

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Programa de Pós-Graduação
em Química



APLICABILIDADE DA VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL
PARA A QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO E ÁCIDO
OXÁLICO: um método comparativo

Eliane Gonçalves de Araújo

Tese de Doutorado
Natal/RN, dezembro de 2013

Eliane Gonçalves de Araújo

**APLICABILIDADE DA VOLTAMETRIA DE PULSO
DIFERENCIAL PARA A QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO
FÓLICO E ÁCIDO OXÁLICO: UM MÉTODO
COMPARATIVO**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientadores: Dra. Nedja Suely Fernandes.

Dr. Carlos Alberto Martínez Huitle

NATAL
2013

Catálogo da Publicação na Fonte. UFRN / SISBI / Biblioteca Setorial
Centro de Ciências Exatas e da Terra – CCET.

Araújo, Eliane Gonçalves de.

Aplicabilidade da voltametria de pulso diferencial para a quantificação de ácido fólico e ácido oxálico: um método comparativo / Eliane Gonçalves de Araújo. - Natal, 2013.

152 f. il.:

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nedja Suely Fernandes.

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Martinez-Huitle.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-Graduação em Química.

1. Eletroquímica – Tese. 2. Oxidação – Tese. 3. Ácido oxálico – Tese. 4. Ácido fólico - Tese. I. Fernandes, Nedja Suely. II. Martinez-Huitle, Carlos Alberto. III. Título.

RN/UF/BSE-CCET

CDU: 544.6

Eliane Gonçalves de Araújo

APLICABILIDADE DA VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL NA
QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO E ÁCIDO OXÁLICO: UM MÉTODO
COMPARATIVO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutora em Química.

Aprovada em: 04 de dezembro de 2013.

Comissão Examinadora:



Dra. Nedja Suely Fernandes – UFRN (orientadora)



Dr. Carlos Alberto Martinez Huitle – UFRN



Dra. Maria de Fátima Vitória de Moura – UFRN



Dr. Jailson Vieira de Melo – UFRN



Dra. Suely Souza Leal de Castro – UERN



Dra. Joana Maria de Farias Barros – UFCG

Aos meus pais, Francisco Cardoso de
Araújo e Cecília Gonçalves de Abrantes, a
vocês todo meu carinho.

AGRADECIMENTOS

Durante todo o decorrer desse trabalho eu tive o prazer de conviver com pessoas especiais, as quais nesse momento gostaria de manifestar meus agradecimentos, pelo apoio, pelo incentivo e pela convivência sempre agradável e construtiva.

Primeiramente quero agradecer a Deus pela sua infinita bondade, por caminhar ao meu lado, e nos momentos mais difíceis me carregar em seus braços. Obrigada senhor por colocar pessoas especiais em meu caminho e me ajudar na concretização dos meus objetivos, ao senhor todo louvor e toda glória.

Aos meus orientadores, à Professora Nedja Suely Fernandes e ao Professor Carlos Alberto Martinez-Huitle, pela ajuda nos assuntos técnicos, a presença constante, as oportunidades oferecidas e a orientação sempre correta e oportuna, reflexos de vossa competência profissional e grande interesse e conhecimento no tema desenvolvido nesse trabalho.

Minha querida professora Nedja pessoa a quem sou grata pela generosidade, sabedoria, esperança, felicidade e exemplo de vida. Sua obra mais promissora é a continuidade dos seus ensinamentos que carregamos para todo o sempre. Obrigada pelo acolhimento, Deus coloca as pessoas certas na hora certa.

Ao meu esposo Sebastião Faustino, por juntar-se a mim nessa caminhada. E muito obrigada pelo filho maravilhoso que Deus nos deu “Christian Gabbriel” razão do nosso viver, poesia constante em nossa vida.

A minha família que sempre foi a maior incentivadora das minhas escolhas. À minha mãe e ao meu querido pai que de sua maneira simples e discreta souberam transmitir valores fundamentais na minha formação, aos meus irmãos Marly-Célia, Marly-Sandra, Elizângela, Fransuélio e Weligton.

Aos professores do Instituto de Química, Jailson Vieira de Melo, Ademir Oliveira da Silva, Ana Cristina Facundo de Brito, Carlos Roberto Oliveira Souto e Maria de Fátima Vitória de Moura, pelo incentivo, companheirismo e ajuda.

Aos meus colegas do laboratório, Carlos Carnaúba, Elaine, Aline, Danyelle, Maésia, Cynthia, Jéssica Rocha, Mayara, Christiane, Heloísa, Maésia, Denise, Bell, Jucilene, Érica, José Carlos Miranda, Janiele, Alex, Elisama, Sheila e Márcia.

Ao Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos (LCQ) do Departamento de Farmácia, em especial ao Professor Cícero Aragão e a Professora Lílian Grace pela disponibilidade na elaboração e execução dos experimentos, bem como ao incentivo e interesse apresentados pelo tema.

Ao Núcleo de Processamento Primário e Reuso de Água Produzida e Resíduos.

Ao Laboratório de Membranas e Colóides.

À CAPES pelo suporte financeiro durante todo o período do doutorado.

Por fim agradeço à UFRN pelo ensino público, gratuito e de qualidade.

Gosto de ser gente, porque inacabado, sei que sou um ser condicionado, mas, consciente do inacabamento, sei que posso ir mais além dele. Esta é a diferença entre um ser condicionado e o ser determinado.

Paulo Freire.

RESUMO

O desenvolvimento de métodos analíticos cada vez mais seletivos e sensíveis é de grande relevância em diferentes áreas do conhecimento, contemplando, por exemplo, os setores alimentícios, biotecnológicos, ambientais e farmacêuticos. O estudo teve como objetivo empregar a técnica eletroanalítica voltametria de pulso diferencial (DPV) como uma alternativa inovadora e promissora para identificação e quantificação de compostos orgânicos. Os compostos orgânicos investigado neste estudo foram o ácido oxálico (AO) e o ácido fólico (AF). A oxidação eletroquímica do ácido oxálico tem sido extensivamente estudada como uma reação modelo na fronteira entre a eletroquímica orgânica e inorgânica. O AF é uma vitamina essencial na multiplicação celular de todos os tecidos, indispensável à síntese do DNA, tem sido investigada empregando técnicas analíticas, com a cromatografia líquida e a espectrofotometria de absorção molecular. No presente trabalho foi investigada a oxidação eletroquímica do AO em diferentes materiais eletrocatalíticos. Os resultados obtidos durante o procedimento experimental indicaram que o processo de oxidação eletroquímica do ácido oxálico é depende fortemente da natureza do material anódico e do mecanismo de oxidação, o que afeta a sua detecção. Eficientes remoções foram obtidas em ânodos de Ti/PbO₂, grafite, BDD e Pt 90, 85, 80 and 78% respectivamente. Foi também demonstrado que a VPD empregando eletrodo de carbono vítreo oferece uma maneira rápida, simples, confiável e econômica para determinar a AO durante o processo de oxidação eletroquímica. Além disso, os métodos eletroanalíticos são mais baratos do que a análise cromatográfica comumente utilizada e que outros métodos instrumentais envolvendo reagentes tóxicos e de custo mais elevado. Comparado com o método de titulação clássica e DPV conseguiu-se um bom ajuste, intervalos de confiança e limites de detecção confirmando a aplicabilidade da técnica

eletroanalítica para o monitoramento da degradação de ácido oxálico. Para o estudo envolvendo o AF foi investigado a atividade eletrocatalítica do eletrodo de pasta de grafite para a sua identificação e quantificação em formulações farmacêuticas aplicando a VPD. Os resultados obtidos durante o procedimento experimental indicaram um pico de oxidação irreversível em 9,1 V característico do AF. O sensor de pasta de grafite apresentou baixo limite de detecção $5,683 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ reduzindo os efeitos da matriz. As análises espectrofotométricas apresentaram concentrações de AF menor quando comparadas com os dados obtidos por CLAE e VDP. Os teores de AF foram obtidos de acordo com a metodologia proposta pela farmacopeia brasileira. O método eletroanalítico (VPD) proposto apresenta menor custo e redução do tempo de análise, quando comparado com a cromatografia líquida, técnica comumente utilizadas pelas indústrias farmacêuticas. Os resultados demonstraram o potencial dessas técnicas eletroanalíticas para futuras aplicações em sensores ambientais, químicos e biológicos.

Palavras - chaves: Folic Acid. Voltametria de Pulso Diferencial. Eletroquímica.

ABSTRACT

The development of more selective and sensitive analytical methods is of great importance in different areas of knowledge, covering, for example, food, biotechnological, environmental and pharmaceutical sectors. The study aimed to employ the technique electroanalytical differential pulse voltammetry (DPV) as an innovative and promising alternative for identification and quantification of organic compounds. The organic compounds were investigated in this study oxalic acid (OA) and folic acid (FA). The electrochemical oxidation of oxalic acid has been extensively studied as a model reaction in the boundary between the organic and inorganic electrochemistry. Since the AF, an essential vitamin for cell multiplication in all tissues, which is essential for DNA synthesis. The AF has been investigated using analytical techniques, liquid chromatography and molecular absorption spectrophotometry. The results obtained during the experimental procedure indicated that the process of electrochemical oxidation of oxalic acid is strongly dependent on the nature of the anode material and the oxidation mechanism, which affects their detection. Efficient removal was observed in Ti/PbO₂ anodes, graphite, BDD and Pt 90, 85, 80 and 78% respectively. It was also shown that the DPV employing glassy carbon electrode offers a fast, simple, reliable and economical way to determine the AO during the process of electrochemical oxidation. Furthermore, electroanalytical methods are more expensive than commonly used chromatographic analysis and other instrumental methods involving toxic reagents and higher cost. Compared with the classical method of titration and DPV could be a good fit, confidence intervals and detection limits confirming the applicability of electroanalytical technique for monitoring the degradation of oxalic acid. For the study of AF was investigated the electrocatalytic activity of the carbon paste electrode for identification and quantification in pharmaceutical formulations by applying the DPV. The results obtained during the

experimental procedure showed an irreversible oxidation peak at 9.1 V characteristic of FA. The carbon paste sensor showed low detection limit of 5.683×10^{-8} mol L⁻¹ reducing matrix effects. The spectrophotometric analysis showed lower concentrations of HF compared with those obtained by HPLC and DPV. The levels of AF were obtained according to the methodology proposed by the Brazilian Pharmacopoeia. The electroanalytical method (DPV) proposed is cheaper than GC analysis commonly used by the pharmaceutical industry. The results demonstrated the potential of these electroanalytical techniques for future applications in environmental, chemical and biological sensors.

Keywords: Folic Acid. Differential Pulse Voltammetry. Electrochemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura química do ácido fólico.....	28
Figura 2	Reação de redução do ácido fólico.....	28
Figura 3	Função do AF no organismo.....	30
Figura 4	Esfregaços de sangue periférico de um paciente com anemia megaloblástica (à esquerda) e de um indivíduo normal (à direita), ambos com o mesmo aumento. O esfregaço do paciente mostra variação no tamanho e na forma dos eritrócitos.....	36
Figura 5	Estrutura química da celulose microcristalina.....	36
Figura 6	Estrutura química do estearato de magnésio.....	37
Figura 7	Estrutura química do polietileno glicol 6000.....	38
Figura 8	Estrutura química da tartrazina.....	38
Figura 9	Estrutura química do grafite	45
Figura 10	Imagem do Eletrodo de trabalho (EPG) utilizado durante o procedimento experimental.....	51
Figura 11	Estrutura química do ácido fólico em meio alcalino.....	51
Figura 12	Imagens das amostras de comprimidos em pó e em solução de NaOH 0,1 mol L ⁻¹	53
Figura 13	Fluorescência de Raios-X do grafite.....	58
Figura 14	Difratograma de Raios-X do carbono sem tratamento térmico.....	60
Figura 15	Difratograma de Raios-X do resíduo obtido da mufla a 900°C.....	60
Figura 16	TG/DTG do carbono em atmosfera de nitrogênio (a) e ar sintético (b)	62
Figura 17	Microscopia Eletrônica de Varredura do eletrodo de trabalho. Condições experimentais: 20 V, diâmetro de feixe de 4,0 volts detector retroespalhado.....	63
Figura 18	Espectro de absorção molecular na região infravermelho - (IV) do grafite.....	64

Figura 19	Curvas TG/DTG do ácido fólico. Condições experimentais: razão de aquecimento $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, vazão do gás de 50 mL min^{-1} . Cadinho de α -alumina.....	66
Figura 20	Calorimetria exploratória diferencial do ácido fólico. Condições experimentais: razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, vazão do gás de arraste 50 mL min^{-1} . Atmosfera de nitrogênio e cadinho de alumínio.	67
Figura 21	Espectrometria de absorção molecular na região do IV do AF (A).....	68
Figura 22	Espectrometria de absorção molecular na região do IV do AF padrão utilizado durante os procedimentos experimentais.....	69
Figura 23	Difratograma de Raios-X do AF padrão. Faixa de 2θ de $2\text{-}90$ graus com uma velocidade de varredura de $2\theta\text{ min}^{-1}$	70
Figura 24	Difratograma de Raios-X do comprimido AM1. Faixa de 2θ de $2\text{-}90$ graus com uma velocidade de varredura de $2\theta\text{ min}^{-1}$	71
Figura 25	Microscopia eletrônica de varredura do ácido fólico padrão. Condições experimentais: 20 V , diâmetro de feixe de $4,0$ volts detector retroespalhado.....	72
Figura 26	Espectro de absorção no infravermelho (a) AF após extração (b) excipientes extraídos do comprimido (c) comprimido.....	74
Figura 27	Curvas TG/DTG para o AF extraído do comprimido (a) princípio ativo AF (b) e comprimido (c). Condições experimentais: razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, com vazão do gás de 50 mL min^{-1} . Atmosfera de ar nitrogênio, cadinho de α -alumina.....	77
Figura 28	Curva TG/DTG dos excipientes após extração de ácido fólico em atmosfera de nitrogênio, razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, vazão do gás de 50 mL min^{-1} e cadinho de α -alumina.....	78
Figura 29	VC do AF em eletrodo de PG na ausência (curva -) e na presença (curva --) de $1,96 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$ mol L^{-1} of AF em KCl $0,5\text{ mol L}^{-1}$	81
Figura 30	Efeito da velocidade de varredura na oxidação do pico da corrente do AF.....	82
Figura 31	Curva analítica do AF obtida usando eletrodo de pasta de grafite. Eletrólito de suporte KCl $0,5\text{ mol L}^{-1}$	84
Figura 32	Curva analítica do AF empregando espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-VIS.....	86
Figura 33	Perfis cromatográficos obtidos durante a separação do AF padrão, AM1 e AM2 e espectros das três amostras obtidos através do DAD.....	88

Figura 34	Comparação do teor de ácido fólico presente nas amostras de comprimidos (AM1) usando diferentes técnicas (VPD, UV-Vis, CLAE) (A).....	91
Figura 35	Comparação do teor de ácido fólico presente nas amostras de comprimidos (AM2) usando diferentes técnicas (VPD, UV-VIS, CLAE).....	91
Figura 36	Voltametria de Pulso Diferencial do estearato de magnésio, talco, amidoglicolato de sódio e ácido fólico.....	92
Figura 37	Esquema da oxidação eletroquímica de compostos orgânicos com ânodos ativos (reações a, b, c, d) e não-ativos (reações a, e, f). M representa um sítio ativo do ânodo.....	114
Figura 38	Diagrama simplificado para oxidação induzida eletroquimicamente via oxigênio molecular dissolvido borbulhado em solução com eletrodo de diamante dopado em boro; (1) conversão da água, o radical hidroxila HO [•] ; (2) desidrogenação de um composto RH via HO [•] e formação de um radical orgânico livre R [•] ; (3) adição de oxigênio molecular com R [•] resultando na formação de um radical RO ₂ [•] ; (4) desidrogenação de RH via RO ₂ [•] resultando na formação de hidroperóxido ROOH e na regeneração do R [•] ; (5) destaque para a decomposição de RO ₂ [•] a regeneração do HO [•] e a formação de RO; (6) decomposição de RO ₂ [•] para R [•] ; (7) reação paralela de evolução de oxigênio.....	116
Figura 39	Imagem dos materiais anódicos utilizados durante a oxidação eletroquímica do ácido oxálico.....	120
Figura 40	Sistema de oxidação e titulação do AO.....	121
Figura 41a	Curvas de polarização linear em 0,002 mol L ⁻¹ ; 0,005 mol L ⁻¹ e 0,1 mol L ⁻¹ de AO em solução de H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ . A linha em negrito representa a maior concentração de AO enquanto a linha tracejada corresponde a curva do eletrólito de suporte. Velocidade de varredura = 100 mV s ⁻¹ , T = 25 ° C. Ânodos: (a) PbO ₂ . Área do eletrodo 0,5 cm ²	127
Figura 41b	Curvas de polarização linear em 0,02 mol L ⁻¹ ; 0,05 mol L ⁻¹ e 0,1 mol L ⁻¹ de AO em solução de H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ . Ânodo: (B) grafite. Área dos eletrodo 0,5 cm ²	128
Figura 41c	Curvas de polarização linear em 0,02 mol L ⁻¹ ; 0,05 mol L ⁻¹ e 0,1 mol L ⁻¹ de AO em solução de H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ . Ânodo (c) DDB. Área dos eletrodo 0,5 cm ²	128
Figura 41d	Curvas de polarização linear em 0,02 mol L ⁻¹ ; 0,05 mol L ⁻¹ e 0,1 mol L ⁻¹	

	¹ de AO em solução de H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ . Ânodo: (D) Pt Área dos eletrodo 0,5 cm ²	129
Figura 42	Voltametria de pulso diferencial do eletrodo de GC na ausência (curva a) e na presença (curva b) of 100 mM de AO em H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹	131
Figura 43	Voltametria de pulso diferencial de 0,5 mol L ⁻¹ de ácido sulfúrico contendo diferentes concentrações de ácido oxálico em ECG: 2×10 ⁻³ ; 3×10 ⁻³ ; 4×10 ⁻³ ; 5×10 ⁻³ ; 6×10 ⁻³ ; 7×10 ⁻³ ; 8×10 ⁻³ ; 9×10 ⁻³ ; 1×10 ⁻² ; 1,1×10 ⁻² ; 1,2×10 ⁻² ; 1,3×10 ⁻² ; 1,4×10 ⁻² e 1,5×10 ⁻² mol L ⁻¹	131
Figura 44	Exemplo de voltamogramas relevantes das análises de AO em eletrodo de GC eletrodo por adições sucessivas de padrões. Os voltamogramas da VPD em ECG usando 0,5 H ₂ SO ₄ mol L ⁻¹ como eletrólito de suporte. (curva a) da amostra e curvas (1-3) sucessivas adições de padrão: 2×10 ⁻³ ; 3×10 ⁻³ ; 4×10 ⁻³ mol L ⁻¹ de AO.....	133
Figura 45	Diminuição do teor de AO em solução nos diferentes materiais eletrocatalíticos, em função do tempo, a 60 mAcm ⁻² (25 °C). Concentração do AO (a), usando curva analítica e (b) por adições sucessivas padrão (c) CLAE.	137
Figura 46	Comparação entre medidas de VPD obtidos pelos dois diferentes procedimentos analíticos (por curvas de calibração e pelo método de adição de padrão) durante o monitoramento da degradação AO em diferentes materiais eletrocatalíticos.....	140
Figura 47	Comparação entre titulação tradicional padrão de permanganato de potássio e análise VPD (curvas de calibração) durante o monitoramento da degradação do AO em diferentes materiais eletrocatalíticos.....	141
Figura 48	Comparação entre a titulação tradicional, análises VPD e CLAE para quantificação do ácido oxálico durante a degradação eletroquímica no ânodo de diamante. Condições experimentais: [AO] ₀ =0,15 mol L ⁻¹ , 60 mA cm ⁻² e 25°C.....	142
Figura 49	Comparação das medidas usando tratamento eletroquímico e titulação. Erro estatístico, média e desvio padrão para cada técnica usando ânodo de DDB.....	143
Figura 50	Desvio padrão e média para VPD, focando os dados de dispersão dos resultados do CLAE.....	145
Figura 51	Comportamento do ácido oxálico durante a oxidação eletroquímica de vários materiais: DDB; Pt; PbO ₂ e grafite.....	146

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Ingestão Diária Recomendada (IDR) para folatos.....	33
Tabela 2	Declaração dos laboratórios quanto ao método utilizado na determinação de ácido fólico.....	41
Tabela 3	Informações sobre os métodos utilizados pelos laboratórios que analisam ácido fólico.....	42
Tabela 4	Composição dos medicamentos utilizados na pesquisa.....	49
Tabela 5	Teor de AF em comprimidos, obtidos empregando curva analítica VPD..	85
Tabela 6	Teor de AF em comprimidos, obtidos empregando curva analítica UV-VIS.....	87
Tabela 7	Teor de AF em comprimidos, obtidos empregando CLAE.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AF	Ácido fólico
APAB	Ácido para-aminobenzóico (APAB)
AO	Ácido oxálico
AU	Ácido úrico
ACF	Fibras de carbono ativado
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
A	Ampere
ADSV	Voltametria adsortiva por redissolução
VC	Voltametria cíclica
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DCI	Denominação Comum Internacional .
DCB	Denominação Comum Brasileira
VCD HF	Filamento quente de vapor químico
ADN	Ácido desoxirribonucléico
DCB	Denominação Comum Brasileira
DCI	Denominação Comum Internacional
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DTG	Termogravimetria Derivada
DRX	Difração de Raios-X.
VPD	Voltametria de Pulso Diferencial
E	Potencial elétrico
EPCUPA	Eletrodo de pasta de carbono ultrafino pré-anodizado
DDB	Diamante Dopado com Boro
E_p	Potencial de Pico
FRX	Fluorescência de Raios-X
ECG	Eletrodo de carbono vítreo
GGLAS	Gerência Geral de Laboratórios de Saúde Pública
EPG	Eletrodo de Pasta de Grafite

GC	Carbono vítreo
H ₂ PTEGLU	Ácido diidrofólico
H ₄ PTEGLU	Ácido tetraidrofólico
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
I _p	Corrente de pico
IV	Infravermelho.
IDR	Ingestão Diária Recomendada
JCPDE	Joint Committee on Powder Diffraction Standart
<i>J</i>	Densidade de corrente
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura.
MIP	Polímeros sintéticos com impressão molecular
NAC	N-acetilcisteína
nM	Nanomolar
NF	National Formulary
NUPRAR	Núcleo de Processamento Primário e Reúso de Água Produzida e Resíduo
OMS	Organização Mundial de Saúde
OE	Oxidação eletroquímica
PbO ₂	Óxido de chumbo
PTEGLU	Ácido pteroilglutâmico
Pt	Platina
pH	Potencial hidrogeniônico
APAB	Ácido paraminobenzóico
RNA	Ácido ribonucleico
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
TG	Termogravimetria
TGA	Análise Térmica Diferencial
UV-VIS	Ultravioleta-Visível
USP	United States Pharmacopeia
SW-AdsV	Voltametria de Onda Quadrada Adsorativa

SWV Voltametria de Onda Quadrada
°C Graus Celsius

SUMÁRIO

	CAPITULO 1.....	23
1	INTRODUÇÃO.....	24
2	OBJETIVOS.....	26
2.1	GERAIS.....	26
2.3	ESPECÍFICOS.....	26
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	27
3.1	ÁCIDO FÓLICO, ORIGEM.....	27
3.1.1	Doenças que podem ser provocadas pela deficiência de ácido fólico.....	29
3.1.2	Enriquecimento de farinhas de trigo e milho com AF.....	32
3.1.3	Suplementação medicamentosa com ácido fólico.....	33
3.1.3.1	Medicamento de referência.....	34
3.1.3.2	Medicamento Similar.....	34
3.1.3.3	Medicamento Genérico.....	34
3.1.4	Alguns excipientes constituintes da formulação farmacêutica.....	35
3.1.4.1	Celulose microcristalina.....	36
3.1.4.2	Estearato de magnésio.....	37
3.1.4.3	Polietilenoglicol 6000.....	37
3.1.4.4	Corante lacca alumínio amarelo nº 10.....	37
3.1.4.5	Tartrazina.....	37
3.1.4.6	Simeticona.....	38
3.1.5	Quantificação de ácido fólico é garantida através de análise de controle de qualidade.....	39
3.2	ELETROANÁLISE: NOVA ALTERNATIVA.....	43
3.2.1	Carbono.....	45
3.2.2	Grafite: uma fonte alternativa para a quantificação de ácido fólico.....	46
4	METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	49
4.1	MEDICAMENTOS.....	49
4.2	GRAFITE.....	49
4.3	EXCIPIENTES SINTÉTICOS.....	49

4.4	PREPARO DAS AMOSTRAS.....	50
4.4.1	Pasta de Grafite.....	50
4.4.2	Resíduos do grafite.....	50
4.4.3	Eletrodo de Trabalho.....	50
4.4.4	Comprimidos.....	51
4.4.5	Extração do ácido fólico dos comprimidos para análise termogravimétrica e espectrometria de absorção na região do infravermelho.....	52
4.6.6	Preparo de excipientes sintéticos para análise voltamétrica (VPD).....	53
4.5	CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS MATERIAIS UTILIZADOS.....	53
4.5.1	Termogravimetria/Termogravimetria Derivada (TG/DTG).....	53
4.5.2	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	54
4.5.3	Espectrometria de absorção molecular na região do infravermelho – VIS..	54
4.5.4	Difração de Raios -X (DRX).....	54
4.5.5	Microscopia Eletrônica e Varredura (MEV).....	55
4.5.6	Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva.....	55
4.5.7	Espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-VIS do AF....	55
4.5.8	Voltametria de pulso diferencial (VPD).....	56
4.5.9	Cromatográfica Líquida de Alta Eficiência (CLAE) do AF	56
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	57
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO ELETRODO.....	57
5.1.1	Espectrometria de Fluorescência de Raios-X (XRF) do grafite.....	57
5.1.2	Difratometria de Raios – X (DRX)	58
5.1.3	Termogravimetria/Termogravimetria Derivada (TG/DTG).....	61
5.1.4	Microscopia eletrônica de varredura do eletrodo de pasta de grafite.....	62
5.1.5	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho do pó de Grafite	63
5.2	CARACTERIZAÇÃO DO ÁCIDO FÓLICO E FORMAS FARMACÊUTICAS.....	64
5.2.1	Termogravimetria/Termogravimetria Derivada (TG/DTG) do AF.....	65
5.2.2	Curva DSC do ácido fólico.....	66
5.2.3	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho – (IV) do AF.....	67
5.2.4	Difração de Raios - X (DRX) do AF.....	69
5.2.5	Microscopia eletrônica de varredura do ácido fólico (MEV).....	71

5.3	CARACTERIZAÇÃO DO ÁCIDO FÓLICO APÓS SUA EXTRAÇÃO DOS COMPRIMIDOS.....	72
5.3.1	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho do ácido fólico e do comprimido.....	72
5.3.2	Curvas TG/DTG da formulação farmacêutica, AF padrão e AF extraído dos comprimidos.....	74
5.3.3	Curva TG/DTG dos excipientes após extração de ácido fólico em atmosfera de nitrogênio.....	77
5.4	MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS (VPD) DO AF.....	79
5.4.1	Caracterização do eletrodo de trabalho.....	79
5.4.2	O efeito da velocidade de varredura.....	79
5.4.3	Curva de calibração (VPD).....	82
5.4.4	Curva de calibração (UV-VIS).....	85
5.4.5	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência do AF.....	87
5.4.6	Interferências de alguns excipientes presente nos comprimidos.....	92
6	CONCLUSÕES.....	93
	REFERÊNCIAS.....	96
	Anexos.....	105
	CAPÍTULO 2.....	106
7	INTRODUÇÃO.....	107
8	OBJETIVOS.....	109
8.1	GERAIS.....	109
8.2	ESPECÍFICOS.....	109
9	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	110
9.1	ÁCIDO OXÁLICO.....	110
9.2	TECNOLOGIAS ELETROQUÍMICAS.....	111
10	METODOLOGIA EXPERIMENTAL	119
10.1	REAGENTES.....	119
10.2	OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DO ÁCIDO OXÁLICO (AO).....	119
10.3	MÉTODOS ANALÍTICOS.....	122
11	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	123
11.1	MEDIDAS POTENCIODINÂMICAS.....	123
11.2	MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS (VPD) DO AO.....	129

11.2.1	Caracterização do eletrodo de trabalho.....	129
11.2.2	Curva de calibração método de adição de padrão.....	130
11.2.3	Método de adição de padrão (VPD).....	132
11.3	MEDIDAS ELETROQUÍMICAS.....	133
12.3.1	Oxidação eletroquímica de AO em ânodos ativos e não ativos.....	133
11.4	AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DAS MEDIDAS POR VPD.....	138
12	CONCLUSÃO.....	147
	REFERÊNCIAS	148

CAPÍTULO 1

**APLICABILIDADE DA VOLTAMETRIA DE PULSO
DIFERENCIAL PARA A QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO
FÓLICO: UM MÉTODO COMPARATIVO.**

1 INTRODUÇÃO

O ácido fólico é uma vitamina essencial na multiplicação celular de todos os tecidos, é indispensável à síntese do DNA e conseqüentemente à divisão celular. A carência do ácido fólico afeta diretamente todos os tecidos do corpo. Seu alcance pela dieta é difícil, sendo necessária a inclusão de alimentos fortificados, suplementos ou medicamentos. Além disso, a deficiência de ácido fólico está associada às doenças crônicas não transmissíveis, complicações na gestação e doenças neurodegenerativas (UEHARA, 2010; ROSA, 2010).

Nos últimos anos, várias técnicas têm sido empregadas para a determinação deste composto em formulações farmacêuticas, tais como: Quimiluminescência (NIE et al. 2000), Espectrofotometria (NAGARAJA et al. 2002), Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas (PAWLOSKEY et al. 2003; KOK et al. 2004; LEPORATI et al. 2005; NELSON et al. 2006; NIESSER et al. 2013), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (RUGGERI et al. 1999; FINGLAS et al. 1999; BREITHAUPT 2001; VINÃS et al. 2003; AURORA-PRADO et al. 2004; QUIRÓS et al. 2004;), Injeção em Fluxo Acoplada à Espectrometria de Massas (BHANDARI et al. 2012), Fluorescência (ALAM et al. 2012) e Espectrofluorimetria (MANOORI et al. 2011).

No entanto, a maioria desses métodos são dispendiosos e demorados, devido ao processo de extração e purificação (MIRMOGHTADAIE et al. 2013). Estas características justificam o desenvolvimento de um novo método, rápido, sensível e seletivo para a determinação de ácido fólico.

Sensores eletroquímicos têm adquirido largas aplicações. O eletrodo de pasta de grafite (CPE) foi relatado pela primeira vez em 1958 por Adams (OLSON e ADMAS, 1960). Ele tem sido empregado para a determinação eletroanalítica de ácido fólico. Tornou-se amplamente utilizado em pesquisas eletroquímicas devido às suas principais características, dentre elas destacam-se a baixa resistência ôhmica e larga janela de potencial em meio aquoso. (WAN E YANG 2002; WEI et al. 2005; WANG et al. 2006; VAZE E SRIVASTAVA 2007; PRASAD et al. 2010; RASTAKHIS et al. 2012; SALMANIPOUR et al. 2013).

Além disso, métodos eletroanalíticos têm sido alternativas interessantes na determinação de compostos orgânicos, devido à sensibilidade, facilidade no manuseio, menor custo, tempo de análise relativamente curto quando comparado com as técnicas recomendadas pela metodologia tradicional.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a aplicabilidade do eletrodo de pasta de

carbono na quantificação de ácido fólico em formulações farmacêuticas, usando técnicas voltamétricas. O presente estudo não apresenta apenas o uso de um eletrodo barato, simples e rápido, mas também sensível e reprodutível para detecção de ácido fólico em medicamentos.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAIS

Avaliar o desempenho do eletrodo de pasta de grafite na quantificação de ácido fólico presente em formulações farmacêuticas, usando técnicas voltamétricas.

2.2 ESPECÍFICOS

- Caracterizar a pasta de carbono o AF padrão as formulações farmacêuticas e os excipientes, utilizando Termogravimetria/Termogravimetria derivada (TG/DTG), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), assim como por Espectrometria de absorção molecular no infravermelho (IV), Espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-VIS, Difração de Raios-X (DRX) e Microscopia eletrônica de varredura (MEV).
- Avaliar o solvente para extração e solubilização do ácido fólico;
- Testar o eletrólito de suporte e a faixa de potencial de trabalho;
- Testar a voltametria cíclica e a voltametria de pulso diferencial usando eletrodo de pasta de grafite como eletrodo de trabalho para determinar o ácido fólico;
- Testar a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a espectrofotometria de absorção molecular no ultravioleta-visível para identificar e quantificar o AF presente em comprimidos.
- Avaliar o estearato de magnésio, talco e amidoglicolato utilizados na formulação usando voltametria de pulso diferencial para verificar possíveis sinais na mesma região de potencial de pico do ácido fólico, já que esses materiais fazem parte do comprimido utilizado durante o procedimento experimental;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ÁCIDO FÓLICO, ORIGEM

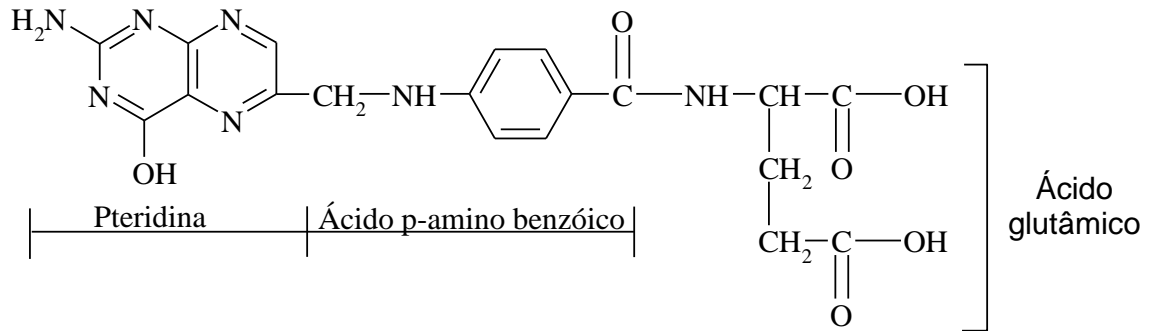
Lucy Wills, em 1931, encontrou o ácido fólico (AF) em extrato de leveduras e demonstrou ser eficiente no tratamento da anemia macrocítica tropical em mulheres indianas no final da gestação. Em 1977 o Editorial Lancet divulgou informações referente à associação entre a deficiência de folato durante a gravidez com a má formação do feto e o alto índice de abortos (BAR-OZ et al. 2008). Mais tarde, essa vitamina passou a ser denominada ácido fólico pelo fato de ter sido isolada das folhas de espinafre (UEHARA, 2010; ROSA, 2010).

O termo genérico “folato” refere-se à classe de derivados da pteridina que tem estrutura química e atividade nutricional semelhante às do AF. O folato encontra-se amplamente distribuído em vegetais e produtos de origem animal. Os vegetais verdes constituem fontes particularmente ricas de folato, no entanto, o cozimento excessivo destrói ou remove uma alta percentagem de folato dos alimentos (FINGLAS et al. 1999; GOLDMAN; AUSIELLO 2010).

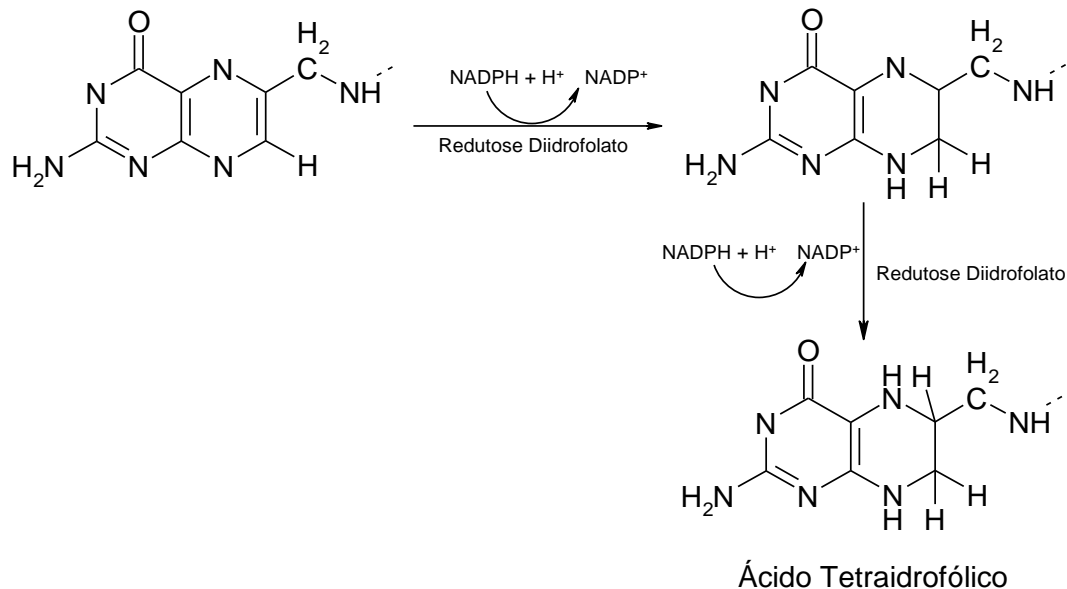
Vários ácidos pteroilglutâmicos exibem “efeito do ácido fólico”. Este funciona como um transportador dos grupos hidroximetil e formil. Talvez, seu uso mais importante no corpo humano seja na síntese das purinas e da timina, que são necessárias na formação do DNA. Portanto, o ácido fólico, como a vitamina B₁₂, é necessário para a replicação dos genes celulares. Isso pode explicar uma das mais importantes funções do AF – promover o crescimento (GUYTON e HALL 2006).

Segundo Lee e Dennis (2010), o AF tem por função transferir unidades de um carbono, como os grupamentos metil, metileno e formil, para diversos substratos através de diversas reações enzimáticas intimamente relacionadas com a síntese do DNA, RNA e proteínas. O RNA é responsável pelo transporte e codificação da informação armazenada pelo DNA e pela síntese de todas as proteínas necessárias aos seres vivos.

O AF é um composto de ácido L-glutâmico que é acoplado por meio de seu grupo α -amino ao grupo carboxila do ácido para-aminobenzóico, o qual, por sua vez, está ligado a uma 2-amino-4-hidroxipteridina representado pela forma molecular C₁₉H₁₉N₇O₆. O nome descrito pela IUPAC para esse composto é 4-[(pteridina-6-ilmetil) amino] ácido benzóico. (FENNEMA, 2010). A Figura 1 mostra a estrutura química do ácido fólico.

Figura 1 - Estrutura química do ácido fólico.

Poliglutamato é a forma inativa de vitamina B₉, enquanto monoglutamato ou ácido tetraidrofólico é a forma ativa, que atua como coenzima. Após a absorção, o PteGlu é rapidamente reduzido (Figura 2) para dar origem, primeiro ao ácido 7, 8- diidrofólico (H₂PteGlu), reação catalisada pela enzima redutase diidrofolato, e em seguida ao ácido tetraidrofólico (H₄PteGlu), plenamente reduzido nas posições 5, 6, 7 e 8, que atua como acceptor de várias unidades monocarbônicas que se ligam, preferencialmente, nas posições 5 ou 10 pteridina (FENNEMA et al. 2010).

Figura 2 – Reação de redução do ácido fólico.

Durante o transporte gastrointestinal, os poliglutamatos são hidrolisados a monoglutamatos, reduzidos e metilados a 5-metiltetraidrofolato, a forma na qual os folatos costumam ser transportados no sangue e penetram na célula após a absorção, no entanto, é

uma forma funcionalmente inativa do folato. Parte da vitamina é estocada no fígado na forma de poliglutamato, ligada a uma proteína. Os rins desempenham um importante papel na homeostase dos folatos. Após o processo de filtração, ocorre a reabsorção da vitamina, porém uma quantidade é excretada pela urina. Parte dos folatos também é excretada nas fezes. O fígado reduz e metila ativamente o ácido fólico a tetraidrofolato e transporta o 5-metiltetraidrofolato na bile para reabsorção pelo intestino e fornecimento subsequente aos tecidos (FENNEMA, 2010).

De acordo com Elias (2010), na oxidação de ácido fólico é verificada a quebra da ligação C⁹-N¹⁰. Muitas diferenças foram observadas entre os vários folatos no que diz respeito à resistência a degradação oxidativa. Além disso a resistência à quebra da ligação C⁹-N¹⁰, para folatos com substituição nas posições 5 ou 10, é maior do que para folatos não substituídos e parece ser um dos principais mecanismos de degradação da vitamina em sistemas celulares.

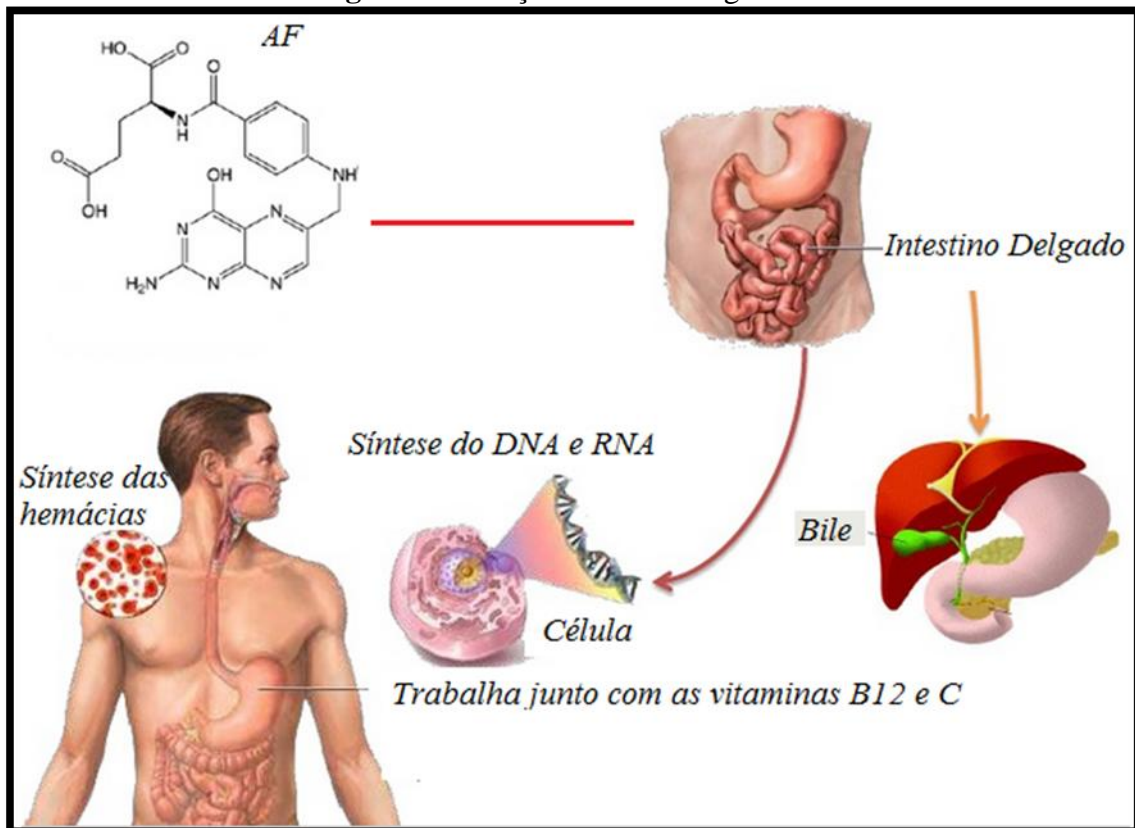
3.1.1 Doenças que podem ser provocadas pela deficiência de ácido fólico

As vitaminas são um grupo de compostos orgânicos exigidos em quantidades mínimas na alimentação, porém essenciais para o crescimento normal e para a manutenção da saúde. Dentre as vitaminas podemos citar: A, C, D, E, K, H, ácido pantotênico (vitamina que ajuda a controlar a capacidade de resposta do corpo ao stress e no metabolismo das proteínas, gorduras e açúcares), niacina, biotina, ácido fólico e as vitaminas do complexo B (B₁, B₂, B₆ e B₁₂).

O AF tem merecido papel principal como nutriente-chave das vitaminas do complexo B, ligado à manutenção da saúde e na prevenção de doença, além de participar do metabolismo à prevenção contra alguns tipos de câncer e à diminuição da concentração sanguínea de homocisteína. Sua elevação é considerada como fator de risco para a ocorrência de inúmeros casos, como demência, doença de Alzheimer, fratura óssea, cânceres, sobretudo doenças cardiovasculares. A ingestão adequada de AF poderia prevenir em até 75% dos defeitos do tubo neural (STELUTI et al. 2011).

