

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP

INSTITUTO DE QUÍMICA - IQ



UNICAMP

**DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR
POTENCIOMÉTRICO PARA IBUPROFENO**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Comissão de Pós-Graduação do Instituto de
Química como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Mestre em Química.

Aluno: Paulo José Fernandes Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota

Co-orientador: Prof. Dr. Graciliano de Oliveira Neto

Campinas - SP

Julho/2006

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE
QUÍMICA DA UNICAMP**

R354d Ribeiro, Paulo José Fernandes.
Desenvolvimento de um sensor potenciométrico
para ibuprofeno / Paulo José Fernandes Ribeiro. --
Campinas, SP: [s.n] , 2006.

Orientador: Lauro Tatsuo Kubota.

Co-orientador: Graciliano de Oliveira Neto.

Dissertação - Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Química.

1. Eletrodo. 2. Íon-seletivo. 3. Ibuprofeno. I.
Kubota, Lauro Tatsuo. II. Oliveira Neto, Graciliano
de. III. Universidade Estadual de
Campinas. Instituto de Química. IV. Título.

Título em inglês: Development of a potentiometric sensor for ibuprofen

Palavras-chaves em inglês: Electrode, Íon-selective, Ibuprofen

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Mestre em Química na Área de Química Analítica

Banca examinadora: Lauro Tatsuo Kubota (orientador), Graciliano de Oliveira Neto (co-orientador), Jarbas José Rodrigues Rohwedder e Márcia Guekezian

Data de defesa: 14/07/2006

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota (Orientador)

Prof. Dr. Jarbas José Rodrigues Rohwedder (IQ-UNICAMP)

Prf. Dra. Márcia Guekezian (Mackenzie)

Este exemplar corresponde à redação final da
Dissertação de Mestrado defendida pelo
aluno **PAULO JOSÉ FERNANDES RIBEIRO**,
aprovada pela Comissão Julgadora em 14 de
julho de 2006.

Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota
(Presidente da Banca)

Dedico esse trabalho

aos meus pais, pelo apoio e dedicação, mesmo com toda a distância. Que esse trabalho mostre que pude superar todas as dificuldades que encontrei desde a graduação, como eles me ensinaram a lutar a cada dia. Obrigado.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Lauro Kubota, pela compreensão e paciência durante todo o tempo em que trabalhei nessa dissertação.

À Karin e Pilar por todo apoio, motivação, correções, broncas e tudo que me ajudou a chegar até o final.

Ao Pro. Jairo Pedrotti por acreditar e me incentivar desde antes de terminar minha graduação.

Ao Instituto de Química pela oportunidade de fazer minha pós-graduação, mesmo trabalhando e tendo pouco tempo para tal.

Ao José Roberto P. de Castro por acreditar em mim e dar o apoio nos momentos em que mais precisei.

Aos funcionários da CPG, em especial a Bel, por compreenderem a minha falta de tempo e me auxiliarem sempre que possível.

Aos meus amigos do IQ: Karin, Percy, Pilar, José Luís, Virgulino, Rafaela, Flávio, Rita, Renata, Alaécio, Altair, Larissa, Bárbara, Alexandre e Maurício.

Aos meus amigos Paulo, Tavinho, Mariana, Pri, Matheus, Juliana, Natália, Liliana, por todo apoio durante todo esse tempo em que estive no Instituto.

À minha família que mesmo de longe sempre me apoiou e me incentivou todo esse tempo.

Muito obrigado a todos!

CURRÍCULO

Paulo José Fernandes Ribeiro

FORMAÇÃO ACADÊMICA E CURSOS COMPLEMENTARES

UNICAMP

Pós-Graduação: Mestrado em Química - 2006

Universidade Mackenzie

Bacharel em Química com atribuições tecnológicas - 2001

Auditor Líder do Sistema da Qualidade – ISO 9000:2000

ATSG – 2002 – 40 horas

QUALIFICAÇÃO PROFISSIONAL

Mais de 9 anos de carreira em empresas químicas, de pequeno e médio porte, nos mais diversos ramos, nacionais e multinacionais, trabalhando desde o controle de qualidade de matérias-primas e produto acabado até a supervisão de laboratório de pesquisa e desenvolvimento de fertilizantes e defensivos.

