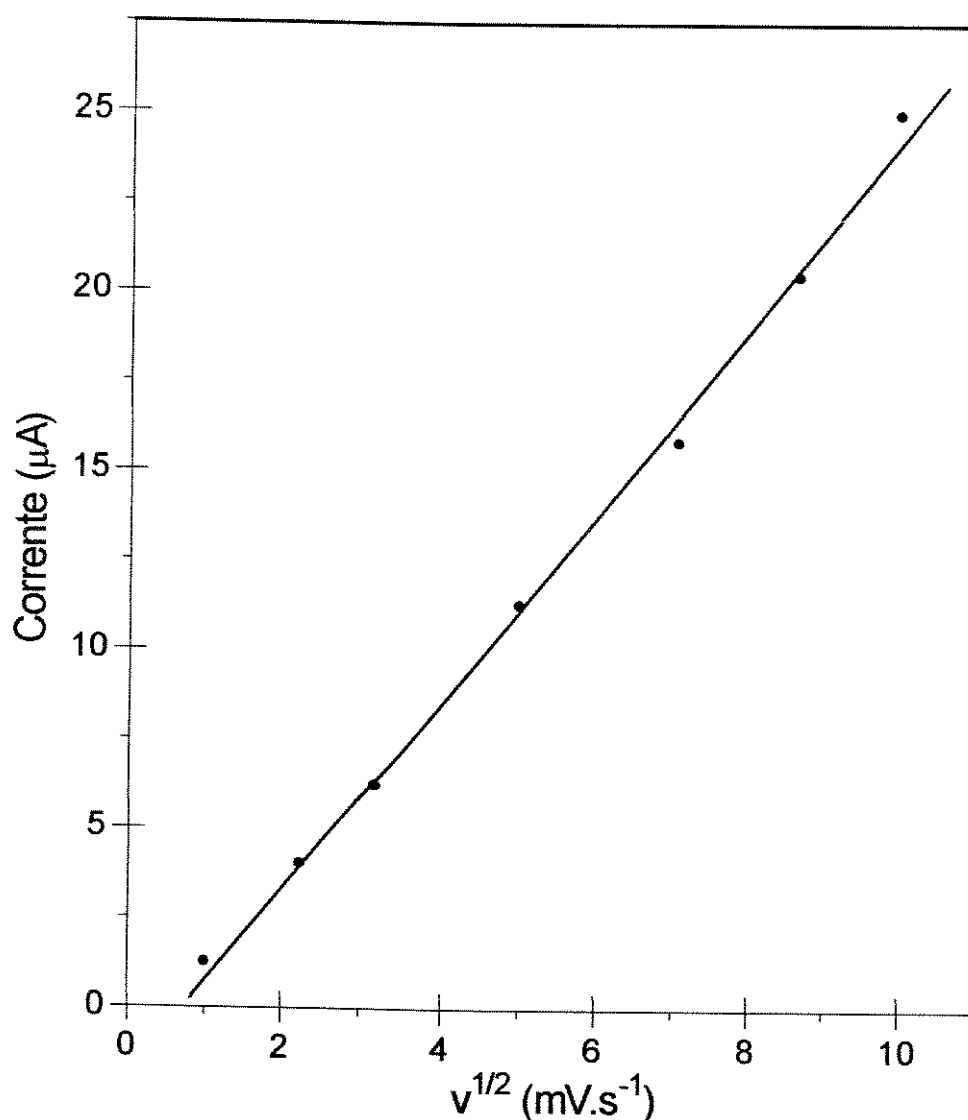


FIGURA 7. Variação da corrente anódica com a velocidade de varredura.

Modo: voltametria cíclica; EPC com 40% de Carbopack; velocidade de varredura de 1 a 100mV.s⁻¹; célula de pré-concentração: 6,26mg.L⁻¹ de diazepam em solução tampão Britton-Robinson 0,04mol.L⁻¹ (pH 4,0); célula de medida: LiCl 0,1mol.L⁻¹ (pH 4,0).

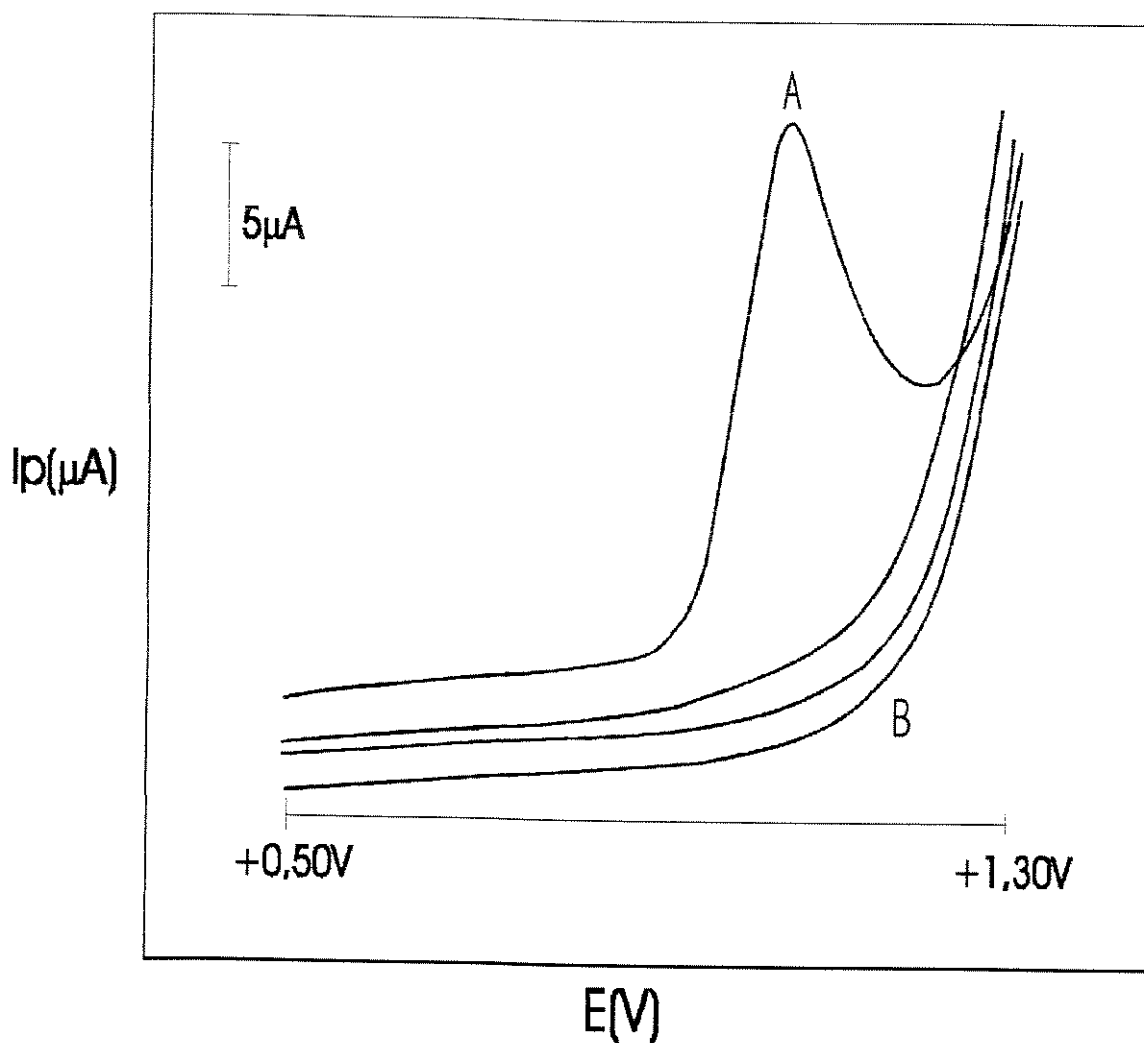


FIGURA 8. Voltamograma de pulso diferencial obtido com EPCM.

Modo: EPC com 40% de Carbopack; $t_{ac} = 10$ minutos; (A) célula de pré-concentração: $1,3\text{mg.L}^{-1}$ de diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); célula de medida: LiCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); velocidade de varredura 5mV.s^{-1} ; amplitude de pulso = 25mV ; (B) branco.

4.4. PARÂMETROS OPERACIONAIS

Alguns parâmetros operacionais foram estudados, tais como geometria do eletrodo, pré-tratamento, amplitude de pulso e velocidade de varredura.

4.4.1. Geometria do eletrodo

Uma fonte de erro que afeta a reprodutibilidade de eletrodos de pasta de carbono é a retenção de bolhas de ar em sua superfície, que ocorre devido à rugosidade da superfície. Isto pode ser eliminado construindo-se um eletrodo com base inclinada (Figura 3). Esta geometria permite que durante a imersão do eletrodo em uma solução, o ar escape pela tangente da superfície inclinada, evitando a formação de bolhas (CHEEK e NELSON, 1978; ALEIXO *et al.*, 1993).

4.4.2. Pré-tratamento do eletrodo

A utilização dos eletrodos sólidos é normalmente dificultada pela gradual passivação da superfície do eletrodo. Esta diminuição de atividade do eletrodo é geralmente atribuída à adsorção de produtos de reação, do próprio analito ou de uma grande variedade de surfactantes orgânicos eletroinativos; conseqüentemente a redução da corrente de pico ou a completa inibição (em casos extremos) de transferência de elétrons pode ser observada. Nestes casos, o método não pode ser

utilizado. Contudo, a superfície do eletrodo pode ser tratada antes da etapa de medida para se obter uma superfície reprodutiva e, assim, picos reprodutíveis (WANG, 1985b).

Após a etapa de quantificação, verificou-se a possibilidade de regeneração da superfície do eletrodo. Neste sentido, após várias varreduras de potencial de 0,5 a 1,3V no modo pulso diferencial ou mantendo-se o potencial constante, não se observou a regeneração da superfície do eletrodo. Soluções de limpeza como etanol 30%-90% e HCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ em etanol 30% foram utilizadas, mas não foram eficientes. A resposta produzida pelo eletrodo não foi reprodutível, então a superfície do eletrodo foi renovada mecanicamente após cada determinação com troca total da pasta, seguida pelo polimento da superfície em folha de papel. Antes de cada pré-concentração, o eletrodo foi colocado na célula de medida e as varreduras foram registradas na mesma faixa de potencial. Assim, depois de três varreduras, a superfície do eletrodo mostrou-se adequada para nova acumulação. A renovação da superfície foi importante para garantir a obtenção de resultados reprodutíveis.

4.4.3. Velocidade de varredura e amplitude de pulso

Foi observado um aumento na intensidade da corrente com um aumento na velocidade de varredura, porém para baixas concentrações do padrão houve diminuição na resolução. Na variação da amplitude de 25mV para 50mV não foram verificadas alterações em corrente de pico. A velocidade de 5mV.s^{-1} e amplitude de 25mV foram encontrados como ótimos valores.

4.5. FATORES QUE AFETARAM AS ETAPAS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO E MEDIDA

No uso analítico do eletrodo de pasta de carbono, por se tratar da técnica voltamétrica adsortiva, duas etapas são requeridas: pré-concentração e medida. Estes procedimentos foram realizados em células separadas, de maneira que foi necessário otimizar as variáveis analíticas e instrumentais de voltametria de pulso diferencial na qual as medidas foram feitas.