A deficiência de AF está associada às doenças crônicas não transmissíveis, complicações na gestação e doenças neurodegenerativas (UEHARA, 2010; ROSA, 2010). A Figura 3 mostra algumas das funções do folato no nosso organismo.

Figura 3 – Função do AF no organismo.



Fonte: adaptado http://www.slideshare.net/cm_v_cris/vitaminas2012.

As anemias megaloblásticas são causadas por vários defeitos na síntese do ácido desoxirribonucleico (DNA), produzindo um conjunto comum de anormalidades hematológicas da medula óssea e do sangue periférico. O termo megaloblástico refere-se a uma anormalidade morfológica dos núcleos celulares, de fácil reconhecimento, porém difícil de descrever. As linhagens celulares eritrocíticas, granulocíticas e megacariocíticas são afetadas, podendo ocorrer pancitopenia (diminuição global de elementos celulares do sangue (glóbulos brancos, vermelhos e plaquetas)).

O reconhecimento da anemia megaloblástica é importante, uma vez que duas de suas causas mais comuns são a deficiência de cobalamina (vitamina B₁₂) e a deficiência de ácido fólico. A deficiência de AF também pode ser causada pela diminuição da ingestão, comprometimento da absorção e utilização deficiente, bem como por diversas condições caracterizadas pelo aumento das necessidades ou perdas de AF (GOLDMAN; AUSIELLO, 2010).

A deficiência dessa vitamina é descrita em adolescentes, mulheres em idade fértil, gestantes e em idosos (UEHARA, 2010; ROSA, 2010). De acordo com Goldman e Ausiello

(2010), sinais clínicos de deficiência de folato surgem após cerca de quatro meses de ingestão diminuída. A redução da ingestão constitui, sem dúvida alguma, a causa mais comum de deficiência de AF. Os indivíduos normais possuem 5.000 a 20.000 µg de folato nas reservas corporais. Como o folato sofre degradação no organismo, são excretados tanto na bile quanto na urina, 50 a 200 µg de folato.

De acordo com trabalhos publicados por PACHECO et al. (2009), defeitos como anencefalia e espinha bífida ocorrem quando o tubo neural do embrião não se fecha adequadamente para formar a medula espinhal e o cérebro. Quando o tubo neural não está corretamente fechado no extremo superior, o resultado é anencefalia (falha no desenvolvimento do cérebro) que leva à morte.

E se estiver incorretamente fechado no extremo inferior resulta em espinha bífida (espinha aberta), com paralisia da parte inferior do corpo e perda do controle das funções intestinais e da bexiga, e pode ocasionar sequelas neurológicas, urológicas e ortopédicas irreversíveis ao recém-nascido.

Xião et al. (2005) relataram em seu trabalho que a diminuição da concentração de AF em fluidos do corpo humano leva a diversas complicações, incluindo a transformação gigantocitaria, anemia, leucopenia, psicose, crescente possibilidade de ataque cardíaco (FINGLAS et al. 1999) e acidente vascular cerebral.

Segundo estudos realizados por Bar-Oz et al. (2008), a exigência do corpo humano pelo folato está relacionada com a quantidade de reprodução celular, ocorrendo em qualquer momento. Durante a gravidez essa exigência torna-se maior devido ao aumento do volume sanguíneo e a taxa de proliferação celular ativo crítico para o crescimento e desenvolvimento do feto placentário.

Ebbing et al. (2009) estudaram a incidência de câncer com tratamentos usando AF na Noruega, país onde não havia fortificação de alimentos com AF. Em seus estudos foi concluído que o uso de AF em pacientes com isquemia no coração (falta de suprimento sanguíneo para um tecido orgânico devido a obstrução causada por um trombo, formado por placas gordurosas ou por coágulos sanguíneos) pode afetar ainda mais a doença.

Qin et al. (2013) estudaram a relação da suplementação do AF com a redução do câncer. Em seus estudos ele constatou que a suplementação de AF não tem efeito significativo sobre a incidência total de câncer, tais como: câncer colorretal, câncer de próstata, câncer de pulmão, câncer de mama ou doença maligna hematológica, mas reduz o risco de melanoma.

Alguns estudos tem destacado o papel do AF na prevenção da depressão. Os dados

sobre a correlação entre a deficiência de AF e a depressão são apresentados juntamente com mecanismos plausíveis que podem ser responsáveis por esta associação. Em segundo lugar, o papel do AF no tratamento da depressão é retratado dando ênfase ao potencial do AF para aumentar a capacidade de resposta aos pacientes à medicação e o resultado terapêutico (LAZAROU e KAPSOU, 2010; SEPPÄLÄ et al. 2012).

3.1.2 Enriquecimento de farinhas de trigo e milho com AF

Os altos índices de anemia e de doenças causadas pela deficiência de ácido fólico, na população Brasileira, levaram o Ministério da Saúde e a ANVISA tornar obrigatória a fortificação das farinhas de trigo e milho.

Segundo a resolução RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002 da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), tanto as farinhas de trigo e de milho vendidas diretamente ao consumidor, quanto àquelas utilizadas como matéria-prima pelas indústrias, na fabricação de outros produtos devem ser enriquecidas com ferro e ácido fólico, desde junho de 2004. Excluem-se deste regulamento, devido a limitações de processamento tecnológico, os seguintes produtos: farinha de bijú ou farinha de milho obtida por maceração; flocão; farinha de trigo integral e farinha de trigo durum.

De acordo com esta resolução, cada 100g de farinha de trigo e de milho deverá conter 4,2 mg de ferro e 150 µg de ácido fólico. Com isso, as farinhas e produtos, como pães, macarrão, biscoitos, misturas para bolos e salgadinhos, deverão apresentar maior quantidade de ferro e ácido fólico em sua formulação final.

A Tabela 1 mostra os valores de ingestão diária recomendada (IDR) para folatos de acordo com a Academia Nacional de Ciências. IDR é a quantidade de proteína, vitaminas e minerais que deve ser consumida diariamente para atender às necessidades nutricionais da maior parte dos indivíduos e grupos de pessoas de uma população sadia.

Tabela 1- Ingestão Diária Recomendada (IDR) para folatos.

Infantil	µg
0 a 6 meses	65
6 a 12 meses	80
Crianças	
1-3	150
4-8	200
Homens	
9-13	300
14-18	400
19-30	400
31-50	400
51-70	400
> 70	400
Mulheres	
9-13	300
14-18	400
19-30	400
31-50	400
51-70	400
>70	400
Gravidez	
4-18	600
19-30	600
31-50	600
Lactação	
14-18	500
19-30	500
31-50	500

Fonte: ANVISA, 2005

3.1.3 Suplementação medicamentosa com ácido fólico

O ácido fólico apresenta maior estabilidade que as demais substâncias que representam a vitamina B₉, por isso é a mais utilizada na formulação de comprimidos.

No decorrer desse estudo foram selecionados dois tipos de medicamentos para o estudo do AF. Estes estão disponíveis em drogarias e são frequentemente indicados para mulheres durante o período gestacional. Foram estudados o medicamento classificado como de referência e similar.

Define-se medicamento como um agente destinado a diagnóstico, tratamento, cura ou prevenção de doenças em seres humanos ou animais (SOUZA, 2011; SOUZA et al. 2012). O medicamento industrializado é um produto científico híbrido, que deve ser considerado tanto nas suas dimensões de instrumento terapêutico, como de bem de consumo. Os mesmos estão divididos em três classes: referência, similar e genérico.

3.1.3.1 Medicamento de Referência

Segundo a Lei 9787/99, medicamento de referência é um produto inovador registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária e comercializado no País, cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro (BRASIL, 1999).

3.1.3.2 Medicamento Similar

De acordo com o Ministério da Saúde, medicamentos similares são aqueles que possuem o mesmo fármaco, a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica de um medicamento de referência, mas que não passaram por testes que comprovem igual efeito no mesmo espaço de tempo que o de referência e, portanto, não podem ser considerados como cópias fiéis daqueles medicamentos (BRASIL, 1998). O medicamento similar é uma opção de comercialização definida estrategicamente pela empresa produtora e não pode ser utilizada para gerar confusão nos profissionais de saúde e nos pacientes, devendo ser apresentados com nome de fantasia (JATENE et al. 2002, p.141). A resolução nº 134, de 29 de maio de 2003, foi elaborada devido à necessidade de comprovação da eficácia e da segurança dos produtos similares. Segundo a nova legislação, a garantia da qualidade de um medicamento similar deve compreender estudos controlados, envolvendo ensaios de equivalência farmacêutica e biodisponibilidade relativa (ANVISA, 2005).

3.1.3.3 Medicamento Genérico

É um medicamento similar a um produto de referência ou inovador, que pretende ser com este intercambiável, geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, comprovada a sua eficácia, segurança e qualidade, e designado pela Denominação Comum Brasileira (DCB) ou, na sua ausência, pela Denominação Comum Internacional (DCI) (BRASIL, 1999). Na embalagem dos genéricos deve estar escrito "Medicamento Genérico" na tarja amarela e deve constar a Lei nº 9.787/99. Como os genéricos não têm marca, o que se lê na embalagem é o princípio ativo da forma farmacêutica.

O preço do medicamento genérico é menor, visto que os seus fabricantes não necessitam fazer investimentos em pesquisas para o seu desenvolvimento, pois as formulações já estão definidas pelos medicamentos de referência. Outro motivo para os preços reduzidos dos genéricos diz respeito ao *marketing*, uma vez que seus fabricantes não necessitam fazer propaganda, pois não há marca a ser divulgada (BRASIL, 1999). Para que uma indústria farmacêutica consiga a licença para comercializar um medicamento como genérico, ela precisa solicitar ao órgão regulatório da saúde do país, que no Brasil fica sob a responsabilidade da ANVISA, na qual são realizados diversos testes para comprovar que, o medicamento, candidato a genérico, possua as mesmas características de eficácia e segurança do medicamento de referência (ANVISA, 2005).

3.1.4 Alguns excipientes constituintes nos medicamentos.

Segundo Longhini (2006), a qualidade de uma formulação não depende apenas da substância ativa e do processo de produção, mas também dos adjuvantes. Na preparação de formas farmacêuticas sólidas os excipientes normalmente acrescentados são materiais de carga e enchimento, aglutinantes, antiaderentes, deslizantes e lubrificantes, desintegrantes e agentes de revestimentos. Eles devem conferir as propriedades exigidas, oferecendo estabilidade à forma farmacêutica, mas sem interferir nas propriedades farmacológicas, ou de garantia de eficácia terapêutica.

3.1.4.1 Celulose microcristalina

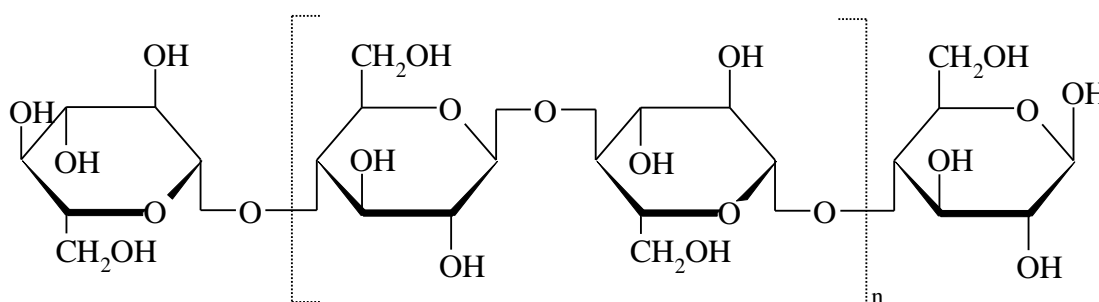
A celulose microcristalina (Figura 4) é o polissacarídeo mais encontrado na natureza (BRUICE, 2004) e de larga aplicação industrial. É um dos polímeros da glicose encontrado em plantas. Este polímero é insolúvel em água e tem função estrutural nas plantas. As propriedades físicas deste material resultam da massa molecular muito alta (cerca de 3.000 unidades de glicose) e do fato de que não há ramificações (ALLINGER et al. 1985). A fotossíntese das plantas é responsável pela formação de 10^9 toneladas por ano de celulose (CAREY, 2000).

A celulose microcristalina é largamente utilizada em produtos farmacêuticos para formulações de cápsulas e comprimidos de uso oral. No processo de fabricação pode tanto ser usado na granulação por via úmida como na compressão direta (RAYMOND et al. 2006).

Em adição ao seu uso como diluente, a celulose microcristalina também pode ser usada como agente lubrificante e desintegrante. Propriedades muito necessárias numa formulação (SARKER; NAHAR, 2007).

Mesmo sendo um composto estável, a celulose microcristalina é higroscópica e incompatível com agentes oxidantes fortes. É insolúvel em água, em ácidos diluídos e na maioria dos solventes orgânicos (FERREIRA, 2000).

Figura 4 - Estrutura química da celulose microcristalina.

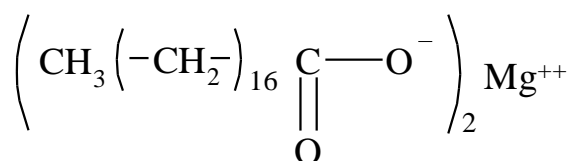


3.1.4.2 Estearato de magnésio

O estearato de magnésio (Figura 5) apresenta fórmula empírica $C_{36}H_{70}MgO_4$ e massa molecular $591,3\text{g mol}^{-1}$. É um composto de magnésio com uma mistura de ácidos orgânicos sólidos que consiste principalmente de proporções variáveis de estearato de magnésio e palmitato de magnésio ($C_{32}H_{62}MgO_4$) (USP30-NF25).

Ele é amplamente utilizado em produtos cosméticos, alimentícios e formulações farmacêuticas. É empregado principalmente como um lubrificante em cápsulas, comprimidos e cremes (RAYMOND et al. 2006). Lubrificantes são conhecidos por aumentar o tempo de desintegração de comprimidos, devido às suas propriedades hidrofóbicas, e tem como função primária diminuir a fricção entre os grânulos ou pó (LACMAN et al. 2001; SOUZA, 2011).

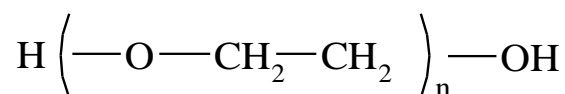
Figura 5 - Estrutura Química do Estearato de Magnésio.



3.1.4.3 Polietilenoglicol 6000

O polietilenoglicol (Figura 6) é o polímero formado a partir do etileno glicol. Também chamado na sua forma abreviada PEG. Possui importância na farmácia, sobretudo nos dias atuais, para os mais novos sistemas de liberação controlada de fármacos. Apresenta massa molar de 8000 g mol^{-1} e ponto de fusão de $55\text{-}60 \text{ }^\circ\text{C}$. O caráter não iônico associado à cadeia de polietilenoglicol de alta massa molar confere a este produto baixa irritabilidade dérmica, além de excelente poder de espessamento. Esta matéria prima torna-se um espessante diferenciado para aplicação em formulações que tenham como apelo a suavidade, tais como xampus de uso diário, xampus infantis, sabonetes líquidos e banhos de espuma (RAYMOND et al. 2006).

Figura 6 - Estrutura química do polietileno glicol 6000.



3.1.4.4 Corante lacca alumínio amarelo nº 10

Segundo a Farmacopeia Brasileira (2010), o corante lacca é um pó fino, amarelo-alaranjado e higroscópico; praticamente insolúvel em água e em etanol; solúvel em hidróxido de sódio, porém o decompõe-se lentamente em pH alcalino. É utilizado em cosméticos e medicamentos em geral. Segundo a (IUPAC) é um sal dissódico do ácido 2-(2-quinolil)-1,3-indandiona dissulfônico. Contém, no mínimo, 95% e, no máximo, 105% do teor de corante declarado no rótulo.

3.1.4.5 Tartrazina

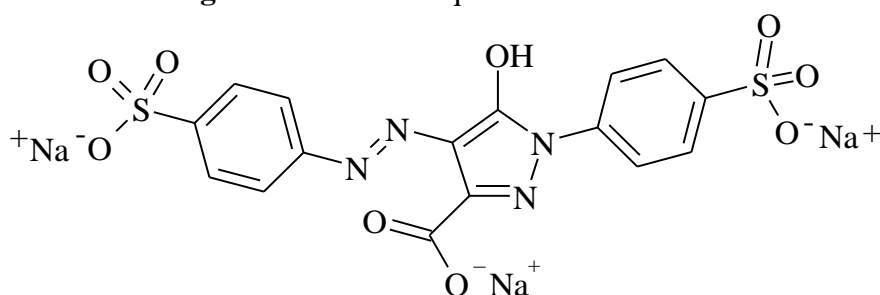
A tartrazina é um pigmento sintético pertencente ao grupo funcional dos azo-compostos (compostos orgânicos que apresentam dois nitrogênios unidos por dupla ligação em sua estrutura química). Possui solubilidade na água e seu uso mais frequente se dá em produtos de confeitaria (bala, goma de mascar, gelatina), como também em cosméticos e

medicamentos.

No Brasil, a tartrazina tem o seu uso restrito e regulado pela ANVISA, que estabelece normas para sua aplicação em medicamentos, os quais devem possuir mensagem alertando sobre possíveis reações alérgicas em pessoas sensíveis à tartrazina, como a asma, bronquite e urticária.

Em geral, as preocupações com a segurança dos corantes em produtos farmacêuticos e alimentos estão associados com relatos de hipersensibilidade especialmente entre as crianças (RAYMOND et al. 2006) .

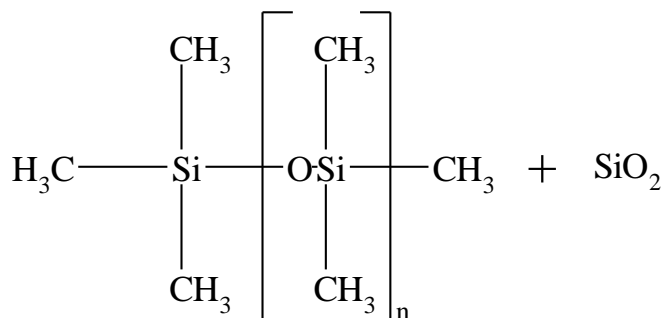
Figura 7 – Estrutura química da tartrazina.



3.1.4.6 Simeticona

O nome químico do composto é α - (trimetil- ω polimetiloxietileno), misturado com dióxido de silício (adequado para uso como excipiente, diminuindo a tensão superficial das bolhas de gás presentes no trato gastrintestinal, facilitando sua eliminação (Klasco, 2012). É um agente antiespumante (MOORE et al. 2002), com ação antiflatulenta, que alivia o mal estar gástrico causado pelo excesso de gases (medicinanet, 2013).

Figura 8 – Estrutura química da simeticona



3.1.5 A quantificação de ácido fólico é garantida através de análise de controle de qualidade.

A determinação de ácido fólico é muitas vezes necessária em amostras de alimentos e produtos farmacêuticos (BAIZHAO ZENG, 2005). Os métodos usados para estas análises são geralmente a espectrofotometria na região do visível e a cromatografia líquida de alta eficiência.

Uma pesquisa elaborada pela Gerência Geral de Laboratórios de Saúde Pública – GGLAS (2004) teve como objetivo principal, identificar laboratórios que prestavam serviços de análises de nutrientes e as respectivas metodologias utilizadas na determinação de ácido fólico em alimentos. Posteriormente, os laboratórios que respondessem à pesquisa seriam convidados a participar de um Programa de Ensaio de Proficiência para avaliação de sua competência técnica na realização dessas análises e, conseqüentemente, participar de avaliação interlaboratorial para validação de metodologias de interesse. Além disso, seriam incentivados a solicitar habilitação junto à Gerência Geral de Laboratórios de Saúde Pública - GGLAS para virem a ser parte da Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde – REBLAS/ANVISA.

Dos 16 laboratórios que realizaram análise de ácido fólico, 10 declararam determinar este nutriente utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), 04 utilizando método microbiológico (os ensaios de crescimento microbiológicos servem de método tradicional de análise de folato, sendo baseados nas necessidades nutricionais dos microorganismos *lactobacillus casei*, que responde a todas as formas de folato, sendo o organismo mais adequado para o teste microbiológico do total de folato em alimentos) e 01 declarou utilizar ambos os métodos. Apenas 01 entre os 16 laboratórios declarou fazer este tipo de análise por espectrofotometria. Pelo exposto na Tabela 2, observa-se que os laboratórios seguem metodologias diversas para a determinação do ácido fólico.

Com relação à validação de metodologias (Tabela 3), 09 laboratórios declararam realizar validação intralaboratorial, enquanto 04 realizaram validação interlaboratorial. Observa-se que houve variação nos limites de detecção e quantificação informados pelos laboratórios, com relação aos métodos utilizados para este tipo de análise.

As matrizes estabelecidas pela pesquisa foram contempladas por todos os participantes sendo que alguns laboratórios informaram analisar ácido fólico/folatos também em outras matrizes. A grande maioria (11 laboratórios) utiliza padrão certificado oriundo de

diversos proveedores.

Tabela 2 - Declaração dos Laboratórios Quanto ao Método Utilizado na Determinação de Ácido Fólico

Laboratório	Método	Referência	Equipamentos
001	Cromatográfico	LIMA, J.A.; CATHARINO, R. R.; GODOY, H.T. Methodology for folic acid determination in enriched wheat flour and bread. Técnica Molitoria International, March, p. 151-158, 2004.	CLAE com detector de arranjo de diodos.
002	Cromatográfico	MAEDA et all, J. Assoc. of anal. Chem. Vol. 72 nº 2, 1989.	CLAE (UV)
003	Microbiológico	AOAC official method 944.12	Espectrofotômetro
008	Cromatográfico e Microbiológico	CLAE - LIMA, J. A.; CATHARINO, R. R.; GODOY, H.T. Methodology for folic acid determination in enriched wheat flour and bread. Técnica Molitoria International, March, p. 151-158, 2004. Lima, J.A; Godoy, H.T. contribuição ao estudo do ácido fólico em alimentos enriquecidos. Dissertação de mestrado. FEA/UNICAMP. Campinas, São Paulo, 2001. MICROBIOLÓGICO - determinação de ácido fólico em produtos determinados por dosagem microbiológica. Roche Vitaminas, 2003.	Cromatógrafo líquido, espectrofotômetro.
011	Cromatográfico	Avaliação das condições experimentais de CLAE na determinação de ácido fólico em leite enriquecido.	CLAE com fase reversa com detector UV/VIS, banho ultrassônico.
012	Espectrofotometria	Farmacopeia Brasileira 2ª edição. P. 55.	Espectrofotômetro
014	Cromatográfico	H. Henninger et all. Determination of water- soluble vitamins B1, B2, B6, PP and folic acid in dry vitamins premixes by CLAE. Analytical methods for chemical division – São Paulo.	Cromatógrafo líquido marca Merck Hitashi.
015	Cromatográfico	Desenvolvido e validado pelo laboratório.	Cromatógrafo líquido
018	Cromatográfico	CATHARINO, R. R.; GODOY, H. T. Avaliação das condições experimentais na CLAE para a determinação de ácido fólico em leites enriquecidos. Ciência Tecnologia de Alimentos , v.23,n. 3, p. 389-395, 2003.	Cromatógrafo líquido
019	Microbiológico	AOAC 2000 – METHOD 960.46	Autoclave, estufa, centrífuga, pHmetro, espectrofotômetro, balança analítica.
020	Cromatográfico	Desenvolvido pelo laboratório.	Varian pro star com PDA.
022	Microbiológico	AOAC (1996) “folic acid (pteroylglutamic acid) in infant formula – microbiological methods”. AOAC official methods 992.05, final action 1995.	Diluidor e leitor automático- marca Gilson 222 KL, espectrofotômetro farmácia Biotech Novaspec II.
023	Microbiológico	AOAC international. Official methods of analysis of AOAC international. 17 th Ed. Gainthersburg. 2000; method 944.12.	Espectrofotômetro
024	Cromatográfico	FCC; Lanara/ USP/ AOAC	CLAE; CFG/ GC-MS/ UV-VIS
025	Microbiológico	AOAC M. 944.12	Estufa, contador de places.
026	Cromatográfico	AOAC 960. 46	Balança, banho-maria, centrífuga, shaker.

Tabela 3 – Informações sobre os Métodos Utilizados pelos Laboratórios que Analisam Ácido Fólico

Validação		Limites			Matriz				Padrão	
Laboratório	Intralab	Interlab	LOD	LOQ	Farinha de trigo	Farinha de milho	Outros	Quais	Padrão certificado	Origem
001	Sim		10 mcg/100g	40 mcg/100 g	Sim	Sim	Não		Sim	Merck- Alemanha
002	Sim		0,02 mcg/ 100g	1 mcg/ 100 g	Sim	Sim	Sim	Tônicos orais	Sim	Chem service
003			0,2 ppm		Sim	Sim	Não		Não	
008			1,3 ng/ g (CLAE)	2,6 ng/g (CLAE)	Sim	Sim	Não		Não	
011	Não	Não	0,01 mg/ Kg	0,025 mg/Kg	Sim	Sim	Sim	Massas e produtos a base de farinhas, pizzas, laticínios.	Não	
012	Não	Não	Em estudo	Em estudo	Sim	Sim	Sim	Pães, bolachas, bolos e macarrão.	Não	
014	Não	Não	0,1 mcg/ml	5 mg/ Kg	Sim	Sim	Sim	Suplementos alimentares.	Sim	
015	Sim	Não	1 ng/ 100 g	3 ng/100g	Sim	Sim	Sim	Pães, cereais matinais, biscoitos e bolos.	Sim	Bélgica
018	Sim	Não	1,3 ng/g	2,6 ng/g	Sim	Sim	Sim	Pães e snacks de milho.	Sim	Bélgica
019	Não	Não	0,2 µ/ml	Não disponível	Sim	Sim			Sim	Difco e Merck
020	Sim	Sim	0,03 mg/ 100 g	0,06 mg/100g	Sim	Sim	Não		Sim	USP
022	Sim	Sim	5 ug/ 100 g	15 ug/100g	Sim	Sim	Sim	Cereais infantis e matinais.	Sim	CRN-Nestlé Suíça
023	Sim	Sim	0,5 ng	7,5 mcg/100 g	Sim	Sim	Não		Sim	Difco ref. 0822-15.9
024	Sim	Sim	Em função da matriz	Em função da matriz	Sim	Sim	Sim		Sim	USP/ F. Brasileira/ Aldrich/ F. Britânica.
025	Sim	Sim	10 ng/mg	10 ng/mg	Sim	Sim	Não		Sim	Accustandard, ultra scientific e chemscience
026	Não	Não			Sim	Sim	Não		Não	

Fonte: ANVISA, 2005

3.2 ELETROANÁLISE: NOVA ALTERNATIVA

Na prática, numerosos procedimentos têm sido desenvolvidos para a determinação do ácido fólico em formulações farmacêuticas e alimentos, tais como: Quimiluminescência (NIE et al. 2000), Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas (PAWLOSKY et al. 2003; KOK et al. 2004; LEPORATI et al. 2005; NELSON et al. 2006; NIESSER et al. 2013), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (RUGGERI et al. 1999; FINGLAS et al. 1999; BREITHAUPT 2001; VINÃS et al. 2003; AURORA-PRADO et al. 2004; QUIRÓS et al. 2004; JIN et al. 2012; ZHU et al. 2013), Espectrofotometria (NAGARAJA et al. 2002), Análise por Injeção em Fluxo Acoplada à Espectrometria de Massas (BHANDARI et al. 2012), Espectrofluorimetria (MANZOORI et al. 2011) e Fluorescência (ALAM et al. 2012).

No caso dos métodos espectrofotométricos um dos problemas encontrados envolve a presença de interferentes. Outros problemas são a necessidade de derivatização ou procedimentos demorados para os ensaios cromatográficos, além do uso de solventes que contribuem para a redução do tempo de vida das colunas e do equipamento e o custo elevado.

Os ensaios microbiológicos para a quantificação de ácido fólico apresentam baixa definição dos resultados, são testes demorados, exigem conhecimento microbiológico, apresenta sensibilidade a microorganismos e requerem manutenção adequada (ARCOT e SHRESTHA, 2005).

Em contraste a este problema, métodos eletroanalíticos têm sido alternativas interessantes, especialmente, devido à sensibilidade, facilidade no manuseio, menor custo e tempo de análise relativamente curto quando comparado com as técnicas mais recomendadas pelos compênios oficiais.

Historicamente, o desenvolvimento das técnicas voltamétricas reporta-se, principalmente, aos estudos de Jaroslav Heyrovský que, em 1922, desenvolveu a polarografia, o que lhe rendeu em 1959 o Prêmio Nobel de Química. Nos últimos 15 anos, a utilização de técnicas voltamétricas tem aumentado intensamente, principalmente em função dos avanços tecnológicos que propiciaram o desenvolvimento de diferentes técnicas envolvendo a aplicação de pulsos de potencial, as quais são poderosas ferramentas para determinações analíticas e estudos de reações de transferência de carga na interface eletrodo-solução.

Considerando-se o uso de parâmetros experimentais e voltamétricos previamente otimizados, as técnicas voltamétricas modernas, tais como, a voltametria de pulso diferencial,

a voltametria de onda quadrada e a voltametria de ondas quadradas múltiplas são capazes de fornecer sensibilidade analítica similar e, algumas vezes, até melhor do que aquela obtida com o emprego das técnicas cromatográficas de separação e detecção ou com as técnicas espectroscópicas.

Ribeiro et al. (2008) trabalharam com eletrodo DDB aplicando voltametria de onda quadrada adsortiva (SW-AdsV) para a determinação de prometazina em formulações farmacêuticas, alcançando um limite de detecção de $2,66 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão (Britton-Robinson) pH 4,0. De acordo com os pesquisadores, o uso da VWQ (voltametria de onda quadrada) revelou boa correlação linear entre a corrente de pico e o aumento da concentração da prometazina.

Dantas et al. (2010) trabalharam com eletrodo sólido de amálgama de prata (p-AgSAE) aplicando a voltametria de onda quadrada para a determinação de cetoconazol em formulações comerciais (comprimidos, shampoo e creme antimicótico) alcançando um limite de detecção de $1,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. De acordo com os autores o sensor (p-AgSAE) juntamente com a técnica aplicada exibiu rápida resposta voltamétrica, boa seletividade e forte aplicabilidade em amostras reais.

Lima-Neto et al. (2010) trabalharam com eletrodo de diamante dopado com boro, em diferentes concentrações de dopagem (i.e., 5.000, 10.000 e 20.000 mg L^{-1}), aplicando a voltametria de onda quadrada para determinação de nitrofurano em formulações farmacêuticas comerciais (cápsulas). De acordo com os autores o uso da técnica e a otimização dos parâmetros durante a análise (pH, dopagem) revelaram que o eletrodo exibiu boa relação linear (0,999) entre a corrente de pico e a concentração do nitrofurano, mostrando que as técnicas eletroanalíticas podem ser aplicadas para análise e controle de qualidade de formulações farmacêuticas. Ambos os estudos têm relatado alta seletividade e sensibilidade para quantificar compostos presentes em formulações farmacêuticas, empregando técnicas eletroanalíticas.

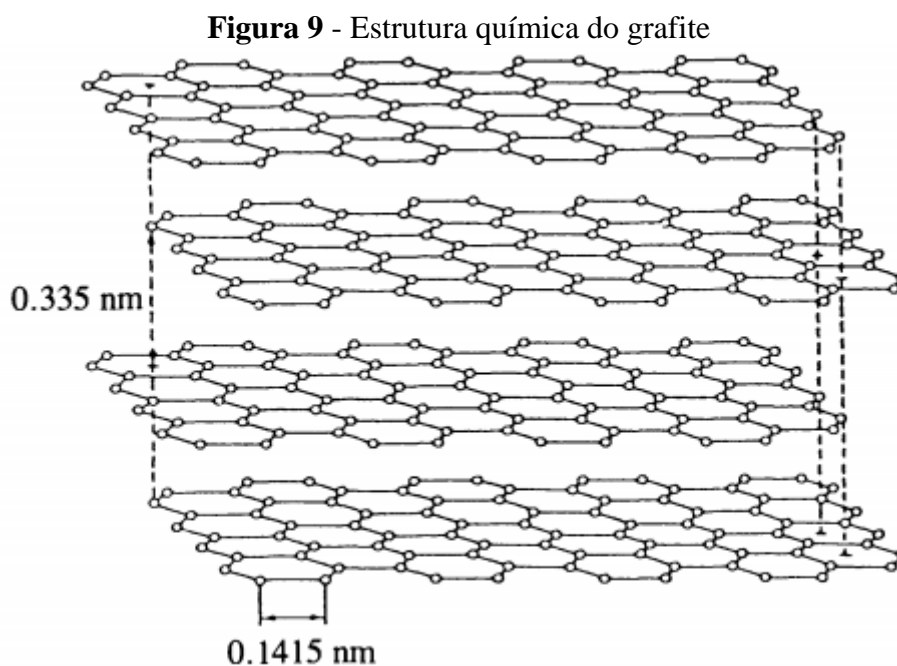
Ribeiro et al. (2011) realizaram estudos cinéticos do haloperidol (fármaco utilizado pela medicina para tratamento de esquizofrenia), utilizando voltametria de onda quadrada, com o eletrodo de gota pendente de mercúrio. Oliveira et al. (2011) usaram eletrodo de mercúrio aplicando a voltametria adsortiva de onda quadrada para a determinação eletroanalítica de dexametasona, alcançando limites de quantificação de $8,47 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$.

3.2.1 Carbono

O carbono é um dos elementos mais abundantes na natureza, onde se encontra livre sob três formas alotrópicas principais: diamante, carbono amorfo e o grafite. O grafite e o diamante são materiais que, embora sejam formados pela mesma substância química, possuem características e propriedades bastante distintas, as quais podem ser justificadas pelas diferentes estruturas apresentadas por estes materiais (LOPES, 2007).

A estrutura grafite (Figura 9) é uma forma alotrópica do carbono encontrada naturalmente. Bastante abundante e de estrutura significativamente estável e resistente o grafite é um material que tem sido amplamente utilizado para produzir nanocompósitos poliméricos, atribuindo ao material final propriedades desejáveis, em especial, boa condutividade elétrica e elevada resistência. A estrutura grafite é constituída por milhares de folhas (camadas) de grafeno, onde os átomos de carbono estão firmemente empacotados em uma rede bidimensional de sucessivos hexágonos (GHENO et al. 2008).

O diamante, o grafite e o fulereno são alótropos do carbono e diferem pelo arranjo geométrico. Estas três formas são substâncias, porém, a grande diferença entre elas é a maneira como os átomos ficam organizados nas moléculas.



Fonte: (BRETT, 1993)

3.2.2 Grafite: uma alternativa para a quantificação de AF em medicamentos

Vários tipos de carbono são usados como eletrodos. Estes incluem carbono vítreo, fibras de carbono, várias formas de grafite e pasta de carbono, que consiste em partículas de grafite incorporadas a uma matriz inerte. Eles são todos carbonos sp^2 , provavelmente o mais amplamente utilizado destes é o carbono vítreo. Os eletrodos feitos com pasta de carbono ou de grafite misturados com um diluente hidrofóbico tais como nujol, parafina, borracha de silicone, resina epoxi e teflon, também têm sido utilizados. Além de ter grande área superficial, apresentam baixo custo e são amplamente utilizados para a remoção de compostos orgânicos em reatores eletroquímicos.

As reações eletroquímicas são normalmente mais lentas em carbono do que em eletrodos metálicos (OLSON e ADMAS, 1960), sendo a cinética de transferência de elétrons dependente da sua estrutura e preparação da superfície.

O carbono tem uma grande atividade superficial, o que explica a sua suscetibilidade à envenenamento (passivação) por compostos orgânicos. Ligações de hidrogênio, hidroxilas e grupos carboxílicos, e, por vezes, quinonas, podem ser formados na superfície do carbono. A presença destes grupos funcionais explica porque estes eletrodos podem ser muito sensíveis ao pH (BRETT, 1993).

Diversos pesquisadores tem trabalhado com eletrodos modificados para a determinação de AF em alimentos e formulações farmacêuticas, como é o caso de Wan e Yang (2002) que determinaram AF usando eletrodo de ouro modificado com 2-mercaptobenzotiazol. De acordo com os dados apresentados pelos autores, o eletrodo modificado melhorou a resposta da corrente do AF, um excelente comportamento quando comparado ao material não modificado. Baseado nesse parâmetro foi determinado a concentração de AF em produtos farmacêuticos alcançando LD de $4,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. A motivação para a modificação da superfície dos eletrodos está relacionada com algumas vantagens tais como: melhoria na atividade electrocatalítica, eliminação de incrustações na superfície e prevenção de reações indesejáveis.

Caselunghe e Lindeberg (2000) determinaram ácido fólico em amostras de alimentos fortificados usando um biossensor. Wei et al. (2005) trabalharam com eletrodo de ouro modificado com multicamadas de nanotubos de carbono (Au/WWC) para a quantificação de AF. De acordo com os autores o novo sensor exibiu rápida resposta voltamétrica, alcançando um limite de detecção de $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ de AF.

Wang et al. (2006) aplicaram um eletrodo de película de nanocarbono de parede simples para a determinação de AF. Usando voltametria de onda linear e obtendo um limite de detecção de $1,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹.

Vaze e Srivastava (2007) observaram o comportamento do AF em eletrodo de pasta de carbono modificado com calixareno, aplicando voltametria de pulso diferencial adsortiva. Segundo os pesquisadores, o limite de detecção obtido foi de $1,24 \times 10^{-12}$ mol L⁻¹. Este método foi usado para a determinação de AF em suco e espinafre.

Xião et al. (2008) utilizaram eletrodo de carbono vítreo (ECG) modificado com nanotubos de carbono de parede simples e recoberto com líquido iônico 1-octil-3-metilimidazólio hexafluorofosfato (OMIMPF₆) para a análise de AF em suco de frutas e farinhas de trigo, usando voltametria de pulso diferencial, obtendo um LD abaixo de $1,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹.

Prasad et al. (2010) desenvolveram polímeros sintéticos com impressão molecular para análise de ácido fólico ultratraço com limite de detecção de $3,6 \times 10^{-9}$ g L⁻¹. A biomimetização de interações bioquímicas é um dos maiores desafios em várias áreas da ciência. A partir deste ponto de vista, polímeros sintéticos com impressão molecular mais conhecidos como MIP (Molecularly Imprinted Polymers), têm atraído considerável atenção na última década (Tarley et al. 2005a; 2005b), pois aparecem como uma ferramenta promissora para o desenvolvimento de sistemas com reconhecimento biomimético semelhante aos sistemas específicos enzima-substrato e/ou antígeno-anticorpo.

Korolczuk e Tyszczyk (2007) determinaram ácido fólico usando voltametria adsortiva por redissolução, com eletrodo de filme de chumbo. O filme foi formado no eletrodo de carbono vítreo e obteve-se um limite de detecção de 7×10^{-10} mol L⁻¹.

YANG et al. (2011) modificaram o eletrodo de carbono vítreo com mesoporos de carbono para identificar e quantificar o ácido fólico em comprimidos, com limites de detecção menor do que $6,0 \times 10^{-11}$ mol L⁻¹. Segundo os autores, o eletrodo modificado apresentou alta seletividade durante as medidas voltamétricas do ácido fólico em solução neutra, podendo este sensor determinar de forma direta a concentração de ácido fólico em comprimidos e urina.

Beitollahi e Sheikhshoae (2011) modificaram eletrodo de pasta de carbono com um complexo de molibdênio para determinar normeperidina na presença de acetaminofeno e ácido fólico, usando VPD. O eletrodo modificado apresentou excelente efeito eletrocatalítico na oxidação da norepinephrine, com LOD de 4,3 nM.

Todos estes trabalhos apresentados fazem uso da eletroanálise para a quantificação de compostos orgânicos, contudo precisa-se de estudos comparativos dessa técnica em relação a técnica padrão aplicada no controle de qualidade desses medicamentos. O estudo eletroquímico do AF foi desenvolvido com o objetivo de mostrar a versatilidade da técnica.

Rastakhis et al. (2012) usaram eletrodo de pasta de grafite modificado com nanotubos de carbono para determinar carbidopa (indicada para o tratamento da doença e da síndrome de Parkinson) em urina, na presença de ácido úrico e ácido fólico, usando tampão fosfato como eletrólito de suporte; um sensor eletroquímico que permitiu a determinação bem sucedida dos três compostos em amostra real (formulações farmacêuticas), alcançando um limite de detecção de 2 nM. Todos estes estudos têm relatado alta seletividade e sensibilidade para quantificar AF, empregando técnicas eletroanalíticas.

Alguns pesquisadores têm usado novas estratégias para determinação simultânea de compostos orgânicos em amostras reais, incluindo o ácido fólico.

Salmanipour et al. (2013) determinaram n-acetilcisteína e ácido fólico em soluções, usando eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono, de acordo com os seus resultados o eletrodo modificado apresentou maior sensibilidade durante as medidas voltamétricas com n-acetilcisteína e AF em soluções.

Baghbamidi et al. (2013) trabalharam com eletrodo de pasta de carbono, modificado com nanotubos de carbono, empregando a voltametria cíclica, de onda quadrada e cronoamperometria para estudar a oxidação de AF. O eletrodo foi usado para determinação de AF em urina.

Mirmoghtadaie et al. (2013) trabalharam com eletrodo de ouro modificado com nanopartículas de ouro para determinação de AF, utilizando a voltametria de pulso diferencial. Os autores aplicaram o método para determinar AF em comprimidos, espinafre e farinhas de trigo fortificadas.

4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

4.1 MEDICAMENTOS

Os medicamentos foram adquiridos do comércio local na cidade de Natal/RN. Duas marcas de medicamentos foram selecionadas para o procedimento experimental, um deles denominado medicamento de referência e o outro similar. Eles foram classificados como **AM1** e **AM2**. As especificações dos medicamentos estão mostradas na Tabela 4.

Tabela 4- Composição dos medicamentos utilizados na pesquisa.

Amostra	Princípio Ativo	Excipientes presentes nos comprimidos	Média das Massas de 20 Comprimidos (mg)	Teor médio teórico de AF (%)
AM 1	Ácido fólico 5 mg	Celulose, lactose, estereato de magnésio, amidoglicolato de sódio, talco, polissorbato 80, polietilenoglicol 6000, dióxido de titânio, corante lacca nº 10 e nº 6, copolímero ácido metacrílico L30D, simeticona, trietilcitrato, álcool isopropílico, água de osmose.	138,0	3,26 - 3,98
AM 2	Ácido fólico 5 mg	Celulose microcristalina, lactose, amidoglicolato de sódio, estereato de magnésio, dióxido de silício, álcool isopropílico, copolímero do ácido metacrílico, trietil citrato, talco, dióxido de titânio, corante amarelo tartrazina, laca nº 5, corante azul alumínio laca nº2, macrogol 6000 e água deionizada, contem tartrazina.	109,2	4,12 - 5,03

4.2 GRAFITE

A pasta de grafite utilizado durante o experimento foi fornecido pelo laboratório de química analítica e meio ambiente da UFRN, formato de barra.

4.3 EXCIPIENTES SINTÉTICOS

Alguns excipientes sintéticos, tais como: amidoglicolato de sódio, estearato de magnésio e talco, foram obtidos no laboratório de controle de qualidade de medicamentos (LCQM) no departamento de farmácia-UFRN.

4.4 PREPARO DAS AMOSTRAS

4.4.1 Pasta de grafite

A barra de grafite foi raspada com uma espátula de aço inoxidável para obtenção do pó de granulometria de 100 mesh. O material foi homogeneizado usando almofariz de ágata com pistilo, em seguida armazenado em frascos para posterior análise.

4.4.2 Resíduos da barra de grafite

Aproximadamente 1 g de grafite em pó foi pesado e colocado em cadinho de porcelana. Em seguida, foi até 900 °C no forno mufla - modelo GP – 2000 para posterior caracterização.

4.4.3 Eletrodo de Trabalho

Em um vidro de relógio limpo e seco pesou-se 0,300 g de pó de grafite e, em seguida foram adicionadas duas gotas de óleo mineral (nujol). Essa mistura de óleo e pó foi homogeneizada em almofariz. Para o preparo do eletrodo (EPG) empregou-se um fio de cobre com 20 cm de comprimento e um tubo cilíndrico de plástico com 3 cm de comprimento; 4 mm de diâmetro interno e 6,5 mm de diâmetro externo (Figura 10). Em seguida, a pasta de carbono foi empacotada dentro do cilindro.

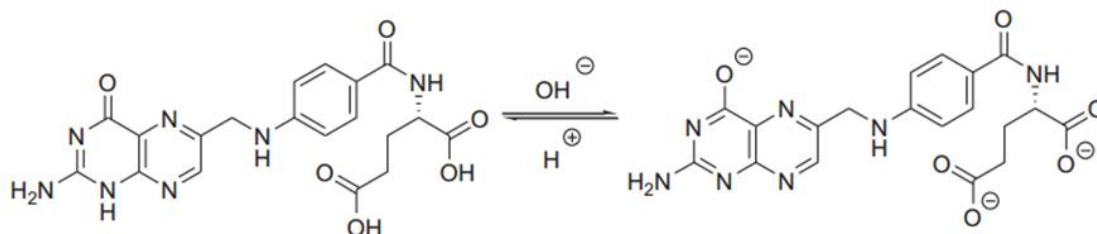
Figura 10 – Imagem do eletrodo de pasta de grafite (EPG) utilizado durante o procedimento experimental.