Vivência em implantação, elaboração de documentos e registros, planejamento e realização de auditorias internas (Sistema da Qualidade ISO 9001:2000).

Pesquisa de novos produtos e melhoria dos produtos de linha, através do desenvolvimento de novas formulações, realização testes, acompanhamento das amostras e produção em escala piloto.

Coordenação de equipes de trabalho, através de treinamentos e reuniões, supervisão e atribuição de atividades.

Registro de fertilizantes junto ao Ministério da Agricultura.

Participação nas reuniões do grupo de trabalho do Comitê Brasileiro de Química (ABNT/CB-10).

Elaboração e implantação do Programa 5S.

HISTÓRICO PROFISSIONAL

Stoller do Brasil Ltda – Set/2001 - atual

Ramo: Agroquímica (Fertilizantes Foliares e Defensivos)

Cargo: Químico (Pesquisa e Desenvolvimento)

Fundação Faculdade de Medicina – Hospital das Clínicas - USP

Ramo: Farmacêutico (Produção de medicamentos)

Cargo: Técnico-Químico (Controle de Qualidade)

KG Sorensen

Ramo: Galvanoplastia (Equipamentos odontológicos)

Cargo: Estagiário/ Auxiliar de Laboratório (Controle de Qualidade)

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Resumo do trabalho científico apresentado em congresso

Desenvolvimento de um eletrodo íon-seletivo para ibuprofeno,
RIBEIRO, P. J. F., Torres, K. Y. C., Oliveira, G. O., Kubota, L. T., XII
Encontro Nacional de Química Analítica, 2003, São Luis. Anais do
congresso, 2003.

RESUMO

Desenvolvimento de um sensor potenciométrico para ibuprofeno

Nesse trabalho é apresentado o desenvolvimento de um eletrodo íon-seletivo para determinação de ibuprofeno, utilizando-se membrana do copolímero poli(etileno co-acetato de vinila) (EVA), tentando minimizar o uso de plastificantes.

A membrana foi preparada diretamente sobre um suporte condutor constituído de uma mistura de resina epóxi, endurecedor e grafite. Na preparação da membrana foram estudadas diversas proporções de seus componentes, como concentração de par-iônico, influência do plastificante e quantidades de matriz polimérica. As melhores respostas foram obtidas com uma membrana composta de 115 mg do par-iônico aliquat-ibuprofeno, 170 mg de EVA e 150 mg do plastificante *o*-NPOE (orto-nitrofeniloctil-éter), não sendo possível eliminar o plastificante.

Com o objetivo de otimizar as condições analíticas, foram feitos estudos da influência do pH, da natureza e concentração do tampão e de interferentes, além do tempo de reposta e de vida do eletrodo. As melhores respostas em estado estacionário foram obtidas em tampão Fosfato com concentração de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 7.0. Nestas condições foi verificado um bom desempenho do eletrodo na faixa de concentração de $2,93 \cdot 10^{-3}$ a $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $8,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, sensibilidade de $127 \text{ mV década}^{-1}$, tempo médio de resposta de 56 s e capacidade para aproximadamente 100 determinações.

O eletrodo foi aplicado para determinação de ibuprofeno em amostras de medicamento obtendo bons resultados, sendo estes estatisticamente igual aos obtidos com o método de referência a um nível de 95% de confiança.

ABSTRACT

Development of a potentiometric sensor for ibuprofen

In this work is presented the development of an ion-selective electrode for ibuprofen determination, using the poly(ethylene-co-vinyl-acetate) copolymer (EVA) membrane, trying to minimize the use of plasticizer.