4.5.1. Etapa de pré-concentração

4.5.1.1. Efeito do pH

Para estabelecer as condições sob as quais o hidrolisado de diazepam foi adsorvido, foram preparadas soluções de $1,30\text{mg.L}^{-1}$ de diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ em diferentes valores de pH (ajustado com NaOH), usando-se eletrodo de trabalho com 40% de Carbone. Um tempo de acumulação de 10 minutos com agitação constante foi adotado na célula de pré-concentração. As medidas foram feitas por voltametria de pulso diferencial em solução de LiCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0), utilizando-se uma amplitude de pulso de 25mV e uma velocidade de varredura de 5mV.s^{-1} . Os resultados são apresentados na Figura 9. Pôde ser verificado que um alto grau de

adsorção ocorreu a pH 4,0 e a partir deste pH houve um decréscimo em corrente com o aumento do pH. Assim, foram utilizadas nos experimentos soluções de pH 4,0.

4.5.1.2. Efeito do tempo de acumulação

A influência do tempo de acumulação na etapa de pré-concentração para soluções de diazepam de 1,30 e 0,13mg.L⁻¹ é apresentada na Figura 10. Em geral, o período de acumulação depende da concentração do analito e do eletrodo de trabalho. Intervalos de tempos típicos de acumulação para espécies oxidáveis em eletrodos sólidos requer períodos de pré-concentração longos, 1 a 3 minutos para 1x10⁻⁷mol.L⁻¹ e 10 a 15 minutos para 1x10⁻⁹mol.L⁻¹ (WANG, 1985a, WANG *et al.*, 1992). O tempo de acumulação necessário para a corrente atingir as condições de equilíbrio aumenta quando a concentração diminui. Isto confirma que o estágio de pré-concentração é devido à adsorção do analito ao eletrodo. O tempo de acumulação, além de estar relacionado com a sensibilidade do eletrodo, reflete-se na duração da análise. O tempo de acumulação escolhido para as análises foi de 10 minutos. Este foi um tempo que permitiu uma suficiente acumulação para fornecer um bom sinal analítico e não foi demasiadamente longo. O tempo de pré-concentração não afetou o potencial de pico.

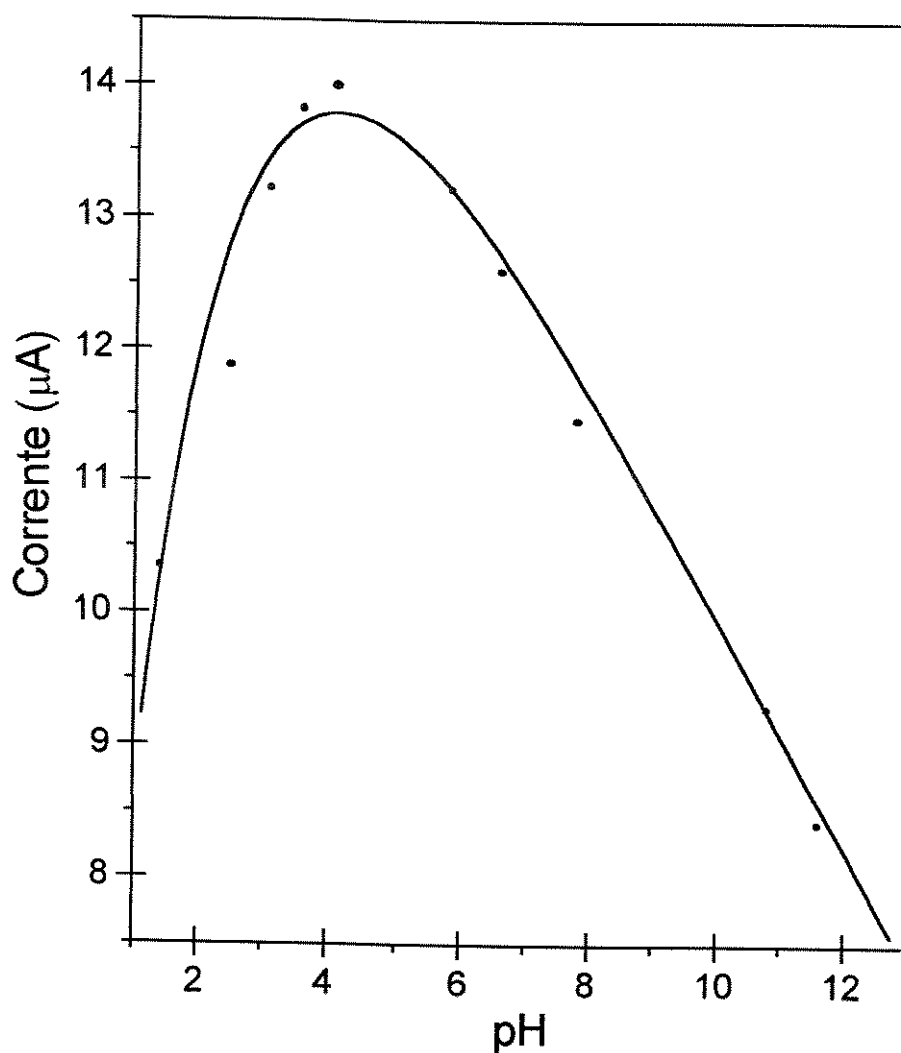


FIGURA 9. Variação da corrente de pico anódica do diazepam com o pH da solução de pré-concentração.

Modo: voltametria de pulso diferencial; EPC com 40% de Carbopack; $t_{ac} = 10$ minutos; célula de pré-concentração: $1,30\text{mg.L}^{-1}$ de diazepam em solução Britton-Robinson, célula de medida: $\text{LiCl } 0,1\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); amplitude de pulso = 25mV ; velocidade de varredura = 5mV.s^{-1} .

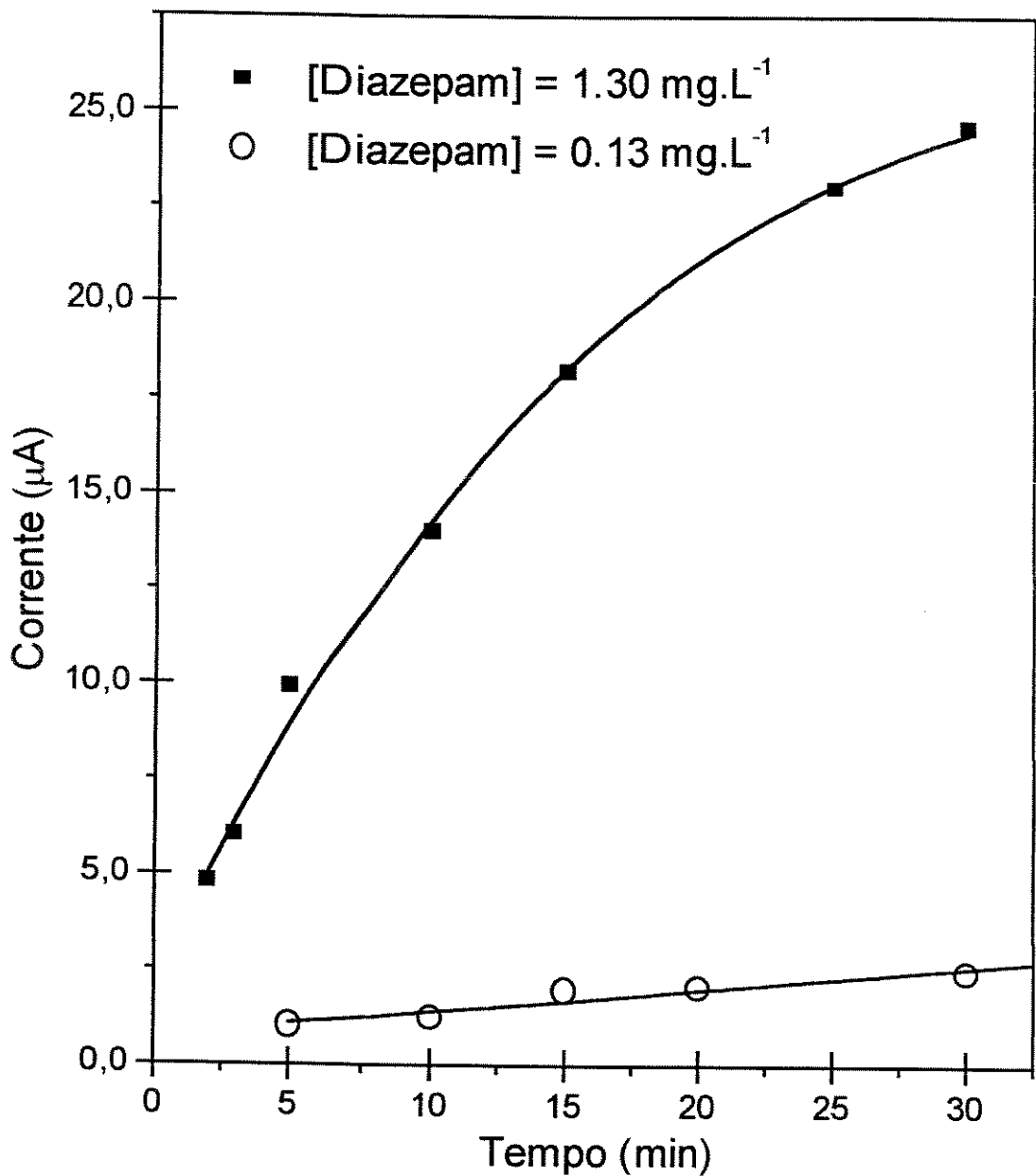


FIGURA 10. Efeito do tempo de pré-concentração sobre a corrente de pico anódica para diazepam.

Modo: voltametria de pulso diferencial; EPC com 40% de Carbopack; célula de pré-concentração: diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); célula de medida: $\text{LiCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); amplitude de pulso = 25 mV ; velocidade de varredura = 5 mV.s^{-1} .

4.5.1.3. Seleção da concentração do agente modificador

Outro parâmetro que afeta a adsorção é a concentração (%m/m) do modificador na pasta. Os resultados obtidos indicaram que porcentagens maiores levam a correntes maiores. Encontrou-se 40% de Carbopack na pasta, como a porcentagem mais apropriada. Acima deste valor, a superfície do eletrodo tornava-se menos reprodutiva, dificultando a obtenção de superfícies lisas.

TABELA 1. Variação da corrente de pico com a concentração de Carbopack na pasta de carbono.

CARBOPACK (%)	CORRENTE (μA) ¹
10	7,54 $\pm$ 0,38
20	8,18 $\pm$ 0,29
30	9,24 $\pm$ 0,32
40	14,01 $\pm$ 0,18

¹Média $\pm$ estimativa do desvio padrão para três determinações.

Modo: voltametria de pulso diferencial; t_{ac} = 10 minutos; célula de pré-concentração: 1,30mg.L⁻¹ de diazepam em solução tampão Britton-Robinson 0,04mol.L⁻¹ (pH 4,0); célula de medida: LiCl 0,1mol.L⁻¹ (pH 4,0); amplitude de pulso = 25mV; velocidade de varredura = 5mV.s⁻¹.

4.5.2. Etapa de medida

Foi adotado o procedimento de acumulação fora da célula de medida, ou seja, com troca de meio, para evitar a deposição eletrolítica ou outra reação eletródica de algum possível interferente durante a varredura de potencial.

Tendo estabelecido as condições que afetaram a etapa de pré-concentração, foram estudadas as variáveis que atuam na célula de medida, mantendo-se a célula de pré-concentração com $1,30\text{mg.L}^{-1}$ de diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{ mol.L}^{-1}$ (pH 4,0), com agitação constante durante 10 minutos e usando-se um eletrodo com 40% de Carbopack.

4.5.2.1. Efeito do pH

Foi estudada a influência do pH na célula de medida com LiCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ (ajustado com HCl ou LiCl), variando o pH de 1,9 a 8,9. Como se pode observar na Figura 11, a corrente de pico é dependente do pH, apresentando um valor máximo de corrente em pH 4,0 e diminuindo para valores maiores. O aumento de pH resultou em alterações na forma da onda de oxidação, com um alargamento do pico, verificando-se também um pequeno deslocamento do potencial de pico para potenciais menos positivos, indicando que íons hidrogênio estavam envolvidos na oxidação (ARENAZA *et al.*, 1995). Este deslocamento de potencial levou a uma diminuição na resolução.