4.4.4 Comprimidos

Os comprimidos das amostras AM1 e AM2 foram pesados, pulverizados em almofariz com pistilo de ágata, acondicionados em frascos de vidros âmbar e armazenados em dessecador para posterior análise. As soluções foram preparadas em meio alcalino (NaOH 0,1 mol L⁻¹). A Figura 11 mostra a estrutura molecular do ácido fólico em meio alcalino.

Figura 11 – Estrutura química do ácido fólico em meio alcalino.



Fonte: Geszke-Moritz et al. (2012)

4.4.5 Extração do ácido fólico dos comprimidos: análise termogravimétrica e espectrometria de absorção na região do infravermelho.

Nesse procedimento as análises de IV e TG, realizou-se precipitação de ácido fólico na solução após a adição de ácido clorídrico concentrado (Farmacopeia Brasileira, 2010).

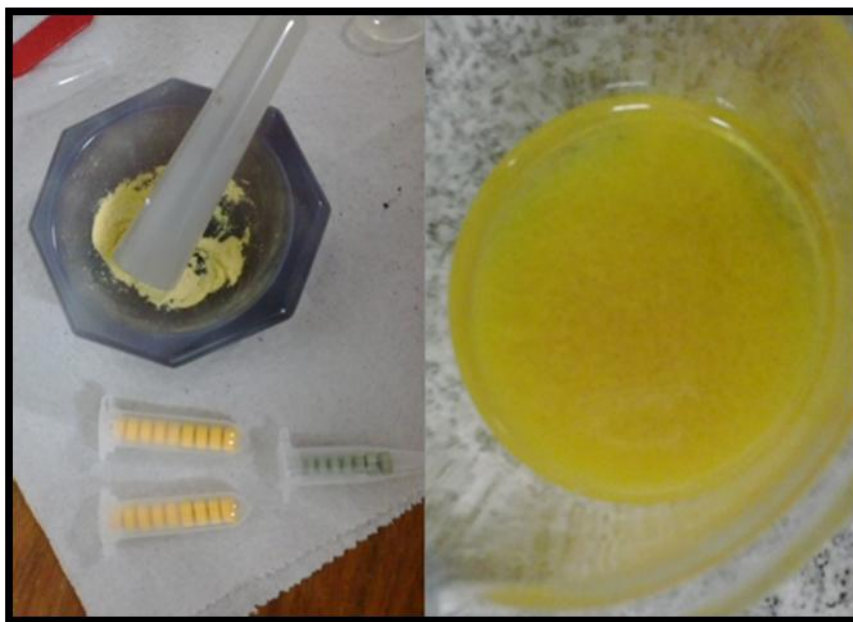
Pesou-se, em triplicata, massas de 50 mg do pó do comprimido, que foi adicionado a 100 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹ e, em seguida agitados em uma incubadora na temperatura entre 40 e 50 °C. A solução foi esfriada e filtrada em temperatura ambiente (Filtrado 1).

Em seguida, ajustou-se o pH do filtrado 1 para 3,0 com ácido clorídrico concentrado. Posteriormente, a solução foi resfriada até 5 °C e centrifugada durante 10 min a 2500 rpm. Após esse procedimento a solução foi filtrada usando membranas de 0,45 µm e bomba a vácuo. O precipitado retido na membrana foi lavado com água fria (Filtrado 2).

Após a lavagem, o filtrado 2 foi transferido para uma cápsula de porcelana e seco em estufa com circulação forçada de ar a 25 °C por 2 horas. Em seguida, esse material foi armazenado em frascos âmbar, colocado em um dessecador para posterior análise por IV e TG. Essa metodologia foi adaptada da Farmacopeia Brasileira (2010). O material retido no papel de filtro do filtrado 1, na primeira etapa, foram secos em estufa com circulação forçada de ar a 25 °C e armazenado em frascos âmbar, colocado em dessecador e encaminhados para obtenção das curvas termogravimétricas e os espectros do IV. Esses procedimentos foram realizados para as amostras AM1 e AM2.

A Figura 12 apresenta os comprimidos, o pó dos comprimidos e a mistura dos pós dos comprimidos com a solução de hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹. A coloração é relativa à presença de corantes na formulação das amostras AM1 e AM2, conforme mostrado na Tabela 4.

Figura 12—Imagens dos comprimidos em pó e em solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹.



4.4.6 Preparo de excipientes sintéticos para análise voltamétrica (VPD)

Foram preparados soluções aquosas de concentrações 0,01 mol L⁻¹ de amidoglicolato de sódio, estearato de magnésio e Talco em NaOH 0,1 mol L⁻¹. Na célula eletroquímica utilizou-se KCl 0,5 mol L⁻¹ como eletrólito de suporte, nas mesmas condições dos experimentos obtidos para o AF.

4.5 CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS MATERIAIS UTILIZADOS

4.5.1 Termogravimetria/Termogravimetria Derivada (TG/DTG) do AF e do EPG.

As análises foram realizadas utilizando uma termobalança da SHIMADZU, modelo TGA- 50, capaz de operar desde a temperatura ambiente até 1000 °C nas seguintes condições: faixa de temperatura entre 25,0 a 900,0 °C, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, com vazão do gás de 50 mL min⁻¹. As análises foram obtidas em atmosferas de ar sintético e atmosfera de nitrogênio separadamente, foi empregado cadinho de α -alumina e massa de aproximadamente 7 mg de amostra.

4.5.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) do AF

As análises foram realizadas utilizando um sistema SHIMADZU modelo DSC 50H, capaz de operar da temperatura ambiente a 725,0 °C, controlado por um microprocessador e nas seguintes condições: faixa de temperatura de 25,0 a 500,0 °C, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, vazão do gás de arraste 50 mL min⁻¹. As análises foram realizadas em atmosfera de nitrogênio usando cadinho de alumínio fechado, massa da amostra de aproximadamente 2 mg. A célula calorimétrica foi calibrada utilizando-se o metal índio de pureza 99,99% com ponto de fusão de 156,4 °C e $\Delta H_{\text{fusão}}$ 6,6 cal g⁻¹.

4.5.3 Espectrometria de absorção molecular na região do infravermelho – VIS do AF, do carbono, excipientes e comprimidos

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em um espectrômetro de infravermelho Thermo Nicolet, Modelo Nexus 470 FTIR, utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr). Antes das análises, as amostras foram previamente homogeneizadas em almofariz de ágata utilizando como agente dispersante o KBr. O material obtido foi prensado (Prensa Carver) hidraulicamente, formando uma pastilha transparente. As análises para a detecção dos grupos funcionais foram realizadas na região de 4000 a 400 cm⁻¹ visto que nesta faixa aparecem bandas relacionadas às vibrações estruturais do material em estudo.

4.5.4 Difração de Raios -X (DRX) do AF e do carbono.

As análises de Difração de Raios-X pelo método do pó das amostras preparadas, foram realizadas em um equipamento da Shimadzu, modelo XRD 6000. Os ensaios foram conduzidos utilizando radiações de CuK α e filtro de níquel com uma voltagem e corrente do tubo de 30 kV e 30 mA, respectivamente. Os dados foram coletados na faixa de 2 θ de 2-90 graus com uma velocidade de varredura de 2 θ min⁻¹. O DRX permitiu identificar se a estrutura apresenta um plano de cristalinidade característico ou diferenciar se a amostra apresenta uma espécie de polimorfismo que a classifica em algum grupo cristalino. As fases presentes nas amostras foram identificadas usando o catálogo Joint Committee on Powder Diffraction Standart (JPCDE).

4.5.5 Microscopia Eletrônica e Varredura (MEV) do AF e do carbono.

Este procedimento foi realizado em um Microscópio Eletrônico de Varredura Modelo Philips XL-30. Para obtenção das imagens, as condições experimentais foram: 20 V, diâmetro de feixe de 4,0 volts (aumento de acordo com a necessidade de cada amostra) detector foi retroespalhado. Antes das análises as amostras (ácido fólico e comprimido) foram homogeneizadas e só então aderidas em porta amostra, através de uma fita de carbono. O eletrodo de trabalho foi aderido com cola de prata. As imagens foram processadas no *software* do equipamento Philips XL-30.

4.5.6 Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva do AF e do carbono

Para a determinação da composição química da pasta de carbono utilizou-se Fluorescência de Raios-X com Energia Dispersiva, modelo EDX-720 da Shimadzu.

4.5.7 Espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-VIS do AF

O instrumento utilizado para estas análises foi o espectrofotômetro de UV-Visível, 1800 Shimadzu, operando na faixa de comprimento de onda entre 190 a 800 nm. Na obtenção do espectro de absorbância, inicialmente obteve-se o espectro da linha-base, usando em ambas as cubetas uma referência constituída pelo solvente puro (NaOH 0,1 mol L⁻¹). Para a análise do analito espectrofotométrico, foi escolhido o comprimento de onda onde ocorreu a absorbância máxima que foi em 255 nm. A curva analítica foi obtida usando soluções de AF com concentração entre 2×10^{-5} a 8×10^{-5} mol L⁻¹, os quais foram preparados a partir de uma solução de ácido fólico 1×10^{-3} mol L⁻¹ em NaOH 0,1 mol L⁻¹.

Solução amostra dos comprimidos: pesou-se e pulverizou-se 20 comprimidos das amostras AM1 e AM2 separadamente. Transferiu-se uma quantidade de pó equivalente ao peso médio de cada comprimido (AM1 \approx 138,9 mg e AM2 \approx 109,2 mg) para balões de 25 mL e completou-se o volume com NaOH 0,1 mol L⁻¹ (Farmacopeia Brasileira, 2010). Homogeneizou-se esse material em banho ultrassônico durante 10 min e, em seguida centrifugou-se as amostras durante 20 min a 3000 rpm. Após esse procedimento as amostras foram filtradas em papel de filtro quantitativo 0,45 μ m usando bomba a vácuo, em seguida filtrados novamente em papel

de filtro quantitativo 0,22 μm . Para a metodologia por UV/Vis, as amostras e padrões foram lidos pelo espectrofotômetro UV/Vis no comprimento de onda de 255 nm, usando NaOH 0,1 mol L⁻¹ como branco. Esse procedimento foi adaptado da Farmacopeia Brasileira (2010).

4.5.8 Voltametria de pulso diferencial (VPD)

As análises eletroquímicas foram realizadas utilizando um potenciostato galvanostato (Autolab modelo PGSTAT320N) o qual foi controlado por um computador através do *software* GPES versão 4,9 de uso geral do sistema eletroquímico. As medidas de VPD foram obtidas por varredura no intervalo de potencial de 0 V a 1,2 V, em uma célula eletroquímica de 100 mL contendo 10 mL de KCl 0,5 mol L⁻¹, usado como eletrólito de suporte. Estes experimentos foram realizados em um sistema convencional de três eletrodos à temperatura ambiente.

Os procedimentos foram ajustados com uma velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹; tempo de equilíbriode 5 s; tempo de modulação de 0,04 s; potencial inicial de 0 V; potencial final de 1,2 V; degrau do potencial de 0,006 V e amplitude de modulação de 0,05 V. Foi utilizado eletrodo de pasta de grafite (EPG) como eletrodo de trabalho. Um fio de platina e um eletrodo de Ag/AgCl (3 mol L⁻¹ de KCl) foram

empregados como eletrodos auxiliar e de referência, respectivamente.

As soluções de ácido fólico foram preparadas com água purificada por um sistema Milli-Q (Milipore). A curva analítica foi obtida usando soluções de AF com concentração entre $2,0 \times 10^{-5}$ a $8,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ os quais foram preparados a partir de uma solução de ácido fólico $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em NaOH 0,1 mol L⁻¹.

4.5.9 Cromatográfica Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para análise de AF

Doseamento: A análise foi realizada em um cromatógrafo da SYKAM S 7131 REAGENT ORGANIZER, provido de um detector de arranjo de foto diodos e fonte com emissão em 254 nm e 283 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 μm) mantida à temperatura ambiente; vazão da fase móvel de 1,2 mL/minuto.

Fase móvel: A fase móvel utilizada foi uma solução de fosfato de potássio monobásico 0,05

mol L⁻¹ e acetonitrila na proporção de (93:7) e o pH do tampão foi ajustado para 6,0 com solução de hidróxido de sódio 5 mol L⁻¹ antes da adição do solvente orgânico. Em seguida, a fase móvel foi filtrada usando bomba a vácuo e uma membrana miliQ de 0,22 µm. A filtração desse material ocorreu para garantir a remoção de possíveis impurezas e danificar a coluna cromatográfica utilizada durante o procedimento experimental.

Solução da amostra: inicialmente foram pesados e pulverizados 20 comprimidos para cada amostra (AM1 e AM2). Em seguida, 20 mg de ácido fólico presente nos comprimidos foram transferidas para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se 50 mL de hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ e completou-se o volume com o mesmo solvente. As amostras foram homogeneizadas em banho ultrassônico por 10 minutos e centrifugadas a alta velocidade usando uma centrífuga da HERMLE, modelo Z 26 HK, aplicando uma rotação de 10.000 rpm durante 5 minutos à temperatura ambiente. Em seguida a solução foi filtrada usando membrana miliQ de 0,22 µm.

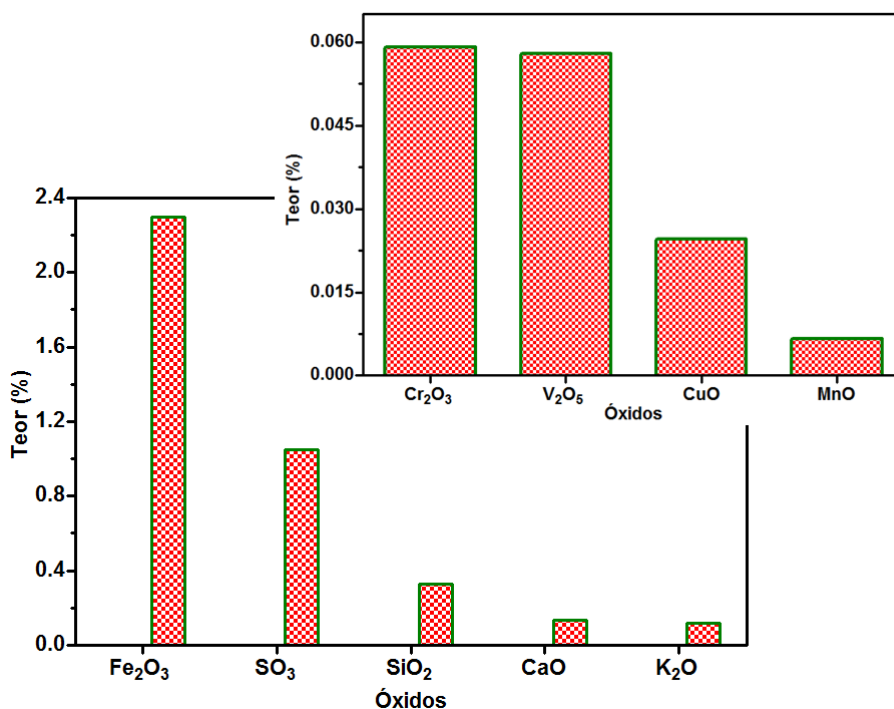
Solução padrão interno: foram transferidos, exatamente 20 mg de AF (Vetec) para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹. A solução foi homogeneizada em banho ultrassônico por 5 minutos. Em seguida filtrada em membrana microposora de 0,22 µm e injetada no cromatógrafo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ELETRODO

5.1.1 Espectrometria de Fluorescência de Raios-X (XRF) do grafite

A Figura 13 mostra de forma semiquantitativa os compostos contidos no carbono usado durante o procedimento experimental para preparação do eletrodo. Essa análise foi realizada com o objetivo de caracterizar melhor algumas impurezas presentes nesse material. De acordo com os resultados mostrados foi possível observar que além de carbono, a pasta apresentou alguns outros constituintes presentes na sua composição, tais como: óxido de ferro, silício, cromo, manganês, potássio, cálcio e vanádio.

Figura 13 - Fluorescência de Raios-X do grafite

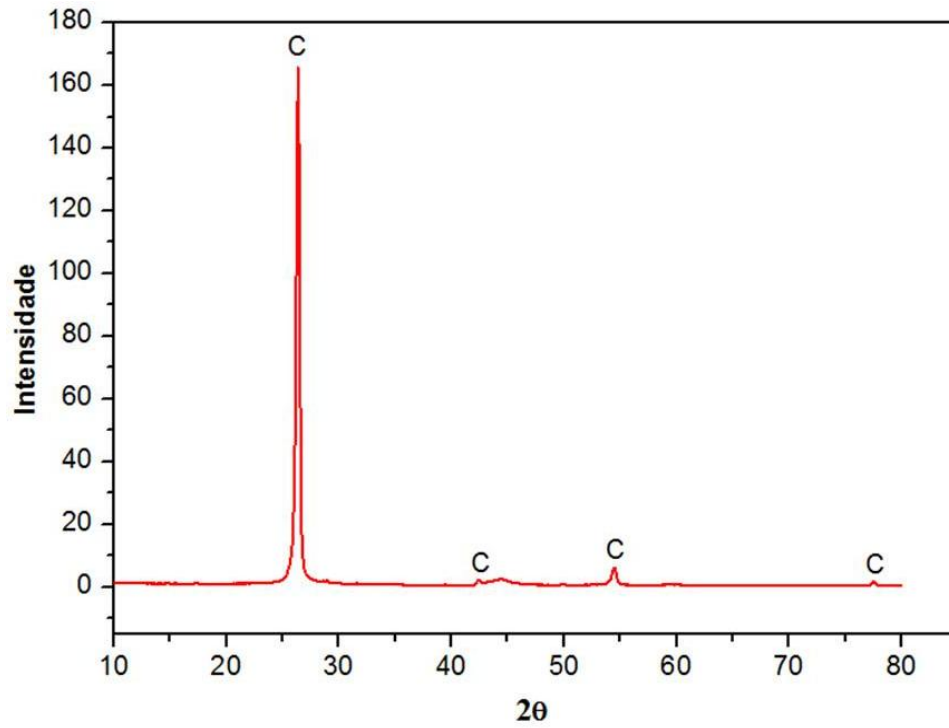
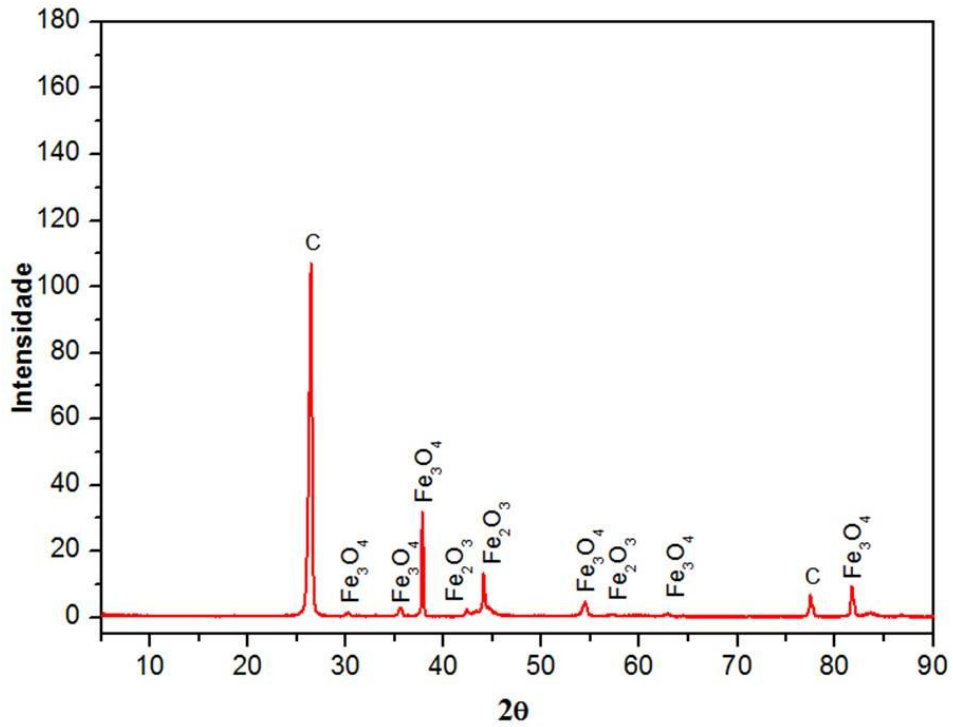
5.1.2 Difractometria de Raios – X (DRX)

Os difratogramas de raios-x do resíduo obtido após aquecimento do grafite a 900 °C em mufla são mostrados nas Figuras 14 e 15. O objetivo da análise foi verificar algumas impurezas presentes, uma vez que não era conhecida a especificação desse material.

Os resultados obtidos pelos difratogramas indicaram que as duas amostras apresentaram picos de cristalinidade referente ao grafite (JPCDE: 08-0415; 12-0212; 75-1621; 01-0640). Embora a amostra natural tenha apresentado em sua composição dióxido de silício, óxido de cálcio e outros elementos como mostra a Figura 14, nessa análise não foram observados picos indicativos da presença desses compostos, como mostrado pela Figura 15. Isto pode estar relacionado com o limite de detecção do equipamento, uma vez que a quantidade desses compostos presentes é muito pequena em relação ao carbono presente neste material.

O difratograma obtido e apresentado pela Figura 15 para o resíduo após aquecimento a 900 °C do grafite exibiu picos referentes ao Fe₃O₄ (JPCDE: 25,1402), óxido misto preto contendo Ferro (II) e (III) e picos indicativos de Fe₂O₃ (JPCDE:75,1609), conforme apresentados pela Figura 14. O difratograma da Figura 14 revelou picos mais intensos em

relação ao da Figura 15, devido à quantidade de carbono presente no material antes e depois do aquecimento. Após aquecimento do grafite a 900 °C em mufla, o resíduo obtido apresentou coloração preta, indicativo da queima incompleta do material, relacionado ao Fe_2O_3 e Fe_3O_4 , conforme mostrado pelo difratograma da Figura 15. Isso ocorreu devido à quantidade de grafite aquecido (1 g) e o aquecimento ter sido realizado em uma mufla em atmosfera estática. De acordo com os dados obtidos pelos difratogramas e as cartas utilizadas para a identificação de cada composto, concluiu-se que esse material apresenta estrutura hexagonal. Segundo trabalhos publicados por Oliveira et al. (2000), o grafite normalmente apresenta uma estrutura cristalina na forma hexagonal, mas pequenas proporções da forma romboédrica também podem ser encontradas em grafites naturais.

Figura 14 – Difratoograma de Raios-X do carbono sem tratamento térmico.**Figura 15** – Difratoograma de Raios-X do grafite após aquecimento a 900,0 °C na mufla.

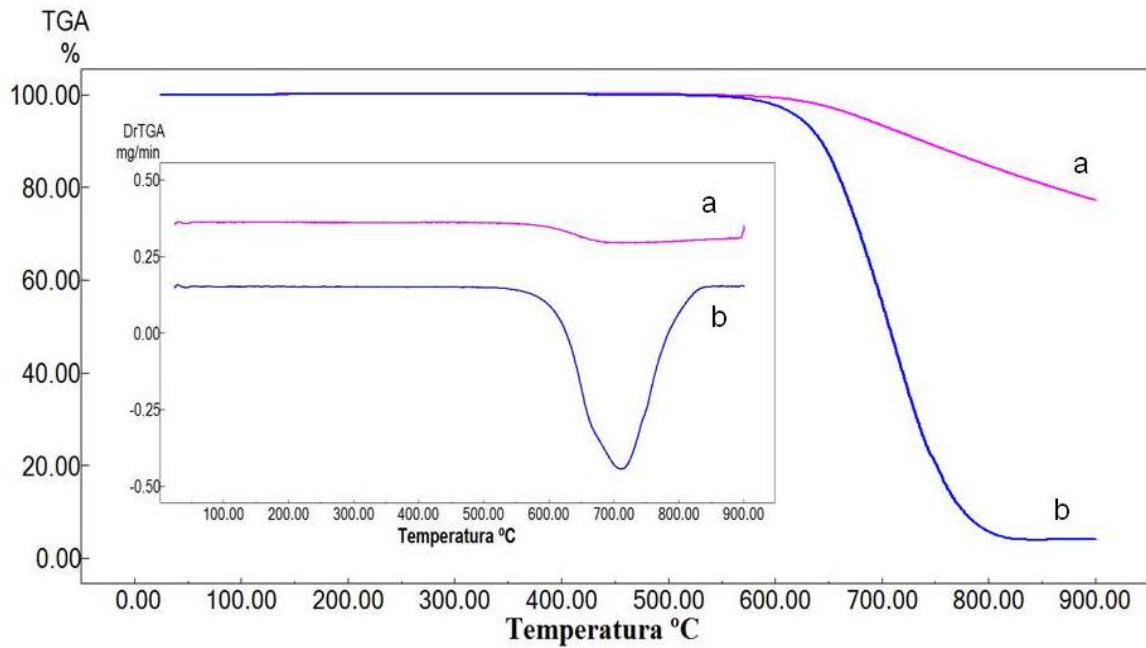
5.1.3 Termogravimetria/Termogravimetria Derivada (TG/DTG).

A Figura 16 mostra as curvas TG/DTG para o pó de grafite, empregando atmosfera de ar sintético e atmosfera de nitrogênio. As curvas apresentaram um patamar de estabilidade térmica até 550,1 °C e ocorreu uma perda de massa acima de 550,1 °C. A curva TG obtida em atmosfera de nitrogênio (a) mostra uma maior estabilidade térmica em relação à obtida em atmosfera de ar sintético, devido a menor quantidade de gases oxidantes presente nessa atmosfera, desfavorecendo dessa forma uma possível reação do grafite com o oxigênio para a formação do dióxido de carbono (CO₂). Segundo Oliveira et al. (2000), o grafite é oxidado acima de 400 °C, razão pela qual, o grafite é frequentemente utilizado em combinação com outros materiais refratários que forneçam adequada resistência à oxidação.

Em atmosfera de ar sintético foi observado que na temperatura de 550,0 a 832,0 °C ocorreu uma perda de massa de 95,9% do grafite (7,203 mg), que pode ser atribuída a formação de dióxido de carbono. Na sequência, observa-se a presença de um resíduo de 0,08% (0,006 mg) de massa, que pode ser atribuído a formação mista de óxido de ferro (II) e (III). De acordo com os dados dos difratogramas obtidos e mostrados na Figura 16 esses óxidos estão presentes no grafite. A curva TG do grafite em atmosfera de ar sintético mostrou uma perda de massa de 95,9% desse grafite, e esta relacionada com a pureza do material, ou seja, todo o carbono presente no material foi oxidado. O resíduo gerado pela decomposição apresentou coloração vermelha, característica da formação de óxido ferro (Fe₂O₃).

Em atmosfera de nitrogênio de 550,0 a 900,0 °C houve uma perda de apenas 22,7% (1,7 mg) do grafite, com um resíduo final de 77,3% (5,5 mg). Pode-se observar que nessa atmosfera ocorreu que uma menor quantidade de material se oxidou devido a menor disponibilidade de agente oxidante nessa atmosfera, acontecendo a oxidação da camada mais externa.

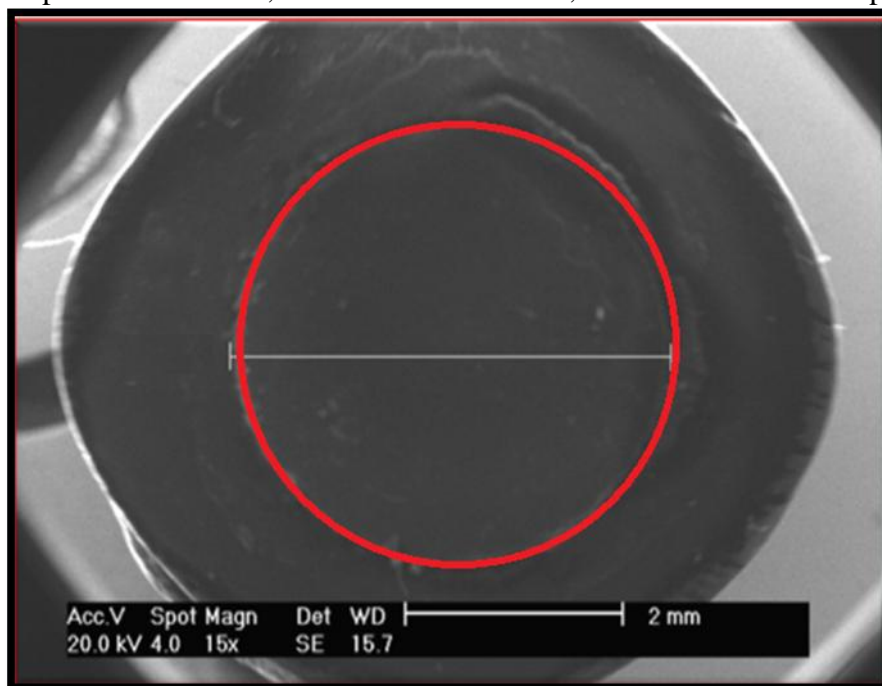
Figura 16 – Curvas TG/DTG do carbono em atmosfera de nitrogênio (a) e ar sintético (b).



5.1.4 Microscopia eletrônica de varredura do eletrodo de pasta de carbono

A Figura 17 mostra a análise microscópica da área superficial externa do eletrodo de trabalho utilizado durante o procedimento experimental. As imagens fornecidas pelo MEV mostram ranhuras estreitas, longas e alguns declives, devido à forma pela qual o eletrodo foi confeccionado, ou seja, as ranhuras podem ter ocorrido durante o polimento do material e os declives podem ser atribuídos a forças irregulares aplicadas durante o empacotamento do eletrodo dentro do cilindro. O eletrodo de grafite apresenta uma área exposta de 12,56 mm².

Figura 17 - Microscopia Eletrônica de Varredura do eletrodo de trabalho. Condições experimentais: 20 V, diâmetro de feixe de 4,0 volts detector retroespalhado.



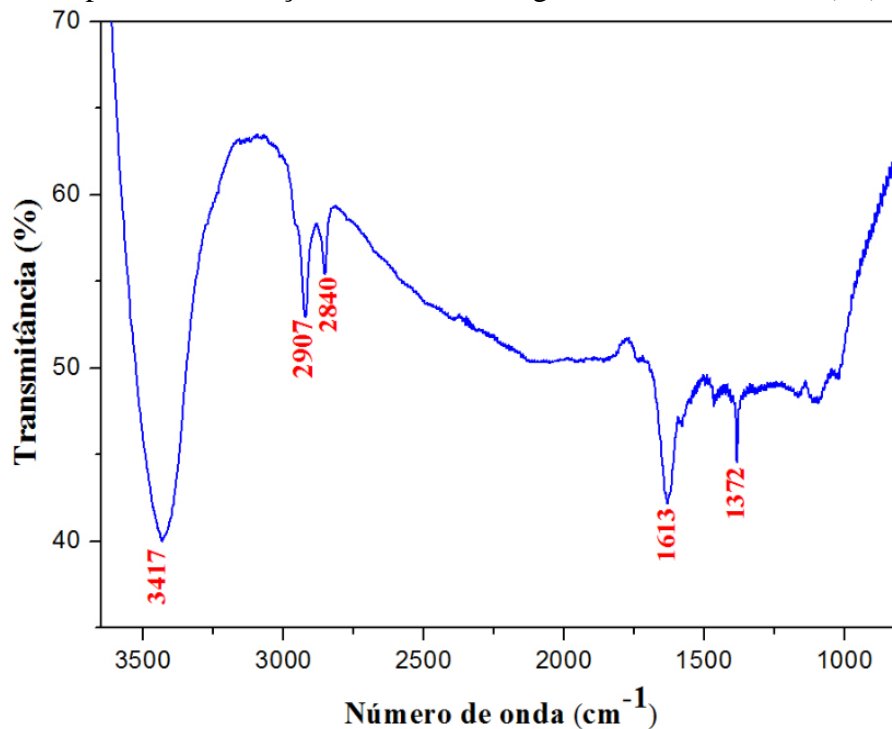
5.1.5 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho do carbono

O espectro de absorção do grafite, na região do infravermelho é representado na Figura 18. A banda aguda em 3417 cm^{-1} refere-se à presença de grupos OH “livre”; a banda pequena e fina em 2907 cm^{-1} possivelmente refere-se a estiramentos de deformação axial de C–H; a banda pequena na região de 2840 cm^{-1} pode estar relacionada com a deformação axial simétrica de C–H, que ocorre na faixa de 2850 cm^{-1} ; a banda em 1372 cm^{-1} refere-se à presença de grupos C–H e é uma banda bem característica deste grupo; e a banda em 1613 cm^{-1} é de C=C que ocorre geralmente de 1550 a 1650 cm^{-1} .

Segundo trabalhos publicados por Oliveira et al. (2000), embora a reatividade do grafite seja derivada essencialmente das arestas do cristal, defeitos pontuais na região da face, tais como vacâncias, também podem atuar como sítios ativos da estrutura. Tais grupos funcionais têm um pronunciado efeito nas propriedades superficiais de carbonos, pois constituem sítios ativos que tem alta afinidade pela água (sítios hidrofílicos) e que aumentam a reatividade do material. As possíveis estruturas dos grupos funcionais nas arestas de carbonos são: grupos carbonilas, numa vizinhança próxima com grupos hidroxila (OH) ou grupos carboxílicos (COOH), que podem se condensar em grupos lactona ou formar lactóis.

Grupos hidroxila e carbonila podem estar isolados. Grupos carbonilas também podem estar arrançados como quinonas. Finalmente, o oxigênio pode estar substituindo um átomo de carbono da estrutura.

Figura 18 – Espectro de absorção molecular na região do infravermelho (IV) do grafite.



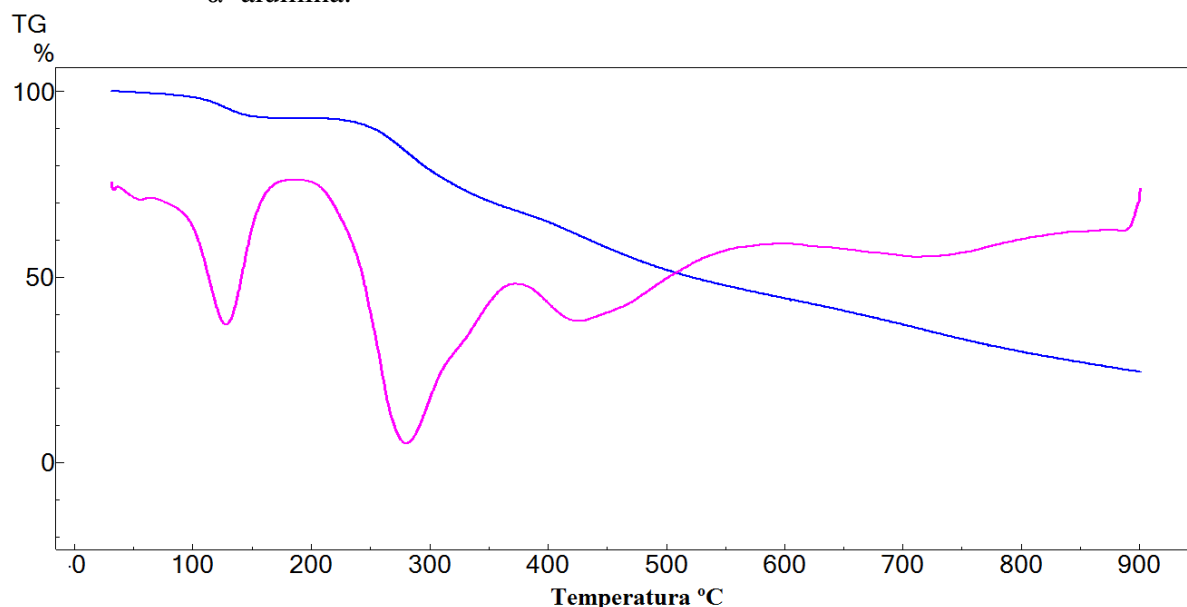
5.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÁCIDO FÓLICO E FORMAS FARMACÊUTICAS

As amostras (AF padrão, comprimidos e grafite) foram caracterizadas por (DRX), (MEV), espectrometria de fluorescência de raios-x por energia dispersiva, espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV), (TG/DTG) e (DSC). A determinação do teor de AF nos comprimidos foi determinada empregando UV-VIS, CLAE e VPD. O objetivo da caracterização das amostras foi mostrar as características dos compostos trabalhados, cristalinidade, estabilidade térmica, morfologia.

5.2.1 Termogravimetria/Termogravimetria Derivada (TG/DTG) do ácido fólico.

A Figura 19 mostra as curvas TG/DTG do ácido fólico, obtidas em atmosfera dinâmica de ar (curva rosa) e atmosfera dinâmica de nitrogênio (curva azul). Na curva TG/DTG do ácido fólico em atmosfera de nitrogênio, observa-se quatro perdas de massa, sendo a primeira entre 67,9 °C e 189,5 °C ($T_p = 127,8$ °C) atribuída à desidratação de água adsorvida e formação de ácido fólico anidro correspondendo a uma perda de massa de 6,5%. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Vora et al. (2002) ao estudarem a estabilidade térmica do ácido fólico. Uma segunda etapa de decomposição ocorre no intervalo de temperatura de 190,4 °C a 360,7 °C ($T_p = 278,1$ °C) com um percentual de 23,6% de perda de massa. Nesse segundo estágio ocorre a decomposição da molécula do ácido glutâmico, que começa a degradar em torno de 195,2 °C. A terceira e quarta etapas de decomposição ocorrem de forma consecutiva, sendo a terceira no intervalo de temperatura de 361,6 °C a 577,1 °C ($T_p = 430,6$ °C) e a quarta na faixa de 577,1 °C a 891,2 °C ($T_p = 730,2$). Nessas etapas observa-se a perda da amida e da pteridina, seguida da formação de um resíduo preto contendo traços de carbono. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Vora et al. (2004) ao estudarem a estabilidade térmica do ácido fólico e de acordo com os resultados obtidos, eles concluíram que a primeira reação está relacionada com a perda do ácido glutâmico e as seguintes são atribuídas a perda da amida e a pteridina.

Figura 19 – Curvas TG/DTG do ácido fólico. Condições experimentais: razão de aquecimento $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, vazão do gás de 50 mL min^{-1} . Cadinho de α -alumina.

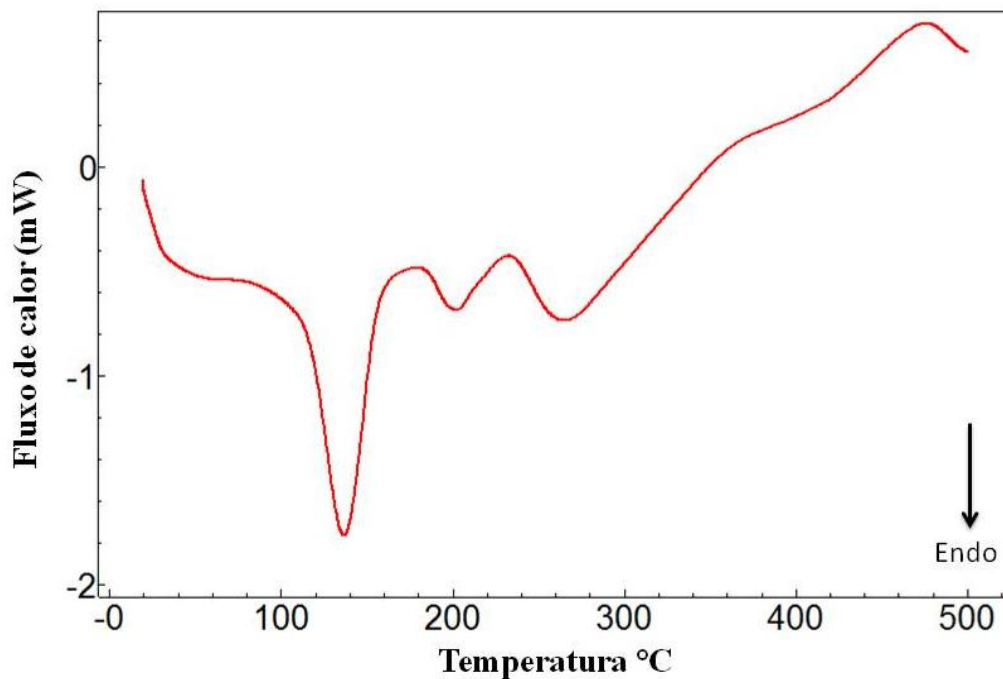


5.2.2 Curva DSC do ácido fólico

A Figura 20 apresenta a curva DSC do AF. De acordo com a curva pode-se observar que o ácido fólico não apresentou evento endotérmico referente à fusão. Ele se decompõe rapidamente originando quatro eventos endotérmicos. O primeiro evento mostra uma endoterma entre $80,1$ a $176,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($T_p = 136,7$) que, segundo trabalhos de Vora et al. (2004), representa a perda de moléculas de água adsorvidas no AF. O segundo evento evidencia uma endoterma entre $176,2$ a $232,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($T_p = 201,6\text{ }^{\circ}\text{C}$) com um valor de $\Delta H = -28,3\text{ J/g}$ o que representa a perda da molécula do ácido glutâmico. O terceiro evento ocorreu no intervalo de temperatura de $231,8$ a $365,3^{\circ}\text{C}$ ($T_p = 264,6\text{ }^{\circ}\text{C}$, complementando os dados obtidos por TG/DTG mostrados na Figura 20 realizados em atmosfera de nitrogênio.

A terceira reação ocorre com decomposição da pteridina do ácido para-aminobenzóico (APAB) e do composto orgânico formado durante a segunda decomposição. Um terceiro evento endotérmico é observado no intervalo de temperatura de $380,2$ a $480,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, esse evento endotérmico pode está relacionado com a perda de material carbonizado. Segundo trabalho publicado por Nunes (2009), o ácido glutâmico apresenta um pico endotérmico em $206,7^{\circ}\text{C}$ atribuído à fusão e desidratação do ácido glutâmico. No entanto não se observa pico de fusão relacionado ao ácido glutâmico, essa ausência de pico pode estar relacionado com a sua interação entre outros grupos moleculares formadores da estrutura do ácido fólico, ou a presença de um outro composto como produto obtido.

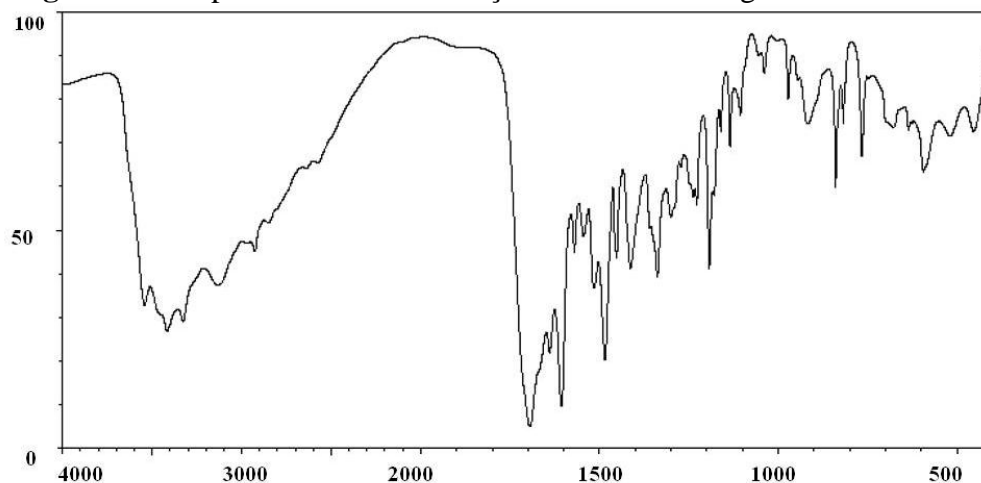
Figura 20 – Calorimetria exploratória diferencial do ácido fólico. Condições experimentais: razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, vazão do gás de arraste 50 mL min^{-1} . Atmosfera de nitrogênio e cadinho de alumínio.



5.2.3 Espectrometria de absorção na região do infravermelho (IV) do AF.

O Banco de dados Espectrais de Compostos Orgânicos (BECO) exibe o espectro de absorção na região do infravermelho do AF como mostrado pela Figura 21.