The membrane was prepared directly on a conducting support consisting of an epóxi resin, hardener and graphite mixture. In the preparation of the membrane several ratios of its components were investigated, such as concentration of ion-pair, influence of the plasticizer and polymeric matrix. The best performance was reached with a membrane composed with 115 mg of the ibuprofen-aliquat ion-pair, 170 mg of EVA and 150 mg of the o-NPOE (orto-nitrophenyloctyl-ether), being impossible to eliminate the plasticizer.

Studies of the influence of pH, nature and concentration of the buffer and the interfering were carried out looking for the optimized conditions for the electrode performance like sensitivity, fast response and lifetime. The best response was obtained with Phosphate buffer in a concentration of $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ at pH 7.0. In these conditions the electrode showed a good performance in the concentration range between $2,93 \cdot 10^{-3}$ and $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, with a sensitivity of 127 mV/decade, a detection limit of $8,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, response time of 56 s and capacity for 100 determinations.

The electrode was employed to determine ibuprofen in medicine samples obtaining good results, being statistically equal at 95% confidence level, when compared with the results obtained with the reference method for the same samples.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE TABELAS	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Potenciometria	1
1.2. Histórico	2
1.3. Os eletrodos de referência	5
1.4. Os eletrodos indicadores	6
1.5. Eletrodos íons seletivos	6
1.5.1. Membrana	7
1.5.1.1. Íons Lipofílicos	7
1.5.1.2. Par-iônico	8
1.5.1.3. Plastificantes	9
1.5.1.4. Matriz polimérica	10
1.6. Características operacionais dos EIS	11
1.7. As técnicas potenciométricas	13
2. NOVAS DROGAS ANTIINFLAMATÓRIAS	15
2.1. Ibuprofeno	16
2.2. Métodos para determinação de ibuprofeno	17
3. OBJETIVO	18
4. EXPERIMENTAL	19
4.1. Reagentes	19
4.2. Aparelhagem	19
4.3. Preparação do eletrodo	19
4.3.1. Esquema do eletrodo	19
4.3.2. Suporte condutor	21
4.3.3. Preparação da Membrana	22
4.4. Estudos realizados em estado estacionário	23
4.4.1. Efeito do plastificante	23
4.4.2. Estudo da influência do pH	24

4.4.3. Estudo da influência do meio e da concentração do tampão	24
4.4.4. Estudo da seletividade analítica	24
4.5. Análises de ibuprofeno em amostras comerciais	24
4.6. Determinação de ibuprofeno em amostra de granulado solúvel	25
4.7. Determinação de ibuprofeno na amostra em gotas	25
4.8. Método de recuperação do padrão	25
4.9. Análise Titulométrica	26
5. RESULTADOS	27
5.1. Membrana	27
5.2. Influência do pH	28
5.3. Influência da natureza do tampão	29
5.4. Efeito da concentração do tampão	30
5.5. Estudo dos interferentes	31
5.6. Tempo de resposta do eletrodo	33
5.7. Tempo de vida do eletrodo	33
5.8. Curva de calibração nas condições otimizadas	34
5.9. Aplicação em amostras	36
6. CONCLUSÕES	38
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Cronologia do desenvolvimento da potenciometria e dos eletrodos íon-seletivos	5
Figura 2: Esquema da reação de troca iônica que ocorre na interface entre as fases aquosa e orgânica durante a extração do íon, onde X^- é o ânion monovalente, Q^+ é o reagente de troca-iônica e C^- , o contra-íon.	9
Figura 3: Curva analítica com a indicação do Limite Nernstiano (LN) e do Limite de Detecção (LD)	11
Figura 4: Ibuprofeno ácido e sal de sódio	16
Figura 5: Esquema mostrando todos os detalhes do eletrodo e da ponteira	20
Figura 6: Detalhes da montagem do eletrodo utilizado	20
Figura 7: Esquema mostrando a ponteira com o suporte condutor e o guia.	21
Figura 8: Suporte condutor antes e após a retirada do excesso do material condutor.	21
Figura 9. Diagrama do procedimento seguido na preparação da membrana para aplicação no suporte condutor.	22
Figura 10: Preparação da membrana sobre o suporte condutor.	23
Figura 11: Foto que ilustra o equipamento utilizado após a preparação do eletrodo: ponteiras, potenciômetro, eletrodo íon-seletivo e eletrodo de referência de Ag/AgCl.	26