A pequena variação de potencial com o pH, apresentada na Figura 12, mostra uma mudança de inclinação em torno de pH 4,0. Entre pH 1,9 e 4,0 uma inclinação de 40,5mV por unidade de pH, e entre pH 5,0 e 8,0 de 56,2mV.

Segundo a literatura, a presença de mais de uma reta pode implicar em diferentes espécies de prótons envolvidos no processo de oxidação. Contudo, estudos espectrofotométricos têm mostrado a existência para as aminoclorobenzofenonas de uma única espécie protonada sobre a faixa de pH estudada (GARCIA *et al.*, 1993). Valores de pK_a para as amino-clorobenzofenonas são escassos. A partir destes fatos, pode-se concluir que são observadas diferentes reações de eletrodos devido à oxidação complexa das quais participam aminas aromáticas, originando uma variedade de produtos em razão das condições do meio (aquoso, não aquoso, ácido ou básico).

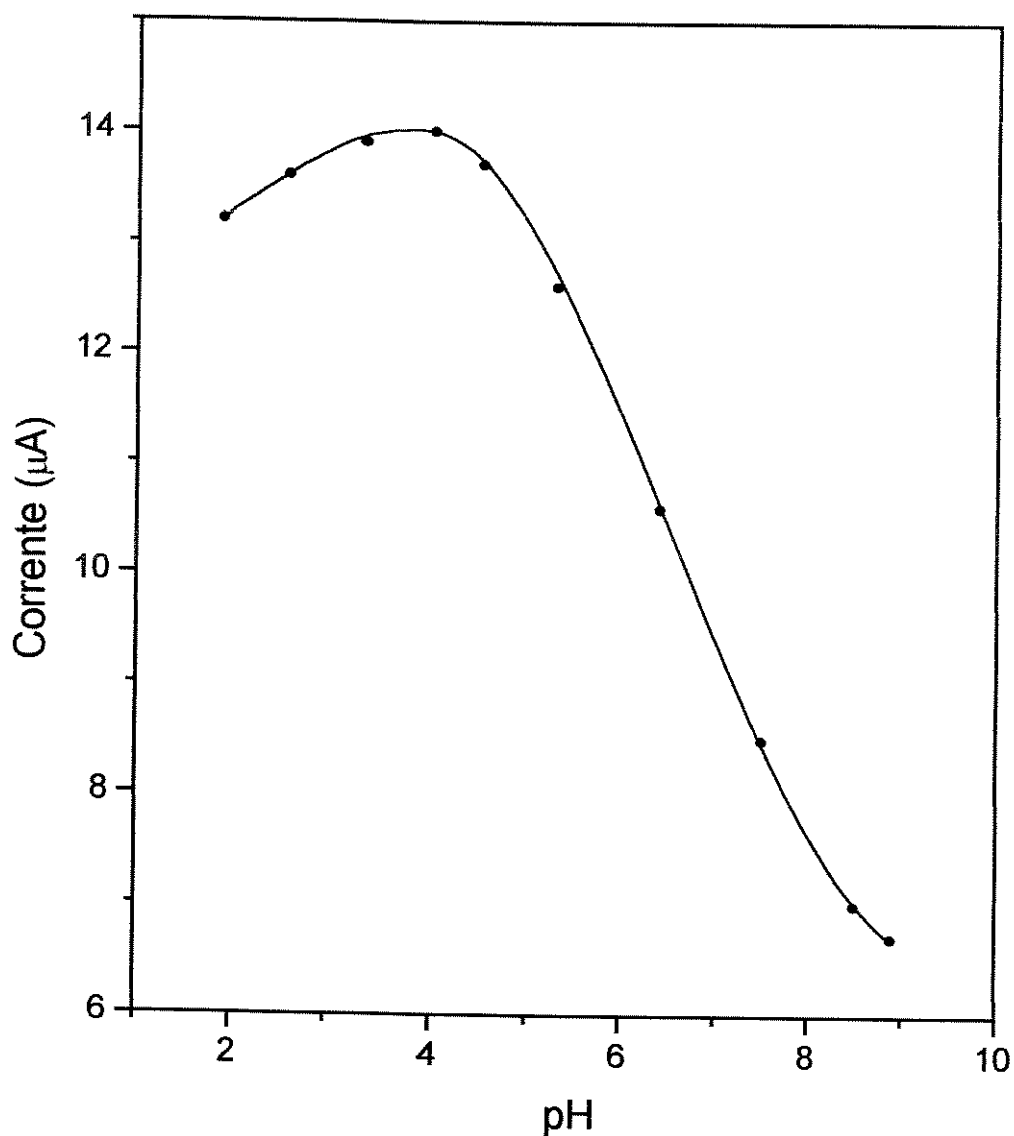


FIGURA 11. Variação de corrente de pico anódica do diazepam com o pH da solução de medida.

Modo: voltametria de pulso diferencial; EPC com 40% de Carbopack; $t_{ac} = 10$ minutos; célula de pré-concentração: $1,3\text{mg.L}^{-1}$ de diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); amplitude de pulso = 25mV ; velocidade de varredura = $5\text{mv}\cdot\text{s}^{-1}$.

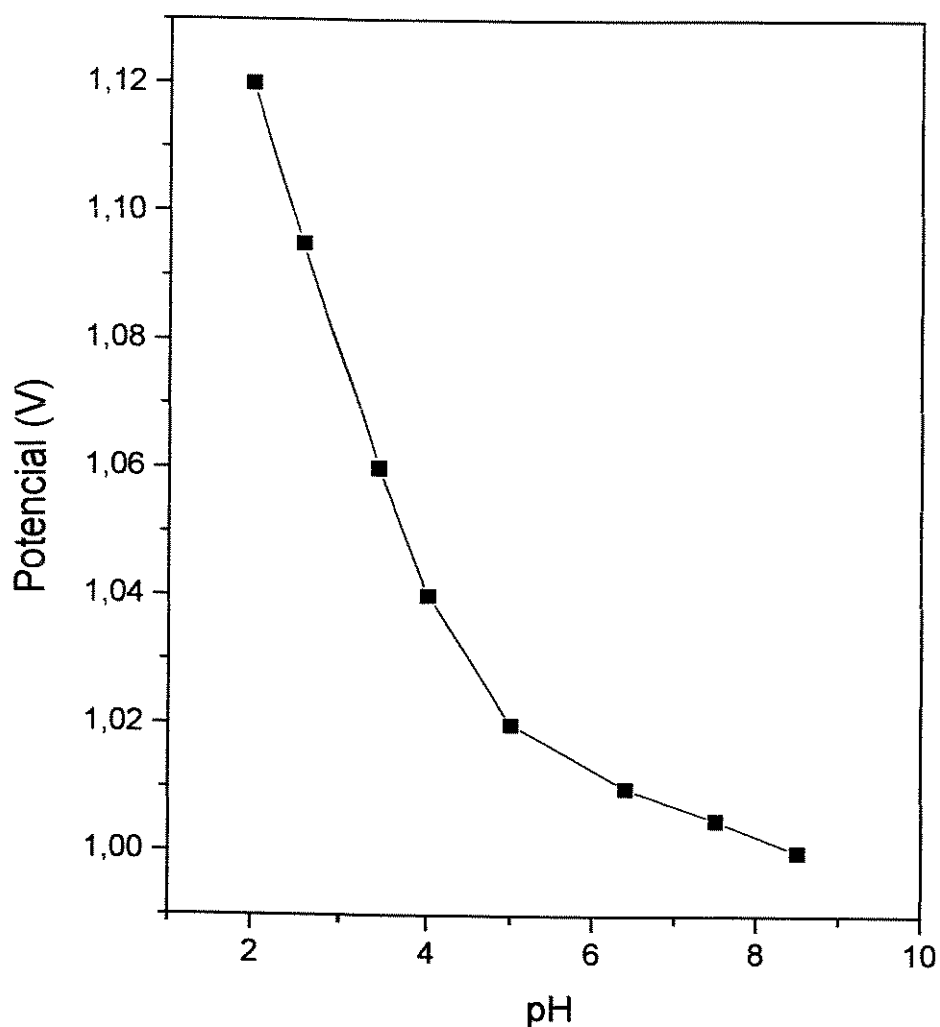


FIGURA 12. Variação do potencial de pico do diazepam com o pH da solução de medida.

Modo: voltametria de pulso diferencial; EPC com 40% de Carbopack; $t_{ac} = 10$ minutos; célula de pré-concentração: $1,3\text{mg.L}^{-1}$ de diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); amplitude de pulso = 25mV ; velocidade de varredura = 5mV.s^{-1} .

4.5.2.2. Efeito do eletrólito de suporte

O eletrólito de suporte utilizado foi LiCl 0,1mol.L⁻¹, apresentando-se adequado para a determinação voltamétrica de diazepam, com faixa de potencial suficientemente positivo para permitir que a onda anódica da droga fosse observada claramente. Esta solução apresentou-se eletroinativa na faixa de potencial estudada, o que pode ser comprovado pelos voltamogramas das Figuras 6B e 8B.

4.5.3. Construção de curva de calibração

Sob as condições mencionadas, foram estudadas variações em concentração de 0,067 a 2,02mg.L⁻¹ de diazepam. A Figura 13 mostra alguns dos voltamogramas obtidos para diferentes concentrações de diazepam dentro desta faixa estudada. A evolução da corrente de pico, em função da concentração de diazepam, é ilustrada na Figura 14.

A equação de regressão linear obtida para os primeiros seis pontos da curva (0,067 a 1,30mg.L⁻¹) foi:

$$i_p = 0,11 + 10,93C$$

onde

i_p = corrente de pico (μA)

C = concentração de diazepam (mg.L⁻¹)

com o coeficiente de correlação $r = 0,9998$.

O desvio de linearidade observado para concentrações acima de $1,30\text{mg.L}^{-1}$ é provocado pela saturação da superfície do eletrodo, que é um fenômeno usual, em se tratando de pré-concentração em eletrodos modificados. Para concentrações entre $1,30$ e $2,02\text{ mg.L}^{-1}$ há um comportamento não linear. O método de adição de padrão é adequado para quantificar apenas na faixa linear, sendo recomendadas três adições para assegurar que a resposta esteja na porção linear (WANG, 1985a).