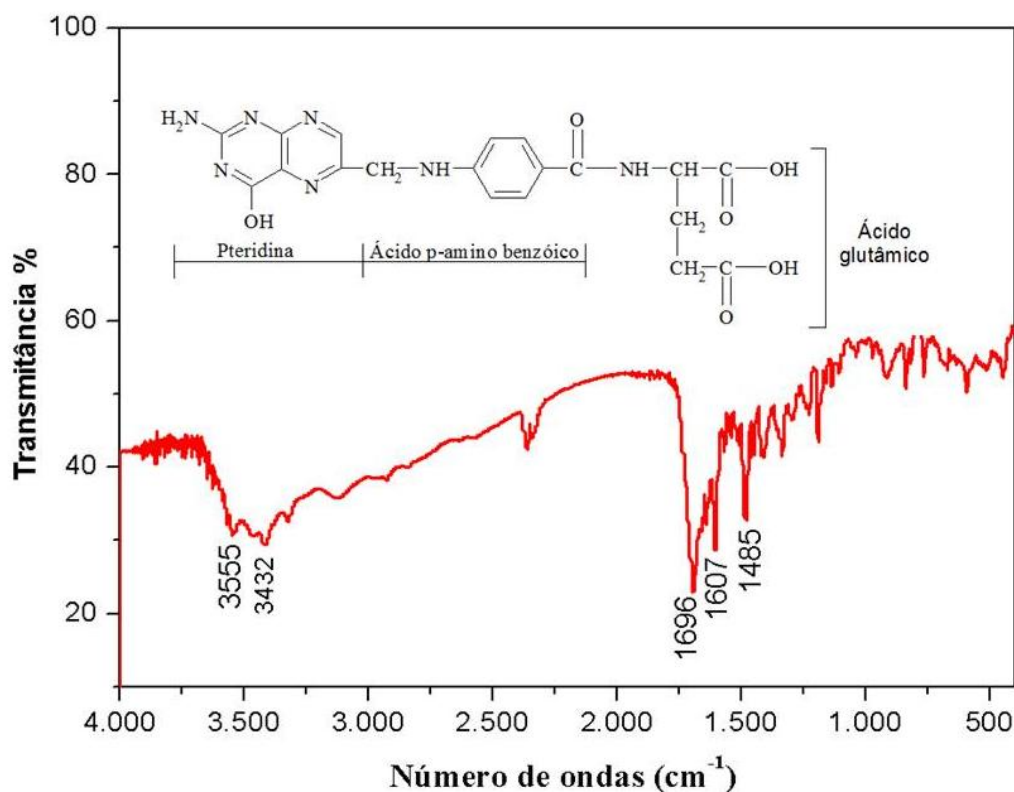
Figura 21 – Espectrometria de absorção molecular na região do IV do AF.



Fonte: Spectral Database for Organic Compounds SDBS

A Figura 22 exibe o espectro de absorção molecular na região do IV ácido fólico padrão utilizado durante o procedimental experimental. De acordo com trabalhos publicados por Vora et al. (2004), o espectro do AF apresenta bandas de absorção nas regiões de 3555 cm^{-1} e de 3416 cm^{-1} provenientes das deformações axiais do grupo O–H ligado ao grupo N–H do anel pteridina. O pico de vibração intenso em 1696 cm^{-1} está relacionado com a vibração angular C=O da carbonila, enquanto a banda em 1607 cm^{-1} refere-se à vibração N–H. A banda em 1485 cm^{-1} é atribuída a banda de absorção característica do anel fenil e a pteridina. Bandas fortes características do esqueleto aromático e de heteroaromáticos aparecem nessa região (Silverstein, 2005). Esses dois espectros Figura (21 e 22) apresentam o mesmo comportamento espectral, confirmando que o material utilizado é realmente o ácido fólico.

Figura 22 – Espectrometria de absorção molecular na região do IV do AF padrão utilizado durante os procedimentos experimentais.



5.2.4 Difração de Raios-X (DRX) do AF.

Os difratogramas de raios-x do AF padrão e da amostra (comprimido), encontram-se representados nas Figuras 23 e 24. De acordo com os resultados apresentados pelos difratogramas, verifica-se que tanto o AF presente no comprimido quanto o AF padrão exibem picos indicativos de cristalinidade referente ao 2-amino-4-hidroxipteridina (JCPDF: 31-1518) e picos referente ao amino benzóico (JCPDF: 22-1871), os quais estão presentes na estrutura química do AF. Esses resultados estão de acordo com trabalhos publicados por Avora et al. (2004).

Figura 23 – Difratoograma de Raios-X do AF padrão. Faixa de 2θ de 2-90 graus com uma velocidade de varredura de $2\theta \text{ min}^{-1}$.

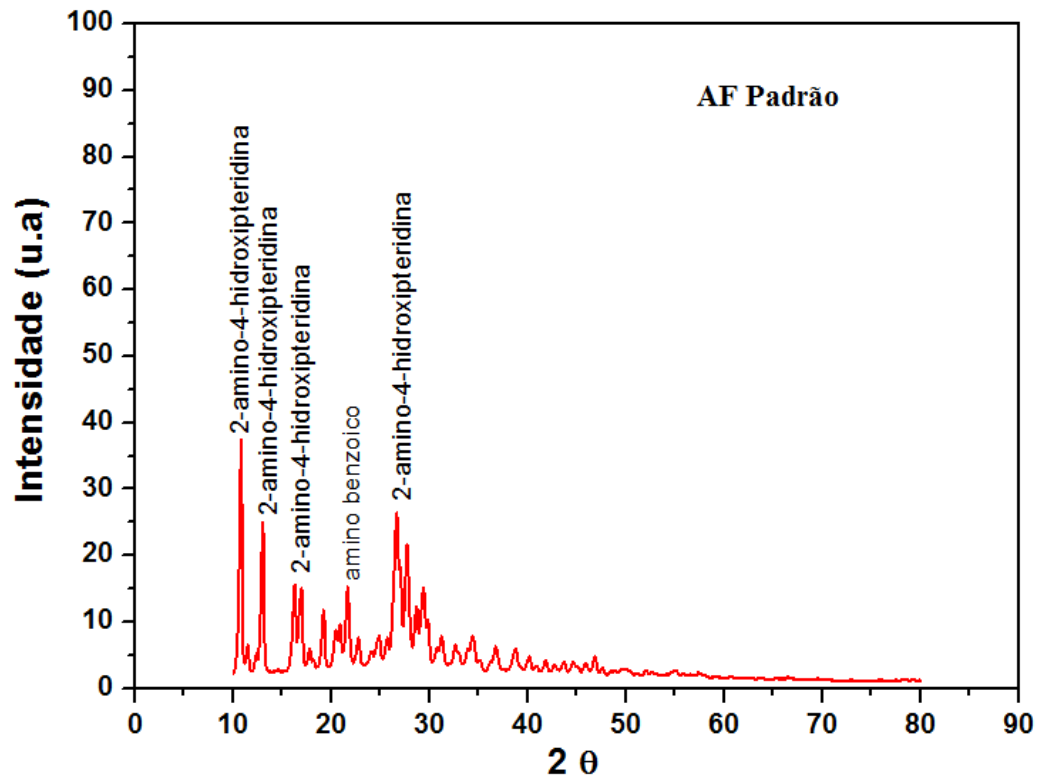
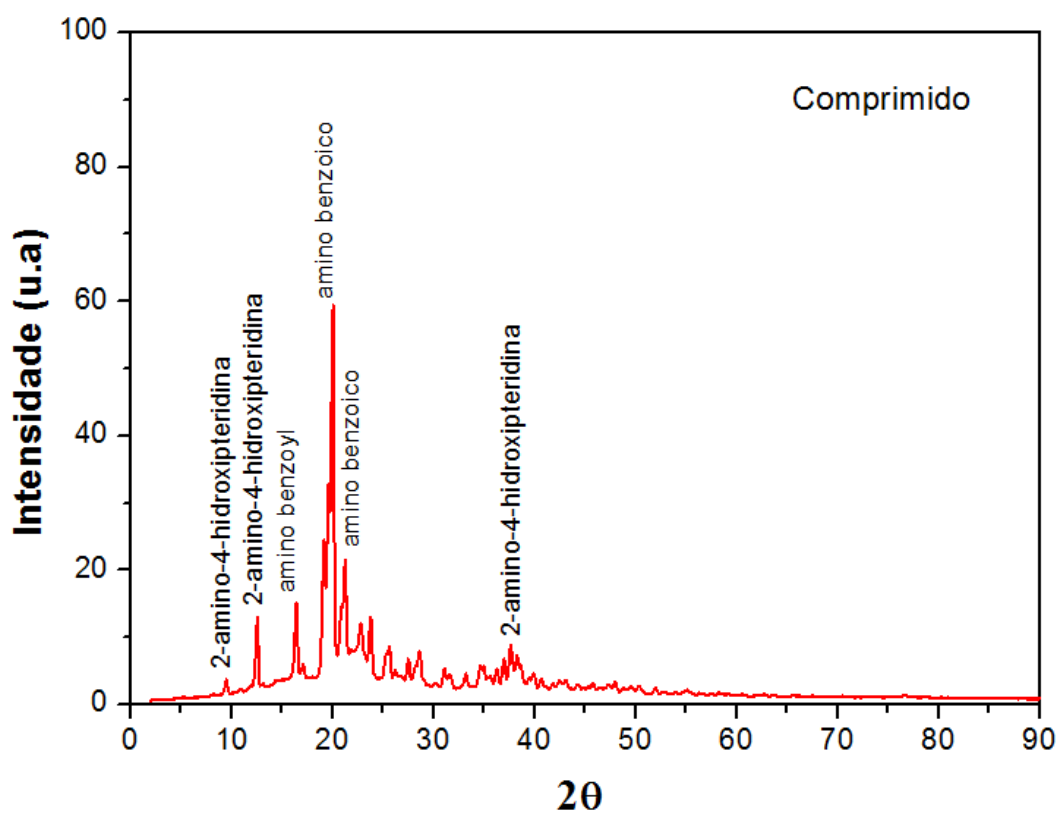


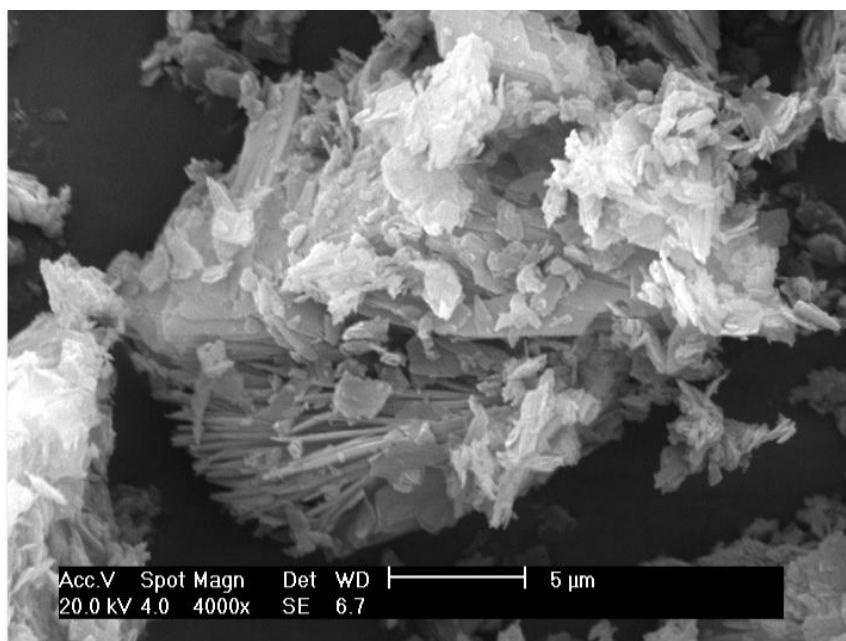
Figura 24 – Difratoograma de Raios-X do comprimido AM1. Faixa de 2θ de 2-90 graus com uma velocidade de varredura de $2\theta \text{ min}^{-1}$.



5.2.5 Microscopia eletrônica de varredura do ácido fólico (MEV)

A Figura 25 mostra a microscopia eletrônica de varredura do AF. De acordo com as imagens obtidas, pode-se observar que o AF apresenta um agregado de partículas em formato de agulhas, apresentando heterogeneidade quanto à distribuição e tamanho das partículas e características de estruturas cristalinas, de acordo com os dados obtidos no difratômetro de raios-x e exibidos na Figura 23.

Figura 25 - Microscopia eletrônica de varredura do ácido fólico padrão. Condições experimentais: 20 V, diâmetro de feixe de 4,0 volts detector retroespalhado.



5.3 CARACTERIZAÇÃO DO ÁCIDO FÓLICO APÓS EXTRAÇÃO NOS COMPRIMIDOS

A caracterização do AF após a sua extração dos comprimidos e a caracterização dos excipientes retidos no papel de filtro tiveram como objetivo verificar as possíveis perdas de AF durante o processo de extração.

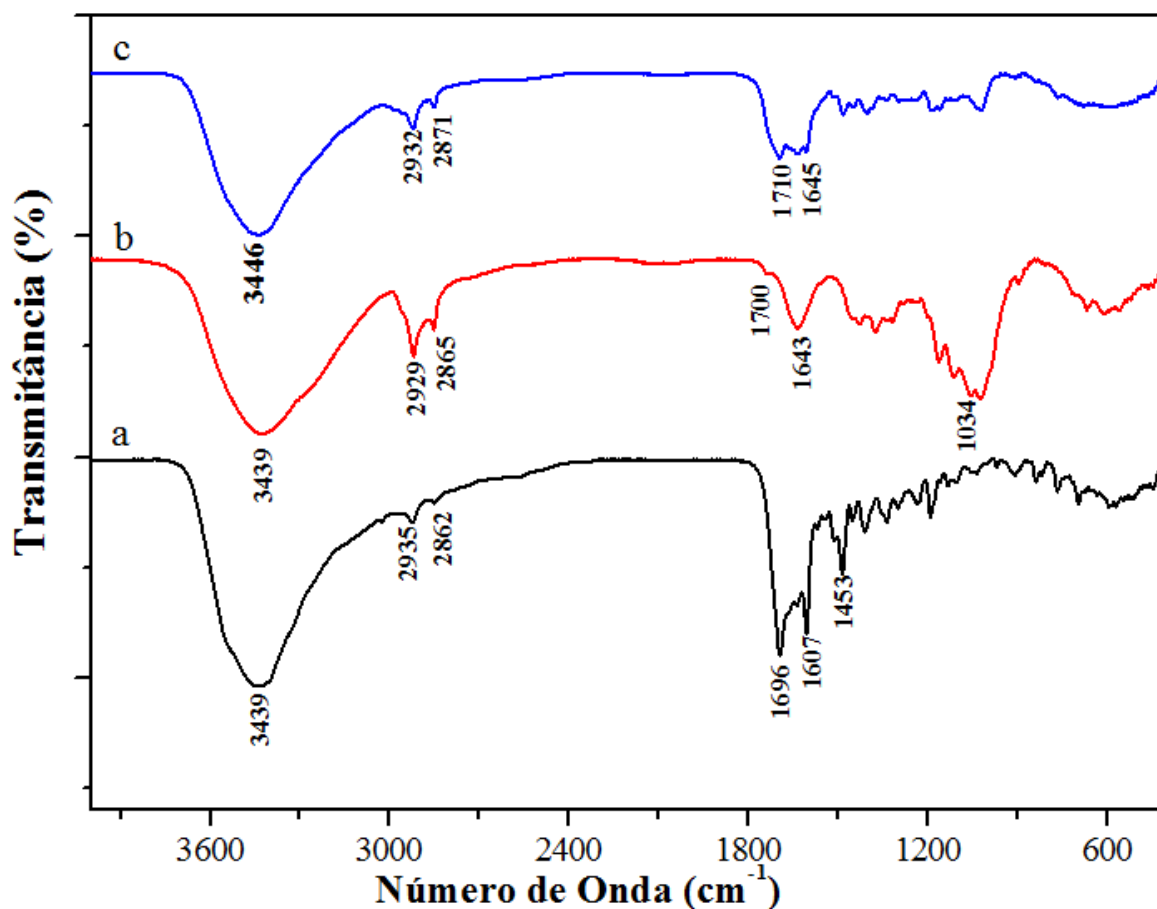
5.3.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) do ácido fólico, do produto de extração e do comprimido AM1

Na Figura 26 estão apresentados os espectros de absorção do AF extraído dos comprimidos (a), excipientes retidos no papel de filtro (b) e comprimidos (c). Na Figura 26a está representado o espectro de infravermelho do AF, no qual pode-se observar em 3439 cm^{-1} uma banda larga e forte devido ao grande número de absorções nessa região do espectro tais como: O–H e N–H. É verificada também na região entre 2935 a 2862 cm^{-1} a presença de absorção referente a estiramentos simétricos e assimétricos de grupos metila. A banda de vibração intensa em 1696 cm^{-1} está relacionado com a vibração C=O, enquanto a banda em 1607 cm^{-1} refere-se à deformação axial do grupo N–H. A banda em 1453 cm^{-1} é atribuída ao grupo fenil e a pteridina.

Na Figura 26b, observa-se o espectro de absorção dos excipientes retidos no papel filtro durante a extração do AF. Observa-se uma banda larga em 3439 cm^{-1} característica do grupo O-H que pode ser referente a água de hidratação ou a lactose (excipiente) que também possui grupos O-H em sua estrutura, e seu pico mistura-se aos outros na região de 3400 cm^{-1} . Essa banda apresenta menor intensidade de absorção em relação ao do AF. É verificada também na região entre 2935 a 2862 cm^{-1} a presença de absorção referente a estiramentos simétricos e assimétricos de grupos metila. Em 1700 cm^{-1} apresenta-se um pico de baixa intensidade que pode estar relacionado com o estearato de magnésio, um dos componentes do excipiente.

A Figura 26c é apresenta o espectro de infravermelho do comprimido contendo AF. De acordo com o espectro pode-se observar uma banda em 1645 cm^{-1} referente ao grupo funcional pertencente ao ácido fólico. O deslocamento da banda em relação ao AF puro pode estar relacionado com a presença dos excipientes, que podem interagir com o AF presente na amostra deslocando o pico.

Figura 26 – Espectro de absorção na região do infravermelho-IV (a) AF após extração dos comprimidos (b) excipientes extraídos do comprimido (c) comprimidos.



5.3.2 Curvas TG/DTG da formulação farmacêutica, AF padrão e AF extraído dos comprimidos.

Uma das preocupações das indústrias farmacêuticas é com a estabilidade térmica dos produtos farmacêuticos. A Figura 27 mostra as curvas TG/DTG do AF extraído do comprimido (curva a), AF padrão (b), do comprimido (c). A análise teve como objetivo caracterizar esse material para posterior utilização.

Na curva TG/DTG do AF extraído da formulação farmacêutica (curva a) observam-se seis diferentes etapas de perda de massa, sendo a primeira e a segunda etapas consecutivas, na qual a primeira ocorreu no intervalo de temperatura de 50,6 a 100,6 °C com uma perda de massa de 3,1 % e a segunda no intervalo de 106,8 a 187,5 °C referente a uma perda de massa de 3,6 %, as quais estão relacionadas à desidratação do AF. A terceira, quarta e quinta etapa de decomposição também ocorreram de forma consecutiva, sendo que a terceira ocorreu entre

187,6 a 319,1 °C com uma perda de massa de 13,7%. De acordo com o trabalho publicado por Vora et al. (2004), essa perda pode estar relacionada com a decomposição de parte do ácido glutâmico. Nesse trabalho eles obtiveram o espectro de infravermelho do ácido fólico aquecido até 180°C, e verificaram que ocorre a ruptura da ligação entre a amida e o ácido glutâmico. A quarta etapa ocorreu no intervalo de 319,5 a 397,1 °C com uma perda de massa de 9,3%, e a quinta decomposição ocorreu no intervalo de temperatura entre 414,3 a 460,2 °C com uma perda de 9,3%. Essas etapas podem estar relacionadas com as perdas dos fragmentos da molécula do ácido fólico degradado durante o aquecimento. A sexta e última etapa de decomposição ocorreu entre 462,3 a 648,747 °C com uma perda de massa de 47,3%, que pode estar relacionada com a decomposição térmica de toda matéria orgânica. Finalmente, observa-se a formação de 5,1% de resíduo final termicamente estável até 900,0 °C, que pode ser constituído de impurezas presentes no próprio ácido fólico devido ao material carbonizado.

Nas curvas TG/DTG do AF princípio ativo (curva b) observa-se sete etapas de decomposição. A primeira perda de massa se inicia na temperatura de 35,2 a 75,2 °C com perda de massa de 1,2% a qual pode estar relacionada com presença de água adsorvida. A segunda ocorre entre 88,4 °C e 179,6 °C, atribuída à desidratação do composto e formação de ácido fólico anidro correspondendo a uma perda de massa de 7,3%. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Vora et al. (2002) ao estudarem a estabilidade térmica do ácido fólico. A terceira, quarta e quinta etapa ocorreram de forma consecutiva, sendo que a terceira ocorreu no intervalo de temperatura de 179,8 °C a 300,4 °C com um percentual de 13,4 % de perda de massa. Nessa faixa de temperatura ocorre a quebra da ligação entre a amida e ocorre a decomposição da molécula do ácido glutâmico, que inicia-se em torno de 195,2 °C. A quarta etapa de decomposição ocorre no intervalo de temperatura de 301,5 °C a 386,4 °C com uma perda de massa de 16,5%. A quinta ocorre na faixa de 387,2 °C a 461,5 °C com perda de 15,7 % e nessa etapa observa-se a perda de parte do grupo amida e do anel pteridina. Uma sexta etapa de decomposição ocorre em 461,8 a 667,8 °C com um percentual de 48,0 % de perda de massa. Esse evento pode estar relacionado com a perda de todo material orgânico e formação de um resíduo preto referente ao material carbonizado. Esse resíduo sofre total decomposição no intervalo de temperatura de 861,9 a 900,0 °C totalizando uma perda de massa de 0,08 %.

Na Figura 27 as curvas TG/DTG da amostra de comprimido (curva c) apresentam oito etapas de perdas de massa, sendo a primeira no intervalo de 24,3 °C a 54,9 °C ($T_p = 33,3^\circ\text{C}$) com uma perda de massa de 4,0%. Essa etapa pode estar relacionada com a presença de

umidade da lactose e do amido, excipientes presentes nesta formulação. A segunda etapa de decomposição ocorre no intervalo de temperatura de 78,6 a 167,6 °C ($T_p = 33,3$ °C) com uma perda de massa de 3,2 %, que pode estar relacionada com a desidratação do ácido fólico existente no comprimido. A terceira perda de massa ocorre no intervalo de temperatura de 168,7 a 273,9 °C ($T_p = 235,4$ °C) referente a 25,2%, que pode estar relacionada com a perda do amidoglicolato, além de parte do ácido glutâmico que começa a se decompor a partir de 199,1 °C. De acordo com o trabalho publicado por Nunes (2009), o copolímero ácido metacrílico também se decompõe totalmente nessa faixa de temperatura.

Uma quarta perda de massa ocorre no intervalo de temperatura de 273,9 a 377,2 °C com um percentual de perda de massa de 29,1% e pode estar relacionada com a decomposição de parte do estearato de magnésio que se decompõe nessa faixa de temperatura. A celulose microcristalina se decompõe a partir de 300,0°C, onde ocorre a despolimerização e a decomposição dessa substância.

Um quinto evento é observado na faixa de temperatura de 378,125 a 421,2 °C com perda de massa de 7,4%, e a sexta etapa de decomposição ocorre no intervalo de temperatura entre 421,3 a 544,5 °C, com uma perda de massa de 26,1 %. Essas perdas de massa podem ser relacionadas com a decomposição completa do estearato de magnésio e do restante dos produtos da molécula do ácido fólico, formando um resíduo preto carbonizado.

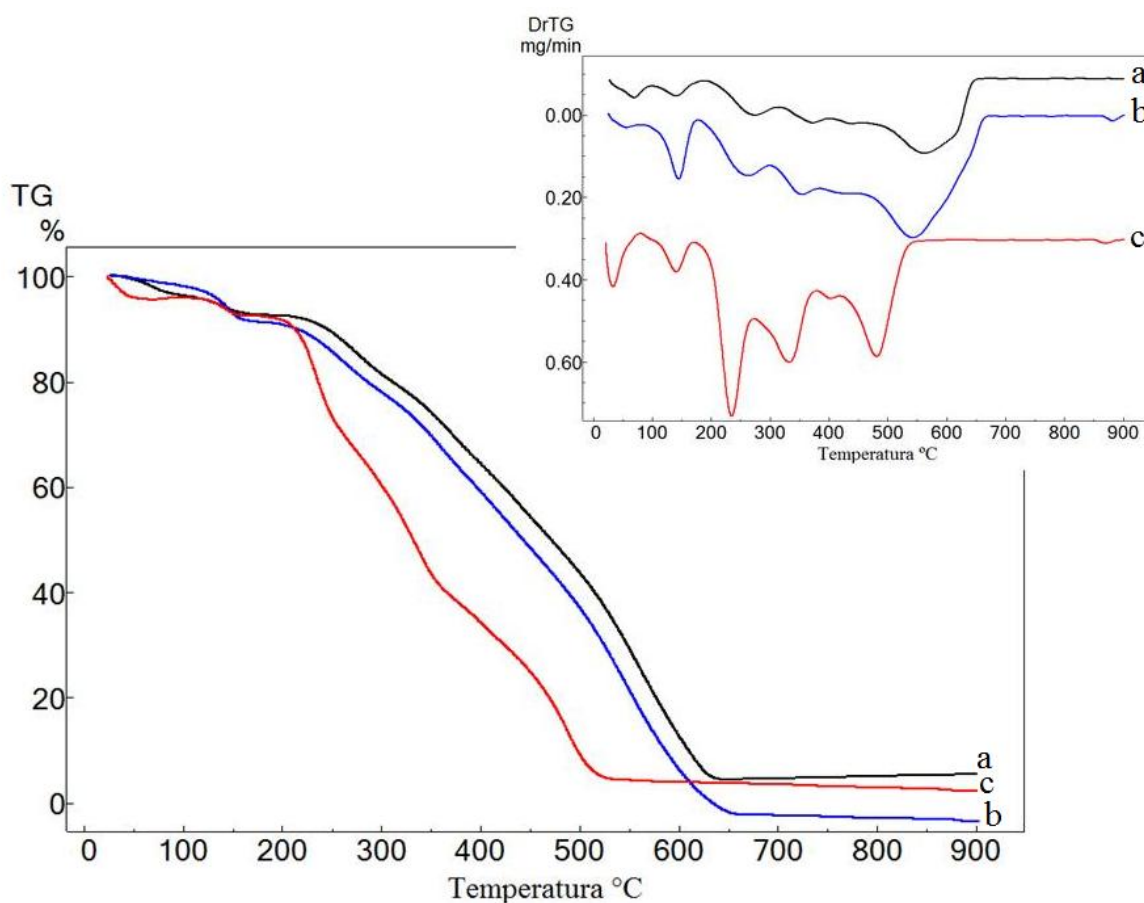
Uma perda de massa constante é observada de 550,1 a 850,3 °C, referente a 1,6%. Esse evento não foi registrado pela curva DTG. O último evento ocorre entre 850,0 a 900,0 °C, e pode estar relacionado com a decomposição térmica de parte do material carbonizado. A formação desse resíduo (0,4%) pode estar relacionado com a presença de óxido de magnésio (MgO) obtido a partir da decomposição térmica do estearato de magnésio e do dióxido de titânio presente na formulação, que por sua vez é muito estável a altas temperaturas devido à forte ligação entre o íon titânio tetravalente e os íons de oxigênio bivalente.

Verificou-se que a amostra do medicamento apresenta comportamento térmico semelhante ao observado no princípio ativo (curva b). Foi possível verificar também que esses eventos ocorreram em temperaturas menos elevadas, e isso pode ser explicado pela interação dos excipientes com o AF durante a decomposição térmica, indicando a influência destes no comportamento térmico da formulação farmacêutica.

Alguns pesquisadores, como (LONGHINI 2006; MORAIS 2011; SOUZA 2011) vem estudando a interação de princípios ativos (carbonato de cálcio, captopril e ácido gálico) frente aos excipientes empregados em formulações farmacêuticas sólidas, usando técnicas

termoanalíticas, especificamente a TG. De acordo com seus resultados, os excipientes interagem com os componentes das formulações variando as temperaturas de decomposição.

Figura 27 – Curvas TG/DTG para o AF extraído do comprimido (a) princípio ativo AF (b) e comprimido (c). Condições experimentais: razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, com vazão do gás de 50 mL min^{-1} . Atmosfera de ar nitrogênio, cadinho de α -alumina.



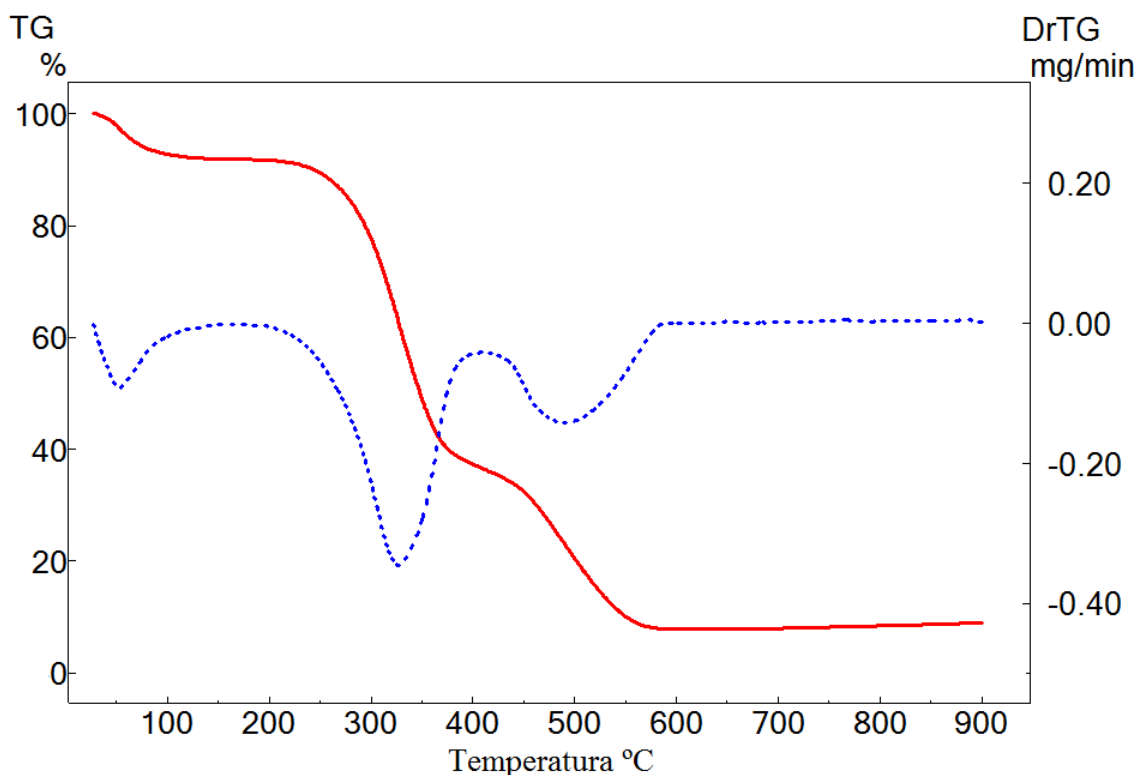
5.3.3 Curva TG/DTG dos excipientes após extração de AF em atmosfera de nitrogênio

A Figura 28 mostra a curva TG/DTG dos excipientes extraídos dos comprimidos contendo ácido fólico como princípio ativo. Sabe-se que os excipientes são usados em pequena quantidade nas formulações farmacêuticas, no entanto, não existem informações sobre a porcentagem do excipiente, uma vez que isso constitui-se uma informação não

revelada pelos rótulos de seus respectivos produtos.

Na Figura 28 observam-se três perdas de massa, sendo a primeira entre 35,0 °C e 130,6 °C que pode ser atribuída à desidratação dos excipientes e possivelmente à presença do amido que faz parte da formulação farmacêutica e da lactose. De acordo com trabalho publicado por Morais (2011) esses excipientes apresentaram eventos relacionados à desidratação nessa faixa de temperatura. Essas substâncias apresentam uma grande facilidade de absorver água, correspondendo a uma perda de massa de 8,0%. Uma segunda e terceira etapas ocorreram de forma simultânea na temperatura entre 204,2 °C a 395,7 °C com um percentual de 54,6% referente a decomposição térmica da celulose microcristalina, amido e estearato de magnésio. Em 399,7 a 590,83 °C ocorre à terceira perda de massa referente a 29,35%. De acordo com as curvas TG/DTG, 91,9% de todo material foi degradado até 590,0°C.

Figura 28 – Curva TG/DTG dos excipientes após extração de ácido fólico em atmosfera de nitrogênio, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, vazão do gás de 50 mL min⁻¹ e cadinho de α -alumina.



5.4. MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS (VPD) DO AF

Antes de definir a parte experimental, foram realizados diversos testes com ácido fólico e o eletrodo de pasta de grafite. Além da modificação do eletrodo com cisteína, outros eletrólitos foram utilizados, tais como: tampão fosfato pH de 3 a 8, ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹, hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ e KCl 0,5 mol L⁻¹. A modificação do EPG com cisteína foi desenvolvida de duas formas: eletroquimicamente, formando um filme polimérico na superfície do EPG e misturando a cisteína com o pó de grafite. Os dois materiais modificados foram testados com os diferentes eletrólitos, porém a modificação não proporcionou aumento na corrente de pico anódico do AF.

As varreduras desenvolvidas com AF em ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹ apresentaram dois potenciais de pico anódicos entre 0 e 1,3 V. Porém, essa faixa de potencial favoreceu a corrosão do grafite, limitando dessa forma o seu uso. As varreduras desenvolvidas empregando solução tampão mostraram o aparecimento de dois picos anódicos característicos do ácido fólico, no entanto, os picos apareceram mal resolvidos e com áreas pequenas na faixa de potenciais estudados (0 a 1,3 V). Para a análise desenvolvida usando NaOH 0,1 mol L⁻¹ na faixa de 0 a 1,3 V não foram observados picos no intervalo de potenciais estudados. O eletrólito escolhido para desenvolver o procedimento experimental foi o KCl 0,5 mol L⁻¹, pois a varredura de AF nessa solução, usando a faixa de potencial de 0 a 1,3 V, apresentou apenas um pico de corrente anódica. O eletrodo nessa solução não sofre corrosão, por isso foi usado como eletrólito suporte. Além disso, não foi verificado trabalhos na literatura envolvendo o cloreto de potássio como eletrólito suporte para a determinação de AF em formulações farmacêuticas.

5.4.1 Caracterização do eletrodo de trabalho

Para estimar as características eletroquímicas do EPG, escolheu-se a faixa de trabalho de potenciais e o eletrólito de suporte. Curvas voltamétricas foram registradas em solução de KCl 0,5 mol L⁻¹ na ausência e na presença de AF.

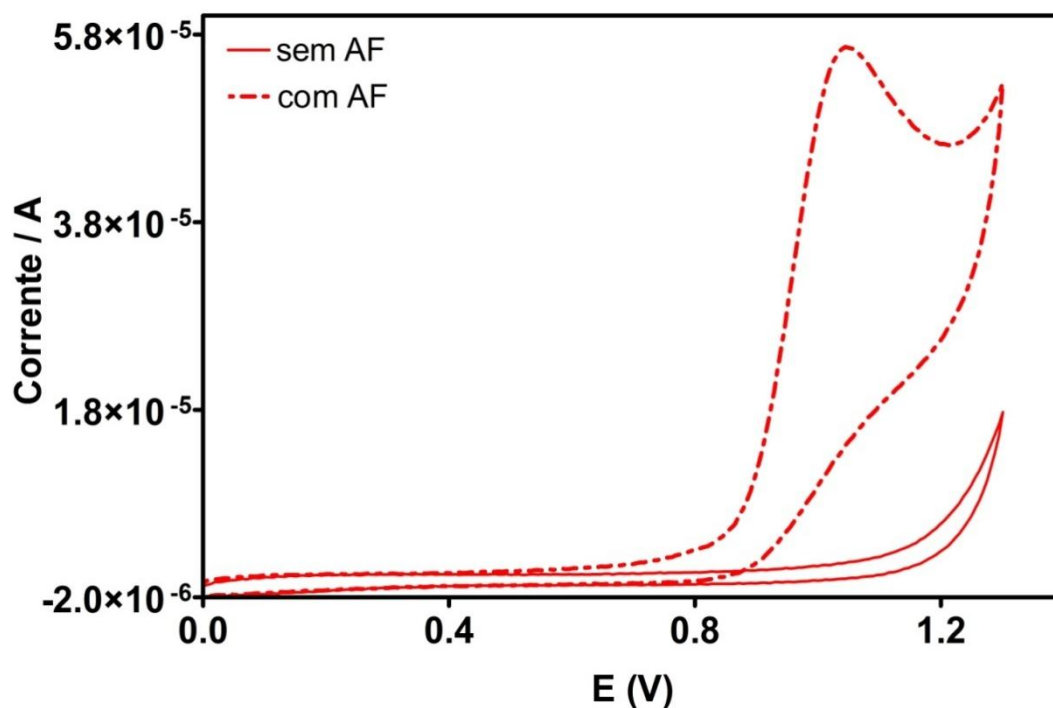
De acordo com a Figura 29 é possível verificar que inicialmente foi desenvolvida uma varredura de potencial linear entre + 0 V a 1,3 V versus Ag/AgCl/KCl (Sat.). A velocidade de varredura em ambas as direções foi de 50 mV s⁻¹. A Figura 29 mostra a resposta de corrente para uma solução de $1,96 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de AF em KCl 0,5 mol L⁻¹. Quando o potencial

tornou-se mais positivo do que aproximadamente +0,8 V, uma corrente anódica surgiu, devido à oxidação do AF. Quando a direção da varredura foi alterada, não se observou nenhum processo de redução, o que indicou a irreversibilidade do processo.

Li Quanmin et al. (2013) trabalharam com EPG modificado com nitrocromo para determinação de AF e ácido úrico em urina de humanos, usando tampão fosfato (pH 6,00) como eletrólito suporte e empregando a VPD para identificação do AF. De acordo com os resultados observou-se um pico de corrente anódica com um comportamento irreversível do AF, em aproximadamente 0,694V. Essa irreversibilidade é semelhante ao observado utilizando o EPG, no entanto apresentou potencial de pico diferente ao obtido por Li Quanmin et al. (2013) devido a diferença de eletrodos e eletrólito utilizados durante o procedimento experimental.

Wei et al. (2005) identificaram AF utilizando eletrodo de ouro modificado com nanotubos de carbono, segundo os autores desse trabalho a transferência de elétrons é duas vezes maior que o número de prótons. HUO et al (2013) concluíram que algumas espécies são reduzidas no eletrodo de platina (o eletrodo auxiliar). Além disso, apenas o íon hidrogênio H^+ e o oxigênio dissolvido na solução (O_2) poderia ter seus elétrons reduzidos. Segundo os pesquisadores, o processo de oxidação do AF ocorre com a participação de prótons no processo de oxidação eletroquímica.

Figura 29 – Voltamograma cíclico usando EPG na ausência e na presença de $1,96 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} de AF.



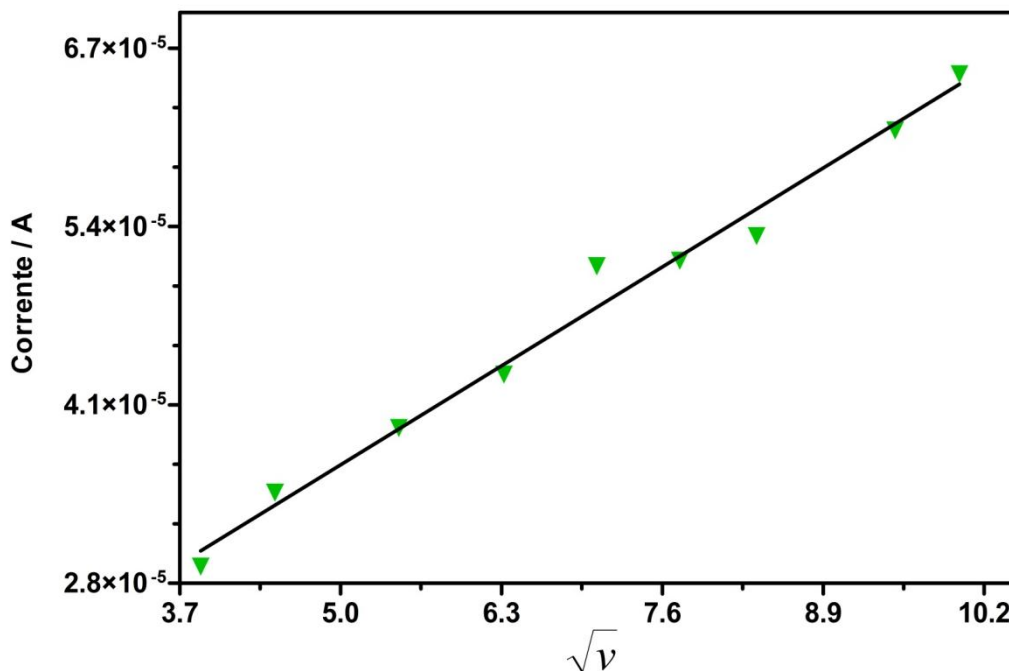
5.4.2 Variação da corrente de pico com a velocidade de varredura do AF

A Figura 30 apresenta os dados relacionados à influência da velocidade de varredura na corrente de pico anódica do AF. De acordo com os resultados verificou-se que a corrente de pico e a velocidade de varredura apresentaram boa relação linear. A equação de regressão linear, Equação 1, apresentou um coeficiente de correlação de 0,9893, sugerindo que o processo de oxidação ocorre por difusão controlada em baixas velocidades de varreduras.

$$I_p = (6,0 \times 10^{-6} \pm 0,052) \times [AF] + (9,1 \times 10^{-6} \pm 0,7) \quad \text{Equação (1)}$$

$$(n = 9; r^2 = 0,98930)$$

Figura 30 – Efeito da velocidade de varredura na oxidação do pico da corrente do AF.



5.4.3 Curva de calibração (VPD)

Dados obtidos analisando a solução padrão de AF em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ mostraram uma relação linear existente entre a corrente de pico e a concentração do ácido fólico. Estes resultados em EPG destacam as vantagens do presente eletrodo.

A Figura 31 mostra o resultado obtido usando a técnica de VPD. A partir destes resultados é possível observar que na ausência de AF não foram observados picos no intervalo de potenciais estudados. Entretanto, quando diferentes concentrações de AF foram adicionadas, um aumento na corrente foi observado a um potencial de $0,91\text{V}$. O sinal do AF aumentou em função dos incrementos de concentração em solução.

A estimativa preliminar dos limites de detecção, LD, também foi possível, usando a abordagem baseada no desvio padrão da regressão, utilizando a equação 2.

$$LD = 3 \times \frac{s_Y}{b}$$

Equação (2)

Onde $S_{\frac{y}{x}}$ é o desvio padrão residual e b é o declive do gráfico de calibração. Com base nos resultados obtidos, um LD de aproximadamente $5,683 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e LQ $1,894 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ foi estimado.

Os dados foram adquiridos por meio da avaliação da intensidade do pico em função da concentração do analito, e considerando-se, pelo menos 6 concentrações do analito. A análise residual da regressão linear mostrou que existe uma resposta linear de $4,975 \times 10^{-6}$ a $2,913 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com coeficientes de regressão sempre maiores do que 0,9942. A curva analítica correspondente é representada pela Equação 3:

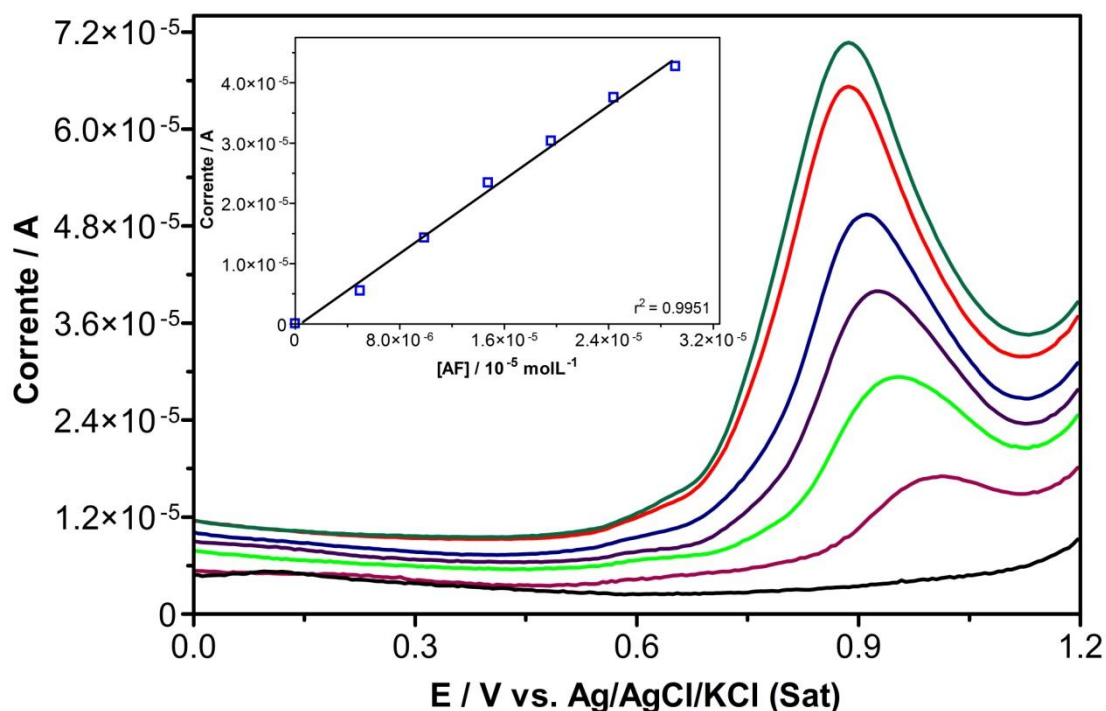
$$I = (1,533 \pm 0,052) \times [\text{AF}] - (6,000 \pm 0,6) \times 10^{-7} \quad \text{Equação (3)}$$

(n = 6; $r^2 = 0,9955$)

A equação 3 foi usada para estimar a concentração de AF em diferentes tempos da eletrólise. A curva analítica para garantir as medidas dentro de um intervalo esperado de concentração após a dissolução dos comprimidos e extração do ácido fólico.