- Figura 12: Curva analítica, em água, para a membrana com quantidades otimizadas de seus componentes 28
- Figura 13: Diagrama de Reilley para o eletrodo íon-seletivo para ibuprofeno: variações na sensibilidade do eletrodo na faixa de valores de pH entre 6 e 9. 29
- Figura 14: Efeito do tampão na resposta do eletrodo, numa concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. 30
- Figura 15: Efeito da concentração do tampão na resposta do eletrodo íon-seletivo para ibuprofeno em diferentes concentrações de tampão Fosfato. 32
- Figura 16: Resultados obtidos no estudo de tempo de vida útil do eletrodo através de sucessivas determinações utilizando solução de ibuprofeno $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol. L}^{-1}$, pH = 7,0 e eletrodo de Ag/AgCl como referência. 34
- Figura 17: Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para ibuprofeno, em tampão Fosfato $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH = 7,0. L.D. = limite de detecção. 35
- Figura 18: Curva analítica obtida empregando-se solução de ibuprofeno na concentração de $2,9 \cdot 10^{-3}$ a $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, pH = 7,0 36

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Variação dos componentes da membrana, a fim de se obter uma melhor inclinação.	27
Tabela 2: Efeito da concentração do tampão na resposta do eletrodo.	31
Tabela 3: Coeficientes de seletividade potenciométrico, $K_{A,B}$, determinado de acordo com o método dos potenciais equivalentes.	32
Tabela 4: Verificação do tempo de resposta do eletrodo.	33
Tabela 5: Resposta característica do eletrodo nas condições otimizadas.	35
Tabela 6: Resultados obtidos através do tratamento estatístico na determinação de ibuprofeno em medicamentos.	36
Tabela 7: Valores experimentais obtidos no teste de adição de ibuprofeno com um medicamento (Alivium [®]).	37
Tabela 8: Comparação das características dos sensores desenvolvidos para determinação de ibuprofeno e outros fármacos.	39
Tabela 9: Composição das membranas utilizadas nos eletrodos citados na Tabela 8.	40

1. INTRODUÇÃO

1.1. Potenciometria

A potenciometria é uma das técnicas eletroanalíticas mais conhecidas, empregada inicialmente para medidas do valor do pH¹. Fundamenta-se na medida do potencial de célula eletroquímica, ou seja, na diferença de potencial entre dois eletrodos (o eletrodo indicador e o de referência) em uma célula eletroquímica, em condições de corrente desprezível, com o principal objetivo de obter informação sobre a composição química da solução¹. A inerente simplicidade da aparelhagem torna-a particularmente indicada para processos de controle analítico, como alternativa às outras metodologias convencionais, morosas e dispendiosas².

A potenciometria é o único método de detecção em química analítica, no qual o sinal analítico é função da atividade de uma espécie, determinada de acordo com a equação de Nernst, na ausência de processos paralelos, como efeitos redox envolvendo o analito³. A determinação da concentração de espécies iônicas em amostras aquosas é importante em muitas áreas de aplicação da química analítica, por exemplo, no controle de processos, em análises clínicas e em amostras ambientais. Os sensores potenciométricos, de modo geral, oferecem diversas vantagens, como tempos de resposta pequenos, robustez, seletividade e sensibilidade, tornando-os uma importante metodologia que pode ser aplicada diretamente a controle de processos⁴, ensaios clínicos e industriais⁵.

O emprego de eletrodos seletivos em análises de produtos farmacêuticos tornou possível a medida da atividade de vários íons orgânicos, em muitos casos sem separação prévia do analito na amostra, sendo necessário apenas uma etapa de pré-diluição ou dissolução de amostras sólidas no solvente apropriado, seguida do ajuste de do valor do pH e força iônica⁶.