As medidas feitas sob condições pré-determinadas, num total de 10 determinações em dias diferentes, apresentaram um desvio padrão relativo de 5,19% para $1,30\text{mg.L}^{-1}$ de diazepam

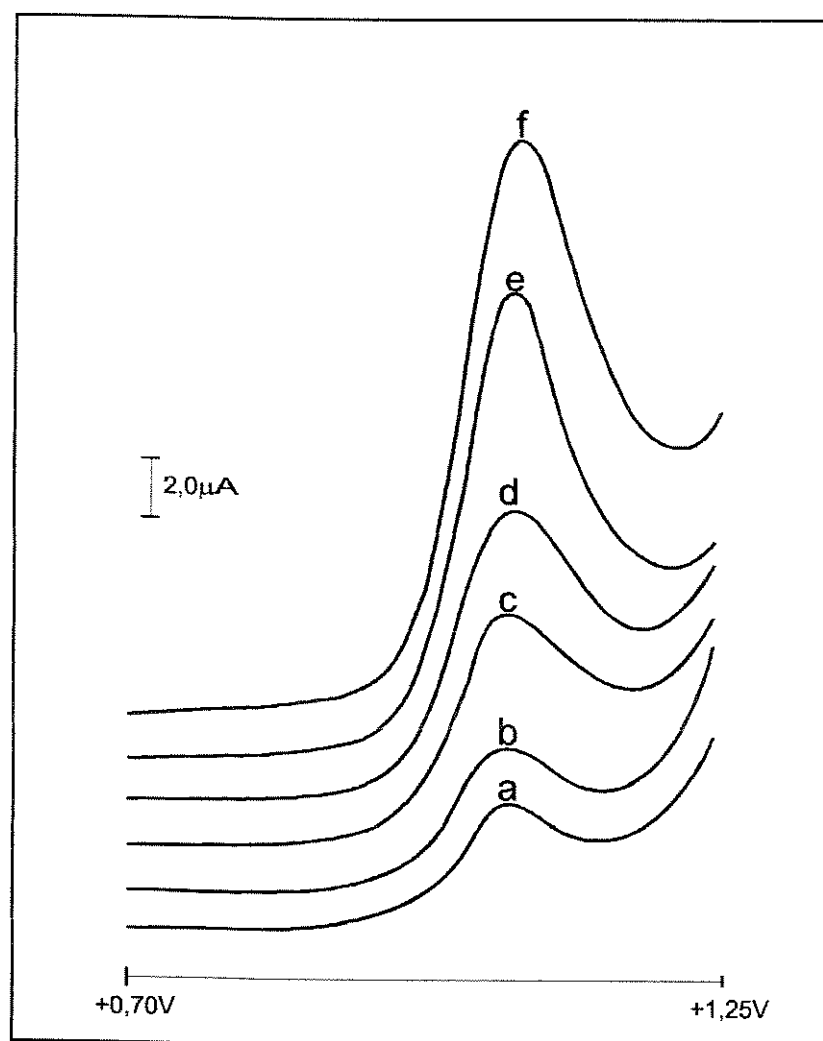


FIGURA 13. Voltamogramas de pulso diferencial em solução de LiCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0) em diferentes concentrações de diazepam, (a) 0,23; (b) 0,30; (c) 0,49; (d) 0,58; (e) 1,29; (f) $2,01\text{mg.L}^{-1}$.

Modo: voltametria de pulso diferencial; EPC com 40% de Carbopack; tac = 10 minutos; célula de pré-concentração: diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); célula de medida: LiCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); amplitude de pulso = 25mV ; velocidade de varredura = 5mV.s^{-1} .

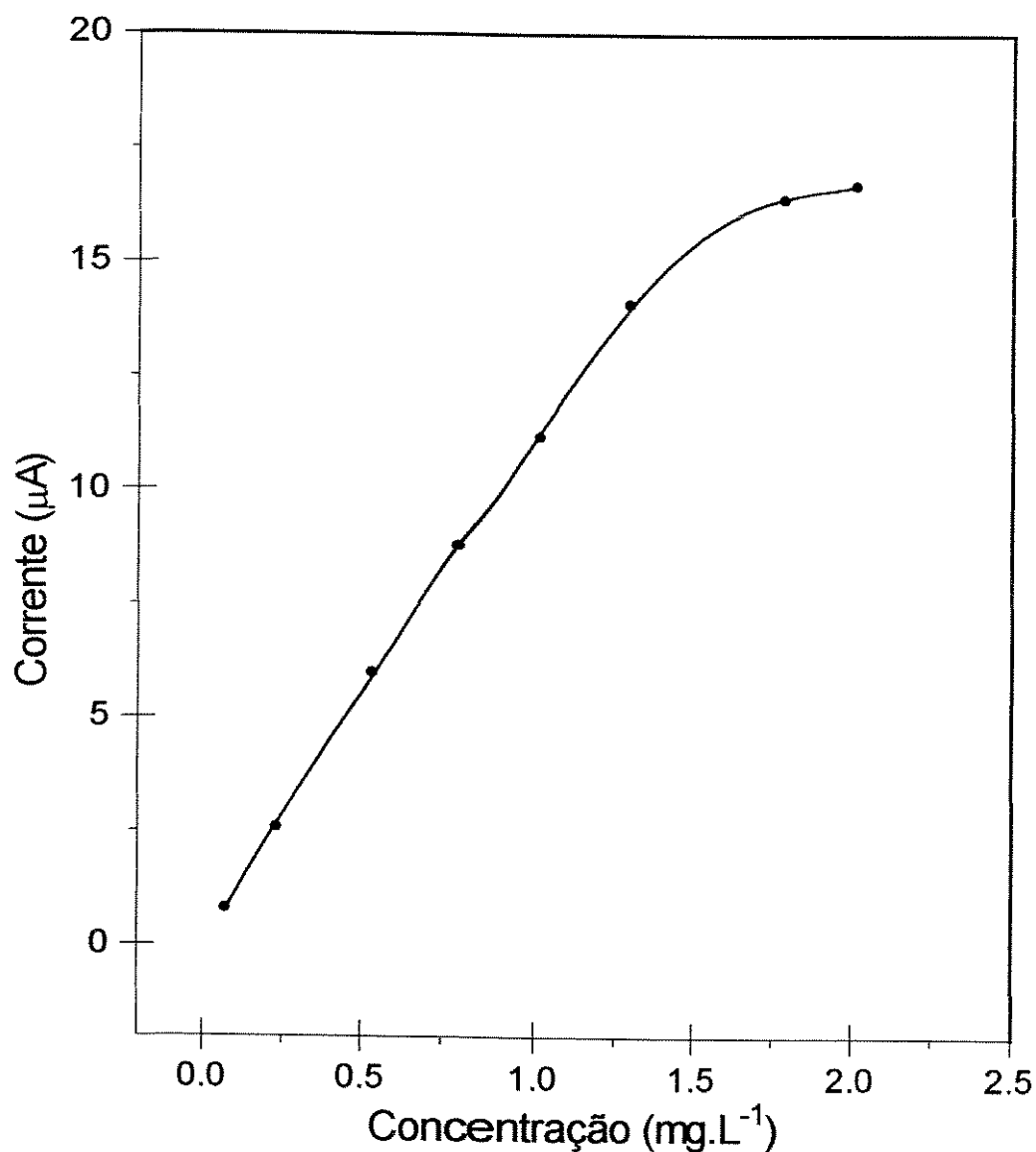


FIGURA 14. Efeito da concentração do diazepam sobre a corrente de pico.

Modo: voltametria de pulso diferencial; EPC com 40% de Carbone; tac = 10 minutos; célula de pré-concentração: diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); célula de medida: $\text{LiCl } 0,1\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); amplitude de pulso = 25mV ; velocidade de varredura = 5mV.s^{-1} .

4.6. UTILIZAÇÃO DO EPCM DESENVOLVIDO EM AMOSTRAS REAIS

Uma vez desenvolvido o eletrodo de pasta de carbono modificado para o diazepam, procurou-se aplicá-lo em determinações analíticas de amostras reais. Optou-se, então, por realizar esta aplicação na determinação de diazepam em remédios na forma de comprimidos.

A determinação de diazepam em comprimidos foi conduzida pelo método de adição de padrão, de acordo com os procedimentos apresentados no item 3.3.5. A Figura 15 ilustra os voltamogramas obtidos nesta aplicação. A Figura 16 mostra uma curva de adição de padrão obtida para a análise de diazepam em comprimidos.

A adição de padrão para cada ponto não correspondeu às adições sucessivas, sendo realizada uma pré-concentração para cada adição, com posterior medida. Estes resultados foram comparados à adição de diazepam na amostra, antes da hidrólise, e com a adição do diazepam hidrolisado à amostra também hidrolisada, não sendo constatada diferença.

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos na determinação de diazepam, utilizando-se três alíquotas de diferentes concentrações da amostra original, que se encontram na região linear da curva de calibração. Os resultados indicaram a presença de $5,21 \pm 0,33$ mg por comprimido, e um erro relativo de 4,21% em relação ao valor nominal de 5mg.

Para verificar a exatidão do método proposto, foi feito o teste de recuperação. Com este pode ser verificada a aplicabilidade de um método a uma determinada matriz sem a necessidade de comparação com outro método. Essa comparação nem sempre é conveniente por uma série de fatores; dentre eles, o mais importante talvez seja a própria natureza da matriz. Cada método de análise exige um tratamento específico da amostra que, algumas vezes, pode modificar as suas características iniciais. Assim, o que é interferente para uma determinada situação pode não ser em outra e vice-versa. Além disso, os parâmetros de medida são diferentes para métodos diferentes, levando a erros também diferentes, e a concentração do composto de interesse na amostra pode estar fora da faixa de trabalho do método de comparação. Isto levaria a maior manipulação da mesma através de uma etapa de concentração ou diluição, conforme o caso. Há ainda a dificuldade de disponibilidade dos equipamentos e reagentes necessários para se usar outro método. O teste de recuperação evita estes problemas, uma vez que é feito exatamente nas mesmas condições e nos mesmos equipamentos usados para a análise pelo método em estudo.

Após determinar a concentração de diazepam na solução amostra, foi adicionada a esta uma quantidade conhecida de diazepam, analisando-se a sua recuperação. A Tabela 3 apresenta os resultados da aplicação deste método em uma formulação farmacêutica, incluindo a aplicação do teste de recuperação pelo método de adição de padrão.

O método apresentou uma recuperação média de $102,9 \pm 5,6$.

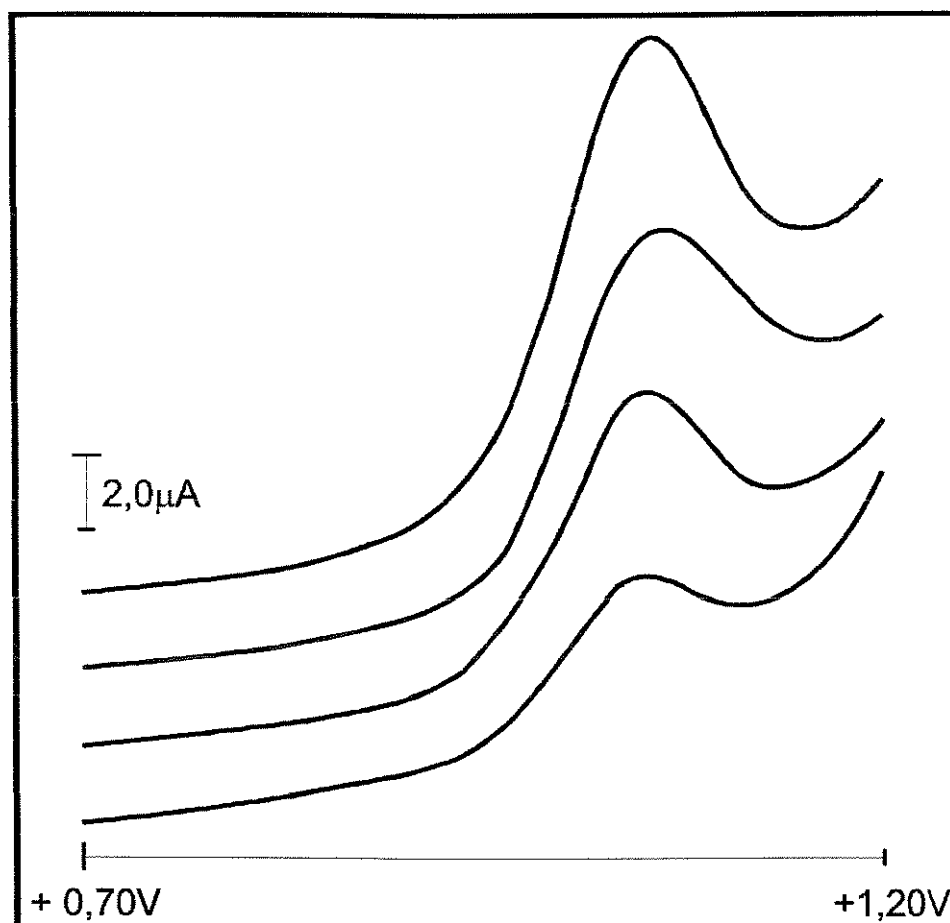


FIGURA 15. Voltamogramas de pulso diferencial para determinação de diazepam em comprimidos pelo método de adição de padrão.