A curva analítica obtida foi utilizada para a quantificação de AF em amostras farmacêuticas contendo ácido fólico como princípio ativo. Segundo os pesquisadores Vaze e Srivastava (2007), nessa faixa de potencial aplicada (0 a 1,2 V) ocorreu a adsorção do anel fenil do *p*-aminobenzóico da molécula do AF. De acordo com esses dois estudiosos, a porção de ácido glutâmico na molécula não foi reportado ter qualquer atividade eletroquímica nessa faixa de potencial aplicado durante a análise.

Figura 31 - Curva de calibração do AF obtida usando eletrodo de pasta de grafite. Eletrólito de suporte KCl 0,5 mol L⁻¹



A Tabela 5 apresenta o teor de AF presente nos comprimidos, analisados empregando a DPV. De acordo com os cálculos teóricos considerando as massas dos comprimidos e a quantidade de AF declarado no rótulo das formulações (5mg), cada comprimido da amostra AM1 apresenta um teor de AF de 3,6 % considerando que esse princípio ativo tem 100 % pureza. As indústrias fornecedoras dessas formulações não informam quaisquer informações referentes ao grau de pureza do AF adicionado nestes comprimidos. Portanto, esses dados foram trabalhados considerando as informações estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira (2010). De acordo com a mesma, o AF nos comprimidos contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de AF. Considerando os cálculos teóricos verificou-se que o AF da amostra AM1 varia entre 3,26% a 3,98% (o percentual de AF contido em cada comprimido). Já para AM2 esse percentual teórico varia entre (4,12% a 5,03%). Esses dados teóricos foram calculados de acordo com a quantidade de ácido fólico declarado na bula de cada formulação dividido pelo peso médio dos comprimidos.

Tabela 5 - Teor de AF em comprimidos, obtidos empregando a curva analítica VPD.

Amostras	Teor de AF %	Erro absoluto
AM1	2,84	-0,76
AM1	3,18	-0,42
AM1	2,93	-0,67
AM2	5,53	0,94
AM2	5,49	0,90
AM2	4,79	0,79

5.4.4 CURVA DE CALIBRAÇÃO (UV-VIS).

A Figura 32 mostra o perfil espectral do ácido fólico. O comprimento de onda do pico de absorbância do AF aparece na região do ultravioleta em aproximadamente 255 e 283 nm. O espectro de absorção do AF mostra que a absorbância (A) varia com a concentração de AF.

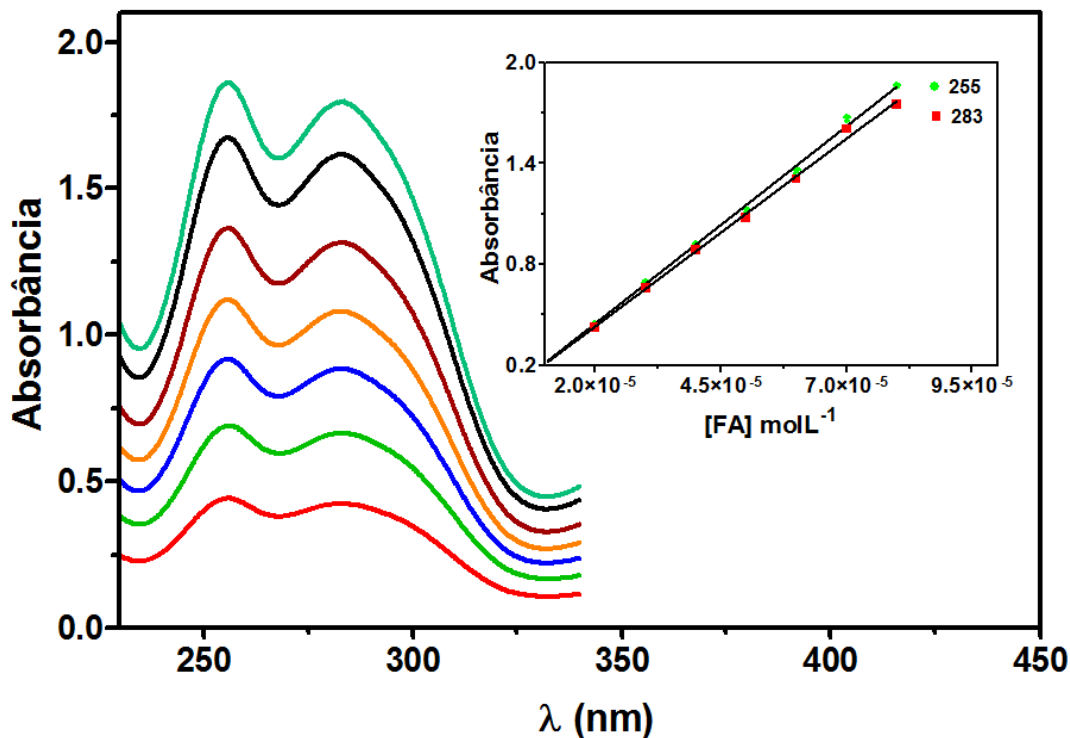
Esses espectros de absorção molecular foram obtidos para a obtenção da curva analítica, sendo que para isto utilizou-se 7 padrões de AF. A análise residual da regressão linear mostrou que existe uma resposta linear de $2,0 \times 10^{-5}$ a $8,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com coeficientes de regressão sempre maiores do que 0,9990. A curva analítica correspondente foi representada pela equação 4:

$$A = (325031 \pm 0,032) \times [AF] - (0,00783 \pm 0,6) \quad \text{Equação (4)}$$

$$(n = 7; r^2 = 0,9981)$$

Apesar do espectro do AF apresentar duas bandas de absorção bem definidas, a curva foi construída usando o comprimento de 255 nm, devido apresentar um melhor coeficiente de correlação linear. E, conseqüentemente, o teor de AF nos comprimidos foi obtido através da absorbância do AF nesse comprimento de onda.

Figura 32 – Curva analítica do AF empregando espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-VIS.



A Tabela 6 exibe o teor de AF presente nos comprimidos e analisados empregando espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-VIS. Considerando os dados teóricos, constatou-se que o teor de AF obtido empregando espectrofotometria na região do UV-Vis para as amostras AM1 e apresentados na Tabela 6, exibiu variação entre 2,44 a 2,57%. No entanto, para a amostra AM2 a variação foi entre 1,61 a 2,39 %, exibindo um teor de AF menor do que o mostrado nas bulas dos medicamentos. Trabalho desenvolvido por Cavalcante et al. (2000) mostrou que é possível avaliar as modificações estruturais do AF puro quando submetido à exposição da luz ultravioleta. Além disso, análises por IV demonstraram que não houve alterações significativas de grupos funcionais na molécula no intervalo de tempo avaliado. Segundo Nagaraja et al. (2002), a maioria dos métodos espectrofotométricos para quantificação de AF sofrem desvantagens tais como: faixa estreita de determinação e instabilidade da cor do produto formado. Além disso, apresenta gasto de reagentes e demora na abertura das amostras.

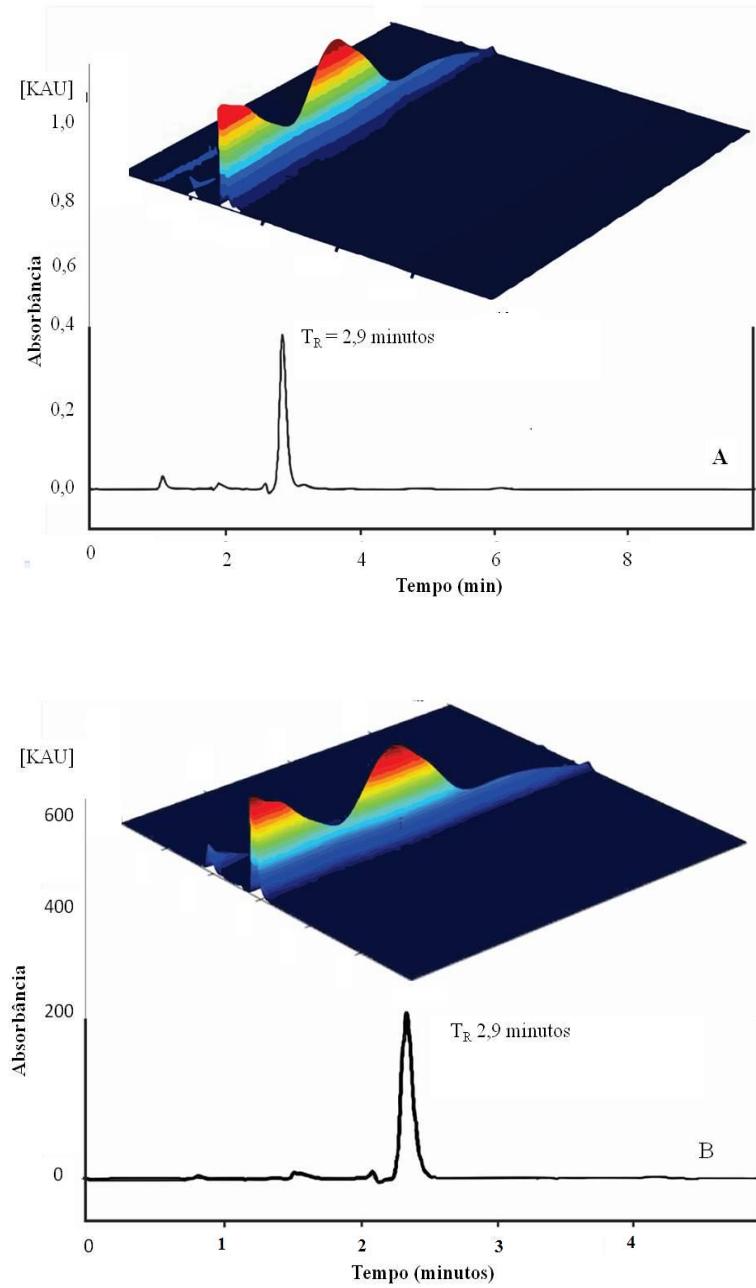
Tabela 6 - Teor de AF em comprimidos, obtidos empregando a curva analítica UV-VIS.

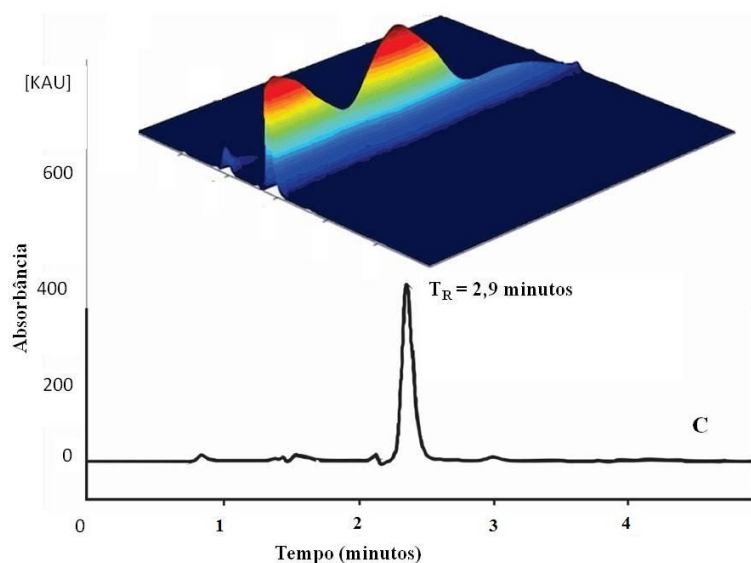
Amostras	Teor de AF %	Erro absoluto
AM1	2,46	-1,14
AM1	2,57	-1,03
AM1	2,44	-1,16
AM2	1,61	-1,99
AM2	2,15	-2,43
AM2	2,39	-1,21

5.4.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência do AF

De acordo com os cromatogramas obtidos verificou-se que o método foi capaz de realizar a separação do AF. Os perfis cromatográficos, referentes à determinação de ácido fólico em amostras de comprimidos, bem como o cromatograma obtido após a injeção de padrão de AF, são apresentados na Figura 33. Neles, o pico do AF aparece isolado com tempo de retenção de aproximadamente 2,9 minutos. Pode-se observar que o fármaco apresenta picos de absorção máxima próxima de 255 e 283 nm. Foi avaliado através do DAD, qual seria o comprimento de onda mais adequado ao método para detecção do ácido fólico, uma vez que a Farmacopeia Brasileira 2010, cita o valor de 283 nm para a absorção do AF. Por esse motivo a análise foi realizada em 283 nm.

Figura 33 – Perfis cromatográficos obtidos durante a separação do AF padrão (A), AM1(B) e AM2(C) e espectros das três amostras obtidos através do DAD.





A Tabela 7 apresenta o teor de AF presente nos comprimidos, empregando a cromatografia líquida de alta eficiência. De acordo com os dados obtidos pelos cromatogramas e apresentados na Tabela 6, observou-se que na amostra AM1 o teor de AF no medicamento variou entre 2,36 a 2,79 %, enquanto que em AM2 a variação ocorreu entre 6,40 a 6,41%. De acordo com as análises realizadas com base no procedimento estabelecido pela Farmacopeia Brasileira, a amostra AM1 está com concentração de AF abaixo do declarado pelo fabricante do comprimido, e AM2 apresentou um percentual acima do especificado.

Segundo Leporati et al. 2005, relata que existe uma procura crescente de métodos analíticos reprodutíveis capaz de testar uma ampla gama de formulações, superando os efeitos fortes da matriz.

Tabela 7 - Teor de AF em comprimidos, obtidos empregando CLAE.

Amostras	Teor de AF %	<i>Erro absoluto</i>
AM1	2,63	-0,97
AM1	2,36	-1,24
AM1	2,79	-0,81
AM2	6,41	1,83
AM2	6,40	1,82
AM2	6,41	1,83

A Figura 34 e Figura 35 mostram o comparativo entre as três técnicas utilizadas durante o procedimento experimental para a identificação e a quantificação de AF em comprimidos. De acordo com os resultados, a espectrofotometria de absorção apresentou baixa sensibilidade para quantificação de AF nos comprimidos AM1 e AM2. A cromatografia líquida e a voltametria de pulso diferencial foram as técnicas que mais se aproximaram do valor real de AF nos medicamentos. De acordo com esses resultados, conclui-se que a DPV usando EPG pode ser empregada para o monitoramento da concentração de AF em formulações farmacêuticas.

Figura 34 – Comparação do teor de ácido fólico presente nas amostras de comprimidos (AM1) usando diferentes técnicas (VPD, UV-VIS, CLAE).

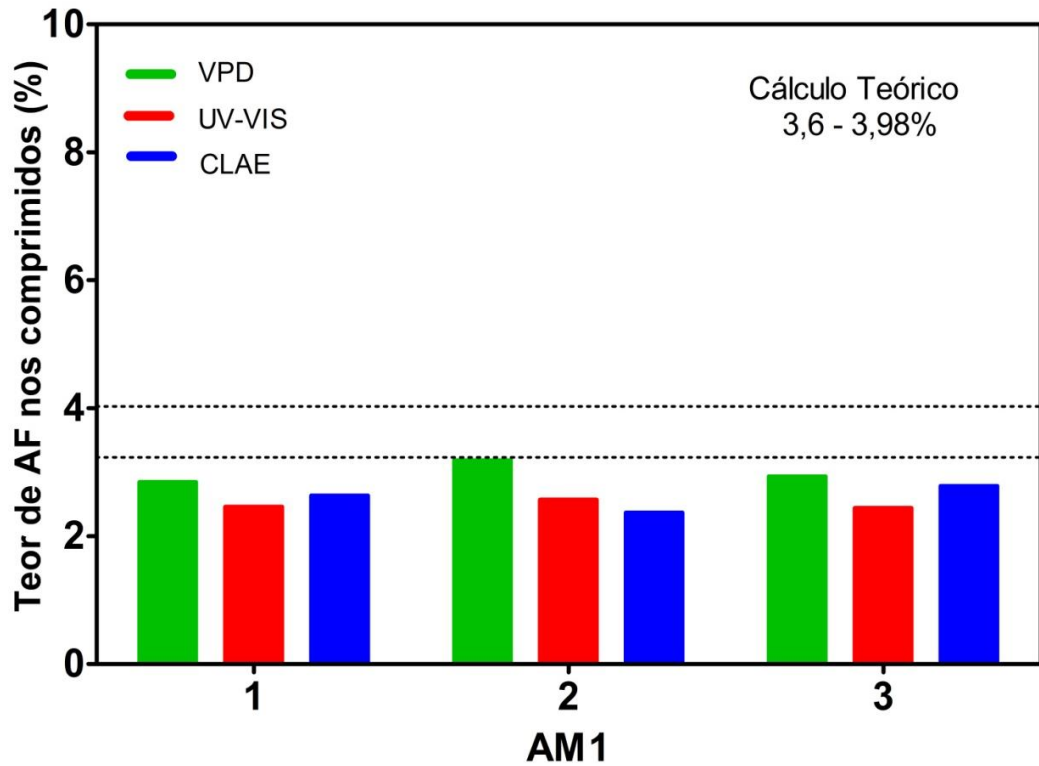
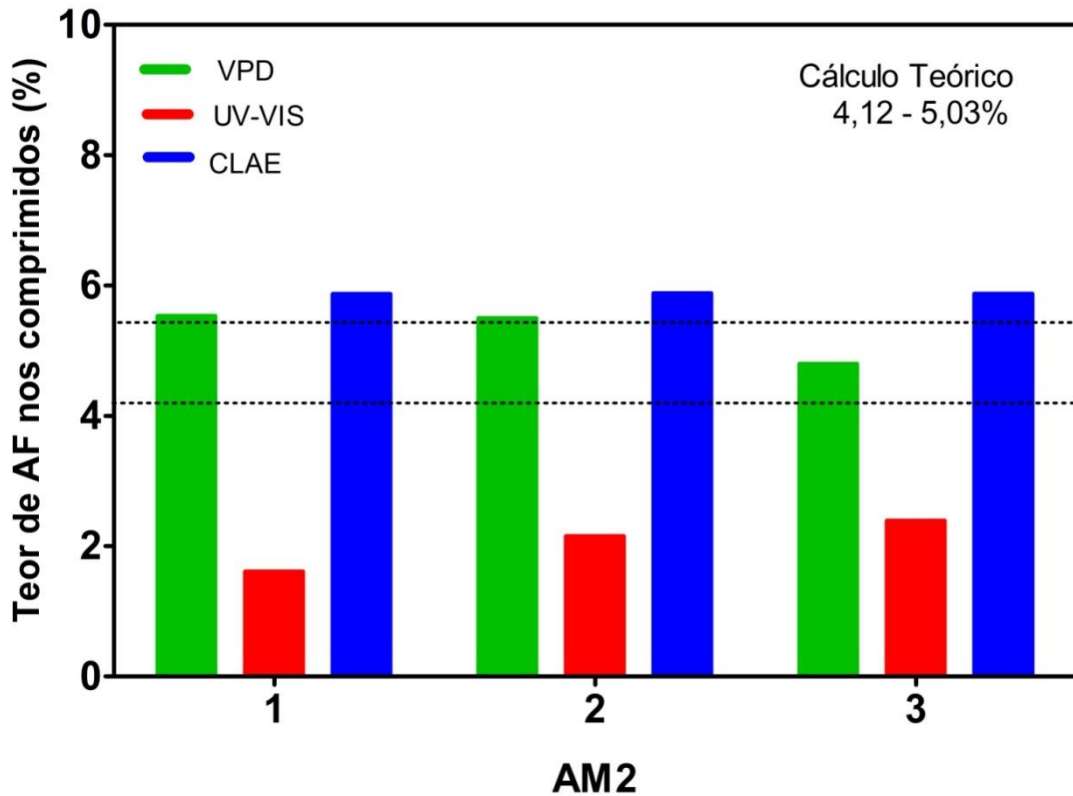


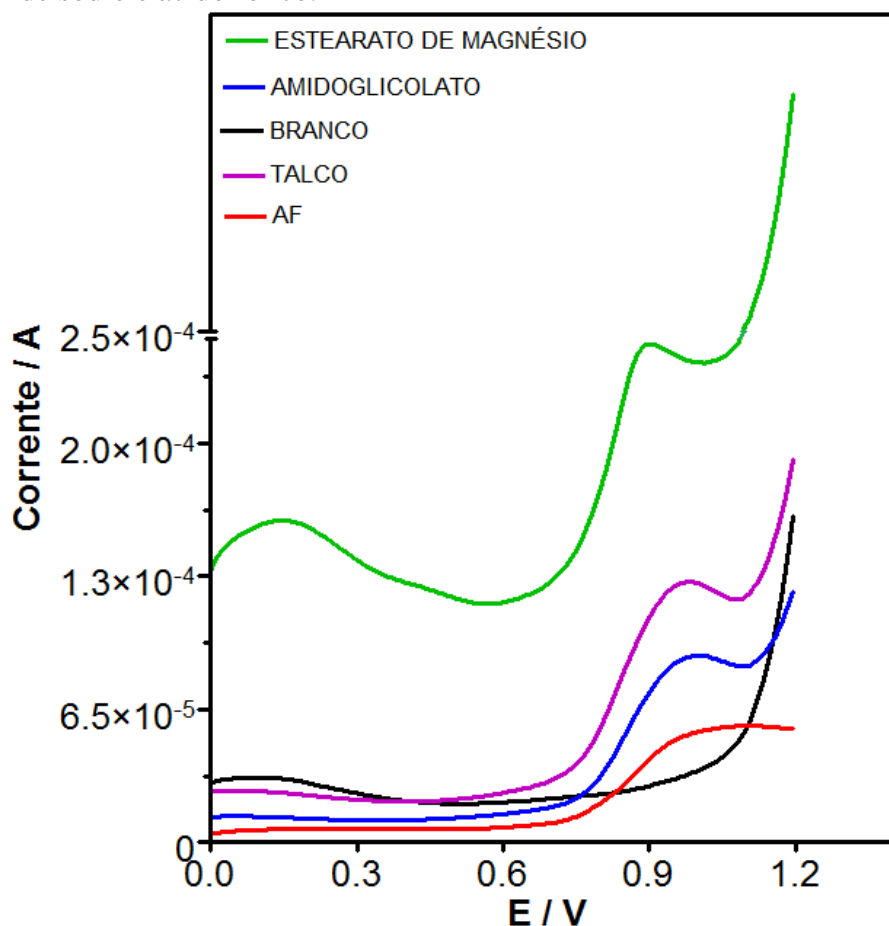
Figura 35 – Comparação do teor de ácido fólico presente nas amostras de comprimidos (AM2) usando diferentes técnicas (VPD, UV-VIS, CLAE).



5.4.6 Interferências de alguns excipientes presente nos comprimidos.

De acordo com os dados apresentados na Figura 36, os potenciais de pico desses compostos estão na mesma faixa de potencial do AF 0,91 V. No entanto, todos esses materiais são pouco insolúveis em NaOH 0,1 mol L⁻¹. Para que essas correntes de pico fossem observadas foi necessário usar a concentração 0,01 mol L⁻¹ desses excipientes. Já a concentração de AF empregado nesses experimentos é da ordem de 10⁻⁵ mol L⁻¹. De acordo com RAYMOND et al. (2006), o estearato é incompatível com álcalis e ácidos fortes podendo ficar retido no papel de filtro durante a filtração.

Figura 36– Voltametria de Pulso Diferencial do estearato de magnésio, talco, amidoglicolato de sódio e ácido fólico.



6 CONCLUSÕES

No presente trabalho foi investigado o teor de AF em comprimidos usando eletrodo de pasta de grafite empregando a técnicas analíticas.

De acordo com os dados da Termogravimetria (TG) e termogravimetria derivada (DTG) para o grafite, ficou evidente apenas uma perda de massa referente à etapa de oxidação do carbono pela formação de dióxido de carbono, tanto em atmosfera de ar sintético, quanto para atmosfera de nitrogênio. Os dados obtidos pelo difratograma de raios-x do grafite apresentou picos indicativos de cristalinidade referentes ao carbono hexagonal. O resíduo do carbono obtido após a calcinação apresentou picos indicativos de cristalinidade referentes a óxido misto de ferro (II) e (III). Na fluorescência de raios-x detectou-se a presença de outros materiais constituintes na barra de grafite, tais como: óxido de ferro e óxido de silício.

As amostras de ácido fólico submetida à análise no TG/DTG mostraram quatro estágio de decomposição para o ácido fólico e os difratogramas de raios-x exibiram picos indicativos de cristalinidade referentes ao ácido fólico. O mesmo comportamento ocorreu para os comprimidos.

A termogravimetria/Termogravimetria Derivada aplicada para a formulação farmacêutica apresentou etapas de decomposição semelhantes ao padrão de AF, porém, as etapas de decomposição ocorreram em temperaturas menos elevadas, devido a presença dos excipientes. A TG/DTG para os excipientes extraídos das formulações apresentou apenas duas etapas de decomposição, a primeira referente a desidratação e a segunda a decomposição completa do material.

As análises de infravermelho para os comprimidos apresentaram bandas referentes ao AF quando comparado com o padrão. Os excipientes obtidos após a extração não mostraram bandas características de ácido fólico.

O eletrodo de pasta de grafite apresentou uma excelente atividade eletrocatalítica para o ácido fólico na solução de cloreto de potássio, utilizada como eletrólito suporte. Obteve-se um pico de oxidação irreversível em 0,91 V usando VC atribuído ao AF. Além disso, apresentou LD de $5,683 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. As análises espectrofotométricas apresentaram concentrações de AF menor quando comparadas com os dados obtidos por CLAE e VPD. Análises voltamétricas mostraram que os excipientes podem oxidar na mesma faixa de potencial do AF, porém os mesmos são insolúveis em NaOH. Comparando a VPD com o método cromatográfico, a VPD possibilitou um bom ajuste e baixos limites de detecção,

confirmando a aplicabilidade da técnica eletroanalítica para o monitoramento da concentração de AF em comprimidos. Os nossos resultados demonstraram o potencial destas técnicas eletroanalíticas para futuras aplicações em indústrias farmacêuticas.

REFERÊNCIAS

ANICETO, C.; CANAES, L. S.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação Espectrofotométrica de Vitamina B2 (Riboflavina) em Formulações Farmacêuticas Empregando Sistema de Análises por Injeção em Fluxo. **Química Nova**, v.23, n.(5), p.637-640, 2000.

Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v23n5/3055.pdf>. Acesso em: 12 jun. 2012.

ALAM, A.M., KAMRUZZAMAN, M. LEE, S. H.; KIM O. H.; MIN, K. Europium-Enoxacin Complex as Fluorescence Probe for the Determination of Folic Acid in Pharmaceutical and Biological Samples. **Bull. Korean Chem. Soc**, v. 33, n. 9, p. 3055-3060, 2012.

ALABURDA, J.; ALMEIDA, A. P.; SHUNDO, L.; RUVIERI, V.; SABINO, M. Determination of folic acid in fortified wheat flours. **Journal of food composition and analysis**. v. 21, p. 336-342, 2008. Disponível em: < <http://doi:10.1016/jfca.2007.12.002> >. Acesso em: 20 mar. 2010.

ARCOT, J. ; SHRESTHA, A . Folate: methods of analysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, n. 6–7, p. 253–266, 2005.

Disponível em: < http://pub.epsilon.slu.se/8567/1/strandler_hs_120125.pdf >. Acesso em 5 out. 2011.

ARVAND, M.; DEHSARAEI, M. A simple and efficient electrochemical sensor for folic acid determination in human blood plasma based on gold nanoparticles–modified carbon paste electrode. **Materials Science and Engineering C**, v. 33 p. 3474–3480, 2013.

Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.04.037> >. Acesso em: 20 mar. 2013.

AURORA-PRADO, M. S.; SILVA, C. A.; TAVARES, M. F. M.; ALTRIA, K. D. Determination of folic acid in tablets by microemulsion electrokinetic chromatography. **Journal Chromatography A**, v. 1051, p. 291-296, 2004.

BAGHBAMIDI, S. E.; BEITOLLAHI, H.; MOHAMMADI, S. Z.; TAJIK, S.; SOLTANI-NEJAD, S.; SOLTANI-NEJAD, V. Nanostructure-based electrochemical sensor for the voltammetric determination of benserazide, uric acid, and folic acid. *Chinese Journal of Catalysis*, v. 34, p.1869–1875, 2013.

BAR-OZ, B. ; KOREN, G. ; NGUYEN, P. ; KAPUR, B. M. . Folate fortification and supplementation—Are we there yet? **Reproductive Toxicology**, v.25, n. 4, p. 408–412, 2008.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2008.04.010>>. Acesso em: 12 jun. 2011.

BEITOLLAHI, H.; SHEIKHSHOAIE, I. Selective voltammetric determination of norepinephrine in the presence of acetaminophen and folic acid at a modified carbon nanotube pasta electrode. **Journal of electroanalytical chemistry**. v. 661, p. 336-342, 2011.

Disponível em: < <http://doi:10.1016/j.jelechem.2011.08.014> >. Acesso em: 2 fev. 2011.

BOSTROM, M.; LINDEBERG, J. Biosensor-based determination of folic acid in fortified food. **Food Chemistry**, v. 70, p. 523-532, 2000. Disponível em: < [http://PII:S0308-8146\(00\)00115-1](http://PII:S0308-8146(00)00115-1) >. Acesso em: 20 agosto 2011.

BBC Brasil. Ácido fólico pode manter espermatozoides saudáveis, diz estudo. 23 abr. 2008. Folha de São Paulo. Disponível em:
<<http://www1.folha.uol.com.br/folha/bbc/ult272u384169.shtml>>. Acesso em: 11 jan. 2012.

BHANDARI, D.; KERTESZ, V.; BERKEL, G. J. V. Rapid quantitation of ascorbic and folic acids in SRM 3280 multivitamin/multielement tablets using flow-injection tandem mass spectrometry. **Rapid Commun. Mass Spectrom**, v.27, p. 163-168, 2012.

BRASIL. Resolução RDC nº. 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 23 set. 2005. Disponível em:<<http://www.crd.defesacivil.rj.gov.br/documentos/IDR.pdf>>. Acesso em: 13 maio 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº 354 da ANVISA, de 11 de agosto de 2006, republicada no DOU de 21 de agosto de 2006, em reunião realizada em 14 de junho de 2012. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/> >. Acesso em: 4 de mar. 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n.344, de 13 de dezembro de 2002. Aprova o regulamento técnico para a fortificação das farinhas de trigo e das farinhas de milho com ferro e ácido fólico. Disponível em:
<http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/344_02rdc.htm>. Acesso em: 2 jun 2010.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira, volume 2 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.904p., 2v/II.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lei n. 6.360, de 1976 (com redação dada pela Lei nº 9.787 de 10 de fevereiro de 1999). Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 5 de mar. 2012.

BRASIL. Avaliação Preliminar da Capacidade Laboratorial na determinação de Ácido Fólico, Ferro Total, Glúten e Ácidos Graxos Trans em Alimentos. (RDC nº 344/02, RDC nº 40/02, RDC nº 360/03, Lei nº 10.674/03, Lei nº 8.534/92). Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 4 de mar. 2012.

BREITHAUPT, E. D. Determination of folic acid by ion-pair RP-CLAE in vitamin-fortified fruit juices after solid-phase extraction. **Food Chemistry**, v.74, p.5214-525, 2001
BRUCE, P. Y. Organic Chemistry. 4 ed, Pearson, São Paulo, 2010.

CAREY, F. A. **ORGANIC CHEMISTRY**. 4 ed. McGraw-Hill, University of Virginia, England.2000.

CARVALHO, K. P.; LELES, M. I. G. Desenvolver formas farmacêuticas sólidas e avaliar a estabilidade térmica por DSC e TG. Estudo de novas formas farmacêuticas e capsulas de liberação prolongada. Instituto de Química. Universidade Federal De Goiás. Pró-Reitoria De Pesquisa e Pós-Graduação. Coordenação Geral de Pesquisa Programa Institucional de Iniciação Científica. Projeto de Pesquisa. Disponível em:
<http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/conpeex/pivic/trabalhos/KALLITA_.PDF>. Acesso em: 21 maio 2012.

COMNINELLIS, Ch, GUOHUA, C. (Eds.) (2009) *Electrochemistry for the Environment*; Springer: Berlin.

DANTAS, A. N. D. S.; De SOUZA, D.; LIMA, J. E. S. D.; De LIMA-NETO, P.; CORREIA, A. N. Voltammetric determination of ketoconazole using a polished silver solid amalgam electrode. *Electrochimica Acta*, v. 55, n, 28, p. 9083-9089, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468610010881>>. Acesso em: 1 jan. 2011.

EBBING, M.; BØNAA, K.H.; NYGÅRD, O.; ARNESEN, E.; UELAND, P.M.; NORDREHAUG, J.E.; RASMUSSEN, K.; NJØLSTAD, I.; REFSUM, H.; NILSEN, D.W.; TVERDAL, A.; MEYER, K.; VOLLSET, S. E. Cancer incidence and mortality after treatment with folic acid and vitamin B₁₂. *American Medical Association*, v. 302, n.19, p. 2119-2126, 2009. Disponível em: <<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=184898>>. Acesso em: 5 dez. 2010.

ELIAS, E. M. Ácido Fólico e Ferro em Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos Faculdade de Engenharia de Alimentos. Departamento de Ciência de Alimentos. Tese. 2010.

FENNEMA, O. F.; KAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. *Química de Alimentos de Fennema*. 4 ed, Porto Alegre: Artmed, 900 p. 2010.

FERREIRA, A. O. **Guia prático para farmácia magistral**. Juiz de Fora/MG, 2000.

FINGLAS, P. M.; WIGERTZ, K.; VAHTERISTO, L.; WITTHOFT, C.; SOUTHON, S.; FROIDMONT-GORTZ, I. Standardisation of CLAE techniques for the determination of naturally-occurring folates in food. *Food Chemistry*, v.64, p. 245-255, 1999.

Folic Acid Deficiency Signs and Symptoms. Disponível em: <http://www.medicalook.com/Nutritional_supplement/Folic_acid_deficiency.htm>. Acesso em: 02 de abr. 2011.

GHENO, G.; GUTERRES, J. M.; BASSO, N. R. S. Métodos de Esfoliação da Grafite para Síntese de Nanocompósitos. III Mostra de Pesquisa da Pós-Graduação PUCRS. Programa de Pós Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, Faculdade de Química, PUCRS, 2008. Disponível em: <<http://www.pucrs.br/edipucrs/online/IIImostra/EngenhariaeTecnologiadeMateriais/62743%20-%20GRASIELA%20GHENO.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2012.

GUYTON, A. C. HALL, J. E. *Tratado de Fisiologia médica*. Rio de Janeiro: Elsevier, 11 ed. 2006.

HUO, J.; SHANGGUAN, E.; Li, Q. A pre-anodized inlaying ultrathin carbon paste electrode for simultaneous determination of uric acid and folic acid. *Electrochimica Acta*. v.89, n.1, p. 600-606, 2013.

Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468612018932>>. Acesso em: 05 abr. 2013

JATENE, A.D.; PINA, F.A.L.; CARAVANTE JUNIOR, F.P.G. et al. Manual médico: medicamentos genéricos. São Paulo: Lemos Editorial, 2002. p.141.

JIN, P.; XIA, L.; LI, Z.; CHE, N.; ZOU, D.; XIN, H. Rapid determination of thiamine, riboflavin, niacinamide, pantothenic acid, pyridoxine, folic acid and ascorbic acid in Vitamins With Minerals Tablets by high-performance liquid chromatography with diode array detector. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 70, p. 151-157, 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708512003524>. Acesso em: 02 outubro 2012.

JULIANO, A. Estudo do mecanismo da carga pulsada em eletrodos planos de Pb e em eletrodos porosos de baterias chumbo ácido. Dissertação. Programa de Pós graduação em Engenharia. Universidade Federal do Paraná. 2005.

KARIMI-MALEH, H.; BIPARVA, P.; HATAMI, M. A novel modified carbon paste electrode based on NiO/CNTs nanocomposite and (9, 10-dihydro-9, 10-ethanoanthracene-11, 12-dicarboximido)-4-ethylbenzene-1, 2-diol as a mediator for simultaneous determination of cysteamine, nicotinamide adenine dinucleotide and folic acid. **Biosensors and Bioelectronics**, n. 48, p. 270–275, 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2013.04.029> >. Acesso em: 20 jun. 2013.

KOK, R. M.; SMITH, D. E. C.; DAINY, J.R.; VAN DEN AKKER, J. T.; FINGLAS, P.M.; SMULDERS, Y.M.; JAKOBS, C.; DE MEER, K. 5-Methyltetrahydrofolic acid and folic acid measured in plasma with liquid chromatography tandem mass spectrometry: Applications to folate absorption and metabolism. **Analytical Biochemistry**. v.326, n.2, p. 129-138, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269704000053>>. Acesso em: 15 junho 2011.

KOROLCZUK, M.; TYSZCZUK, K. Determination of folic acid by adsorptive stripping voltammetry at a lead film electrode stripping voltammetry at a lead film electrode. **Electroanalysis**, v. 19, n. 18, p. 1959-1962, 2007.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.; KANING, J. L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste, 2001.

LAZAROU, C.; KAPSOU, M. The role of folic acid in prevention and treatment of depression: An overview of existing evidence and implications for practice. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v.16, n. 3, p. 161-166, 2010. Disponível em:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1744388110000046>>. Acesso em: 5 jan.2012.

LEE, Goldman.; DENNIS, Ausiello. **Cecil Tratado de Medicina Interna**. 23ª ed. Elsevier, 2010.

LEPORATI, A.; CATELLANI, D.; SUMAN, M.; ANDREOLI, R.; MANINI, PAOLA.; NIESSEN, W. M. A. Application of a liquid chromatography tandem mass spectrometry method to the analysis of water-soluble vitamins in Italian pasta. **Analytica Chimica Acta**, v. 531, p. 87-95, 2005.

LIMA-NETO, P.; CORREIA, A. N.; PORTELA, R. R.; JULIÃO, M. S.; LINHARES-JUNIOR, G. F. De LIMA, J. E. S. Square wave voltammetric determination of nitrofurantoin in pharmaceutical formulations on highly boron-doped diamond electrodes at different boron-doping contents. **Talanta**, v. 80, n. 5, p.1730-1736, 2010.

Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914009008030>>.

Acesso em: 9 dez. 2011.

LI, QUANMIN.; HUO, JING'E , SHANGGUAN, ENBO. A pre-anodized inlaying ultrathin carbon paste electrode for simultaneous determination of uric acid and folic acid. **Electrochimica Acta**, v. 89, p. 600-606, 2013.

Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: abril 2013.

LONGHINI, R. Avaliação de interações do ácido gálico frente a adjuvantes empregados em formas farmacêuticas sólidas. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em ciências farmacêuticas . Universidade Federal do Rio Grande do Sul.p. 200. Porto Alegre, 2006. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612010000300008 >. Acesso em: 12 nov. 2011.

LOPES, C. N. Síntese e Caracterização do Compósito de Poliestireno/ Grafite Produzido Através do Processo de Polimerização em Suspensão *In Situ*. Tese de Doutorado.

Universidade Federal de Santa Catarina, 2007. Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos.

MANZOORI, J. L.; JOUYBAN, A.; AMJADI, M.; SOLEYMANI. J. Spectrofluorimetric determination of folic acid in tablets and urine samples using 1,10-phenanthroline-terbium probe. **Luminescence**, v.26, p. 106-111, 2011.

MELO, A. F. Desenvolvimento Preliminar De Um Biossensor Enzimático Para Determinação De Taninos Hidrolisáveis. Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Engenharia Bioquímica, o Curso de Pós Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Dissertação, 2008.

MIRMOGHTADAIE, L.; ENSAFI, A. A.; KADIVAR, M.; SHAHEDI, M.; GANJALI, M. R. Highly Selective, Sensitive and Fast Determination of Folic Acid in Food Samples Using New Electrodeposited Gold Nanoparticles by Differential Pulse Voltammetry. *International Journal of Electrochemical Science*. v, 8, p. 3755 – 3767, 2013

MORAIS, F. E. Estudo termoanalítico de medicamentos de referência, genérico e similar. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-Graduação em Química. 2011.

Disponível em:< http://bdtd.bczm.ufrn.br/tde_arquivos/35/TDE-2012-02-07T065709Z-3837/Publico/FranciscaEM DISSERT.pdf >. Acesso em: 20 jul. 2013.

National Institute of standards and technology (NIST).Disponível em:

<<http://www.nist.gov/searchresults.cfm?q=folic+acid&btng=Search&num=10&sortType=L&scopeType=0&datefrom=&dateto=>>. Acesso em 2 agost 2011.

NAGARAJA, P.; VASANTHA, A. R.; YATHIRAJAN, H. S. Spectrophotometric determination of folic acid in pharmaceutical preparations by coupling reactions with iminodibenzyl or 3-aminophenol or sodium molybdate pyrocatechol. **Analytical**

Biochemistry, v. 307, p. 316–321, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12202249>>. Acesso em: 13 nov. 2012.

NAHAR, L.; SARKER, D. S. **Chemistry for Pharmacy Students General, Organic and Natural Product Chemistry**. John Wiley e Sons Ltd. p. 316, 2007.

NELSON, B. C.; SHARPLESS, K. E.; SANDER, L. C. Quantitative determination of folic acid in multivitamin/multielement tablets using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**. v.1135, n.2, p.203-211, 2006.

Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967306018140>>. Acesso em: 14 maio 2011.

NIE, F.; HE, Y.; LU, J. An investigation of the chemiluminescence reaction in the sodium hypochlorite-folic acid- emicarbazide hydrochloride system. **Microchemical Journal**, v. 65, p. 319-323, 2000.

NIESSER, M.; HARDER, U.; KOLETZKO, B.; PEISSNER, W. Quantification of urinary folate catabolites using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**. v. 929, p.116-124, 2013. Disponível em: <

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570023213002183>>. Acesso em 2 jul. 2013.

NUNES, R. S. Estudo do comportamento térmico de alguns aditivos alimentares por TG/DTG, DTA e DSC. Universidade de São Paulo. Instituto de Química de São Carlos. Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos. 2009. Disponível em: <

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?metodo=apresentar&id=K4766915Z8>>. Acesso em: 2 agosto 2010.

OLIVEIRA, T. M. B. F.; RIBEIRO, F. W. P.; SOARES, J. E. S., De LIMA-NETO, P.; CORREIA, A. N. Square-wave adsorptive voltammetry of dexamethasone: Redox mechanism, kinetic properties, and electroanalytical determinations in multicomponent formulations. **Analytical Biochemistry**. v. 413, n. 2, p. 148-156, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269711001369>>. Acesso em: 2 set. 2012.

OLIVEIRA, I. R.; STUDART, A. R.; SILVA JÚNIOR, F. A.; PANDOLFELLI, V. C. Artigo revisão: Estabilização de suspensões aquosas contendo grafite. **Cerâmica**, v. 46, n. 300, p. 186-195, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ce/v46n300/4087.pdf>>. Acesso em: 21 jul. 2013.

OLSON, C e ADMAS, R. N. Carbon Paste Electrodes Applications to Anodic Voltametry. **Anal Chimica Acta**, v.22, p. 577-582, 1960.

PACHECO, S. S.; BRAGA, C.; SOUZA, A. I.; FIGUEIROA, J. N. Efeito da fortificação alimentar com ácido fólico na prevalência de defeitos do tubo neural. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 4, p. 565-571, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-89102009000400001&script=sci_arttext. Acesso em: 20 mar. 2010.

PRASAD, B. B.; TIWARI, M. P.; MADHURI, R.; SHARMA, P. S. Development of a highly sensitive and selective hyphenated technique (molecularly imprinted micro-solid phase extraction fiber-molecularly imprinted polymer fiber sensor) for ultratrace analysis of folic acid. *Analytica Chimica Acta*, v.662, p. 14-22, 2010.