Para a determinação das substâncias ativas em antiinflamatórios não-esteroidal, eletrodos seletivos para salicilato, derivados heterocíclicos do ácido propiônico (e.x., ibuprofeno, flurbiprofeno e naproxeno), derivados heterocíclicos do ácido acético (e.x., indometacina e diclofenaco), assim como os derivados da sulfonamida, como o piroxicam, foram preparados⁷.

Pares-iônicos de ânions com cátions lipofílicos, normalmente sais de amônio quartenário, quelatos metálicos ou compostos de fósforo quartenário, foram substâncias potenciais na preparação dos eletrodos acima mencionados. O tricaprilmetilamônio foi o cátion mais utilizado (eletrodos para salicilato, ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco e piroxicam). Outros contra-íons incluem: tetraeptilamônio (eletrodo líquido para naproxeno), ferroína (eletrodo para ibuprofeno) e o bis(trifenilfosfoanilina) de amônio (eletrodo para indometacina)⁶.

A linearidade da curva analítica é relativamente grande, geralmente com várias ordens de grandeza. Limites de detecção de 10^{-6} a 10^{-7} mol.L⁻¹ são relatados para alguns sensores sensíveis a drogas. Com prévia pré-concentração da amostra, os limites de detecção de técnicas potenciométricas, usando sensores de membrana, podem se igualar, ou até superar os de algumas técnicas sofisticadas, como radioimunodeterminação, cromatografia a gás/líquida, cromatografia líquida de alta performance e espectrometria de massa por ionização química⁸.

A literatura relata as vantagens da utilização dos Eletrodos Íon-Seletivos (EIS) na determinação da uniformidade do teor de comprimidos e em estudos de dissolução de formas sólidas, devido à sensibilidade, seletividade, ampla faixa de concentração e insensibilidade às interferências óticas, permitindo determinação de substâncias em soluções coloridas e turvas, bem como a flexibilidade na construção de sensores em fluxo para analisadores automáticos⁶.

1.2. Histórico

Apesar da potenciometria ter surgido no fim do século XIX, como ilustrado na **Figura 1**, a era de ouro dos EIS ocorreu a partir de 1957, com os trabalhos teóricos de Eisenman e Nikolski. A primeira grande revolução na construção dos EIS pode ser atribuída a Ross, propondo um novo conceito de eletrodo para cálcio, o de membrana líquida, e, mais tarde, o eletrodo de fluoreto de cálcio à base de cristal de LaF₃⁵.

A segunda grande revolução ocorreu em 1970, no País de Gales, com Moody, Oke e Thomas, que utilizaram pela primeira vez, eletrodos de membrana líquida a base de Cloreto de Polivinila (PVC). A introdução do PVC como material

de membrana simplificou a construção dos EIS. A importância destes trabalhos é demonstrada pelo fato de que o eletrodo íon seletivo para potássio (EIS-K), baseado em valinomicina e matriz de PVC, é atualmente utilizado em quase todos os analisadores clínicos comercializados. Dentro deste contexto, o desenvolvimento dos EIS-Enzimáticos, causou a terceira grande revolução nos EIS, permitindo que os sensores potenciométricos pudessem ser utilizados em medida de substâncias biológicas não iônicas⁵.

A terceira revolução dos EIS ocorreu com o desenvolvimento do transistor de efeito de campo sensível a íon (TECSI ou ISFET). A importância dos ISFET pode ser atribuída à sua capacidade de miniaturização e a possibilidade de usar os processos da microeletrônica na sua microfabricação⁵.

Durante quase um século, desde o aparecimento do eletrodo de vidro, surgiram muitas controvérsias para explicar o mecanismo de funcionamento dos EIS. Inicialmente, o mecanismo mais difundido era aquele baseado no potencial de Donnan, onde uma distribuição desigual de íons entre duas fases separadas por uma membrana semi-permeável ocorria quando os íons eram capazes de permear a membrana, provocando assim, um equilíbrio eletroquímico e conseqüentemente, um potencial elétrico era estabelecido entre os dois lados da membrana.