Modo: voltametria de pulso diferencial; EPC com 40% de Carbpac; $t_{ac} = 10$ minutos; célula de pré-concentração: amostra e padrão de diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); célula de medida: LiCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); amplitude de pulso = 25mV; velocidade de varredura = 5mV.s^{-1} .

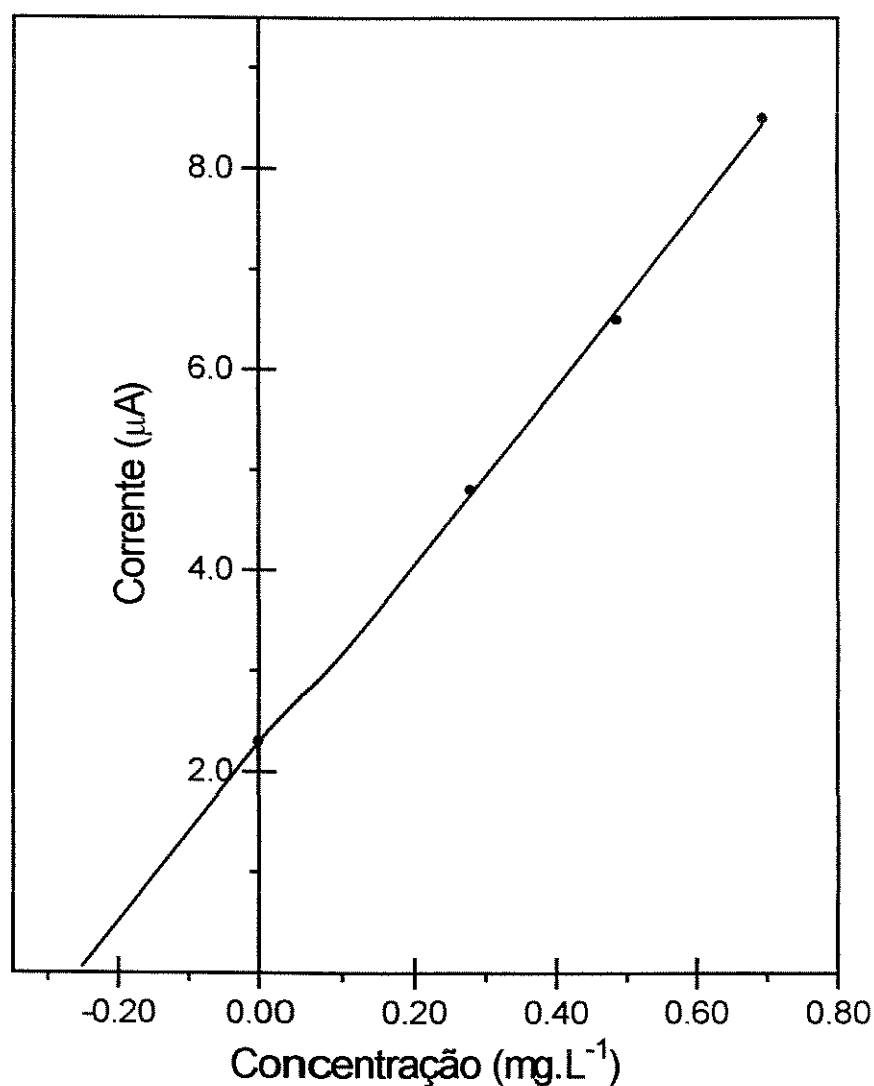


FIGURA 16. Curva de adição de padrão para determinação do diazepam em comprimidos.

Modo: voltametria de pulso diferencial; EPC com 40% Carbopack; $t_{ac} = 10$ minutos; célula de pré-concentração: amostra e padrão de diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); célula de medida: LiCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); amplitude de pulso = 25mV; velocidade de varredura = 5mV.s^{-1} .

TABELA 2. Resultados obtidos para diazepam em comprimidos (valor nominal 5,00mg) pelo método de adição de padrão.

AMOSTRAS	VALOR ENCONTRADO ¹ (mg)	MÉDIA ± EDP (mg)	ERRO PERCENTUAL ²
1	5,52 ± 0,25	5,21 ± 0,33	4,21%
2	5,11 ± 0,08		
3	5,02 ± 0,20		

¹Média ± EDP (estimativa do desvio padrão) para três determinações.

²Em relação ao valor nominal.

TABELA 3. Teste de recuperação, pelo método de adição de padrão nas determinações de diazepam em comprimidos.

AMOSTRAS	DIAZEPAM NA AMOSTRA ORIGINAL ¹ (mg·L ⁻¹)	PADRÃO ADICIONADO (mg·L ⁻¹)	VALOR ENCONTRADO ¹ (mg·L ⁻¹)	RECUPERAÇÃO (%) ²
1	0,131 ± 0,006	0,137	0,277 ± 0,009	106,6 ± 7,9
2	0,250 ± 0,004	0,231	0,478 ± 0,020	98,7 ± 8,7
3	0,350 ± 0,015	0,210	0,567 ± 0,020	103,2 ± 11,9
		MÉDIA ± EDP		102,9 ± 5,6

¹Média ± EDP (estimativa do desvio padrão) para três determinações.

²Desvio padrão calculado pela propagação do mesmo.

A possibilidade de aplicação do método na determinação de diazepam em urina também foi investigada, sendo realizadas medidas com e sem a separação prévia de diazepam de sua matriz.

Constatou-se que a composição complexa da urina é um fator limitante para a aplicação imediata do método desenvolvido, sendo esta a razão pela qual não foi possível a obtenção de resultados definitivos, no estudo desta matriz.

As amostras de urina, após a hidrólise ácida, foram submetidas a um processo de extração com éter-etílico em meio alcalino, evaporado o solvente e o volume completado com tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 4,0.

A Figura 17 ilustra os voltamogramas obtidos nesta aplicação. Na Figura 17-IA pode-se verificar a presença de pico de oxidação de outras substâncias presentes na urina, além do pico devido ao diazepam. Em alguns casos, como na Figura 17-IB, observou-se um aumento da corrente residual com a completa inibição do pico de diazepam, indicando a existência de processo de adsorção de componentes da urina, os quais competem com a droga sobre a superfície do eletrodo, inibindo sua adsorção. Resultados semelhantes foram verificados quando a amostra não foi submetida à extração (Figura 17-II), sendo também obtidos resultados onde se verificou a completa inibição do pico de oxidação do diazepam.

Entre os principais constituintes da urina que podem atuar como interferentes na faixa de potencial estudada temos o ácido úrico (CAI

et al., 1994), o ácido ascórbico (WANG e NASER, 1992), e as proteínas como albumina e creatinina (DOWNARD e RODDICK, 1994).

Vários trabalhos envolvendo a aplicação em amostras biológicas têm sido realizados, utilizando extração em fase-sólida ou otimização de metodologias de extração com solventes. Futuramente, estes podem ser caminhos alternativos na solução dos problemas, assim como a utilização de novos modificadores que apresentem maior seletividade e estudo de possíveis mascarantes dos interferentes.

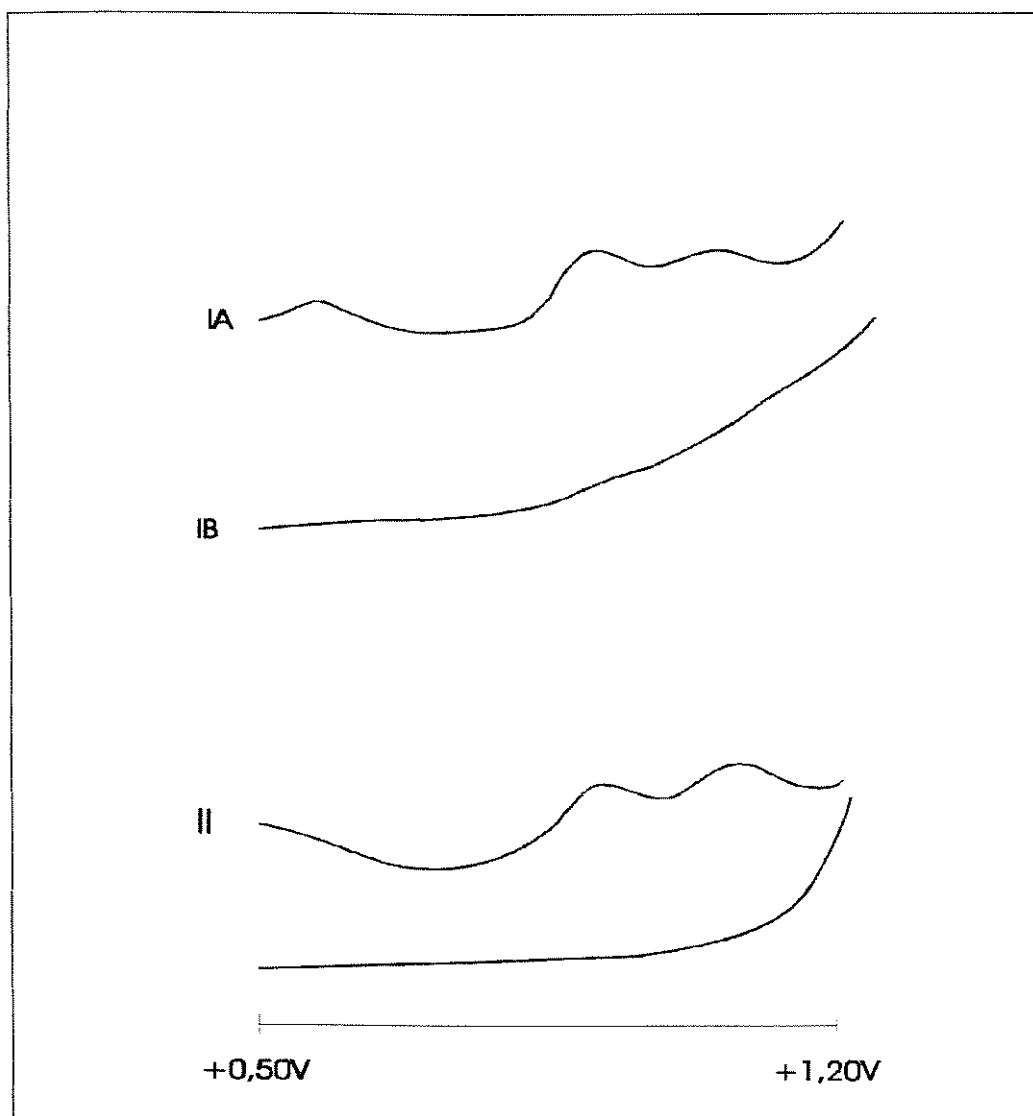


FIGURA 17. Voltamogramas de pulso diferencial para determinação de diazepam em urina; (IA) e (IB) amostra submetida à extração; (II) sem extração.

Modo: voltametria de pulso diferencial; EPC com 40% de Carbopack; $t_{ac} = 10$ minutos; célula de pré-concentração: amostra e padrão de diazepam em solução tampão Britton-Robinson $0,04\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); célula de medida: LiCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ (pH 4,0); amplitude de pulso = 25mV ; velocidade de varredura = 5mV.s^{-1} .

5. CONCLUSÃO

Um eletrodo de pasta de carbono modificado foi desenvolvido para a determinação voltamétrica de diazepam. Bons resultados foram alcançados, conforme os estudos experimentais sobre as suas características o demonstraram.