Disponível em: <<http://doi:10.1016/j.aca.2009.12.037>>. Acesso em: 22 jan. 2012

PAWLOSKEY, R. J.; HERTRAMPF, E.; FLANAGAN, V. O.; THOMAS, P. M. Mass spectral determinations of the folic acid content of fortified breads from Chile. *Journal of food composition and analysis*. v.16, p. 281-286, 2003.

QIN, X.; CUI, Y.; SHEN, L.; SUN, N.; ZHANG, Y.; LI, J.; XU, X.; WANG, B.; XU, X.; HUO, Y.; WANG, X. Folic acid supplementation and cancer risk: A meta-analysis of randomized controlled trials. ***International Journal of Cancer***, v. 133, n. 5, p. 1033-1041, 2013. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.28038/pdf>> Acesso em : 2 fev. 2013.

RAYMOND, C. R.; SHESKEY, P. J.; OWEN, S.C.; **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 5. ed. Chicago: PHP – Pharmaceutical Press. 2006.

RASTAKHIZ, N.; BEITOLLAHI, H.; KARIMINIK, A.; KARIMI, F. Voltammetric determination of carbidopa in the presence of uric acid and folic acid using a modified carbon nanotube paste electrode. ***Journal of molecular liquids***, v.172, p. 66-70, 2012.

Disponível em: <<http://doi:10.1016/j.molliq.2012.04.013>> Acesso em: dez.2012.

RIBEIRO, F. W. P.; SOARES, J. E. S.; BECKER, H.; De SOUZA, D.; De LIMA-NETO, P.; CORREIA, A. N. Electrochemical mechanism and kinetics studies of haloperidol and its assay in commercial formulations. ***Electrochimica Acta***, v.56, n. 5, p. 2036–2044, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2010.11.049>, [How to Cite or Link Using DOI](#)>. Acesso em : 2 fev. 2012.

RIBEIRO, F. W. P.; CARDOSO, A. S.; PORTELA, R. R.; LIMA, J. E. S.; MACHADO, S. A. S.; De LIMA-NETO, P.; De SOUZA, D.; CORREIA, A. N. Electroanalytical determination of promethazine hydrochloride in pharmaceutical formulations on highly boron-doped diamond electrodes using square-wave adsorptive voltammetry. ***Electroanalysis***, v. 20, n. 18, p.2031-2039, 2008.

Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elan.200804286/abstract>>. Acesso em: 20 maio 2012.

RODRÍGUEZ-BERNALDO, De Q. A.; CASTRO, De R. C.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, J.; LAGE-YUSTY, M. A. Determination of folates in seaweeds by high-performance liquid chromatography. ***Journal of chromatography A***. v.1032, n.(1-2), 135-9, 2004.

Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15065789>>. Acesso em: 3 set. 2012.

RUGGERI, S.; VAHTERISTO, L. T.; AGUZZI, A.; FINGLAS, P.; CARNOVALE, E. Determination of folate vitamins in food and in Italian reference diet by high-performance liquid chromatography. ***Journal of Chromatography A***. v.855, p.237-245, 1999.

SALMANIPOUR, A.; TAHER, M. A.; BEITOLLAHI, H.; HOSSEINZADEH, R. New voltammetric strategy for simultaneous determination of N-acetylcysteine and folic acid using a carbon nanotube modified glass carbon electrode. ***Colloids and Surfaces B: Biointerfaces***.

v.102, p. 385-390, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.08.022>. Acesso em: 20 de mar. 2013.

SEPPÄLÄ, J.; KOPONEN, H.; KAUTIAINEN, H.; ERIKSSON, J.G.; KAMPMAN, O.; MÄNNISTÖ, S.; MÄNTYSELKÄ, P.; OKSA, H.; OVASKAINEN, Y.; VIIKKI, M.; VANHALA, M. Association between folate intake and melancholic depressive symptoms. A Finnish population-based study. **Journal of Affective Disorders**, v.138, n. 3, p. 473-478, 2012.

Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032712000146>>. Acesso em: 2 nov. 2012.

STELUTI, J.; MARTINI, L. A.; PETERS, B. S. E.; MARCHIONI, D. M. L. Folato, B6 e B12 na adolescência: níveis séricos, prevalência de inadequação de ingestão e alimentos contribuintes. **Jornal de Pediatria**, v.87, n. 1, p. :43-49, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0021-75572011000100008>> Acesso em: 20 janeiro 2010.

SOEIRO, B. T.; BOEN, T. R.; PEREIRA-FILHO, E. R.; LIMA-PALLONE, J. A. Investigação da qualidade de farinhas enriquecidas utilizando Análise por Componentes Principais (PCA). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p.618-624, 2010. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612010000300008 >. Acesso em: 12 nov. 2011.

SOUZA, D.; MELO, L. C.; CORREIA, A. N.; De LIMA-NETO, P.; FATIBELLO FILHO, O.; MASCARO, L. H. Utilização de Eletrodos Sólidos de Amálgama para a Determinação Analítica de Compostos Orgânicos e Inorgânicos. **Química Nova**, v. 34, n. 3, p.487-496, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v34n3/22.pdf>>. Acesso em: 2 jun. 2012.

SOUZA, S. P. C. Determinação do teor de cálcio através da termogravimetria em medicamentos utilizando o tratamento da osteoporose: um estudo comparativo. Dissertação (Mestrado em Química). 2011. 116 f. Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil, 2001.

(USP30-NF25). The United States Pharmacopeia. The national formulary.

TARLEY, C. R. T.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; KUBOTA, L. T. Polímeros Biomiméticos em Química Analítica. Parte 2: Aplicações de Mip (“Molecularly Imprinted Polymers”) No Desenvolvimento de Sensores Químicos. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p.1087-1101, 2005a. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v28n6/26841.pdf>. ISSN 0100-4042>. Acesso em: 12 de abril 2010.

TARLEY, C. R. T.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; KUBOTA, L. T. Polímeros Biomiméticos em Química Analítica. Parte 1: Aplicações de Mip (“Molecularly Imprinted Polymers”) No Desenvolvimento de Sensores Químicos. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p.1076-1086, 2005b. Disponível em:< <http://www.scielo.br/pdf/qn/v28n6/26841.pdf>. ISSN 0100-4042>. Acesso em: 12 de abril 2010.

UEHARA, S. K.; ROSA, G. Associação da deficiência de ácido fólico com alterações patológicas e estratégias para sua prevenção: uma visão crítica. **Revista de Nutrição**, v. 23, n.5, p.881-894, 2010. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732010000500018> > Acesso em: 12 de abril 2010.

WAN, Q.; YANG, N. The direct electrochemistry of folic acid at a 2-mercaptobenbenthiazole self-assembled gold electrode. **Journal electroanalytical chemistry**, v. 527, p. 131-136, 2002. Disponível em: < [http://PII:S0022-0728\(02\)00836-7](http://PII:S0022-0728(02)00836-7) >. Acesso em: 6 de out. 2012. Acesso em: 22 de set. 2010.

WANG, C.; LI, C.; XU, L. T.; WANG, C. Application of a Single-Wall Carbon Nano-Tube Film Electrode to the Determination of Trace Amounts of Folic Acid. **Microchimica Acta**, v. 152, p. 233-238, 2006. Disponível em: < <http://DOI: 10.1007/s00604-005-0441-5> >. Acesso em: 2 set. 2012.

WEI, S.; ZHAO, F.; XU, Z.; ZENG, B. Voltammetric Determination of Folic Acid with a Multi-Walled Carbon Nanotube-Modified Gold Electrode. **Microchimica Acta**, v. 152, p. 285-290, 2006. Disponível em: < <http://DOI: 10.1007/s00604-005-0437-1> >. Acesso em: 20 de mar. 2010.

VAZE, V. D.; SRIVASTAVA, A. K. Electrochemical behavior of folic acid at calixarene based chemically modified electrodes and its determination by adsorptive stripping voltammetry. **Electrochimica Acta**, v. 53, n. 4, p. 1713-1721, 2007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001346860701026> >. Acesso em: 17 de maio 2009.

VINÃS, P.; LÓPES-ERROZ, C.; BALSALOBRE, N.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, MANUEL. Reverse-phase liquid chromatography on an amide stationary phase for the determination of the B group vitamins in baby foods. **Journal of Chromatography A**, v. 1007, p. 77-84, 2003.

VIJAY, G. S. Applied Electrochemistry. ISBN: 978-1-60876-208-8. Nova Science Publishers.2010.

VORA, A.; RIGA, A.; DOLLIMORE, D.; ALEXANDER, K. Thermal stability of folic acid. **Thermochimica Acta**. v. 392-393, 15 September, p.209-220, 2002. Disponível em: < <http://DOI: 10.1023/B:JTAN.0000027167.14746.28> >. Acesso em: 2 jan. 2011.

VORA, A.; RIGA, A.; DOLLIMORE, D.; ALEXANDER, K. Thermal Stability of Folic Acid in the Solid-State. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.75, n. 3, p.709-717, 2004. Disponível em:< <http://DOI: 10.1023/B:JTAN.0000027167.14746.28> >. Acesso em: 20 agos. 2012.

XIÃO, F.; RUAN, C.; LIU, L.; YAN, R.; ZHAO, F.; ZENG, B. Single-walled carbon nanotube-ionic liquid paste electrode for the sensitive voltammetric determination of folic acid. **Sensor Actuators B**, v. 134, p. 895-901, 2008. Disponível em: < <http://doi:10.1016/jsrb.2008.06.087> >. Acesso em: 2 julho 2011.

YANG, H.; LU, B.; QI, B.; GUO, L. Voltammetric sensor based on ordered mesoporous carbon for folic acid determination. **Journal of Electroanalytical chemistry**, v.660, p. 2-7, 2011. Disponível em: < <http://doi:10.1016/j.jelechem.2011.04.023> >. Acesso em: 5 set. 2011.

ZHU, Z.; WUB, H.; WUC, Shuchao.; , HUANGA, Z.; ZHU, Y.; XI, L. Determination of methotrexate and folic acid by ion chromatography with electrochemical detection on a functionalized multi-wall carbon nanotube modified electrode. **Journal of Chromatography A**. v. 1283, p. 62–67, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967313002070#>>. Acesso em: 5 abril 2013.

Anexos

Certificado do controle de qualidade Registro de qualidade da amostra AM1



ATIVUS FARMACÊUTICA LTDA

Certificado de Análise

PRODUTO: Folacin Comprimido CR

LOTE: 12087814

Nº DA ANÁLISE: 22467

ANÁLISES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADO
Aspecto	Comprimido revestido, superfície lisa, biconvexo, redondo, cor amarelo ouro	Conforme
Peso Médio	130mg \pm 7,5% (120,25 - 139,75mg)	137,66
Dureza	5 - 8Kp	Conforme
Umidade	\leq 2%	1,98%
Desintegração Entérica	Meio ácido, permanece íntegro durante 60 minutos	Conforme
	Meio tampão fosfato, tempo de desintegração \leq 45 minutos	Conforme
Dissolução de Ácido Fólico	Q \geq 75%	101,40%
Uniformidade do Conteúdo	85 - 115%	102,21%
Desvio Padrão Relativo	\leq 6%	1,77%
Teor de Ácido Fólico	90 - 115%	101,75%
T.V.C	$<$ 1000 UFC/g	Conforme
Fungos e Leveduras	$<$ 100 UFC/g	Conforme
<i>E. coli</i>	Ausente	Conforme
<i>P. aeruginosa</i>	Ausente	Conforme
<i>S. aureus</i>	Ausente	Conforme
<i>Salmonella</i>	Ausente	Conforme


 Amanda Públio Lee CRF Nº 37.152
 Controle de Qualidade

CAPÍTULO 2

**APLICABILIDADE DA ELETROANÁLISE (VPD) DURANTE
A OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DO ÁCIDO OXÁLICO
(AO) EM DIFERENTES MATERIAIS ELETROCATALÍTICOS**

7 INTRODUÇÃO

As Tecnologias eletroquímicas oxidativas são técnicas alternativas bastante promissoras para muitos problemas ambientais na indústria de processo, uma vez que usa apenas elétrons como reagentes tornando o processo oxidativo versátil, eficiente, eficaz e limpo. No entanto, até o momento, o papel das tecnologias electroquímicas para o tratamento de poluentes orgânicos tem sido "relativamente pequeno".

Em vista disso, esta nova tecnologia precisa tornar-se economicamente viável aos interesses das indústrias frente ao tratamento de resíduos aquosos. Portanto, será preciso superar as limitações tecnológicas do sistema, no que diz respeito ao design da célula eletrolítica e aos materiais electrocatalíticos (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2008; 2012, SOLANO et al. 2013).

Tecnologias eletroquímicas tem atingido um estado promissor de desenvolvimento e podem ser efetivamente usadas para a desinfecção e purificação de águas residuais contaminadas com compostos orgânicos (PANIZZA e CERISOLA, 2006, 2009; MARTÍNEZ-HUITLE e FERRO, 2006; CHEN, 2004; COMNINELLIS e GUOHUA, 2009; BRILLAS e MARTÍNEZ-HUITLE, 2011).

A OE do AO ou espécies de oxalato são frequentemente monitoradas através de diferentes métodos, tais como a cromatografia líquida (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004; SCIALDONE et al. 2008, 2010, 2011), cromatografia gasosa (ELGSTOEN, 2011; ARAB CHAMJANGALI, 2009), espectrofotométrica catalítica empregando sistemas de injeção de fluxo (YANG, 2000), cromatografia por exclusão de íons (Lee, 2013) e métodos enzimáticos (GODOY et al. 1990). No entanto, estes métodos instrumentais apresentam algumas desvantagens, como alto custo, baixa sensibilidade, seletividade insuficiente e tempos de análise muito longos.

Entre eles, o método mais utilizado é a análise titrimétrica usando KMnO_4 (permanganato de potássio), sendo esta a forma mais barata para quantificar o AO (MARTÍNEZ-HUITLE, et al. 2004, 2005a, 2005b; FERRO, et al. 2010), mas este método analítico é demorado, com baixa precisão e pode ser afetado por interferências de outras espécies em solução.

Na últimas décadas, a eletroanálise atraiu considerável atenção da pesquisa como uma alternativa para a detecção, quantificação e monitorização da concentração de diferente espécies orgânicas e inorgânicas, uma vez que estes métodos electroquímicos oferecem alta

sensibilidade e seletividade. Por exemplo, no caso do AO, alguns estudiosos têm utilizado as técnicas eletroanalíticas para determinação do OA (SCIALDONE, 2007; MARTÍNEZ-HUITLE, et al. 2005a, 2005b; ZHENG, et al. 2009; LIU, et al. 2010).

Alguns pesquisadores tem trabalhado com eletrodos modificados para a determinação de ácido oxálico em alimentos ZHEN et al. (2009), ele modificou o eletrodo de carbono vítreo com nanotubos de carbono para determinação de ácido oxálico em espinafre, de acordo com os dados apresentado pelos autores, o eletrodo modificado reduziu o potencial de pico do ácido oxálico e melhorou a resposta da corrente, apresentando dessa forma um excelente comportamento quando comparado ao material não modificado, demonstrando ser um material promissor para determinação voltamétrica de AO em amostras de alimentos.

LIU *et al.* 2010, trabalhou com eletrodo de pasta de carbono, modificado com nanofibras de carbono (CNF) utilizadas como suporte modelo para as nanopartículas carregadas de paládio para análise de ácido oxálico em espinafre. De acordo com os autores, novo sensor (Pd/CNF-CPE), exibiu rápida resposta voltamétrica com baixo sobrepotencial, performance analítica atraente tais como: vasta gama linear, boa seletividade e forte aplicabilidade em amostras reais. Ambos os estudos têm relatado alta seletividade e sensibilidade para quantificar OA, empregando técnicas eletroanalíticas.

Por este motivo, o objetivo deste trabalho é propor a aplicação de técnicas eletroanalíticas para monitorar a concentração OA, durante sua OE em diferentes materiais eletrocatalíticos, tais como: eletrodo de diamante dopado com boro (DDB), platina suportada em Ti (Ti / Pt), grafite e dióxido de chumbo (PbO_2). A técnica eletroanalítica empregada foi voltametria de pulso diferencial (VPD), utilizando eletrodo de carbono vítreo (ECG) para quantificar a concentração AO por dois diferentes procedimentos analíticos: curvas de calibração e método de adição de padrão e métodos cromatográficos (CLAE)

Finalmente, os resultados obtidos pela técnica de VPD foram comparados com os resultados obtidos pelo método clássico tradicional, a titulação, usando permanganato de potássio e cromatografia líquida de alta eficiência.

8 OBJETIVOS

8.1 GERAIS

O presente trabalho teve como objetivo estudar o comportamento eletroquímico do ácido oxálico e aplicar a voltametria de pulso diferencial como alternativa inovadora para a sua identificação e quantificação em águas residuais.

8.2 ESPECÍFICOS

- Verificar a aplicabilidade da tecnologia eletroquímica, isto é, voltametria de pulso diferencial (VPD) usando eletrodo de carbono vítreo (GC) para o monitoramento da concentração de AO durante sua oxidação eletroquímica.
- Identificar a influência do material anódico, ou seja, DDB, platina, grafite e óxido de chumbo, na oxidação anódica para o tratamento de águas residuais contendo AO.
- Comparar a técnica clássica de quantificação de ácido oxálico (titulação) e a moderna (cromatografia líquida de alta eficiência) com a VPD.

9 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

9.1 ÁCIDO OXÁLICO

O ácido oxálico ou ácido etanodióico é um ácido (mais precisamente um ácido dicarboxílico) de fórmula molecular $H_2C_2O_4$ ou, mais precisamente, HO_2CCO_2H . É um ácido orgânico saturado, de cadeia normal e relativamente forte, sendo 10.000 vezes mais forte que o ácido acético. Comercialmente, a forma mais usual é a diidratada, de fórmula molecular $C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$.

Industrialmente, é obtido a partir do metanoato de sódio e é um produto anti-tártarico, usado para eliminação de ferrugem em metais, mármore e outras pedras. Nas indústrias têxteis é usado para fixação de corantes em tecidos, obtenção de corantes, fabricação de tintas de escrever, curtimento industrial de couros, branqueamento de têxteis, papeis e produção de oxalatos.

O ácido oxálico é amplamente encontrado em plantas, animais e micróbios, existindo naturalmente no espinafre, gengibre e chocolate (Zheng et al. 2009). Uma vez que este pode facilmente se combinar com Ca^{2+} e Mg^{2+} para formar sais menos solúveis, níveis elevados de AO no sistema digestivo pode levar a formação de pedras nos rins. Portanto, a detecção precisa de AO tem atraído considerável interesse no arranjo de uma dieta racional e gestão da qualidade dos alimentos, bem como em diagnóstico e prevenção na formação de cálculos renais (Liu Y et al. 2010).

Várias abordagens têm sido propostas para satisfazer as crescentes exigências em relação ao uso de sensores para quantificação de AO e espécies de oxalato, tais com: a espectrofotometria (LAKER et al. 1980), a cromatografia gás/líquido (ELGSTOEN, 2008), os métodos enzimáticos (GODOY et al. 1990) e a análise titulométrica, usando permanganato de potássio.

No entanto, na prática as aplicações destes métodos são limitados pelo custo relativamente elevado e processos delicados, quando comparados com as técnicas eletroquímicas. Apesar da análise usando permanganato de potássio para titulação ser um método mais barato, o mesmo é bastante demorado. A este respeito, os novos materiais de eletrodo são altamente desejáveis para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos de AO com alta sensibilidade e boa seletividade (Liu Y et al. 2010). O ácido oxálico é um metabolito da oxidação catalítica do fenol (um poluente presente em muitos efluentes industriais).

No que diz respeito à natureza do substrato orgânico, tem sido demonstrado que os ácidos carboxílicos são os últimos intermediários formados durante a degradação eletroquímica de vários poluentes orgânicos, são bastante estáveis e são mineralizados em tempos mais longos (PANIZZA e CERISOLA, 2006; MARTÍNEZ-HUITLE e FERRO, 2006, MARTÍNEZ-HUITLE e BRILLAS, 2009). Entre eles está em particular o ácido oxálico (AO), formado durante os processos de tratamento eletroquímico de águas residuais.

A oxidação eletroquímica do ácido oxálico tem sido extensivamente estudada (CHEN, 2004; MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004; PANIZZA e CERISOLA, 2009) como uma reação modelo na fronteira entre a eletroquímica orgânica e inorgânica (SCIALDONE 2008, 2009; 2010, 2011).

9.2 TECNOLOGIAS ELETROQUÍMICAS

Nos primeiros estudos, um mecanismo para oxidação de compostos orgânicos foi proposto por Feng e Johnson (1990), baseado na oxidação eletroquímica com altos potenciais, mediada por intermédio da reação de evolução de oxigênio. Este processo envolve a transferência de oxigênio anódico advindo da H₂O para compostos orgânicos via radicais hidroxila adsorvidos, gerados pela descarga da água (MARTÍNEZ-HUITLE e ANDRADE, 2011) conforme equação 5.



Em que S[] representa os sítios da superfície, nos quais as espécies •OH podem estar adsorvidas. Simultaneamente, um evento inevitável toma o sítio, a reação de evolução de oxigênio devido à oxidação da água:



Depois, Cominellis (1994) elucidou o mecanismo de oxidação de compostos orgânicos, em simultâneo com a evolução de oxigênio, usando diferentes materiais, como ânodos de Pt, Ti/IrO₂ e Ti/SnO₂. De acordo com um mecanismo semelhante, a oxidação

seletiva de compostos orgânicos ocorre em eletrodos que podem formar os chamados óxidos de alta latência, MO_{x+1} (“oxigênio ativo” quimissorvido), visto que a combustão ocorre em eletrodos, cujas superfícies apresentam acúmulo de radicais $\cdot OH$ (“oxigênio ativo” fisissorvido).

A detecção de radicais $\cdot OH$ formados pela descarga da água com diferentes ânodos usando técnicas analíticas de ressonância elétrica de spins (ESR) foi demonstrada durante estes experimentos. Estes mostram que na superfície dos ânodos de Pt e de IrO_2 a concentração de radicais $\cdot OH$ é quase zero, enquanto que na superfície do ânodo de SnO_2 há um acúmulo muito elevado de radicais $\cdot OH$. Assim, de acordo com o mecanismo proposto, o ânodo de SnO_2 favorece a mineralização completa, ao passo que os ânodos de IrO_2 e Pt favorecem uma oxidação seletiva (MARTÍNEZ-HUITLE e ANDRADE, 2011; OLIVEIRA, 2012).

O material do eletrodo é certamente um dos principais parâmetros na oxidação eletroquímica de compostos orgânicos, uma vez que os mecanismos e os produtos de algumas reações anódicas dependem dele. Outros requisitos importantes do material do ânodo são a alta resistência à corrosão e a estabilidade física e química sob condições de potenciais altamente positivos (ROCHA, 2011).

Dois diferentes mecanismos podem ser distinguidos na oxidação de moléculas orgânicas: a oxidação direta e a indireta (MARTÍNEZ-HUITLE e FERRO 2006; MARTÍNEZ-HUITLE e BRILLAS, 2009). A oxidação direta ocorre sobre eletrodos electrocatalíticos, como a platina e o grafite. Por outro lado, a oxidação eletroquímica indireta ocorre via mediadores que se mantêm aderidos (física ou quimicamente) à superfície do ânodo, onde eles são continuamente gerados.

Comminelis e co-autores explicaram os diferentes comportamentos dos eletrodos na oxidação eletroquímica (OE) considerando dois casos limites: os chamados ânodos "ativos" e “não ativos”. Pt, IrO_2 e RuO_2 são exemplos típicos de eletrodos ativos. O PbO_2 , SnO_2 e DDB são exemplos de ânodos não ativos. O modelo completo proposto assume que a reação inicial, em ambos os tipos de ânodos (genericamente designado como M), corresponde à oxidação de moléculas de água, que conduzem à formação de radicais hidroxila fisissorvidos ($M(\cdot OH)$). Na oxidação indireta, o primeiro passo consiste na descarga da água, conforme a Equação 8, formando radicais hidroxila ($\cdot OH$) adsorvidos sobre a superfície do eletrodo.



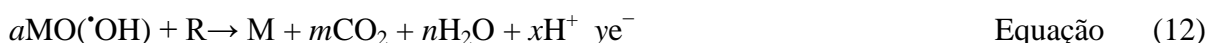
A reatividade química heterogênea $M(\cdot\text{OH})$ depende da natureza do material. A superfície do ânodo ativo reage fortemente com os radicais hidroxilas ($\cdot\text{OH}$) formando os superóxidos (MO) sobre os sítios ativos do óxido MO_x de acordo com a Equação 9:



O superóxidos fisissorvidos oxidarão então as moléculas orgânicas de acordo com a Equação 10. A espécie (MO) também será responsável pela formação de oxigênio, num processo competitivo, como mostra a Equação 11:



Em contraste, a superfície de um ânodo não ativo interage com os radicais hidroxilas ($\cdot\text{OH}$) o que permite a reação direta do composto orgânico com ($M(\cdot\text{OH})$) produzindo produtos de reação totalmente oxidados, tais como o CO_2 , como mostra a Equação 12. O eletrodo não ativo não participa da reação anódica direta do composto orgânico e não fornece qualquer sítio ativo catalítico para sua adsorção a partir de meios aquosos.



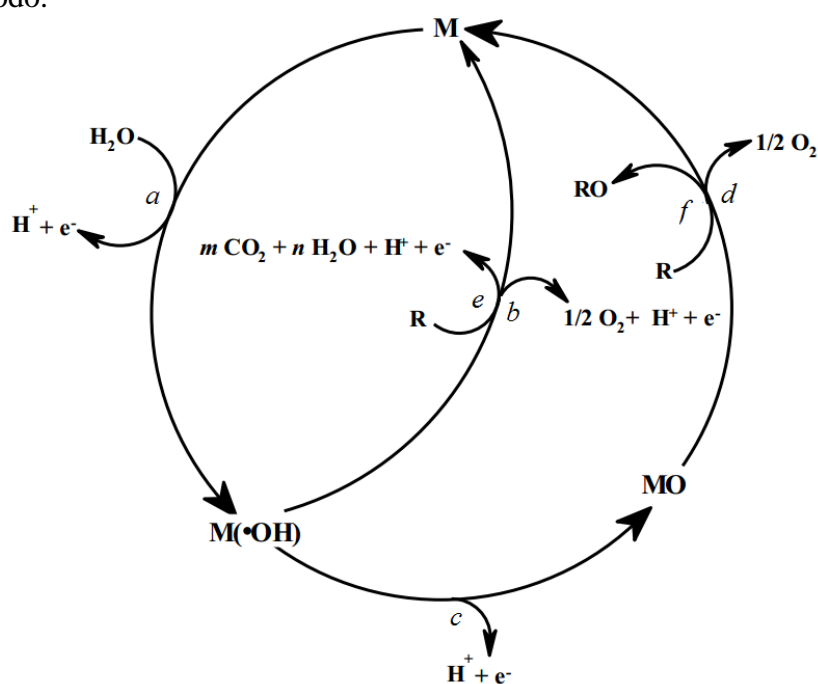
Onde R é um composto orgânico com m átomos de carbono, e sem qualquer heteroátomo, que necessita de $(2m + n)$ átomos de oxigênio para ser totalmente mineralizado em CO_2 . A reação oxidativa 9 envolvendo o par redox MO/M é mais seletiva do que a reação 10 a reação de mineralização, envolvendo o radical hidroxila heterogêneo fisissorvido. A última reação também compete com as reações secundárias de $M(\cdot\text{OH})$, tal como a oxidação direta de O_2 (reação 10) ou a consumo indireto através de dimerização do peróxido de hidrogênio (reação 14):



Um ânodo com baixo poder de oxidação é caracterizado por uma forte interação eletrodo/radicais hidroxila, resultando em uma elevada atividade eletroquímica para a reação de evolução de oxigênio (ânodo com baixo sobrepotencial) e para uma baixa reatividade química para a oxidação de compostos orgânicos (baixa eficiência de corrente para oxidação de orgânicos). Em contraste com este ânodo com baixo poder de oxidação, ânodo com alto poder de oxidação é caracterizado por uma fraca interação eletrodo/radicais hidroxila, resultando em uma pequena atividade eletroquímica para a reação de evolução de oxigênio (ânodo com alto sobrepotencial) e para uma grande reatividade química para oxidação de compostos orgânicos (elevada eficiência de corrente para oxidação de orgânicos).

O modelo (Figura 37) possibilita a ilustração dos dois casos limitados, dos então chamados de ânodos "ativos" e "não-ativos".

Figura 37 - Esquema da oxidação eletroquímica de compostos orgânicos com ânodos ativos (reações a, b, c, d) e não-ativos (reações a, e, f). M representa um sítio ativo do ânodo.



Fonte: Adaptado (Comninellis 1994)

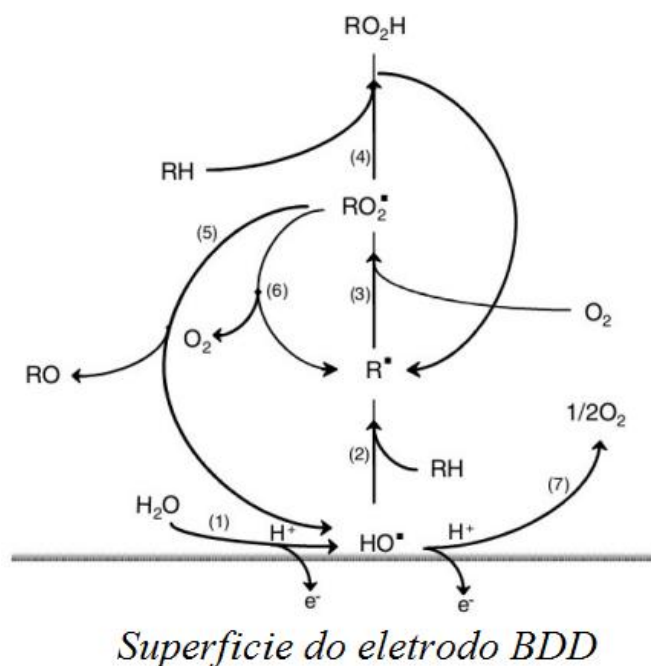
Segundo Martínez-Huitle e Andrade (2011), alguns grupos de pesquisas tem fornecido novas evidências para a oxidação eletroquímica de compostos orgânicos em ânodos de DDB, se apoiando na idéia de que a natureza do material anódico tem um papel fundamental no mecanismo eletrocatalítico e que a mineralização de compostos orgânicos sobre eletrodos de DDB não envolve apenas a presença de radicais hidroxilas, mas também o oxigênio molecular

presente no ar ou saturado em soluções aquosas. A evidência direta para este processo foi encontrada durante a oxidação de ácido acético saturado com um isótopo marcado de $^{18}\text{O}_2$ resultando na formação de C^{18}O_2 e $\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$. Os resultados discutidos fornecem a evidência direta de que o oxigênio molecular pode ser usado, a temperatura ambiente, para a mineralização de ácido acético depois de ser ativado em eletrodos de DDB. Segundo Oliveira (2011) a produção eletroquímica de diferentes concentrações de $\cdot\text{OH}$ na superfície do eletrodo de DDB depende do eletrólito suporte usado, e também da produção de espécies fortemente oxidantes, como O_3 (ozônio) e radicais $\text{O}\cdot$ e $\text{O}_2^{\cdot-}$. O O_2 dissolvido pode ser consumido durante a formação das novas espécies fortemente oxidantes.

Esta ativação da reação com oxigênio molecular procede por intermédio de uma sequência de reações que são iniciadas pelos $\cdot\text{OH}$ formados na superfície do eletrodo. A fim de entender o mecanismo da ativação, os autores consideraram a radiólise de hidrocarbonetos (RH). Foi reportado por Scholes e Weiss (1959) que, durante a ionização de soluções aquosas de compostos orgânicos (sobre Raios-X ou Raios- γ), o oxigênio molecular melhora o processo de oxidação. Isto ocorre via adição de oxigênio molecular a um radical orgânico livre ($\text{R}\cdot$) resultando na formação de um radical peróxido orgânico ($\text{RO}_2\cdot$), que pode participar das reações subsequentes. O radical orgânico livre ($\text{R}\cdot$) é formado via desidrogenação de hidrocarbonetos (RH) iniciados pelos $\cdot\text{OH}$ formados durante a radiólise da água.

Assim, os autores puderam fazer a analogia entre os sistemas de oxidação de compostos orgânicos induzida por radiólises e o seu sistema, com hidroxila gerada eletroquimicamente (Figura 38).

Figura 38 - Diagrama simplificado para a oxidação induzida eletroquimicamente via oxigênio molecular dissolvido borbulhado em solução com eletrodo de diamante dopado em boro; (1) conversão da água, a radical hidroxila HO^\bullet ; (2) desidrogenação de um composto RH via HO^\bullet e formação de um radical orgânico livre R^\bullet ; (3) adição de oxigênio molecular com R^\bullet resultando na formação de um radical RO_2^\bullet ; (4) desidrogenação de RH via RO_2^\bullet resultando na formação de hidroperóxido ROOH e na regeneração do R^\bullet ; (5) destaque para a decomposição de RO_2^\bullet , a regeneração de HO^\bullet e a formação de RO ; (6) decomposição de RO_2^\bullet para R^\bullet ; (7) reação paralela de evolução de oxigênio.



Fonte: Martínez-Huitle e Andrade (2011)

Portanto, baseado na classificação dos materiais anódicos, é obvio supor que a escolha do material de trabalho e dos parâmetros experimentais vão repercutir na eficiência do processo eletroquímico. Martínez-Huitle et al. (2006, 2009) mostraram que dentre os óxidos que mais se destacam estão o DDB, o PbO_2 e a Pt. Quando comparados a diferentes materiais anódicos, eles apresentam os melhores desempenhos na oxidação de compostos orgânicos em termos de eficiência, tempo de processo e consumo energético.

Hoje em dia, graças a investigações intensivas que melhoraram a atividade electrocatalítica e a estabilidade de materiais de eletrodos e da geometria do reator otimizado, tecnologias eletroquímicas tem atingido um estado promissor de desenvolvimento e podem ser efetivamente usadas para a desinfecção e purificação de águas residuais contaminadas com compostos orgânicos (PANIZZA e CERISOLA, 2006, 2009; MARTÍNEZ-HUITLE e

FERRO, 2006; CHEN, 2004; COMNINELLIS e GUOHUA, 2009; BRILLAS e MARTÍNEZ-HUITLE, 2011).

A OE do AO ou espécies de oxalato são frequentemente monitoradas através de diferentes métodos, tais como a cromatografia líquida (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004; SCIALDONE et al. 2008, 2010, 2011), a cromatografia gasosa (ELGSTOEN, 2011; ARAB CHAMJANGALI, 2009), a espectrofotometria catalítica empregando sistemas de injeção de fluxo (YANG, 2000), a cromatografia por exclusão de íons (LEE, 2013) e os métodos enzimáticos (GODOY et al. 1990). No entanto, estes métodos instrumentais apresentam algumas desvantagens, como alto custo, baixa sensibilidade, seletividade insuficiente e tempos de análise muito longos.

Entre eles, o método mais utilizado é a análise titrimétrica usando KMnO_4 (permanganato de potássio), sendo esta a forma mais barata para quantificar o AO (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004, 2005a, 2005b; FERRO et al. 2010) , mas este método analítico é demorado, com baixa precisão e pode ser afetado por interferências de outras espécies em solução.

Nas últimas décadas, a eletroanálise atraiu considerável atenção da pesquisa como uma alternativa para a detecção, quantificação e monitorização da concentração de diferentes espécies orgânicas e inorgânicas, uma vez que estes métodos eletroquímicos oferecem alta sensibilidade e seletividade. Por exemplo, no caso do AO, alguns estudiosos têm utilizado as técnicas eletroanalíticas para a sua determinação (SCIALDONE, 2007; MARTÍNEZ-HUITLE, et al. 2005a, 2005b; ZHENG et al. 2009; LIU, et al. 2010).

Alguns pesquisadores tem trabalhado com eletrodos modificados para a determinação de AO em alimentos, como é o caso de ZHEN et al. (2009). Os pesquisadores modificaram o eletrodo de carbono vítreo com nanotubos de carbono para a determinação de AO em espinafre. De acordo com os dados apresentado pelos autores, o eletrodo modificado reduziu o potencial de pico do ácido oxálico e melhorou a resposta da corrente, apresentando dessa forma um excelente comportamento quando comparado ao material não modificado, demonstrando ser um material promissor para a determinação voltamétrica de AO em amostras de alimentos.

LIU et al. (2010) trabalhou com eletrodo de pasta de carbono modificado com nanofibras de carbono (CNF), utilizadas como suporte modelo para as nanopartículas carregadas de paládio, para análise de ácido oxálico em espinafre. De acordo com os autores, o novo sensor (Pd/CNF-CPE) exibiu rápida resposta voltamétrica com baixo sobrepotencial e

performance analítica atraente, tais como: vasta gama linear, boa seletividade e forte aplicabilidade em amostras reais. Ambos os estudos têm relatado alta seletividade e sensibilidade para quantificar AO, empregando técnicas eletroanalíticas.

Ferreira et al. (2013) trabalhou com eletrodos monometálicos (Pd e Pt) e bimetálicos (Ru-Cu) modificados com nanotubos de carbono (CNT) para a mineralização eletroquímica do ácido oxálico e ácido oxâmico ($\text{NH}_2\text{COCO}_2\text{H}$) os quais são os principais intermediários resultantes da oxidação eletroquímica de muitos compostos orgânicos. De acordo com os autores, o Ru-Cu/CNT apresentou o melhor desempenho para a mineralização do ácido oxálico, que foi de 42%, 60% e 85% de conversões nos ânodos de Pt/CNT, Pd/CNT e RuCu/CNT respectivamente. Ácido Oxâmico, que é de difícil mineralização, por métodos convencionais de oxidação, foi transformado em carbonatos e nitrogênio com a conversão de 88,2% no eletrodo modificado Pd/CNT. Esses resultados confirmam a elevada eletroreatividade destes compostos em nanotubos de carbonos. De acordo com os autores, os novos sensores (Pt/CNT, Pd/CNT e Ru-Cu/CNT) exibiram rápida resposta voltamétrica com baixo sobrepotencial e performance analítica atraente, tais como: vasta gama linear, boa seletividade e forte aplicabilidade em amostras reais. Ambos os estudos têm relatado alta seletividade e sensibilidade para quantificar o AO, empregando técnicas eletroanalíticas.

Por este motivo, o objetivo deste trabalho é propor a aplicação de técnicas eletroanalíticas para monitorar a concentração de AO, durante sua OE em diferentes materiais electrocatalíticos, tais como: eletrodo de diamante dopado com boro (DDB), platina suportada em Ti (Ti/Pt), grafite e dióxido de chumbo (PbO_2). A técnica eletroanalítica empregada foi voltametria de pulso diferencial (VPD), utilizando eletrodo de carbono vítreo (ECG) para quantificar a concentração do AO por dois diferentes procedimentos analíticos: curvas de calibração e método de adição de padrão.

Finalmente, os resultados obtidos pela técnica de VPD foram comparados com os resultados obtidos pelo método clássico tradicional (titulação usando permanganato de potássio) e métodos cromatográficos (CLAE).

10 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Aqui serão apresentados os materiais que foram utilizados no trabalho experimental e a metodologia empregada para avaliar a oxidação eletroquímica do ácido oxálico em diferentes materiais eletrocatalíticos.

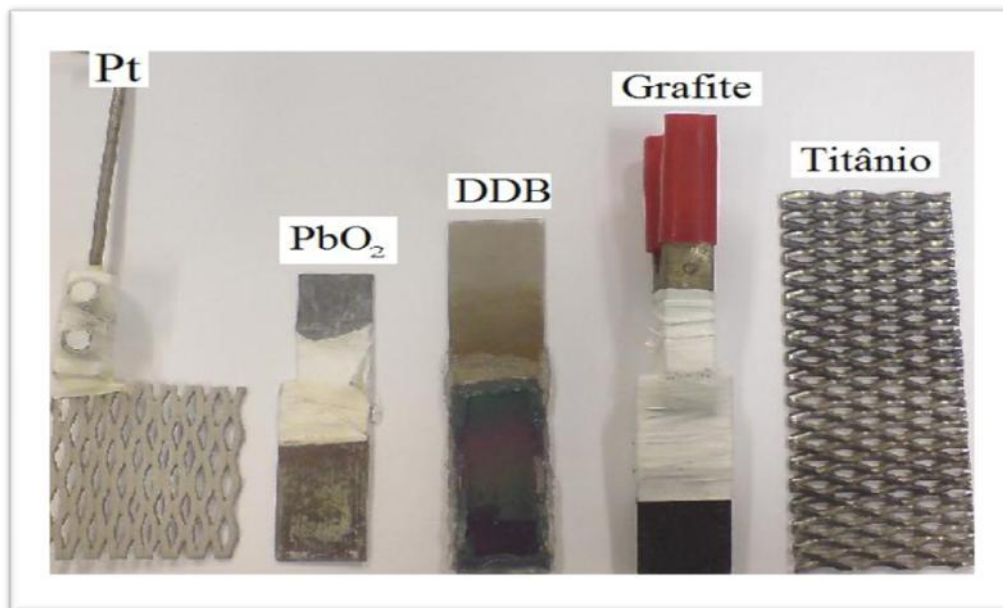
10.1 REAGENTES

Duas soluções de AO (Vetec, o sal di-hidrato) foram preparados em $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 (Vetec), utilizando água MilliQ: (i) $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (usada como solução padrão para os procedimentos com a eletroanálise) e (ii) $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ (utilizada para o experimento da oxidação eletroquímica). Uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de solução de permanganato de potássio (KMnO_4) foi preparada e padronizada por titulação usando uma quantidade conhecida de oxalato de sódio anidro puro. Os produtos químicos eram de grau analítico, fornecidos pela Empresa Vetec.

10.2 OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DO ÁCIDO OXÁLICO (AO)

Neste estudo utilizou-se ânodos de diamante dopado com boro (DDB), grafite, dióxido de chumbo (Pb/PbO_2) e platina suportado em titânio (Ti/Pt), conforme Figura 39, afim de verificar a oxidação eletroquímica do ácido oxálico.

Figura 39 – Imagem dos materiais utilizados durante a oxidação eletroquímica do AO



As oxidações foram realizadas em uma célula eletroquímica com um compartimento de reação conforme mostrado na Figura 40 e capacidade de 300 mL. A solução foi homogeneizada com um agitador magnético. Os experimentos de oxidação do ácido oxálico foram realizados sob condições galvanostáticas utilizando uma fonte de alimentação MINIPA MPL-3305M, em meio ácido ($0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ para todos os experimentos).

A densidade de corrente aplicada foi fixada em 60 mA cm^{-2} , devido a maiores eficiências de remoção obtidos em trabalhos anteriores (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004a).

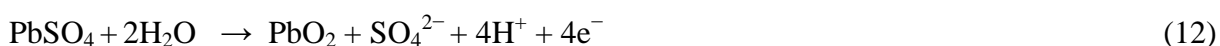
Quatro tipos de ânodos foram utilizados para a oxidação do AO: DDB, Ti/Pt, grafite and Pb/PbO₂. A célula continha um desses materiais eletrocatalíticos como ânodo e uma placa (grade) de 15 cm^2 de Ti como cátodo. Todos os ânodos tinham um formato quadrado, cada um com 10 cm^2 de área geométrica, com um só lado exposto à solução.

Em todos os sistemas a distância inter-eletrodos foi de $1,5 \text{ cm}^2$. O ânodo de Pt foi uma placa de Ti revestida com platina com dimensões totais de 10 cm^2 (o ânodo de Ti/Pt foi fornecido pela indústria De Nora S.p.A. Milão, Itália).

Figura 40 - Sistema de oxidação e titulação do AO.



Os ânodos de grafite e PbO_2 foram adquiridos na Universidade Federal do Rio Grande do Norte no Instituto de Química. O Pb/PbO_2 foi preparado aplicando uma densidade de corrente de 10 mA cm^{-2} , em uma solução 10% de ácido sulfúrico a 25°C , durante 90 min de acordo com procedimento proposto por (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004b).



O DDB foi fornecido pela Adamant Tecnologias (Neuchatel, Suíça). Foi sintetizado pela técnica de deposição de um filamento quente de vapor químico (CVD HF) em Silício monocristalino tipo Si <100> ($1\text{-}3 \text{ m}\Omega\text{cm}$, Siltronix). A temperatura do filamento variou de $2440 - 2560^\circ\text{C}$, enquanto que a temperatura do substrato foi de 830°C . O gás reativo foi metano em excesso de dihidrogênio (1% de CH_4 em H_2). O gás dopante foi trimetilboro com concentração de 3 mg dm^{-3} . A mistura gasosa foi fornecida à câmara de reação a uma taxa de fluxo de $5 \text{ dm}^3\text{min}^{-1}$, com uma razão de crescimento da camada de diamante de $0,24 \text{ }\mu\text{m h}^{-1}$.