Apesar desta explicação ser satisfatória para o fenômeno observado por Donnan, o conceito de penetração através da membrana de vidro por íons hidrogênio foi definitivamente descartado por Haugaard, através de análises químicas e por Schwabe e Dahms⁹ com experimentos utilizando trítio, nos quais nenhum fenômeno de difusão através da membrana de vidro foi observado.

Contudo, o mecanismo mais aceito foi o baseado na teoria de troca iônica entre os íons Na^+ , na camada de gel da membrana de vidro, com os íons H^+ na solução. Porém, este conceito não foi suportado pelos resultados experimentais, pois se o fenômeno de troca iônica ocorresse, não poderia causar mudança nas cargas interfaciais, e conseqüentemente uma diferença de potencial não poderia ser desenvolvida. Por outro lado, os íons sódio na camada gel da membrana deveriam se esgotar depois de um longo tempo de uso do eletrodo de vidro,

resultando, assim, no colapso do sensor. Portanto esta teoria também não teve muito êxito, dando lugar a outras teorias. Posteriormente, Cheng sugeriu que o potencial se desenvolvia somente na superfície do eletrodo. O conceito da dupla-camada elétrica e duplo capacitor, com ênfase na interface eletrodo-solução, tem sido a proposta mais recente para explicar o desenvolvimento do potencial elétrico nos EIS. Assim, os princípios básicos de funcionamento de um EIS estão diretamente associados com o que ocorre na interface eletrodo-solução⁵.

Atualmente é possível construir EIS para um número de analitos com baixos limites de detecção, em torno de partes por trilhão (10^{-10} M). Monitoramento preciso de metais pesados em amostras ambientais não pontuais tem sido comparado à métodos analíticos de rotina. Esses eletrodos competem com os mais sofisticados métodos de análises de traços. Paralelo a esse desenvolvimento, uma compreensão teórica dos mecanismos básicos foi alcançado, o que possibilita otimizar eficientemente os eletrodos. Pesquisas recentes descrevem o desenvolvimento de eletrodos sem solução interna para eliminar maior fonte de fluxo de íons através da membrana. Isso promete, eventualmente, eliminar completamente o fluxo de íons no estado sólido porque somente duas fases seriam envolvidas⁴.

Além disso, o uso dos EIS em análises clínicas *in situ*, utilizando-se microeletrodos e conjunto destes, é muito promissor. Vantagens como confiabilidade, robustez, seletividade e sensibilidade, faz dos eletrodos íon-seletivos uma importante metodologia que pode ser aplicada diretamente a ensaios clínicos e industriais⁵.