Neste estudo foi utilizado um método de determinação indireto para diazepam, uma vez que o mesmo não apresentou pico de oxidação na faixa de potencial estudada. A benzofenona, obtida após a hidrólise ácida de diazepam, apresentou pico de oxidação nas condições determinadas, sendo pré-concentrada na superfície do eletrodo, via adsorção, sem aplicação de potencial.

O eletrodo desenvolvido possibilita a determinação de diazepam, utilizando-se eletrodo de pasta de carbono modificado com Carbpac, pela técnica da Voltametria Adsorção, no modo pulso diferencial. Este eletrodo é sensível ao hidrolisado de diazepam em concentração de 0,067 a 2,02 mg.L⁻¹, apresentando linearidade na faixa de 0,067 a

1,30mg.L⁻¹, por um período de 10 minutos de acumulação. Um limite inferior pode ser alcançado se o tempo de acumulação for maior. O limite mínimo detectado foi da ordem de 0,020mg.L⁻¹ de diazepam.

As determinações em comprimidos realizadas pelo método de adição de padrão apresentaram 5,21±0,33mg de diazepam por comprimido, com valor nominal de 5mg. O método apresentou uma recuperação média de 102,9±5,9%.

A reprodutibilidade e a exatidão das medidas obtidas com o eletrodo desenvolvido são satisfatórias, considerando-se a faixa de concentração e o fato deste ser um eletrodo sólido.

A simplicidade de preparo deste eletrodo, comparada à preparação mais elaborada de outros eletrodos modificados, é um aspecto vantajoso do eletrodo desenvolvido. A pasta de carbono apresentou-se como uma matriz conveniente para a incorporação do modificador, em que o Carbpac foi simplesmente misturado com a pasta.

A estabilidade da resposta do eletrodo e a facilidade com que a superfície do eletrodo pode ser removida e renovada para um novo uso torna o eletrodo atrativo para aplicações que requerem medidas repetitivas.

Uma das vantagens deste procedimento sobre outros métodos, como cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa com detector de ionização de chama, são o menor custo instrumental, a facilidade de manipulação da amostra e uma boa sensibilidade.

Vale ressaltar que o método desenvolvido mostra-se eficiente na dosagem de diazepam presente em produto farmacêutico, sendo simples, de boa exatidão, os dados são reprodutíveis e a técnica apresenta boa sensibilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADBEL-HAMID, M. E.; ABUIRJEIE, M. A. *Determination of diazepam and oxazepam using high-performance liquid chromatography and fourth-derivative spectrophotometric technique.* **Analyst**, v. 113, n. 9, p. 1443-1446, 1988.
- ALEIXO, L. M.; SOUZA, M. F. B.; GODINHO, O. E. S.; OLIVEIRA NETO, G.; GUSHIKEM, Y.; MOREIRA, J. C. *Development of a chemically modified electrode based on carbon paste and functionalized gel for preconcentration and voltammetric determination of mercury (II).* **Anal. Chim. Acta.**, v. 271, p. 143-148, 1993.
- ALTENBACH, B.; GIGER, W. *Determination of benzene- and naphthalenesulfonates in wastewater by solid-phase extraction with graphitized carbon black and ion-pair liquid chromatography with UV detection.* **Anal. Chem.**, v. 67, n. 14, p. 2325-2333, 1995.
- ANSON, F. C. *Patterns of ionic and molecular adsorption at electrodes.* **Accts. Chem. Res.**, v. 8, p. 400-401, 1975.

- ARENAZA, M. J.; GALLO, B.; BERRUETA, L. A.; VICENTE, F. *Eletrooxidation and determination of the 1,4-benzodiazepine loprazolam at the carbon-paste electrode.* **Anal. Chim. Acta**, v. 365, p. 91-95, 1995.
- BALDWIN, R. P.; THOMSEN, K. N. *Chemically modified electrodes in liquid chromatography detection: a review.* **Talanta**, v. 38, n. 1, p. 1-16, 1991.
- BARBOSA, J.; SANZ-NEBOT, V. *Acid-base equilibria and assay of benzodiazepines in acetonitrile medium.* **Talanta**, v. 36, n. 8, P 837-842, 1989.
- BARD, A. J. *Chemical modification of electrodes.* **J. Chem. Education**, v. 60, p. 302-304, 1983.
- BERZAS, J. J.; RODRIGUES, J.; LEMUS, J. M.; CASTANEDA, G. *Adsorptive stripping voltammetric behaviour of Sulphaquinoxaline using differential-pulse and square-wave techniques.* **Anal. Chim. Acta**, v. 273, p. 369-375, 1993.
- BESNER, J.-G.; CAILE, G.; PLAA, G.; DUGAL, G. *Identification et détermination quantitative des métabolites biliaires du diazepam chez le rat.* **Rev. Can. Biol.**, v. 32, p. 241-250, 1973.
- BISHOP, E.; HUSSEIN, W. *Electroanalytical studies of certain nitro and benzodiazepine drugs at rotating electrodes.* **Analyst**, v. 109, p. 759-764, 1984.
- BRITISH PHARMACOPOEIA. London : HM Stationery Office, 1980. p. 758.

- BROOKS, M. A.; SILVA, J. A. F. *Determination of 1,4-benzodiazepines in biological fluids by differential pulse polarography.* **Talanta**, v. 22, p. 849-860, 1975.
- BRUNER, F.; CRESCENTINI, G.; MANGANI, F. *Graphitized carbon black: A unique adsorbent for gas chromatography and related techniques.* **Chromatographia**, v. 30, n. 9/10, p. 565-572, 1990.
- CAI, X.; KALCHER, K.; NEUHOLD, C. *Simultaneous determination of uric acid, xanthine and hypoxanthine with an electrochemically pretreated carbon paste electrode.* **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 348, p. 660-665, 1994.
- CHEEK, G. T.; NELSON, R.F. *Application of chemically modified electrodes to analysis of metal ions.* **Anal. Lett.**, v. 5, p. 393-402, 1978.
- CHICHARRO, M.; ZAPARDIEL, A.; BERMEJO, E.; PÉREZ, J. A.; HERNADÉZ, L. *Ephedrine determination in human urine using a carbon paste electrode modified with C₁₈ bonded silica gel.* **Anal. Lett.**, v.27, n. 10, p. 1809-1831, 1994.
- CLIFFORD, J. M.; SMITH, W. F. *The determination of some 1,4-benzodiazepines and their metabolites in body fluids a review.* **Analyst**, v. 99, p. 241-272, 1974.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (Coord.) **Introdução a Métodos Cromatográficos.** 4 ed. Campinas : Ed. Unicamp, 1990. 279p.
- CRUZ, A.; BERMEJO, A.; LOPEZ-RIVADULLA, M.; FERNANDEZ, P. *Simultaneous determination of methaqualone and diazepam in plasma by derivative spectroscopy.* **Anal. Lett.**, v. 25, p. 253-269, 1992.

- DI CORCIA, A.; MARCHETTI, M. *Multiresidue method for pesticides in drinking water using a graphitized carbon black cartridge extraction and liquid chromatographic analysis.* **Anal. Chem.**, v. 63, p. 580-585, 1991.
- DOWNARD, A. J.; RADDICK, A. D. *Effect of electrochemical pretreatment on protein adsorption at glassy carbon electrodes.* **Electroanalysis**, v. 6, p. 409-414, 1994.
- DUGAL, R.; CAILLE, G.; COOPER, S. M. *Metabolites urinaires du diazepam chez l'homme: methodes chromatographiques et polarographiques.* **Un. Med. Can.**, v. 102, p. 2491-2497, 1973.
- EL-BARDICY, M. G.; BEBAWY, L. I.; AMER, M. M. *Stability-indicating method for the determination of N-desmethyldiazepam and simultaneous determination of its degradation products.* **Anal. Lett.**, v. 26, p. 1137-1151, 1993.
- ELLAITHY, M. M.; VOLKE, J.; MANDUSEK, O. *Differential pulse polarography of some benzodiazepines and their determination in urine.* **Talanta**, v. 24, p. 137-140, 1977.
- ELVING, P. J.; KRIVIS, A. F. *Voltammetric studies with the graphite indicating electrode.* **Anal. Chem.**, v. 30, n. 10, p. 1645-1648, 1958.
- ENGEWALD, W.; PORSCHMANN, J.; WELSCH, T. *Graphitized thermal carbon black as a shape-selective stationary phase in GC.* **Chromatographia**, v. 30, n. 9/10, p. 537-542, 1990.
- EVANS, D. H.; O'CONNELL, K. M.; PETERSEN, R. A.; KELLY, M. J. **J. Chem. Ed.**, v. 60, n. 4, p. 290, 1983.

- FEHER, I.; HORVAL, G.; NAGY, G.; NIEGREISZ, Z.; TOTH, K.; PUNGOR, E. *A polarographic and spectrophotometric routine analyzer for assaying content uniformity in pharmaceutical quality control.* **Anal. Chim. Acta**, v. 145, p. 41-50, 1983.
- FERNÁNDEZ, M. C.; ALONSO, R. M.; JIMÉNEZ, R. M.; RODRÍGUEZ, F. J. *Oxidative behaviour of aminohalogenphenones - indirect determination of benzodiazepinooxazoles.* **Electroanalysis**, v. 2, n. 7, p. 189-193, 1995.
- FLORES, J. R.; ALVARÉZ, J. M. F. *Adsorptive stripping square-wave voltammetric behaviour of the enzyme adenosine deaminase.* **Electroanalysis**, v. 4, p. 347-354, 1992.
- FLORES, J. R.; MARIN, C.; GONZÁLEZ, E.; PARIENTE, F.; LORENZO, E. *Study of the adsorptive stripping square-wave voltammetry of bovine serum albumin.* **Electroanalysis**, v. 3, p. 405-408, 1991.
- GARCÍA, M. G.; GARCÍA, A.; GONZÁLEZ, I. *Extraction and electrochemical quantification of the active ingredient (diazepam) in pharmaceutical products.* **Talanta**, v. 40, p. 1775-1779, 1993.
- GONZÁLEZ, E.; HERNANDÉZ, P.; HERNÁNDEZ, L. *Cyclic voltammetry of trifluadom at a C₁₈-modified carbon paste electrode.* **Anal. Chim. Acta**, v. 228, p. 265-272, 1990.
- GORTON, L. *Carbon paste electrodes modified with enzymes, tissues, and cells.* **Electroanalysis**, v. 7, n. 1, p. 23-45, 1995.
- GRATTERI, P.; PINZAUTI, S.; LA PORTA, E.; PAPERESCHI, G. *Differential-pulse adsorptive stripping voltammetry of Chlorhexidine.* **Analyst**, v. 116, p. 723-725, 1991.

GREENHOW, E. J.; LADIPO, O. *Determination of some 1,4-Benzodiazepines and their tablet formulations by a catalytic thermometric method.* **Fresenius Z. Anal. Chem.**, v. 321, p. 485-489, 1985.

HAILEY, D. M. *Chromatography of the 1,4-benzodiazepines.* **J. Chromatogr.**, v. 98, p. 527-568, 1974.

HERNÁNDEZ, L.; HERNÁNDEZ, P.; BLANCO, M. H.; LORENZO, E. *Determination of flunitrazepam by differential-pulse voltammetry using a Bentonite-modified carbon paste electrode.* **Analyst**, v. 113, p. 1719-1922, 1988a.

HERNÁNDEZ, L.; ZAPARDIEL, A.; LOPÉZ, J. A. P. *Measurement of nanomolar levels of psychoactive drugs in urine by adsorptive stripping voltammetry.* **Talanta**, v. 35, n. 4, p. 287-292, 1988b.