O filme de diamante obtido apresentou 1 μm de espessura, com 10-30 mW cm de resistividade (MARTINEZ- HUITLE et al. 2008).

As medidas potenciodinâmicas (i.e., curvas de polarização) foram realizadas a 25 °C em uma célula convencional de três eletrodos, usando um Potenciostato/Galvanostato modelo Autolab PGSTAT320. Grafite, Pt, Pb/PbO₂ e DDB foram utilizados como eletrodos de trabalho. Um fio de platina e um eletrodo saturado de Ag/AgCl (3 mol L⁻¹ KCl) foram empregados como eletrodos auxiliares e de referência, respectivamente. A área exposta dos eletrodos de trabalho foi de aproximadamente 0,5 cm².

10.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

Durante a oxidação eletroquímica do ácido oxálico, amostras foram coletadas em determinados intervalos de tempo. Em seguida, a concentração do AO foi determinada por diferentes métodos analíticos: titulação convencional usando KMnO₄ 0,1 mol L⁻¹, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e medidas voltamétricas (Voltametria de Pulso Diferencial), nesse último caso, usando dois procedimentos analíticos diferentes: curva de calibração (VPD_{CC}) e método de adição de padrão (VPD_{SAM}).

As medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando um potenciostato/galvanostato Autolab modelo PGSTAT320. As medidas de VPD foram obtidas por uma varredura no intervalo de potencial de 0,5 V a 1,8 V, em uma célula eletroquímica de 100 mL contendo 30 mL de H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹. Estes experimentos foram realizados em um sistema convencional de três eletrodos à temperatura ambiente, a amostra foi homogeneizada na célula eletroquímica com a ajuda de um agitador magnético e a análise foi realizada sem agitação.

Os procedimentos foram ajustados com uma velocidade de varredura de 50 mVs⁻¹; tempo de equilíbrio: 10 s; tempo de modulação: 0,04 s; potencial inicial: 0,5 V; potencial final: 1,8 V; degrau de potencial: 0,006 V; amplitude de modulação: 0,05 V. Um eletrodo de carbono vítreo (GC) com uma área geométrica exposta de aproximadamente 0,5 mm² foi utilizado como eletrodo de trabalho. Um fio de platina e um eletrodo saturado de Ag/AgCl (3 mol L⁻¹ de KCl) foram empregados como eletrodos auxiliar e de referência, respectivamente.

As curvas de calibração usando VPD_{CC} foram obtidas avaliando a intensidade do pico em função da concentração do analito (ácido oxálico), e considerando pelo menos catorze adições do analito. No caso do método de adição de padrão usando VPD_{SAM}, a curva foi obtida usando 1 mL da amostra coletada após a eletrólise, a qual foi colocada na célula

eletroquímica juntamente com 30 mL de uma solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ usado como eletrólito de suporte. Depois disso, fez-se adições sucessivas de volumes de soluções padrões com concentração conhecida de ácido oxálico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e em seguida, foi aplicada a equação dos mínimos quadrados e através da interpolação do gráfico foi quantificada a concentração do ácido carboxílico presente na amostra. Esses dois procedimentos foram realizados utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial (VPD). Durante cada eletrólise, amostras do analito foram coletadas e analisadas também por CLAE.

A análise cromatográfica foi realizada usando um cromatógrafo líquido (LC) da Agilent 1100 Series, provido de um detector UV/VIS 210 nm; coluna Luna C-18 ($150 \times 4,6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) mantida à temperatura ambiente. Foi injetado no cromatógrafo $20 \mu\text{L}$ da amostra juntamente com 25 mmol L^{-1} de solução de KH_2PO_4 em pH 2,5 (ajustado com H_3PO_4) e vazão da fase móvel de $1,3 \text{ mL/minuto}$.

11 RESULTADOS E DISCUSSÃO

11.1 MEDIDAS POTENCIODINÂMICAS

Antes da incineração eletroquímica do ácido oxálico, foi avaliada a atividade electrocatalítica dos materiais anódicos utilizados durante o procedimento experimental. Essa atividade tem sido estudada constantemente através das curvas de polarização. Alguns pesquisadores tem complementado esse estudo aplicando a voltametria cíclica (NAVA et al. 2008) para obter informações sobre o eletroatividade do AO em eletrodos de Ti/IrO_2 , Pb/PbO_2 e Si/DDB , antes da evolução anódica de oxigênio (GINER, 1961; PANIZZA e CERISOLA, 2007; FERRO et al. 2010).

A Figura 41 mostra as curvas de polarização linear para os eletrodos de PbO_2 , grafite, DDB e Pt obtidas em diferentes concentrações de AO, em meio ácido e temperatura ambiente ($\approx 25 \text{ }^\circ\text{C}$). As quatro curvas registradas em eletrólito suporte (H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) são muito diferentes e mostram que ocorre um aumento nos potenciais de evolução de oxigênio de $1,5 \text{ V}$ para $1,7 \text{ V}$ e 2 V a $2,3 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl para grafite, Pt, PbO_2 e DDB, respectivamente. Isto significa que a Pt e o grafite tem baixo sobrepotencial de evolução de oxigênio, e consequentemente são bons electrocatalisadores da reação de desprendimento de oxigênio, enquanto PbO_2 e DDB tem elevado sobrepotencial de evolução de oxigênio e, consequentemente, são pobres electrocatalisadores da reação de desprendimento de oxigênio.

Esses dois últimos ânodos são os mais adequados para a oxidação de orgânicos por apresentarem as melhores eficiências.

As curvas de polarização foram também registradas na presença de AO em solução. A Figura 41(a) mostra a curva de polarização linear para o PbO_2 na presença de AO, usando solução de $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ (curva verde), $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (curva azul) e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (curva preta). Os voltamogramas foram registrados na região antes do potencial de evolução de oxigênio ($E < 2\text{V vs. Ag/AgCl}$). Um comportamento muito diferente foi observado no eletrodo de PbO_2 , uma mudança significativa da corrente foi registrada quando o AO foi adicionado à solução, em comparação com as curvas registradas em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (curva tracejada), com o mesmo valor de densidade de corrente (J).

Segundo Panizza e Cerisola (2007), o mecanismo de geração de radicais hidroxilas e as reações eletroquímicas que ocorrem no eletrodo de PbO_2 durante a oxidação orgânica ainda são difíceis de entender, e ainda não apresentam conclusões definidas.

Devido à produção efetiva de radicais $\cdot\text{OH}$, o PbO_2 realiza muito bem a mineralização de produtos orgânicos. Por esta razão, tem sido utilizado para a oxidação de vários compostos, tais como o ácido oxálico (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2005).

Muitos trabalhos tem comparado o desempenho do PbO_2 em relação a outros materiais anódicos utilizados na oxidação de vários compostos orgânicos (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2005a, 2005b; FERRO et al. 2006; MARTÍNEZ-HUITLE e BRILLAS 2009). Para quase todos os poluentes, o PbO_2 apresenta mineralização mais rápida do que a platina (Pt), óxido de irídio (IrO_2), óxido de rutênio (RuO_2) e óxido de estanho (SnO_2).

Para explicar este comportamento, Panizza e Cerisola (2007) verificaram que o PbO_2 apresenta uma superfície hidratada, os radicais hidroxilas estão mais fortemente adsorvidos e, conseqüentemente, menos reativos do que os do DDB, Figura 42(c), que tem uma superfície inerte com fracas propriedades de adsorção.

Experimentos também foram realizados em eletrodos de DDB (Figura 41c) e as curvas de polarização linear foram registradas na região antes do potencial de evolução de oxigênio ($E < 2,3 \text{ V vs Ag / AgCl}$). Comparando com PbO_2 , Figura 41(a), os dois apresentam sobrepotencial de oxigênio muito elevado.

De acordo com a Figura 41 (c), a reatividade eletroquímica do AO para a incineração neste eletrodo é inferior ao PbO_2 . Além disso, conforme indicado pelas curvas de polarização linear na Figura 41(c), o início da oxidação de AO está localizado a potenciais mais baixos, em comparação com a da evolução de oxigênio, o que indica que a ocorrência da oxidação do

substrato orgânico pode ter lugar sem a participação de radicais hidroxila adsorvidos, e pode até mesmo deslocar a sua formação para potenciais mais positivos.

Os resultados obtidos usando eletrodos de DDB mostraram que, sob condições comparáveis, a taxa de incineração é inferior ao PbO_2 . De acordo com Comminellis e Guohua (2009), produtos orgânicos oxidáveis podem, por consequência, potencialmente, ser oxidados por radicais hidroxila adsorvido ou por oxigênio adsorvido ou por ambas as vias.

Eletrodos de carbono e grafite têm sido largamente utilizados para a remoção de produtos orgânicos em reatores eletroquímicos com eletrodos tridimensionais (por exemplo, leito fixo, leito fluidizado, partículas de carbono, eletrodo poroso, etc.), porque eles são muito baratos, têm uma grande área superficial, e podem combinar adsorção e degradação eletroquímica de substâncias poluentes. No entanto, com esses materiais, o alto potencial de eletrooxidação é geralmente acompanhado pela corrosão da superfície do eletrodo reduzindo sua vida útil.

A Figura 41(b) mostra as curvas de polarização obtidas com grafite. As curvas de polarização linear são registradas na região abaixo do potencial de evolução de oxigênio ($E < 1,7 \text{ V vs Ag / AgCl}$). Em concentrações mais baixas de AO, a eliminação do AO ocorre por uma combinação de adsorção e processo de degradação eletroquímica. Na verdade, a superfície de grafite mostrou uma fraca interação com as moléculas do AO. No entanto, a interação aumenta com o aumento da concentração de AO na solução (curva preta, Figura 41). Este comportamento confirma a adsorção de moléculas do AO na superfície do grafite, neste valor de potencial. Além disso, um efeito moderado de passivação é observada na faixa de potencial de 1,35 a 1,7 V (Figura 41b, curva AO $0,1 \text{ mol L}^{-1}$), antes da reação de desprendimento de oxigênio. Este comportamento pode ser um parâmetro limitativo nos experimentos de eletrólise, diminuindo a eficiência eletrodo durante a degradação do AO. Fibras de carbono ativado (FCA) possuem uma elevada área superficial específica, boa condutividade e capacidade de adsorção excelente. Por isso, eles foram recentemente utilizados no tratamento de águas residuais, como novos eletrodos tridimensionais.

Os experimentos também foram realizados usando um semimetal, nesse caso, o eletrodo de DDB. As curvas de polarização linear registrada na região abaixo do potencial de evolução de oxigênio ($E < 2,3 \text{ V vs Ag/AgCl}$) mostraram que a reatividade eletroquímica do AO para a incineração é inferior a grafite e PbO_2 e a ocorrência da oxidação do substrato orgânico pode ocorrer sem a participação de radicais hidroxilas adsorvidos e pode mudar a

sua formação para potenciais mais positivos, de acordo com os resultados relatados por outros autores (FERRO et al. 2010).

Estes resultados mostraram que, em condições comparáveis de densidade de corrente, um aumento na concentração do AO produz uma mudança no potencial, confirmando que a taxa de incineração é menor do que em ânodos PbO_2 e grafite. Por esta razão, não foi observado pico de oxidação do AO nas curvas de polarização, diferente dos resultados obtidos em eletrodos de PbO_2 e eletrodos de grafite.

De acordo com a literatura (COMNINELLIS e GUOHUA 2009; BRILLAS e MARTÍNEZ-HUITLE 2010; MARTÍNEZ-HUITLE e ANDRADE 2011; MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004; FERRO et al. 2010) compostos orgânicos oxidáveis podem, por consequência, ser potencialmente oxidado por radicais hidroxilas (fortemente adsorvidos ou não), por oxigênio adsorvido ou por estes dois caminhos; mas no caso de ânodo DDB, as fracas propriedades de adsorção na sua superfície diminui a eficiência da degradação do que mostraram pelo PbO_2 e ânodos de grafite, sendo moléculas do AO oxidadas por radicais hidroxilas produzidos na superfície do DDB.

De acordo com a literatura (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2005b; MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2009; SCIALDONE et al. 2008, 2010; LIU et al. 2010) as curvas de polarização do eletrodo de Pt na presença de AO mostram que a molécula orgânica é fortemente adsorvida na superfície do eletrodo, Figura (41d), sendo mais evidente em concentrações mais elevadas de AO (curva preta, Figura (41d)).

Este comportamento é característico de uma forte adsorção, maior do que o observado em anodos de PbO_2 e grafite (intensidade da corrente de pico) e é semelhante ao que geralmente é observado no caso dos ânions (MARTÍNEZ-HUITLE e BRILLAS, 2009). Ainda em suas análises, a desativação de eletrodos de platina em potenciais mais elevados é mencionada, com a distinção de formas mais reativas de óxido de platina (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004; MOROZOVA et al. 1999) .

Estudos de adsorção completa por Martínez-Huitle et al. (2005b) e Ferro et al. (2010) também provaram a ocorrência de adsorção significativa de ácido oxálico em superfícies metálicas de Pt, provocando passivação na superfície do eletrodo de platina (como mostrou na faixa de potencial de 0,8 a 1,4 V, em concentrações mais elevadas de AO, Figura (41d), curva preta).

Segundo alguns autores, a oxidação de alguns compostos orgânicos em ânodo de óxido metálico, podem envolver potencialmente um processo de oxidação direta na superfície

anódica. No entanto, "oxigênio ativo" ambos quimissorvido e ou fisisorvidos passam a competir lado a lado com a reação de evolução de oxigênio, resultando em diminuição da eficiência do processo anódico. Na verdade, com o ácido oxálico em maior concentração, o processo de oxidação é deslocado para potenciais menos positivo, confirmando a passivação e competição com reação de desprendimento de oxigênio.

Segundo Rocha (2011), isso ocorre porque o eletrodo de Pt, considerado um eletrodo "ativo", durante a eletrólise produz radicais hidroxilas, os quais estão fortemente ligados ao eletrodo, favorecendo à quebra da molécula levando à formação de intermediários. Esses intermediários podem acumular-se na superfície do eletrodo provocando uma diminuição na sua eficiência. Dessa forma, para que haja eliminação total do composto orgânico no eletrodo de Pt, precisar-se-ia aumentar drasticamente o tempo de eletrólise.

Figura 41a – Curvas de polarização linear em $0,02 \text{ mol L}^{-1}$; $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de AO em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. A linha em negrito representa a maior concentração de AO enquanto a linha tracejada corresponde a curva do eletrólito de suporte. Ânodo: (A) PbO_2 . Área dos eletrodo $0,5 \text{ cm}^2$.

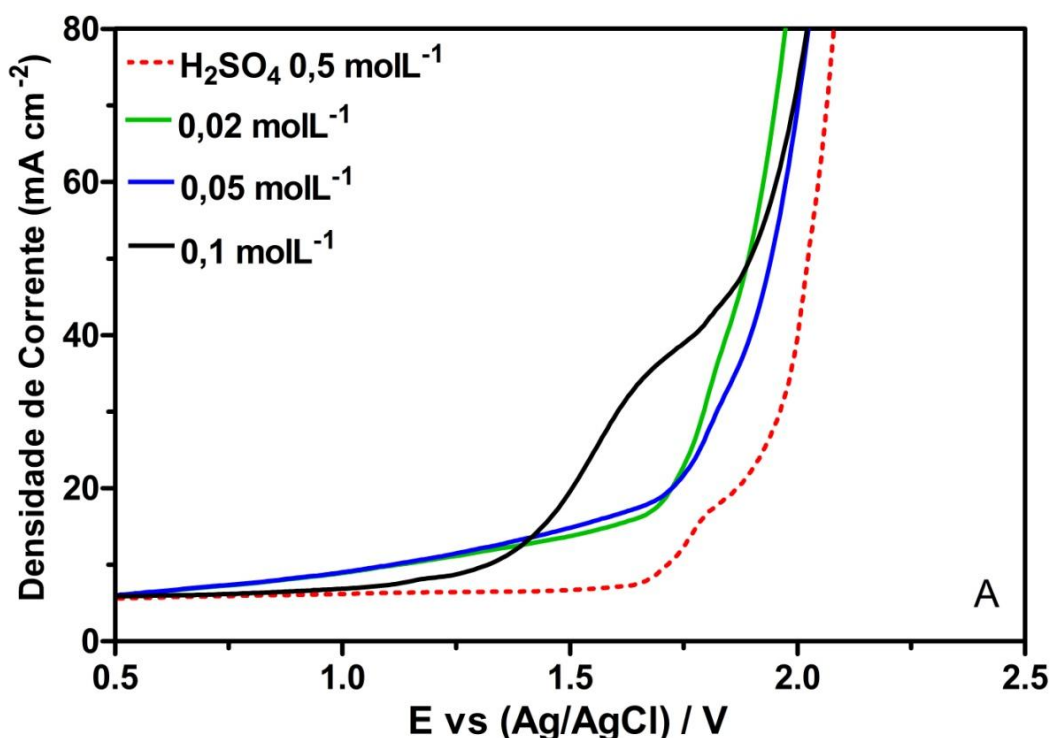


Figura 41b – Curvas de polarização linear em $0,02 \text{ mol L}^{-1}$; $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de AO em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Ânodo: (B) grafite. Área dos eletrodo $0,5 \text{ cm}^2$.

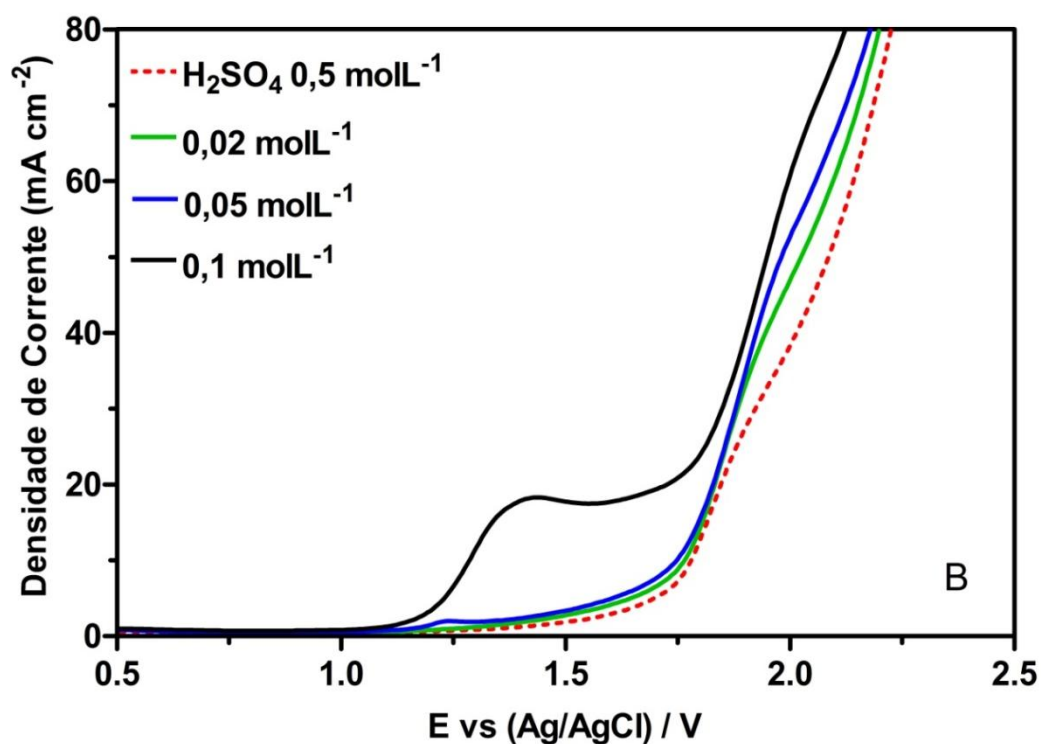


Figura 41c – Curvas de polarização linear em $0,02 \text{ mol L}^{-1}$; $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de AO em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Ânodo (c) DDB. Área dos eletrodo $0,5 \text{ cm}^2$.

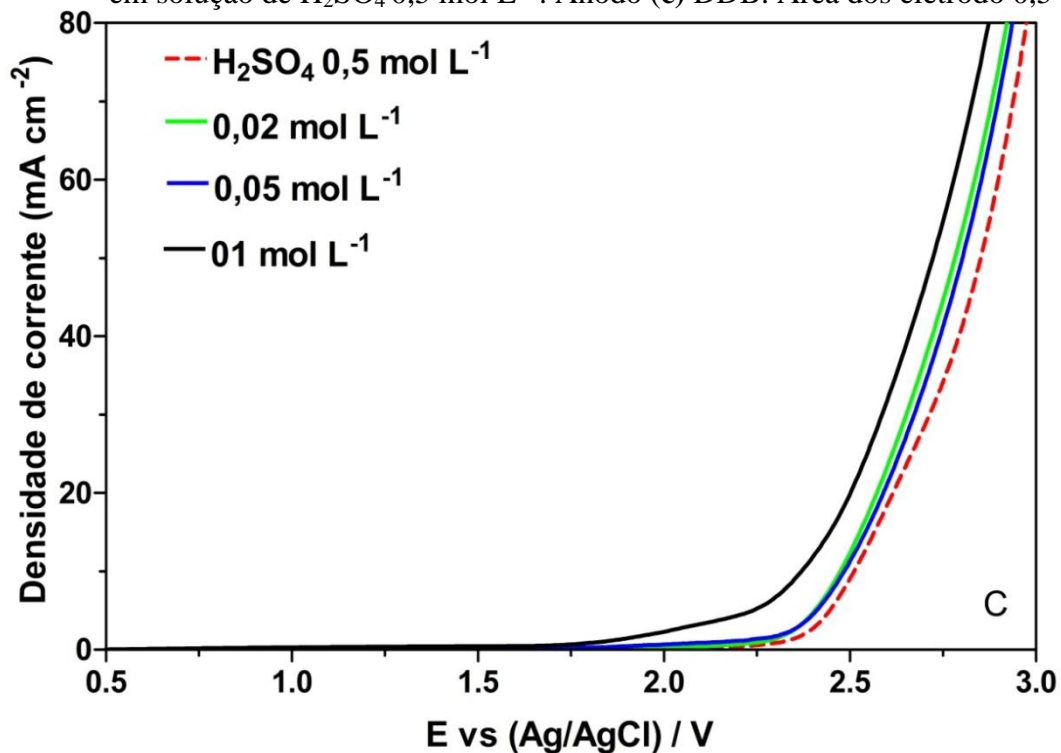
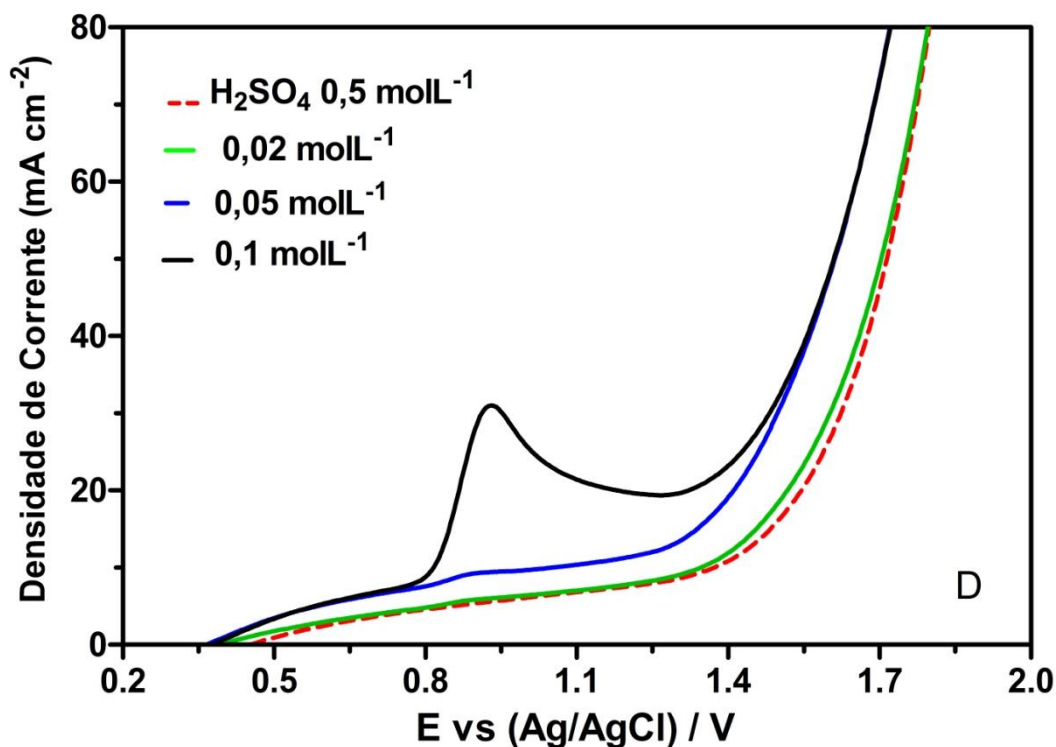


Figura 41d – Curvas de polarização linear em 0,02 mol L⁻¹; 0,05 mol L⁻¹ e 0,1 mol L⁻¹ de AO em solução de H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹. Ânodo: (D) Pt Área dos eletrodo 0,5 cm².



11.2 MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS (VPD) DO AO

12.2.1 Caracterização do eletrodo de trabalho

Para estimar as características eletroquímicas do eletrodo de GC e escolher a faixa de trabalho de potenciais, as curvas de VPD foram registradas em ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹ e em soluções contendo AO. Parâmetros experimentais relevantes são apresentados na secção experimental. A faixa do potencial de trabalho foi delimitada 0,5 a 1,7 V.

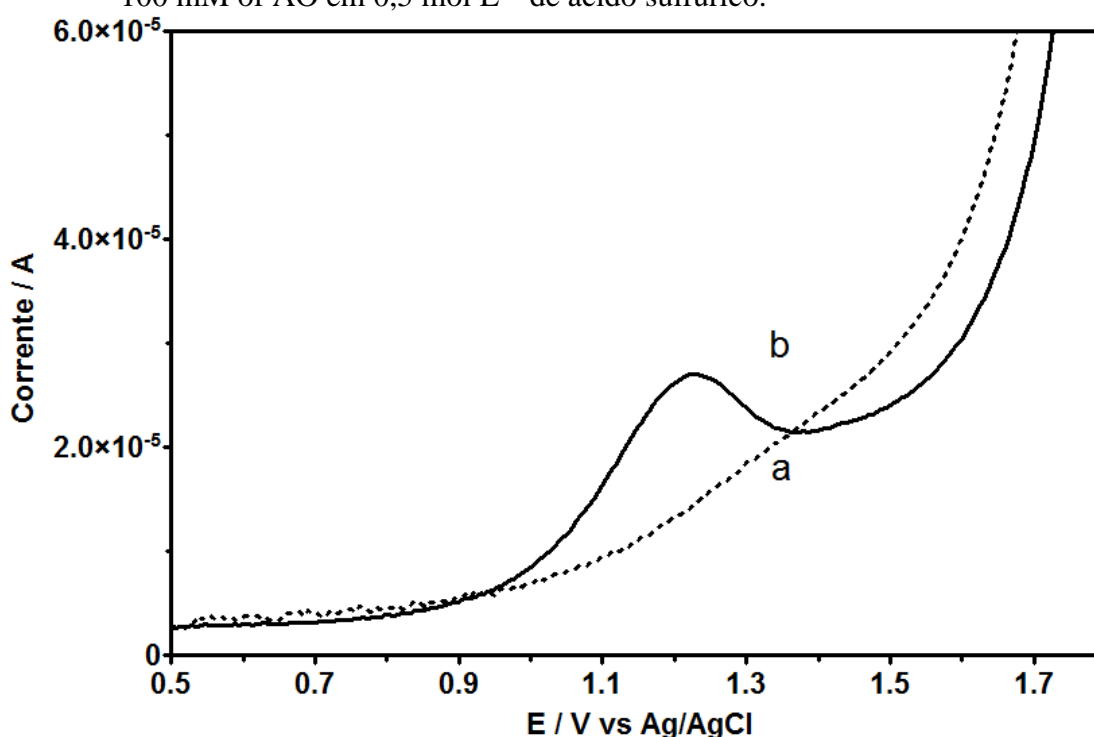
A Figura 42 mostra os voltamogramas de ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹, na ausência (curva a) e presença de AO (curva b), registrado em eletrodo de GC. Como pode ser visto, na ausência de AO (curva a), não foi observado nenhum pico. No entanto, na presença de AO (curva b), foi observado um pico de oxidação irreversível em $\approx 1,23$ V (vs. Ag/AgCl) para o eletrodo de carbono vítreo, e atribuído a oxidação eletroquímica do ácido oxálico.

Estes experimentos em eletrodo de carbono vítreo (Figura 42) mostraram que o AO é eletroativo neste material, sua oxidação ocorre cerca de 300–400 mV antes do início da

reação de evolução de oxigênio (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004a). Além disso, um sinal centrado em torno de 1,23 V foi observado em concentrações de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de AO.

De acordo com a literatura (FERRO et al. 2010; MARTÍNEZ-ANDRADE, 2011) a oxidação do AO ocorre através de uma ampla faixa de potencial, no entanto, o efeito é registrado apenas por um aumento na densidade de corrente e um deslocamento quase uniforme das curvas de polarização para os valores de potenciais menos positivos, com o aumento da concentração de AO.

Figura 42 - VPD do AO em eletrodo de GC na ausência (curva a) e na presença (curva b) de 100 mM of AO em $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido sulfúrico.



12.2.2 Curva de calibração (VPD_{cc}) e método de adição de padrão.

Dados obtidos analisando a solução padrão de AO em meio ácido mostraram uma relação linear existente entre a corrente de pico e a concentração do ácido oxálico (Figura 43). Estes resultados em eletrodo de carbono vítreo destacaram as vantagens do presente eletrodo.

A curva de calibração (VPD_{cc}) para o AO foi obtida (Figura 43) por meio da avaliação da intensidade do pico em função da concentração do analito, e considerando-se, pelo menos, 14 concentrações do analito. A análise residual da regressão linear mostrou que existe uma resposta linear de $2,0 \times 10^{-3}$ a $1,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, com coeficientes de regressão

sempre maiores do que 0,9942. A curva de calibração correspondente esta representada pela seguinte equação 15:

$$I = (2,919 \pm 0,062) \times 10^{-3} \times [\text{AO}] - (3,1 \pm 0,6) \times 10^{-6}$$

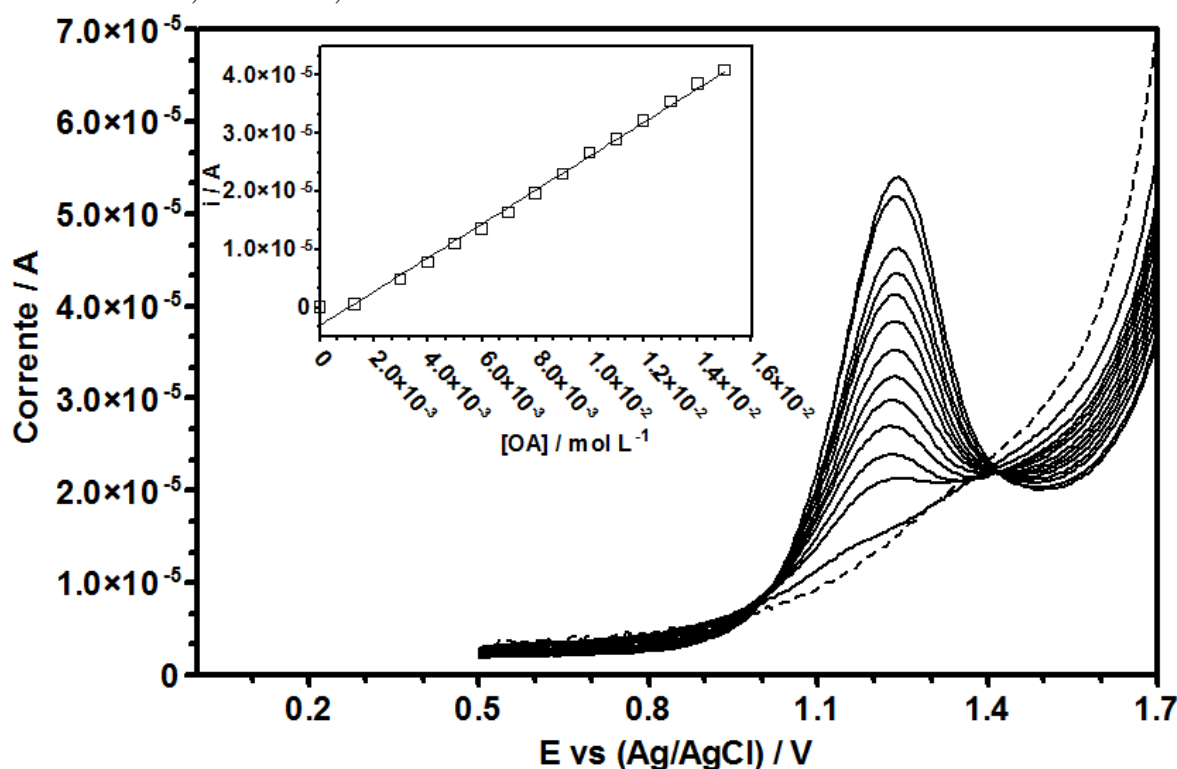
(n = 14, r² = 0,9942) Equação (15)

Esta equação foi usada para estimar a concentração de AO em diferentes tempos da eletrólise. A estimativa preliminar dos limites de detecção, LD, também foi possível, usando a abordagem baseada no desvio padrão da regressão: Como mostrado pela equação 16.

$$LD = 3 \times \frac{S_y}{b} \quad \dots\dots\dots \text{Equação (16)}$$

Onde S_y é o desvio padrão residual e b é o declive do gráfico de calibração. Com base nos resultados obtidos, um LD de aproximadamente $5,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foi estimado.

Figura 43 – Voltametria de pulso diferencial de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido sulfúrico contendo diferentes concentrações de ácido oxálico em ECG: 2×10^{-3} ; 3×10^{-3} ; 4×10^{-3} ; 5×10^{-3} ; 6×10^{-3} ; 7×10^{-3} ; 8×10^{-3} ; 9×10^{-3} ; 1×10^{-2} ; $1,1 \times 10^{-2}$; $1,2 \times 10^{-2}$; $1,3 \times 10^{-2}$; $1,4 \times 10^{-2}$ e $1,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.



11.2.3 Método de adição de padrão VPD_{SAM}

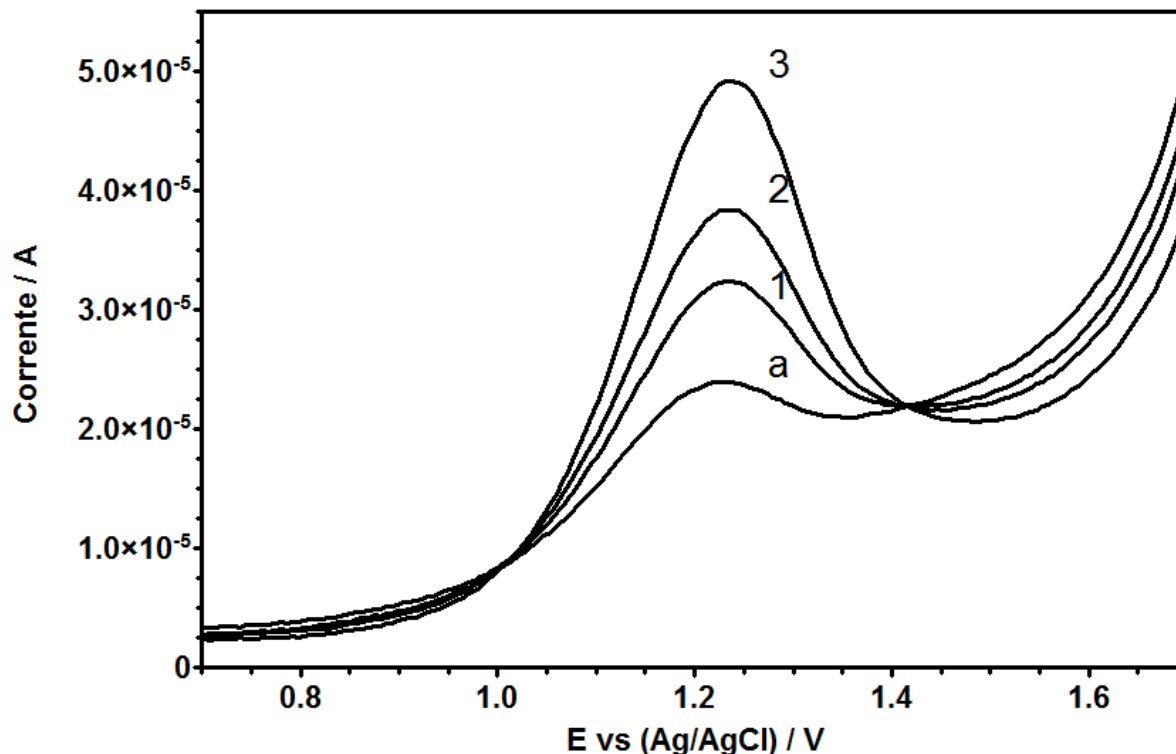
No caso em que as amostras do analito foram analisadas por análise de VPD, usando o método da adição de padrão (VPD_{SAM}), uma amostra retirada durante a eletrolise (1 mL) foi adicionada em 30 mL de eletrólito suporte (Figura 44), após adição de volumes conhecidos (as curvas 1, 2 e 3, Figura 44) da solução de AO de 0,1 mol L⁻¹ na célula eletroquímica. O teor de ácido carboxílico residual na solução foi quantificada.

Nesse procedimento (Figura 44), a amostra foi adicionada à célula voltamétrica juntamente com o eletrólito suporte e a corrente referente à espécie de interesse (analito) foi registrada. A seguir, adicionou-se sobre a solução da amostra uma alíquota de 1 mililitro da solução padrão do analito (AO). Após a adição do padrão, leu-se a corrente referente à soma da concentração do analito mais a concentração adicional da solução padrão do analito adicionada. Foram adicionadas três alíquotas da solução padrão de AO 0,1 mol L⁻¹, registrando-se a corrente após cada adição. Com os valores obtidos das correntes da amostra e dos padrões, foi construído um gráfico da altura da corrente vs. concentração.

A reta resultante foi extrapolada até cortar o eixo da concentração (eixo "x") no lado negativo das coordenadas. O módulo do valor negativo obtido foi o valor da concentração do analito da amostra na solução da célula voltamétrica. Sabendo-se o volume total da solução na célula e o volume da amostra original adicionado a ela, calculou-se então a concentração do analito na solução da amostra original. A Figura 44 mostra um exemplo dos voltamogramas relevantes para uma das seguintes calibrações.

Os resultados mostraram que ambos os processos de análise confirmam as vantagens do sensor para monitorar a concentração de AO pelo método VPD usando eletrodo de GC, o que melhora a sensibilidade e seletividade para determinar a concentração de AO durante o processo de oxidação.

Figura 44 – Exemplo de voltamogramas relevantes das análises de AO em eletrodo de GC por adições sucessivas de padrões. Voltamogramas obtidos da VPD em ECG usando H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito de suporte. (curva a) da amostra e curvas (1-3) adições sucessivas de padrão: 2×10^{-3} ; 3×10^{-3} ; $4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de AO.



11.3 MEDIDAS ELETROQUÍMICAS

11.3.1 Oxidação eletroquímica do AO em ânodos ativos e não ativos

Os experimentos da oxidação eletroquímica do AO foram realizados sob condições galvanostáticas. Testes, aplicando 60 mA cm^{-2} e 25° C foram realizados, escolhendo essas condições experimentais, devido às eficiências de remoção superiores obtidos em um trabalho anterior publicado por MARTÍNEZ-HUITLE et al. (2004). Confirmou também que para medidas potenciodinâmicas a partir de densidades de corrente superiores a 60 mA cm^{-2} , favorece a produção de "espécies ativas de oxigênio" quimissorvidas e fisisorvidas (ver Figura 41 (a-d)).

Durante cada eletrólise, as amostras de analito foram retiradas e analisadas por análise de VPD para quantificar a concentração de ácido carboxílico residual na solução por meio de ambos os métodos analíticos (VPD_{CC} e VPD_{SAM}). Os resultados obtidos com ambas as

técnicas eletroanalíticas são relatados na Figura 45 (gráfico (a): usando curva de calibração e gráfico (b) pelo método de adição de padrão) e (c) cromatografia líquida de alta eficiência.

Como pode ser visto a partir destas figuras, em ânodo de Pb/PbO₂, um dos exemplos clássicos de material com elevado sobrepotencial de evolução de oxigênio, espera-se executar muito bem a mineralização eletroquímica dos compostos orgânicos (PANIZZA et al. 2009; MARTÍNES-HUITLE e FERRO 2006; MARTÍNES-HUITLE e BRILLAS 2009). Aplicando uma densidade decorrente de 60 mA cm⁻², nas fases iniciais de oxidação 90% da quantidade de AO foi mineralizado. O experimento se prolongou até 330 min (Figura 45a).

Recentemente, alguns trabalhos tem reportado isso a ocorrência de interações de curto alcance entre os sítios do Pb⁺⁴ e os grupos carboxílicos, essa curta interação tem assumido e desempenhado um papel importante na oxidação anódica (MARTÍNES-HUITLE 2004). Por esse motivo, maiores eficiências foram alcançadas nos tempos iniciais de oxidação eletroquímica do ácido oxálico.

Contudo, a perda de eficiência do processo no tempo final pode ser entendida, essencialmente em termos de uma dependência da formação de um óxido na superfície do ânodo, o que permite a oxidação completa do AO. Estes resultados são confirmados pelas curvas de polarização relatadas na Figura 41(a), onde a oxidação do AO se realiza sob uma velocidade de degradação lenta, devido ao aumento da produção de radicais hidroxilas em elevados valores de densidade de corrente, e devido a ocorrência de interações entre os sítios do Pb⁺⁴ e os grupos carboxílicos.

Experimentos também foram realizados em um semimetal, eletrodo de DDB, comparando com PbO₂ o alto sobrepotencial de evolução de oxigênio, confirmado pelos resultados mostrados na Figura 41(c). Os resultados obtidos em eletrodos DDB mostraram que, sob condições comparáveis, a taxa de incineração é inferior ao do PbO₂ (Figura 45a).

De fato, 80 % do substrato é mineralizado usando eletrodos de DDB, mediante o consumo de 11 Ah dm⁻³ em comparação com os 4 Ah dm⁻³ obtido em eletrodo de PbO₂. Esta evidência experimental apoia a ideia de que a interação entre o substrato orgânico e a superfície do eletrodo é provável que seja uma condição suficiente para uma rápida incineração (MARTÍNEZ-HUITLE E ANDRADE 2011).

A fraca interação entre o ácido oxálico e o eletrodo de DDB, aparentemente não foi suficiente para promover uma rápida oxidação, apesar de favorecer, em princípio, uma possível eletrossorção de radicais hidroxilas (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004). Este

resultado está de acordo com os dados também relatados por LIU et al. (2010) e os obtidos nas curvas de polarização (Figura 41c).

A taxa de mineralização do AO na superfície de grafite é substancialmente similar ao obtido em eletrodo de PbO_2 , apesar de sua maior atividade catalítica para evolução de oxigênio, de acordo com os valores obtidos por medidas potenciodinâmicas (Figura 41 (b)).

Como mostrado na Figura 45a, a semelhança é a mesma nas fases iniciais de oxidação. No entanto, dentro do intervalo de densidade de corrente aplicada (60 mA cm^{-2}) para a incineração electroquímica, os potenciais electroquímicos deste eletrodo ocorre bem dentro da região de evolução de oxigênio (ver Figura 45 (b)) e, sob estas condições de polarização, o eletrodo de grafite sofre corrosão na superfície (FERRO et al. 2010). Esta mudança é, possivelmente, também responsável pela forte diminuição na eficiência de incineração, observada após 250 min, ver Figura 45a.