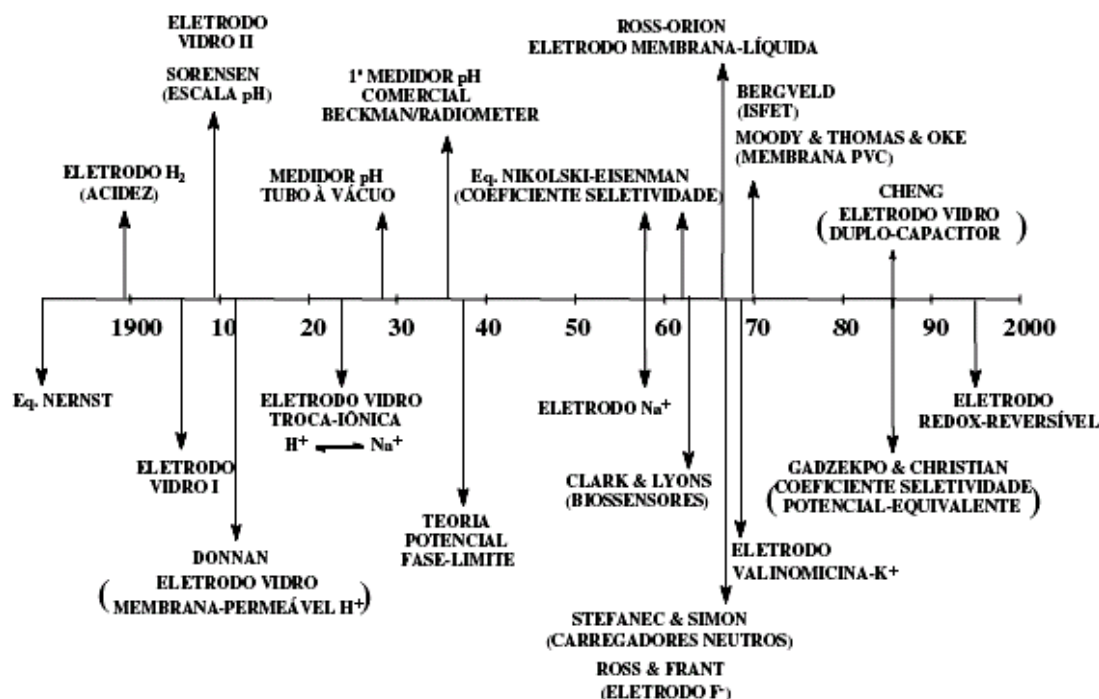


Figura 1: Cronologia do desenvolvimento da potenciometria e dos eletrodos íon-seletivos

1.3. Os eletrodos de referência

A medida potenciométrica sempre é feita com dois eletrodos, sendo que um deles, deve manter um potencial constante e estável em função do tempo, independente das propriedades da solução no qual está imerso. Este eletrodo é denominado de referência, o qual será sempre o fator de comparação de eletrodo indicador. Os dois eletrodos mais utilizados como referência são o de calomelano saturado e o de Ag/AgCl. Na construção do eletrodo de calomelano é adicionada uma quantidade de cloreto mercurioso e no de Ag/AgCl, cloreto de prata, para manter o eletrólito saturado, aumentando assim o tempo de vida desses eletrodos. O eletrodo de Ag/AgCl apresenta algumas vantagens em relação ao de calomelano, como baixa histerese e pequeno coeficiente de temperatura. O eletrodo de calomelano saturado, bem como o de Ag/AgCl, responde à atividade do íon cloreto. Assim, quando esses eletrodos são utilizados em medidas em que o íon cloreto do eletrólito pode interferir, uma ponte salina com uma solução que não apresente problemas de interferência pode ser usada ou um eletrodo de dupla

junção. Entretanto deve-se tomar cuidado para que o potencial de junção não seja crítico para as medidas, de modo que esse potencial de difusão deva ser mantido o menor possível e constante¹⁰.

1.4. Os eletrodos indicadores

O eletrodo indicador geralmente interage com uma dada espécie, desenvolvendo um potencial de interface, que reflete a sua atividade (concentração). Na potenciometria é desejável que o eletrodo indicador responda de maneira seletiva a uma determinada espécie e que os outros compostos não interfiram na medida. Estes eletrodos são normalmente chamados de íon-seletivos. Na atualidade os mais diversos tipos de eletrodos podem ser encontrados para uma grande variedade de espécies, mas existem alguns que se destacam pelo seu grande emprego como os eletrodos de fluoreto, cálcio, potássio, de platina e de vidro. Os eletrodos indicadores são classificados em dois grupos: os eletrodos metálicos, que podem ser de 1ª. classe, 2ª. classe ou inertes para sistemas redox, e os de membrana.

O potencial do eletrodo indicador é dependente da atividade ou concentração efetiva do íon de interesse. A relação matemática entre a atividade do íon na solução e o potencial desenvolvido no EIS é definida pela equação de Nernst¹⁰.