HERNÁNDEZ, P.; GALAN-ESTELLA, F.; HERNÁNDEZ, L. *Determination of Tetramethrin by adsorptive stripping with square-wave voltammetry.* **Electroanalysis**, v. 4, p. 45-49, 1992a.

HERNÁNDEZ, P.; GALAN-ESTELLA, F.; HERNÁNDEZ, L. *Determination of 4-nitrobiphenyl by adsorptive stripping square-wave polarography.* **Anal. Chim. Acta**, v. 271, p. 217-221, 1993.

HERNÁNDEZ, P.; GARCIA, S.; HERNÁNDEZ, L. *Voltammetric use of a graphite electrode modified with OV-17 silicone for the determination of organic compounds.* **Anal. Chim. Acta**, v. 259, p. 325-331, 1992b.

- HERNÁNDEZ, P.; LORENZO, E.; CERRADO, J.; HERNÁNDEZ, L. *Preconcentration and determination of bentazepam at C₁₈-modified carbon paste electrodes*. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 342, p. 429-432, 1992c.
- HERNÁNDEZ, P.; VICENTE, J.; GONZÁLEZ, M.; HERNÁNDEZ, L. *Voltammetric determination of linuron at a carbon paste electrode modified with Sepiolite*. **Talanta**, v. 37, n. 8, p. 789-794, 1990.
- HESPANHOL, M. C. *Estudo da imobilização via radiação gama, da fase estacionária líquida polimetiloctadecilsiloxano, sobre suporte de sílica para uso em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)*. Campinas : Instituto de Química da Unicamp, 1993. (Dissertação de Mestrado).
- HEWALA, I. T. *GLC and HPLC determination of diazepam and its degradation products in pharmaceutical formulations*. **Anal. Lett.**, v. 25, p. 1877-1905, 1992.
- HU, S.; CHEN, Z.; ZHANG, T. *Adsorptive stripping voltammetry of testosterone propionate in pharmaceutical preparation*. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 346, p. 1008-1010, 1993.
- HU, S.; HE, G.; ZHAO, A. *Determination of trace of Estriol and Estradiol by adsorptive cathodic stripping voltammetry*. **Analyst**, v. 117, p. 181-184, 1992.
- JACOBSEN, E.; JACOBSEN, T. V. *Polarographic determination of diazepam in pharmaceuticals*. **Anal. Chim. Acta**, v. 60, p. 472-474, 1972.

- JACOBSEN, E.; JACOBSEN, T. V.; ROJAHN, T. *The determination of diazepam in serum by differential pulse polarography.* **Anal. Chim. Acta**, v. 64, p. 473-476, 1973.
- JAIN, H. *Simplified method for simultaneous determination of diazepam and its metabolites in urine by thin-layer chromatography and direct densitometry.* **J. Chromatogr.**, v. 615, p. 365-368, 1993.
- KALCHER, K.; KAUFFMANN, J. M.; WANG, J.; SVANCARA, I.; VYTRAS, K.; NEUHOLD, C.; YANG, Z. *Sensors based on carbon paste in electrochemical analysis: a review with particular emphasis on the period 1990-1993.* **Electroanalysis**, v.7, n. 1, p.5-22, 1995.
- KALVODA, R. *Adsorptive stripping voltammetry of electroactive organic compounds.* **Anal. Chim. Acta**, v. 162, p. 192-206, 1984.
- KALVODA, R. *Review of adsorptive stripping voltammetry - assessment and prospects.* **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 349, p. 565-570, 1994.
- KAUFFMANN, J.-M.; PRETE, M. P.; VIRÉ, J.-C.; PATRIARCHE, G. J. *Voltammetry of pharmaceuticals using different types of modified electrodes.* **Fresenius Z. Anal. Chem.**, v. 321, p. 172-176, 1985.
- KAUFFMANN, J.-M.; VIRÉ, J.-C. *Pharmaceutical and biomedical applications of electroanalysis: a critical review.* **Anal. Chim. Acta**, v. 273, p. 329-334, 1993.
- KUBOTA, L. T.; GUSHIKEM, Y.; CASTRO, S.; MOREIRA, J. C. *Preparation and characterization of Ti(IV) oxide grafted onto silica on a silica gel surface.* **Colloids and Surfaces**, v. 57, p. 11-15, 1991.

- LACROIX, C.; WOYCIECHOWSKI, F.; DANGER, P. *Monitoring of benzodiazepines (clobazam, diazepam and their main active metabolites) in human plasma by column-switching high-performance liquid chromatography.* **J. Chromatogr.**, v. 617, p. 285-290, 1993.
- LARINI, L. **Toxicologia**. 2^a ed., São Paulo : Manole, 1993. 281p.
- LE GALL, A.-C.; VAN DEN BERG, C. M. G. *Determination of folic acid in sea water using adsorptive cathodic stripping voltammetry.* **Anal. Chim. Acta**, v. 282, p. 459-470, 1993.
- LEE, H. Y.; ADAMS, R. N. *Anodic voltammetry and EPR studies of isomeric phenylenediamines.* **Anal. Chem.**, v. 34, n. 12, p. 1587-1590, 1962.
- LIU, J.; STEWART, J. T. *Simultaneous separation of diazepam and its chiral and achiral metabolites by hplc on a chiralcel od-r column.* **Anal. Lett.**, v. 30, n. 8, p. 1555-1566, 1997.
- MAURER, H.; PFLEGER, K. *Determination of 1,4- and 1,5-benzodiazepines in urine using a computerized gas chromatographic-mass spectrometric technique.* **J. Chromatogr.**, v. 222, p. 409-419, 1981.
- MAURER, H.; PFLEGER, K. *Identification and differentiation of benzodiazepines and their metabolites in urine by computerized gas chromatography-mass spectrometry.* **J. Chromatogr.**, v. 422, p. 85-101, 1987.
- MERZ, A. **Chemically Modified Electrodes. Series - Topics in Current Chemistry**, v. 152, 1990. P. 51-89.

- METHA, A. C. *High-pressure liquid chromatographic determination of some 1,4-benzodiazepines and their metabolites in biological fluids: a review.* **Talanta**, v. 31, p. 1-8, 1984.
- MORO, M. E.; NOVILLO-FERTRELL, J.; VELAZQUEZ, M. M. *Kinetics of the acid hydrolysis of diazepam, bromazepam, and flunitrazepam in aqueous and micellar systems.* **J. Pharmac. Sci.**, v. 80, p. 459-466, 1991.
- MURRAY, R. W.; EWING, A. G.; DURST, R. A. *Chemically modified electrodes: Molecular design for electroanalysis.* **Anal. Chem.**, v. 59, p. 379A-390A, 1987.
- NIE, L.; LIU, D.; YAO, S. *Potentiometric determination of diazepam with a diazepam ion-selective electrode.* **J. Pharmac. Biom. Anal.**, v. 8, n. 4, p. 379-383, 1990.
- NUDELMAN, N. S.; WAISBAUM, R. G. *Isolation and structure elucidation of novel products of the acidic degradation of diazepam.* **J. Pharmac. Sci.**, v. 84, n. 2, p. 208-211, 1995a.
- NUDELMAN, N. S.; WAISBAUM, R. G. *Acid hydrolysis of diazepam. Kinetic study of the reactions of 2-(N-methylamino)5-chlorobenzophenone, with HCl in MeOH-H₂O.* **J. Pharmac. Sci.**, v. 84, n. 8, 998-1004, 1995b.
- O'DEA, P.; GARCIA, A. C.; ORDIERES, A. J. M.; BLANCO, P. T.; SMITH, M. R. *Comparison of adsorptive stripping voltammetry at mercury and carbon paste electrodes for the determination of Ciprofloxacin in urine.* **Electroanalysis**, v. 3, p. 337-342, 1991.

- PATRIARCHE, G. P.; CAHATEAU-GOSSELIN, M.; VANDENBALCK, J. L.; ZUMAN, P. *Polarography and related electroanalytical techniques in pharmacy and pharmacology*. In: BARD, A. J. **Electroanalytical Chemistry: a series of advances**. New York : Marcel Dekker. p. 141-289, v. 11, 1979.
- PEDRERO, M.; CALVO, V.; VILLENA, F. J. M.; PINGARRON, J. M.; POLO, L. M. *Determination of Methoprotrolyne and Terbutryn by adsorptive stripping voltammetry on the hanging mercury drop electrode*. **Analyst**, v. 118, p. 1405-1410, 1993.
- PEDRERO, M.; VILLENA, F. J. M.; PINGARRON, J. M.; POLO, L. M. *Determination of Dinoseb by adsorptive stripping voltammetry*. **Electroanalysis**, v. 3, p. 419-422, 1991.
- PERLADO, J. C.; ZAPARDIEL, A.; BERMEJO, E.; PÉREZ, J. A.; HERNÁNDEZ, L. *Determination of phenylephrine with a modified carbon paste electrode*. **Anal. Chim. Acta**, v. 305, p. 83-90, 1995.
- PIETROGRANDE, A.; GUERRATO, A.; BORTOLETTI, B.; FINI, G. B. *Automatic potentiometric micro-determination of basic nitrogen in organic compounds*. **Analyst**, v. 109, p. 1541-1543, 1984.
- PRETE, M. P.; KAUFFMANN, J.-M.; VIRE, J.-C.; PATRIARCHE, G. J.; DEYE, B.; GEUSKENS, G. *Nouveau modele d'électrode modifiée a base de carbone et de polymère*. **Anal. Lett.**, v. 17, p. 1391-1403, 1984.
- REDEPENNING, J.G. *Chemically modified electrodes: a general overview*. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 6, p. 18-22, 1987.

- RODRÍGUEZ, J.; VINAGRE, F.; BORRACHERO, A.; SÁNCHEZ, A. *Application of adsorptive stripping voltammetry to the study of immunoglobulin A and its interaction with benzodiazepine drugs.* **Analyst**, v. 114, p. 393-396, 1989.
- ROSS, S. D.; FINHELSTEIN, M.; RUDD, E. J. **Anodic Oxidation.** New York : Academic Press, 1975. v. 32, p. 189-222.
- RUMACK, B. H.; PETERSON, R. G. **Clinical Toxicology.** In: CASARETT AND DOULL'S TOXICOLOGY. *The Basic Science of Poisons.* New York, Macmillan. p. 677-698.
- SILVA, J. A. S. *Analytical strategies for therapeutic monitoring of drugs and metabolites in biological fluids.* **J. Chromatogr.**, v. 273, p. 19-42, 1983.
- SMYTH, W. F.; BURMICZ, J. S.; IVASKA, A. *On-line electrochemical detection of oxidable organic molecules of pharmaceutical importance.* **Analyst**, v. 107, p. 1019-1023, 1982.
- SMYTH, W. F.; GROVES, J. A. *A polarographic study of the hydrolysis of 1,4-benzodiazepines and its analytical applications.* **Anal. Chim. Acta**, v. 134, p. 227-238, 1982.
- SMYTH, W. F.; IVASKA, A. *A study of the electrochemical oxidation of some 1,4-benzodiazepines.* **Analyst**, v. 110, p. 2377-1379, 1985.
- SOUZA, M. F. B. *Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem.* **Química Nova**, v.20, n.2, p. 191-195, 1997.