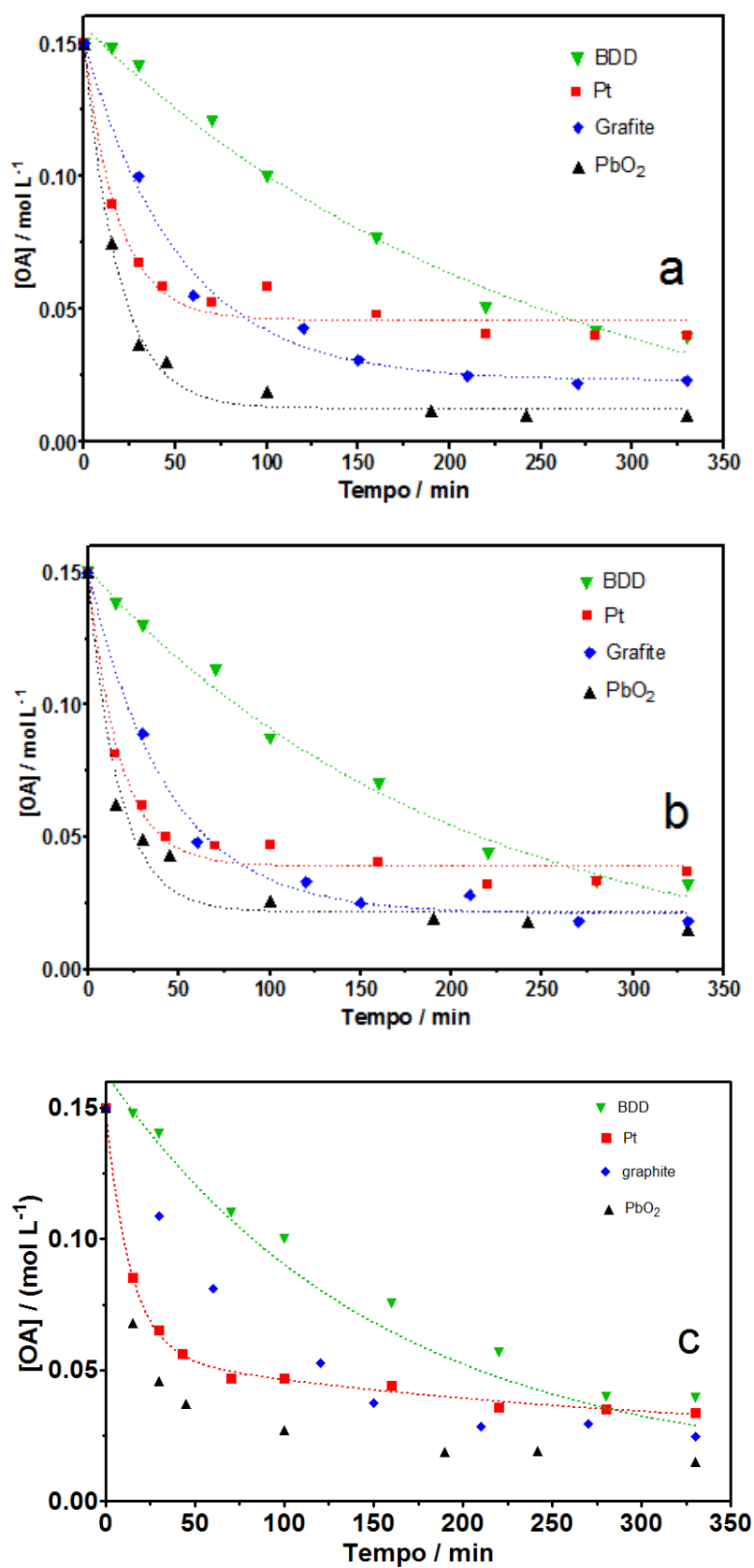
Para as medidas em que o eletrodo de Pt está em uso (Fig. 45a), a mineralização do AO é rápida (estados iniciais de oxidação), mas a sua taxa de oxidação diminui no decorrer do tempo ocorrendo uma desativação da superfície do eletrodo, (esta desativação/passivação é confirmado por medições potenciodinâmicas, Figura 41 (d)), na faixa de potencial de 0,8 V a 1,4 V. Este comportamento foi observado por MARTÍNEZ-HUITLE et al. (2004a, 2005); FERRO et al. (2010), considerando que a mudança no potencial do ânodo nas densidades de corrente mais elevadas podem ser provisoriamente relacionado com a natureza e a espessura do óxido de Pt formado durante a polarização anódica MARTÍNEZ-HUITLE et al. (2004a).

Aparentemente, como relatado por MARTÍNEZ-HUITLE et al. (2004a; 2005), nem a concentração residual do AO, nem a taxa de evolução de oxigênio por si só pode determinar o aumento e a diminuição da eficiência da corrente faradaica para a mineralização do AO, como também foi mostrado pelas curvas de polarização (ver também a fig. 41(d)). É, antes, uma combinação ideal dos dois parâmetros, e uma das mais críticas, o que provoca as mudanças (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004a).

De fato, um artigo amplamente citado por Giner (1961), a desativação do eletrodo de Pt durante a oxidação do AO é, devido a formação de uma camada monomolecular completa de oxigênio, e as tentativas de interpretação foram feitas com base em adsorção de espécies de oxigênio (SCIALDONE et al. 2009, 2010). Além disso, esta desativação é devido a uma forte adsorção das moléculas do AO na superfície da Pt, o que limita a sua degradação contínua. Como pode ser observado na (Figura 45 (c)), a concentração de ácido oxálico foi determinada usando CLAE, e a análise mostrou o mesmo comportamento. A Figura (45c) mostra os

resultados obtidos pela comparação entre VPD e CLAE, os resultados se mostram muito similares e uma pequena discrepância entre as técnicas para determinação de ácido oxálico é identificada.

Figura 45 - Concentração do AO (a) usando curva analítica e (b) por adições sucessivas de padrão, (c) CLAE.



11.4 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DAS MEDIDAS POR VPD

Como pode ser observado nas (Figuras 46, 47 e 48) o comportamento da oxidação anódica do AO observado em ambos os métodos de VPD_{CC}, VPD_{SAM}, titulação e métodos cromatográficos são muito semelhantes. No entanto, uma diferença evidente entre a concentração do AO é verificada em ambas as técnicas usando eletrodo de Pt (Figura 46, 47, 48). No entanto, os dados reportados e afirmações publicadas por outros autores (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004, 2005; IVANDINI et al. 2006; SCIALDONE et al. 2008; 2009) mostraram a eficiência das técnicas eletroanalíticas para monitorar a oxidação eletroquímica do AO.

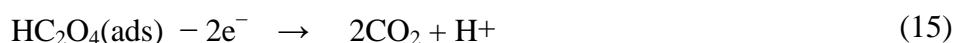
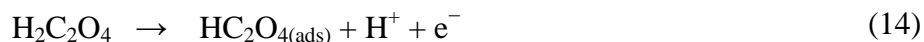
Além disso, como a sensibilidade para quantificar a concentração de AO depende do método de quantificação utilizados e as condições (a partir de curvas de calibração, por adição de padrão, método de titulação com KMnO_4 e CLAE), uma comparação entre os métodos de quantificação do AO foi realizado a fim de confirmar o comportamento de oxidação observadas e os resultados alcançados.

Com base nos dados obtidos pelo método de adição padrão (Figura 41b), a OE de OA em soluções aquosas segue a mesma sequência: $\text{PbO}_2 > \text{grafite} > \text{Pt} > \text{DDB}$, confirmando os dados obtidos através da análise VPD pela curva de calibração (Figura 41a).

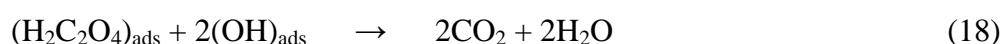
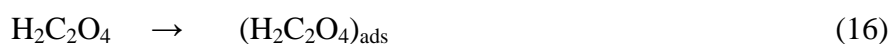
No entanto, a abordagem baseada nos acréscimos sucessivos padrões pode apresentar um pouco de diferenças quando comparados com os resultados obtidos pela curva de calibração. Por esta razão, a comparação entre os dois métodos foi representada graficamente (Figura 46), incluindo o desvio da resposta (erro estatístico).

Como pode ser observado na Figura 46, um bom ajuste de ambos os métodos de quantificação foi alcançada; foi observado apenas um desvio significativo (cerca de 5% de erro estatístico) nas amostras iniciais (15, 30, 45 e 60 min), para ânodos de PbO_2 e grafite, e uma importância menor no ânodo de DDB (cerca de 3% de erro estatístico). Esta diferença deve ser devida a uma mudança no mecanismo de oxidação.

De acordo com a literatura (FERRO et al. 2010), dois tipos de mecanismos de oxidação para o AO podem ser considerados: Um envolvendo a uma lenta transferência de elétrons para uma partícula de um adsorbato orgânico. Dependendo da natureza deste adsorbato, podem-se separar pelo menos duas versões do mecanismo: com a participação de um adsorbato orgânico fortemente ligado, ou uma partícula reversível de tipo oxalato aniônica adsorvida:



A outra é uma reação lenta procedendo da camada de adsorção, com a participação de espécies contendo oxigênio adsorvido:

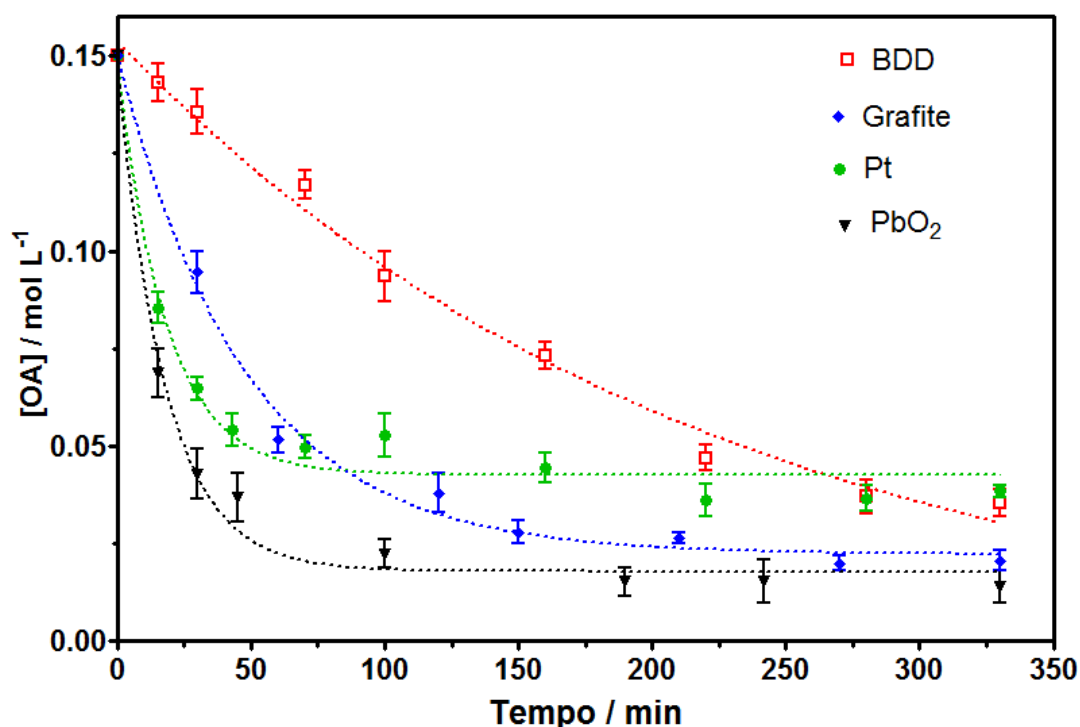


A co-existência de mecanismos substancialmente diferentes, as taxas de reação e a cinética eletroquímica incentiva novas pesquisas em materiais eletrocatalíticos com diferentes hidrofiliçidade e diferentes atividades catalíticas para a reação de desprendimento de oxigênio, cujo primeiro passo é a formação de radicais hidroxilas (FERRO et al. 2010).

Na verdade, em anodos de PbO_2 e grafite, observa-se uma forte interação entre o AO e a superfície do ânodo, aumentando da taxa de oxidação e modificando os mecanismos de oxidação eletroquímica. No entanto, para o material de Pt, vários etapas de mecanismos são registrados durante a oxidação do AO, como já foi indicado por outros autores (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2005a, 2005b; SCIALDONE et al. 2008, 2009, 2010). Portanto, a quantidade de AO em solução pode variar apresentando uma discrepância na sua detecção (ver, Figura 46).

Por outro lado, no ânodo DDB, não ocorre adsorção de AO na superfície, devido à natureza "não-ativo" deste eletrodo, mas a oxidação biológica compreende claramente intermediários que estão disponíveis apenas durante a reação de desprendimento de oxigênio (radicais hidroxila), de acordo com dados obtidos em ânodos DDB por Gandini e colegas de trabalho (GANDINI, 2000). Por esta razão, foi observado apenas um ligeiro desvio entre as técnicas VPD (Figura 47).

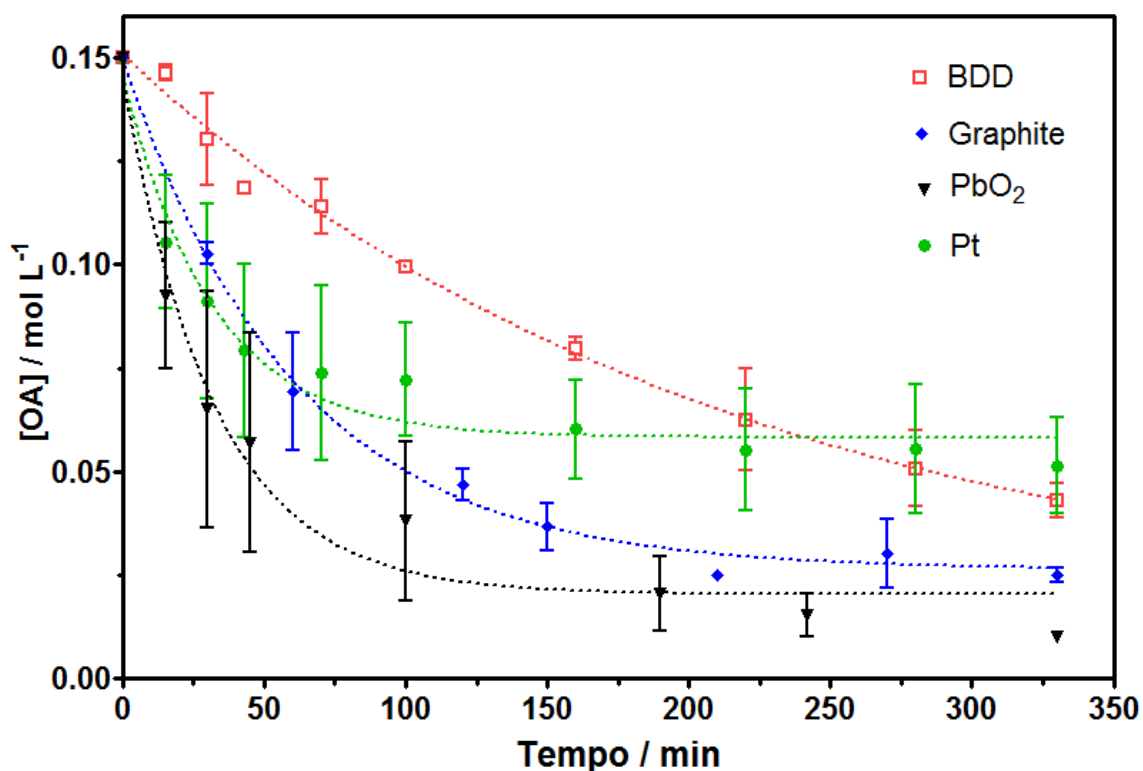
Figura 46 - Comparação entre medidas de VPD obtidos pelos dois diferentes procedimentos analíticos (por curvas de calibração e pelo método de adição de padrão) durante o monitoramento da degradação AO em diferentes materiais eletrocatalíticos.



Finalmente, quando o comportamento da oxidação anódica do AO é comparado com os resultados obtidos por titulação usando permanganato de potássio Figura 47 (análise tradicional) e VPD (por curva analítica), mostrou-se que a sequência da OE é exatamente a mesma ($\text{PbO}_2 > \text{grafite} > \text{Pt} > \text{DDB}$). Este resultado está de acordo com os dados relatados por (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004a, 2004b). Além disso, um bom ajuste e precisão foram obtidos em ambos os métodos de quantificação, a obtenção de um desvio significativo para ânodos de grafite e ânodos de PbO_2 (cerca de 17%, ver Figura 47) sendo esta diferença é devido a uma mudança no mecanismo de oxidação, tal como já foi explicado acima. Este comportamento é claramente semelhante aos resultados obtidos em técnicas de VPD (por curvas de calibração, pelo método de adição de padrão), como é mostrado na Figura 46.

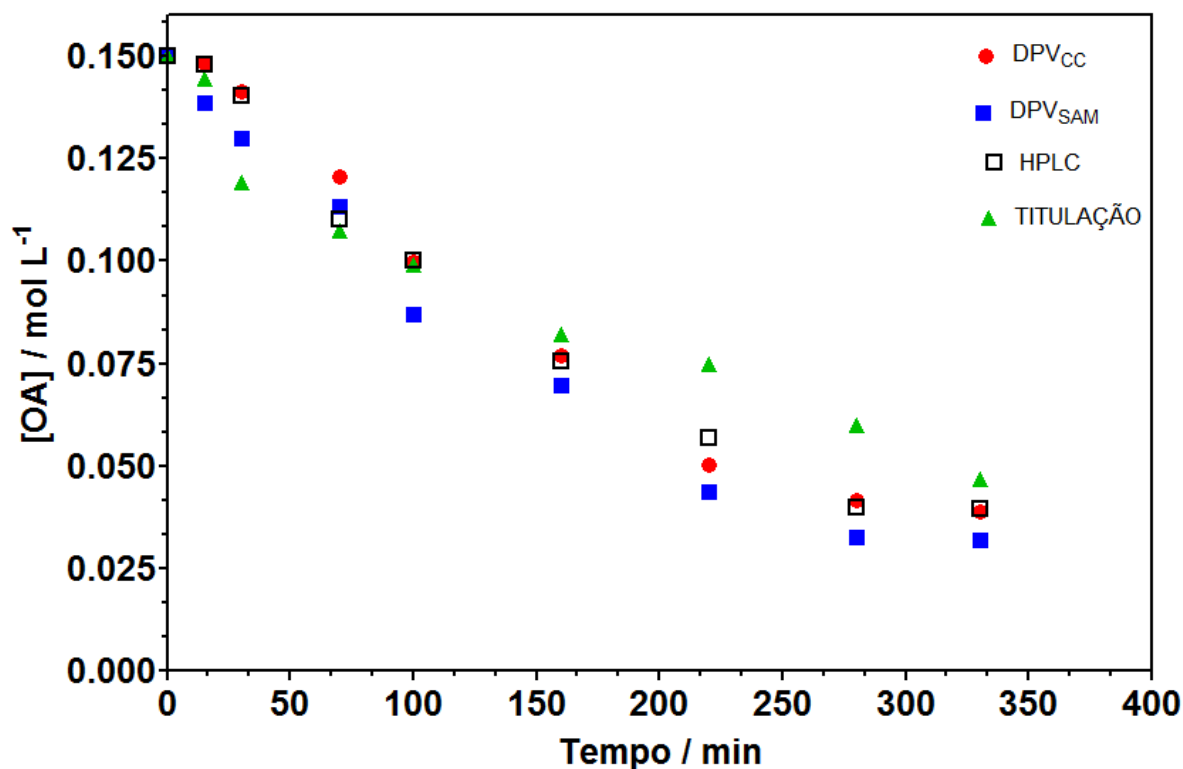
A Figura 46c mostra os resultados obtidos pela comparação entre VPD e CLAE, os resultados se mostram muito similares, com comportamentos semelhantes.

Figura 47 - Comparação entre titulação tradicional padrão com permanganato de potássio e análise VPD (curvas de calibração) durante o monitoramento da degradação do AO em diferentes materiais eletrocatalíticos.



A Figura 48 mostra a aplicabilidade da VPD para o monitoramento da concentração de ácido oxálico durante a sua oxidação eletroquímica usando o ânodo de diamante dopado com boro (DDB) em 60 mA cm^{-2} . Durante a eletrólise amostras foram coletadas e analisadas por VPD, titulação com permanganato e CLAE para a quantificação da concentração de AO na solução. A avaliação da concentração do AO obtida em diferentes técnicas estão mostradas na Figura 49. Como pode ser observado, o comportamento da oxidação eletroquímica observado em ambos os métodos de VPD é muito semelhante, mostrando uma pequena discrepância entre a concentração do AO determinado por tratamento eletroquímico e CLAE. Contudo baseado nos resultados do CLAE, podemos verificar que as medidas usando método de titulação mostrou uma notória discrepância em relação ao método por VPD.

Figura 48 – Comparação entre a titulação tradicional, análises VPD e CLAE para quantificação do ácido oxálico durante a degradação eletroquímica usando DDB, Pt, PbO₂ e Grafite. Condições experimentais: [AO]₀ = 0,15 mol L⁻¹, 60 mA cm⁻² and 25°C.



O erro obtido durante as medidas da concentração do ácido oxálico usando VPD e KMnO₄ foi calculado como:

$$Erro (\%) = \frac{AO_{HPLC} - AO_{medido}}{AO_{HPLC}} * 100$$

Onde AO_{CLAE} é a concentração de ácido oxálico determinado por CLAE e AO_{medido} é a concentração de ácido oxálico determinado por VPD e método de titulação.

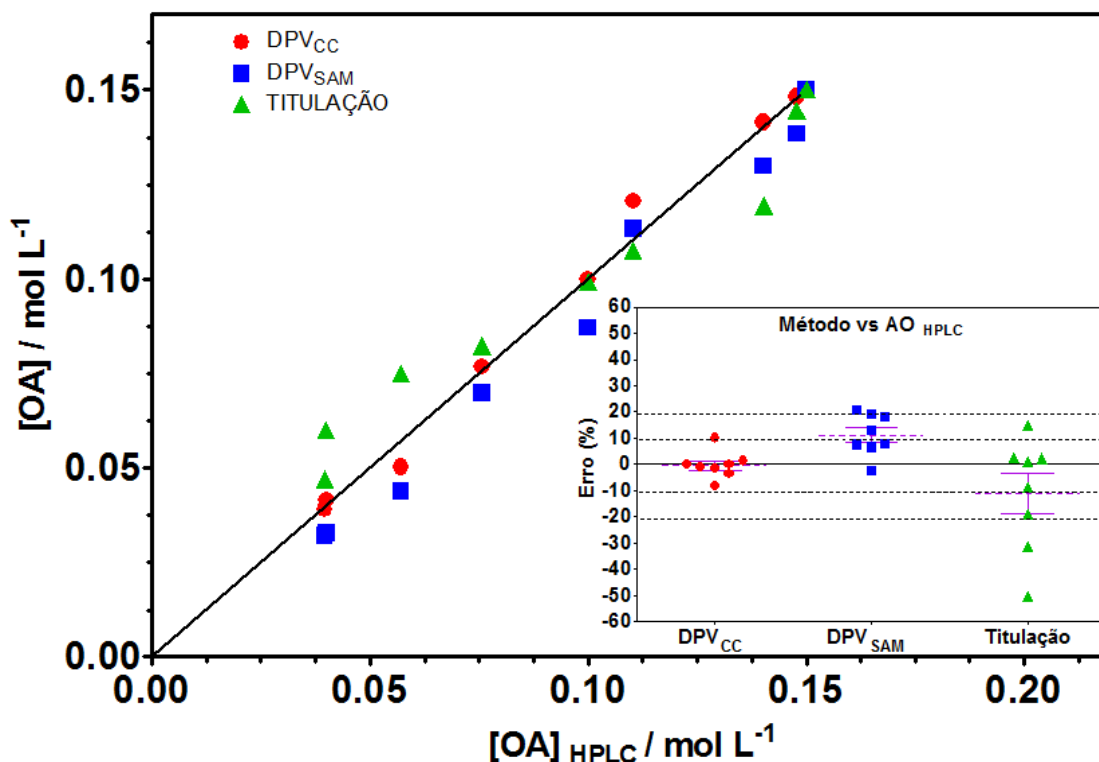
Como pode ser observado na Figura 49, a VPD_{CC} apresentou resultados mais confiáveis do que VPD_{SAM}. No entanto, ambos os processos de VPD mostraram menor erro estatístico do que o observado pelo método de titulação. De acordo com o mostrado na Figura 50 podemos verificar que o método VPD_{CC} obteve um erro estatístico abaixo de 5% em 80% de todas as respostas obtidas, bem como, é importante evidenciar que o valor médio calculado da concentração do ácido oxálico está dentro do esperado por CLAE.

Alternadamente, os resultados da concentração do ácido oxálico estimados por VPD_{SAM} está entre os 20% do erro estatístico, mostrando um valor médio de aproximadamente 10% de AO; e este erro está dentro do consentido pelo equipamento.

Inversamente, as medidas usando titulação com $KMnO_4$ apresentaram um comportamento assimétrico, exibindo erro estatístico superior e desvio padrão para os resultados de CLAE.

É importante ressaltar que, com base na literatura existente (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004a, 2004b; FERRO et al. 2010; SCIALDONE et al. 2009, 2010), a eletrossorção do AO na superfície do ânodo é um importante pré-requisito para a oxidação eletroquímica do ácido oxálico, sem participação de radicais hidroxilas em alguns materiais. No ânodo de DDB, nenhuma adsorção do AO é alcançada, devido à natureza “não ativo” deste material, mas ocorre claramente o envolvimento de intermediários que estão disponíveis durante a reação de evolução de oxigênio (radicais hidroxilas). Além disso, eletrólise utilizando ânodo em meio aquoso contendo íons sulfato, gera peroxodisulfatos ($2SO_4^{2-} \rightarrow S_2O_8^{2-} + 2e^-$) e peróxido de hidrogênio na superfície (CHEN, 2004). Consequentemente, este fenômeno (adsorção e produção de espécies oxidantes) pode ter algum significado nos resultados analíticos obtidos pelo procedimento usando VPD em DDB.

Figura 49 – Comparação das medidas usando tratamento eletroquímico e titulação. Erros, e desvios em medidas usando DDB, Pt, PbO_2 e Grafite.



Como fortemente sugerido por outros autores, a análise dos procedimentos foram realizados através da manutenção do sistema analítico sob condições de controle estatístico da estimativa do erro.

Assim, o erro obtido durante as medidas da concentração do AO utilizando procedimentos da VPD foi calculado usando a seguinte equação 17:

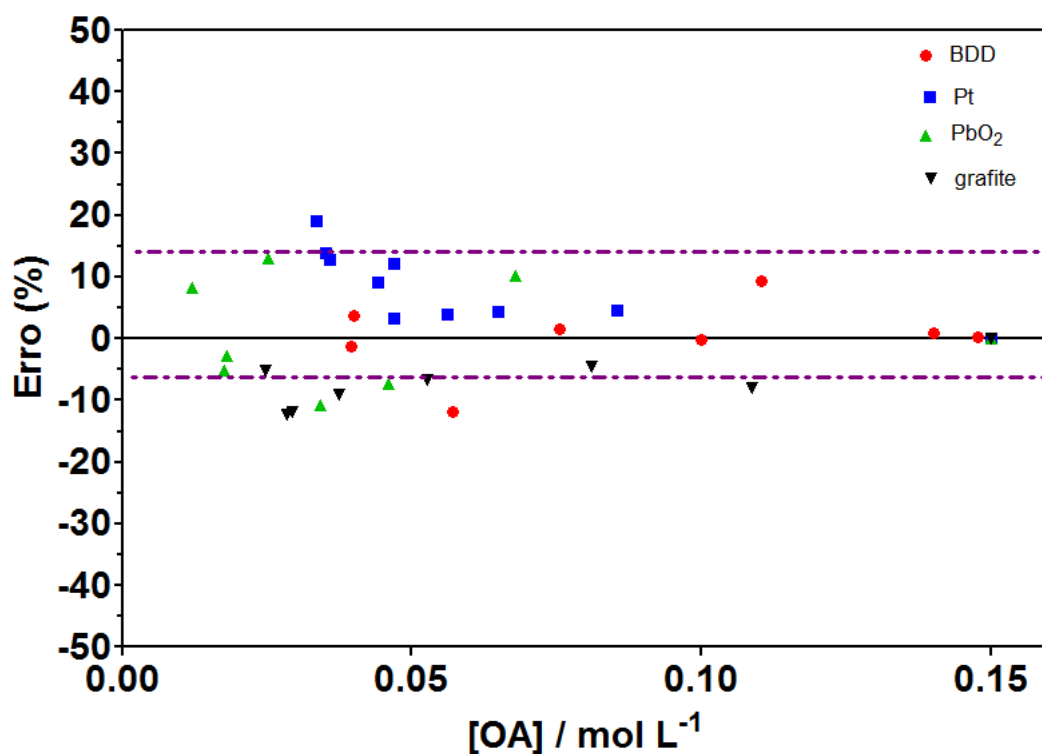
$$\text{Erro (\%)} = \frac{\text{AO}_{\text{HPLC}} - \text{AO}_{\text{DPV}}}{\text{AO}_{\text{HPLC}}} * 100 \quad \text{Equação (17)}$$

Onde AO_{CLAE} é a concentração de ácido oxálico determinado por CLAE e AO_{VPD} é a concentração de ácido oxálico determinado por VPD. Como pode ser visto na (Figura 10), de acordo com o *Teste de Student* ou simplesmente *teste t*, é possível supor que não houve diferenças significativas entre o CLAE e procedimento eletroanalítico usando VPD alcançando um nível de confiança de 90%.

A Figura (50) mostra os resultados obtidos pela comparação entre VPD e CLAE, os resultados se mostram muito similares e uma pequena discrepância entre as técnicas para determinação de ácido oxálico é identificada. A diferença entre a concentração de ácido oxálico determinado com VPD e CLAE (Figura 50) foi de aproximadamente 10%. Portanto mais uma vez as técnicas eletroanalíticas vêm mostrando ser uma alternativa promissora para uma rápida e eficiente quantificação de ácido oxálico em efluentes, além do que esse método é mais barato do que a análises cromatográficas.

É importante ressaltar que, com base na literatura existente (MARTÍNEZ-HUITLE et al. 2004a, 2004b; FERRO et al. 2010; SCIALDONE et al. 2009, 2010), a eletrossorção do AO na superfície do ânodo é um importante pré-requisito para a oxidação eletroquímica do ácido oxálico, sem participação de radicais hidroxilas em alguns materiais eletrocatalíticos, tais como Pt, grafite e PbO_2 . No ânodo do DDB, nenhuma adsorção do AO é alcançada, devido à natureza “não ativo” deste material, mas ocorre claramente o envolvimento de intermediários que estão disponíveis durante a reação de evolução de oxigênio (radicais hidroxilas). Além disso, eletrólise utilizando ânodo em meio aquoso contendo íons sulfato, gera peroxodissulfatos ($2\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{S}_2\text{O}_8^{2-} + 2\text{e}^-$) e peróxido de hidrogênio na superfície (CHEN, 2004). Conseqüentemente, este fenômeno (adsorção e produção de espécies oxidantes) pode ter algum significado nos resultados analíticos obtidos pelo procedimento usando VPD, como ilustrado pelos resultados obtidos no ânodo de platina Figura 50.

Figura 50 – Desvio padrão e média para VPD, focando os dados de dispersão dos resultados do CLAE.



A Figura 51 mostra um resumo do comportamento do ácido oxálico usando os vários materiais eletrocatalíticos, de acordo com os dados apresentados podemos verificar que para os anodos considerados “não ativos”, como o DDB e PbO₂ ocorreu um menor erro estatístico. Enquanto para os materiais considerados “ativos” como Pt e grafite os erros foram mais evidentes. De acordo com trabalhos publicados por Comninellis e Guohua (2009), isso ocorre devido à mudança do mecanismo de oxidação eletroquímica do ácido oxálico em cada material eletrocatalítico.

12 CONCLUSÃO

No presente trabalho foi investigado a oxidação eletroquímica do AO em diferentes materiais eletrocatalíticos. Os resultados obtidos durante o procedimento experimental indicaram que o processo de oxidação eletroquímica do ácido oxálico depende fortemente da natureza do material anódico e do mecanismo de oxidação, o que afeta a sua detecção.

Eficientes remoções foram obtidas em ânodos de Ti/PbO₂, grafite, DDB e Pt 90, 85, 80 and 78% respectivamente. A eletrossorção é um importante pré-requisito, dependendo do material eletrocatalítico usado, com ou sem participação de radicais hidroxilas e outras espécies oxidantes.

Foi também demonstrado que a VPD usando eletrodo de carbono vítreo oferece uma maneira rápida, simples, confiável e econômica para determinar a AO durante o processo de oxidação eletroquímica.

O sensor é caracterizado por uma maior sensibilidade e reprodutibilidade. O baixo limite de detecção permite reduzir os efeitos da matriz, trabalhando em soluções muito diluídas. Além disso, os métodos propostos são mais baratos do que a análise cromatográfica comumente utilizada e que outros métodos instrumentais envolvendo reagentes tóxicos e de custo mais elevado.

Comparado com o método de titulação clássica e VPD conseguiu-se um bom ajuste, intervalos de confiança e limites de detecção confirmando a aplicabilidade da técnica eletroanalítica para o monitoramento da degradação de ácido oxálico.

Atualmente, os nossos resultados demonstraram o potencial destas técnicas eletroanalíticas para futuras aplicações em sensores ambientais, químicos e biológicos.

REFERÊNCIAS

ALBALAT, R.; GÓMEZ, E.; SARRET, M.; VALLÉS, E. Influence of the Adsorption on the Oxidation of Oxalic Acid on a Gold Electrode in Acid Media. **Monatsh Chemie Chem Monthly Monatshefte für Chemie**, v.120, n, 8-9, p.651-659, 1989. Disponível em: < <http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00809955> >. Acesso em: 3 janeiro 2010.

BRILLAS, E.; MARTÍNEZ-HUITLE, C. A. Synthetic Diamond Films Preparation, Electrochemistry, Characterization and Applications, First Edition - 658 Pages, John Wiley & Sons, (eds.) 2011.

CHEN, G. Electrochemical technologies in wastewater treatment. **Separation and Purification Technology**, v. 38, p. 11–41, 2004. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412011002108#bib1001> >. Acesso em: 12 agosto 2010.

COMNINELLIS, Ch, GUOHUA, C. (Eds.) (2009) Electrochemistry for the Environment; Springer: Berlin.

ELGSTOEN. K. B. P. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for routine measurement of oxalic acid in human plasma. **Journal of Chromatography B**. v. 873, p. 31–36, (2008). Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570023208005163>>. Acesso em: 12 set. 2011.

FERREIRA, M.; Pinto, M. F.; SOARES, O.S.G.P.; PEREIRA, M.F.R.; ÓRFÃO, J.J.M.; FIGUEIREDO, J.L.; Neves, I.C.; FONSECA, A.M.; Parpot, P. The electrochemical mineralization of oxalic and oxamic acids using modified electrodes based on carbon nanotubes. **Chemical Engineering Journal**, v. 228, p. 374–380, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138589471300613X>. Acesso em: 22 julho 2013.

FERRO, S.; MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; De BATTISTI, A. Electrooxidation of oxalic acid at different electrode materials. **Journal Applied Electrochemical**, v.40, n.10, p.1779-1787, 2010. Disponível em: < <http://link.springer.com/article/10.1007%2F978-94-007-0113-y> >. Acesso em: 18 maio 2012.

GINER, J. Die anodische oxydation von oxalsäure an platin-I. Passivierungseffekte an elektroden aus glattem platin. **Electrochimica Acta**, v.4, n.1, p.42-54, 1961. Disponível em: < <http://www.scopus.com/record/display> >. Acesso em: 17 maio 2011.

GODOY. G, STEADMAN. J. R, DICKMAN. M. B, DAN. R. Use of mutants to demonstrate the role of oxalic acid in pathogenicity of Sclerotinia sclerotiorum on Phaseolus vulgaris. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 37, p. 179-191, 1990. Disponível em: Acesso em: 22 ago. 2011.

GUINEA E, CENTELLAS F, GARRIDO JA, RODRÍGUEZ RM, ARIAS C, CABOT PL, BRILLAS E. Solar photoassisted anodic oxidation of carboxylic acids in presence of Fe³⁺

using a boron-doped diamond electrode. **Applied Catalysis B: Environmental**, v.89, n. 3-4, 2009, p. 459-468. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926337309000071> >. Acesso em: 22 maio 2012.

LAKER, M. F.; HOFMANN, A. F.; MEEUSE, B. J. D. Spectrophotometric Determination of Urinary Oxalate with Oxalate Oxidase Prepared from Moss. **Clinical Chemistry**. v. 26, p. 827-830, 1980. Disponível em: < <http://www.clinchem.org/content/26/7/827.short> >. Acesso em: 24 out. 2010.

LEE, H-J.; SEO, Y-J.; LEE, J-W. Characterization of oxalic acid pretreatment on lignocellulosic biomass using oxalic acid recovered by electrodialysis. **Bioresource Technology**, v.133, 87–91, 2013. Disponível em: < <http://DOI:10.1016/j.biortech.2013.01.051> > Acesso em: 24 junho 2013.

LIU, Y.; HUANG, J.; WANG, D.; HOU, H.; YOU, T. Electrochemical determination of oxalic acid using palladium nanoparticle-loaded carbon nanofiber modified electrode. **Analytical Methods**, v.7, p. 855-859, (2010). Disponível em: < <http://pubs.rsc.org> >. Acesso em: 27 out. 2011.

MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; BRILLAS, E. Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods: A general review. **Applied Catalysis B: Environmental**. v. 87, n. 3–4, p. 105–145, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926337308003718> >. Acesso em: 4 junho 2011.

MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; ANDRADE, L.S. Electrocatalysis in Wastewater Treatment: Rerecent Mechanism Advances. **Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 850-858, 2011. Disponível em: < <http://quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2011/vol34n5/20-RV10732.pdf> >. Acesso em: 1 maio 2012.

MARTINEZ-HUITLE, C. A.; FERRO, S.; DE BATTISTI, A. **Electrochimica Acta**, v. 49, n. 22-23, p.4027-4034, 2004a. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468604004554> >. Acesso em: 4 julho 2011.

MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; FERRO, S.; REYNA, S.; CERRO-LÓPEZ, M.; De BATTISTI, A.; QUIROZ, M.A. Electrochemical oxidation of oxalic acid in the presence of halides at boron doped diamond electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n 1, 2008, p. 150-156, 2008.

MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; FERRO, S.; De BATTISTI, A.. Electrochemical Incineration in the Presence of Halides. **Electrochemical and Solid State Lett**, v.8, n.11, p.35-39, 2005a. Disponível em: < <http://esl.ecsdl.org/content/8/11/D35> >. Acesso em: 22 maio 2012.

MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; ALFARO Q. M. A. Recent Environmental Applications of Diamond Electrode: Critical Review. **Environmental Engineering and Management Journal**, v. 18, n.3, p.155-172, 2008. Disponível em: < <http://ser.cienve.org.tw/index.php/list-of-issues/vol18/111-volume-18-no3-may-2008/243-183-02> >. Acesso em: 20 maio 2011.

MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; QUIROZ, M. A.; COMNINELLIS, Ch.; FERRO, S.; De BATTISTI, A. Electrochemical incineration of chloranilic acid using Ti/IrO₂, Pb/PbO₂ and Si/DDB electrodes. **Electrochemical Acta**, v.50, p. 949-956, 2004b. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468604008461>>. Acesso em: 6 maio 2012.

MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; FERRO, S.; De BATTISTI, A. Electrochemical incineration of oxalic acid: Reactivity and engineering parameters. **Journal Applied Electrochemistry**, v.11, p. 1087-1093, 2005b. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10800-005-9003-0>> Acesso em: 5 maio 2012.

MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; FERRO, S. Electrochemical oxidation of organic pollutants for the wastewater treatment: Direct and indirect processes. **Chemical Society Reviews**, v. 35, n. 12, p. 1324-1340, 2006. Disponível em: 12:1324-1340. <<http://www.scopus.com/record/display.url?eid=2-s2.0-33846317845&origin=inward&txGid=2DE72773090554832F3BB044E2B51EF.CnvicAmO ODVwpVrjSeqQ%3a21>>. Acesso em: 12 jun. 2012.

MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; SANTOS, E. V.; ARAÚJO, D. M.; PANIZZA, M. Applicability of diamond electrode/anode to the electrochemical treatment of a real textile effluent. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 103, p. 103-107 674, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572665712000550>> Acesso em: 20 maio 2012.

MOOREA, D. E.; LIU, T. X.; MIAO, W. G.; EDWARDS, A.; ELLISS, R. A RP-LC method with evaporative light scattering detection for the assay of simethicone in pharmaceutical formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.30, p. 273 – 278, 2002. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID>. Acesso em: 24 de out. 2012.

MOROZOVA, N. B.; SHCHEBLYKINA, G. E.; VVEDENSKII, A. V. Anodic oxidation of oxalic acid on gold and palladium. **Russian Journal of Electrochemistry**, v.35, n.3, p.310-319, 1999. Disponível em: <<http://www.scopus.com/record/display.url?eid=2-s2.0-22644452075&origin>>. Acesso em: 2 julho 2010.

NAVA, J. L.; QUIROZ, M. A.; MARTINEZ-HUITLE, C. A. Electrochemical Treatment of Synthetic Wastewaters Containing Alphazurine A Dye: Role of Electrode Material in the Colour and COD Removal. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 52, n. 4, p. 249-255, 2008. Disponível em: <<http://www.scopus.com/record/display.url?eid=2-s2.0-77953841152>>. Acesso em: 8 maio 2012.

OLIVEIRA, G. R. Conciliação entre Modelos de Mecanismos Avançados de Oxidação Eletroquímica. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Mestre em Química. p. 67. 2012.

PANIZZA, M.; CERISOLA, G. Electrochemical oxidation of aromatic sulphonated acids on a boron-doped diamond electrode. *International Journal of Environment and Pollution*, v. 27, n. 1-3, p. 64-74, 2006.

Disponível em: < <http://www.scopus.com/record/display.url?eid=2-s2.0-33747633968> >.

Acesso em: 2 maio 2012.

PANIZZA, M, CERISOLA, G . Electrocatalytic materials for the electrochemical oxidation of synthetic dyes. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 75, n.1-2, p. 95–101, 2007.

Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926337307001038> >.

Acesso em: 6 maio 2012.

PANIZZA M.; CERISOLA, G. Direct and Anodic Oxidation of Organic Pollutants.

Chemical Reviews, v. 109, p. 6541-6569, 2009. Disponível em: <

<http://www.scopus.com/record/display.url?eid=2-s2.0-75849118346&origin=inward&txGid=2DE727730905554832F3BB044E2B51EF.CnvicAmO ODVwpVrjSeqQ%3a1> >. Acesso em: 20 maio 2011.

ROCHA, J. H. B. Tecnologia eletroquímica como tratamento alternativo de efluentes têxteis sintéticos utilizando ânodos de platina e diamante. Dissertação submetida à Universidade Federal do Rio Grande do Norte como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Química. Programa de Pós-Graduação em Química. 89 p. 2011.

SCIALDONE, O.; GUARISCO, C.; GALIA, A.; FILARDO, G.; SILVESTRI, G.; AMATORE, C.; SELLA, C.; THOUIN, L. Anodic abatement of organic pollutants in water in micro reactors. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 638, p. 293-296, 2010.

Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jelechem.2009.10.031> >. Acesso em: 18 maio 2012.

SCIALDONE, O. Electrochemical oxidation of organic pollutants in water at metal oxide electrodes: A simple theoretical model including direct and indirect oxidation processes at the anodic surface. **Electrochimica Acta**, v.54, n.26, p. 6140-6147, 2009. Disponível em: <

http://journals.ohiolink.edu/ejc/article.cgi?issn=00134686&issue=v54i0026&article=6140_eo oopiopatas >. Acesso em: 4 maio 2012.

SCIALDONE, O.; GUARISCO, C.; GALIA, A. Oxidation of organics in water in microfluidic electrochemical reactors: Theoretical model and experiments. **Electrochimica Acta**, v.58, p. 463–473, 2011a. Disponível

em:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468611014757>> Acesso em: 4 maio 2012.

SCIALDONE, O.; GALIA, A.; RANDAZZO, S. Oxidation of carboxylic acids in water at IrO₂-Ta₂O₅ and boron doped diamond anodes. **Chemical Engineering Journal**, v. 174, n. 1, , p. 266-274, 2011b. Disponível em: <

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894711010746> > Acesso em: 4 maio 2012

SCIALDONE, O.; GALIA, A.; GUARISCO, C.; RANDAZZO, S.; FILARDO, G.

Electrochemical incineration of oxalic acid at boron doped diamond anodes: Role of operative parameters. **Electrochimica Acta**, v. 53, p. 2095-2108, 2008.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468607011048> >
Acesso em: 4 maio 2012.

YANG, L.; LIU, L.; OLSEN, B. A.; NUSSBAUM, M. A. The determination of oxalic acid, oxamic acid, and oxamide in a drug substance by ion-exclusion chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 22, p. 487 – 493, 2000.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/journal/07317085/22/3> >. Acesso em: 24 de out. 2012.

ZHENG, Y.; YANG, C.; PU, W.; ZHANG, J. Determination of oxalic acid in spinach with carbon nanotubes-modified electrode. **Food Chemistry**, v. 114, p.1523-1528, 2009.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608013630> >. Acesso em: 10 de out. 2011.

Jayashree Arcot; Ashok K. Shrestha; Uta Gusanov. Enzyme protein binding assay for determining folic acid in fortified cereal foods and stability of folic acid under different extraction conditions. **Food Control**, v. 13, p. 245-252, 2002.