- SREEDHAR, N. Y.; JAYARAMA, R. S. *Differential pulse polarographic determination of diazepam in pharmaceutical formulations.* **Indian, J. Pharm. Sci.**, v. 54, n. 1, p. 22-24, 1992.
- TUZH, P.; ZHONGPING, Y.; HUIPING, L. *Adsorptive preconcentration for voltammetric measurements of trace levels of Chlorprothixene.* **Analyst**, v. 116, p. 727-730, 1991.
- UNITED STATES PHARMACOPOEIA XXI. Rockville : United States Pharmacopoeia Convention, 1985. p. 308, 762.
- VILLAMIL, M. J. F.; ORDIERES, A. J. M.; GARCIA, A. C., BLANCO, P. T. *Simultaneous adsorptive stripping voltammetric determination of riboflavin and folic acid in multivitamin preparations.* **Anal. Chim. Acta**, v. 273, p. 377-382, 1993.
- VILLAR, J. C. C.; GARCIA, A. C.; BLANCO, P. T. *Adsorptive stripping behaviour of Mitoxantrone on carbon paste electrodes.* **Talanta**, v. 40, n. 3, p. 325-331, 1993.
- VILLAR, J. C. C.; GARCIA, A. C.; BLANCO, P. T. *Determination of Mitoxantrone using phase-selective a. c. adsorptive stripping voltammetry in a flow system with selectivity enhancement.* **Anal. Chim. Acta**, v. 256, p. 231-236, 1992.
- VOLKE, J.; EL-LAITH, M. M.; VOLKOVA, V. *Anodic oxidation some psychotropic substances with seven-membered rings.* **Electroanal. Chem. Interf. Electrochem.**, v. 60, p. 234-244,, 1975.

- VREE, T. B.; BAAKS, A. M.; HEKSTER, Y. A.; VAN DER KLEIJN, E.; O'REILLY, W. J. *Simultaneous determination of diazepam and its metabolites N-desmethyldiazepam and diazepam in liquid chromatography.* **J. Chromatogr.**, v. 162, p. 605-614, 1979.
- WANG, J. *Adsorptive stripping voltametry.* **Am. Labor.**, p. 41-50, 1985a.
- WANG, J. **Stripping Analysis.** *Principles, instrumentation, and applications.* Deerfield Beach : VCH Publ., 160p., 1985b.
- WANG, J. *Voltametry following Nonelectrolytic Preconcentration.* In: BARD, A. J. **Electroanalytical Chemistry: a series of advances.** New York : Marcel Dekker. 88p., v. 16, 1989.
- WANG, J. **Analytical Electrochemistry.** New York : VCH Publishers, 1994. 198p.
- WANG, J.; DESHMUKH, B. K.; BONAKDAR, M. *Solvent extraction studies with carbon paste electrodes.* **J. Electroanal. Chem.**, v. 194, p. 339-353, 1985a.
- WANG, J.; FREIHA, B. A. *Extrative preconcentration of compounds at carbon paste electrodes.* **Anal. Chem.**, v. 56, p. 849-852, 1984.
- WANG, J.; FREIHA, B. A.; DESHMUKH, B. K. *Adsorptive/extractive stripping voltammetry of Phenothiazine compounds at carbon paste electrodes.* **Bioelectrochem. Bioenergetics**, v. 13, p. 457-467, 1985b.
- WANG, J.; LUO, D.-B. *Competition studies in voltammetric measurements based on extractive accumulation into carbon paste electrodes.* **J. Electroanal. Chem.**, v. 179, p. 251-261, 1984.

- WANG, J.; NASER, N. *Tissue bioreactor for eliminating interferences in flow analysis*. **Anal. Chem.**, v. 64, p. 2469-2471, 1992.
- WANG, Z.; ZHOU, H. ZHOU, S. *Study on the determination of Metronidazole in human serum by adsorptive stripping voltammetry*. **Talanta**, v. 40, n. 7, p. 1073-1075, 1993.
- ZANONI, M. B. V.; FOGG, A. G. *Cathodic stripping voltammetric determination of Pentamidine Isethionate at a hanging mercury drop electrode*. **Analyst**, v. 118, p. 1163-1166, 1993.
- ZAPARDIEL, A.; BERMEJO, E.; LOPEZ, J. A. P.; MATEO, P.; HERNANDÉZ, L. *Electroanalytical determination of Lormetazepam in pharmaceutical preparations and human urine*. **Electroanalysis**, v. 4, p. 811-818, 1992.
- ZENG, X.; LIN, S.; HU, N. *Trace measurement of Dipyridamole by adsorptive stripping voltammetry*. **Talanta**, v. 40, n. 8, p. 1183-1187, 1993.

CURRICULUM VITAE

(Resumido)

SANDRA TEREZINHA MARQUES GOMES

CURRICULUM VITAE

1. DADOS PESSOAIS

1.1. NOME: **SANDRA TEREZINHA MARQUES GOMES**

1.2. DATA DE NASCIMENTO: 04/abril/1962

1.3. NATURALIDADE/NACIONALIDADE: Penápolis (SP)/Brasileira

1.4. FILIAÇÃO: José Gomes e Odete Marques Gomes

1.5. ENDEREÇO RESIDENCIAL: Rua Mal. Deodoro, 1.211
Apto. 501 - Ed. Flórida – Zona Sete
87.030-020 – Maringá (PR)
Telefone: (044) 226-7379

1.6. ENDEREÇO DE TRABALHO: Departamento de Química
Universidade Estadual de Maringá
Av. Colombo, 5.790 – Campus Universitário
87.020-900 – Maringá (PR)
Telefone: (044) 261-4389
Fax: (044) 263-5116

2. FORMAÇÃO EDUCACIONAL

2.1. CURSO PRIMÁRIO

E. E. P. G. Luiz Chrisóstomo de Oliveira

Período: 1969-1972

Local: Penápolis (SP)

2.2. CURSO GINASIAL

Instituto de Educação Dr. Carlos Sampaio Filho

Período: 1973-1976

Local: Penápolis (SP)

2.3. CURSO COLEGIAL

E. E. S. G. Adelino Peters

Período: 1977-1979

Local: Penápolis (SP)

2.4. CURSO SUPERIOR

2.4.1. GRADUAÇÃO

2.4.1.1. Licenciatura em Química

Departamento de Química/FUEM/Maringá (PR)

Período: 1º sem/1980-1º sem/1983

Colação de grau: 06/agosto/1983

2.4.1.2. Bacharelado em Química

Departamento de Química/FUEM/Maringá (PR)

Período: 1º sem/1984 (complementação da Licenciatura em Química)

Apostilamento: 06/agosto/1984

2.4.2. PÓS-GRADUAÇÃO

2.4.2.1. Curso de Especialização *lato sensu*

Técnicas Instrumentais de Análise Química

Departamento de Química/FUEM/Maringá (PR)

Período: 2º sem/1983-1º sem/1985

Monografia: *Determinação de resíduos de pesticidas organoclorados em hortaliças comercializadas em Maringá*. Apresentada, avaliada e aprovada pela banca constituída pelos professores Dr. Jorge Nozaki (DQI-UEM), MSc. Paulo Luiz Pereira (DQI-UEM) e MSc. Aloísio Sueo Tanaka (DQI-UEM) em 22/março/1985.

Obs.: (a) Resultados apresentados no VIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, de 17-21/novembro/1985, em Itabuna (BA).

(b) Bolsa de Estudo concedida pelo CNPq.

2.4.2.2. Mestrado em Química

Área de Concentração: Produtos do Meio Ambiente

Departamento de Química/FUEM/Maringá (PR)

Dissertação: *Determinação simultânea dos ácidos acético e láctico por titulação potenciométrica e sua aplicação à análise de vinhos*.

Data da defesa: 23/novembro/1990

Orientador: Prof. Dr. Nilson Evelázio de Souza

Obs.: (a) Resultados apresentados no IV Encontro Nacional de Analistas de Alimentos, de 07-11/outubro/1990, em Curitiba (PR).

(b) Publicação: Sandra T. M. Gomes, Nilson E. Souza e Oswaldo E. S. Godinho. *Simultaneous determination of acetic and lactic acids by potentiometric titration and its applications to wine analysis*. **Ci. e Cult.**, **43**(4):315-317, 1991.

(c) Bolsa de Estudo concedida pela CAPES.

2.4.2.3. Doutorado em Química

Área de Concentração: Química Analítica

Instituto de Química/Unicamp/Campinas (SP)

Tese: *Desenvolvimento de um eletrodo de pasta de carbono modificado para acumulação e determinação voltamétrica de diazepam.*

Data da defesa: 4/novembro/1997

Orientador: Prof. Dr. Luiz M. Aleixo

Co-orientador: Prof. Dr. Oswaldo E. S. Godinho

Obs.: (a) Resultados preliminares apresentados na XVII Reunião Anual da SBQ, de 24-27/maio/1994, em Caxambu (MG) e na XVIII Reunião Anual da SBQ, de 30/maio-02/junho/1995, em Caxambu (MG).

(b) Bolsa de Estudo concedida pela CAPES.

3. CONGRESSOS, ENCONTROS E CURSOS

3.1. I Semana da Química

Período: 14-16/junho/1980

Local: FUEM/Maringá (PR)

3.2. I Encontro Regional SBQ/Sul

Período: 30/setembro-02/outubro/1982

Local: FUEM/Maringá (PR)

3.3. V Encontro Paranaense de Farmácia

Período: 11-16/outubro/1982

Local: FUEM/Maringá (PR)

3.4. Curso: Fermentação

Carga horária: 20 horas-aula

Período: 11-16/outubro/1982

Local: FUEM/Maringá (PR)

3.5. IV Semana da Química

Período: 06-09/junho/1983

Local: FUEM/Maringá (PR)

3.6. Curso: Laticínios

Carga horária: 10 horas-aula

Período: 06-09/junho/1983

Local: FUEM/Maringá (PR)

3.7. VI Semana de Açúcar e Alcool

Período: 23-28/abril/1984

Local: UNIMEP/Campus Santa Bárbara d'Oeste (SP)

- 3.8. II Encontro SBQ/Sul
Período: 30/maio-1º/junho/1984
Local: UFSC/Florianópolis (SC)
- 3.9. V Semana da Química
Período: 11-16/junho/1984
Local: FUEM/Maringá (PR)
- 3.10. VIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Período: 17-21/novembro/1985
Local: Itabuna (BA)
Trabalho apresentado: *Resíduos de pesticidas organoclorados em hortaliças.*
- 3.11. VI Encontro Nacional de Analistas de Alimentos
Período: 07-11/outubro/1990
Local: Curitiba (PR)
Trabalho apresentado: *Determinação simultânea dos ácidos acético e láctico por titulação potenciométrica e sua aplicação à análise de vinhos.*
- 3.12. Curso: Micrometrologia óptica
Carga horária: 16 horas-aula
Período: 12-14/agosto/1991
Local: Funioeste/Cascavel (PR)
- 3.13. VI Encontro Nacional de Química Analítica
Período: 03-06/setembro/1991
Local: Unesp/IQ/Araraquara (SP)
- 3.14. Curso: Ion-Selective Electrodes for Water Analysis
Período: 03-06/setembro/1991
Local: Unesp/IQ/Araraquara (SP)
- 3.15. XVII Reunião Anual da SBQ
Período: 24-27/maio/1994
Local: Caxambu (MG)
Trabalho apresentado: *Desenvolvimento de um eletrodo quimicamente modificado baseado em pasta de carbono para acumulação e determinação voltamétrica de Diazepam.*
- 3.16. XVIII Reunião Anual da SBQ
Período: 30/maio-02/junho/1995
Local: Caxambu (MG)
Trabalho apresentado: *Determinação voltamétrica de diazepam em comprimidos utilizando eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado.*

4. PUBLICAÇÃO

- 4.1. GOMES, S. T. M.; SOUZA, N. E.; GODINHO, O. E. S. *Simultaneous determination of acetic and lactic acids by potentiometric titration and its applications to wine analysis*. **Ci. e Cult.**, v. 43, n. 4, p. 315-317, 1991.

5. ATIVIDADE ATUAL

Professor Adjunto
Departamento de Química
Universidade Estadual de Maringá