1.5. Eletrodos íons seletivos

Os eletrodos íons seletivos são sensores eletroquímicos que monitoram atividades iônicas em solução. Isto é, um EIS converte a atividade iônica de uma espécie em solução em um sinal de potencial elétrico, o qual pode ser medido com um potenciômetro, onde a diferença de potencial, em relação a um eletrodo de referência, é dependente do logaritmo da atividade iônica segundo a equação de Nernst:

$$E = E^{\circ} - \frac{RT}{zF} \ln a_I \quad (1)$$

sendo R , F e T a constante universal dos gases, constante de Faraday e a temperatura absoluta em graus Kelvin, respectivamente, e a_i a atividade da espécie iônica.

A parte sensível e mais importante de um EIS é a membrana íon-seletiva. Essa é a componente chave, pois estabelece a preferência do sensor pelo analito de interesse na presença de vários outros íons, que são chamados de interferentes¹⁰.

A resposta do eletrodo é tida como nernstiana, quando a constante $2,303 RT/zF$, para $z=1$, for igual a 59,1 mV a 25°C, mas valores entre 55,0 e 60,0 mV são considerados nernstianos dependendo das condições da análise. Os termos subnernstiano e supernernstiano são utilizados quando o valor desta constante estiver abaixo de 55,0 mV ou acima de 60,0 mV, respectivamente¹².

1.5.1. Membrana

A membrana íon-seletiva é a parte mais importante no desenvolvimento dos EIS. Este trabalho descreve uma membrana potenciométrica sensível à ibuprofeno, baseado no uso do par-iônico entre Aliquat 336-ibuprofeno como material eletro-ativo disperso em EVA, utilizando *o*-NPOE como plastificante.

1.5.1.1. Íons Lipofílicos

EIS de membrana polimérica que não possuem íons lipofílicos não trabalham apropriadamente. Um pré-requisito para um EIS fornecer resposta nernstiana é que nenhuma quantidade de íons, com carga oposta ao íon primário, seja extraída da solução para a membrana. Isto significa que a membrana deve ser permeável somente à íons com a mesma carga que o íon primário. Esta característica da membrana é chamada de permeabilidade seletiva ou também conhecida como exclusão de Donan, e refere-se à repulsão eletrostática de íons carregados com carga diferente ao íon primário. A presença, na membrana, de íons lipofílicos, garante a exclusão de íons com carga oposta ao íon primário¹¹.

Conseqüentemente é bem estabelecido que o uso de íons lipofílicos, tais como os sais de amônio quaternário, para ânions, e os derivados de

tetrafenilborato, para cátions, são necessários na preparação das membranas seletivas¹¹.

Por outro lado, membranas que prescindem do uso de íons lipofílicos, muitas vezes podem apresentar respostas sub-ernstianas com inclinações que muitas vezes alcançam a metade do valor esperado. Entretanto, outros sistemas poderiam mostrar respostas super-ernstianas, que muitas vezes atingem duas vezes a inclinação esperada¹¹.

1.5.1.2. Par-iônico

O modelo do sistema de extração investigado foi o de recuperação de ibuprofeno de um sistema aquoso pelo reagente de troca iônica Aliquat 336 em 1-decanol. A reação entre ibuprofeno e Aliquat 336 foi assumida para ocorrer em uma relação estequiométrica 1:1. A reação ocorre na interface pois o íon trocador estava inicialmente presente na fase orgânica e tem uma baixa solubilidade na fase aquosa. A reação reversível de troca-iônica é descrita como:



onde X^- é o íon ibuprofeno e Q^+ e Cl^- são o cátion e o ânion do Aliquat 336, respectivamente. Na interface o íon ibuprofeno substitui o ânion cloreto associado com a longa cadeia da molécula trocadora iônica. O cloreto é liberado para a fase aquosa e o ibuprofeno é extraído da fase aquosa, como ilustrado na **Figura 2**. O ibuprofeno deve estar na sua forma dissociada para participar da reação, e deste modo finalizada pela alteração do do valor do pH da fase aquosa para um valor acima da constante de dissociação do ibuprofeno.

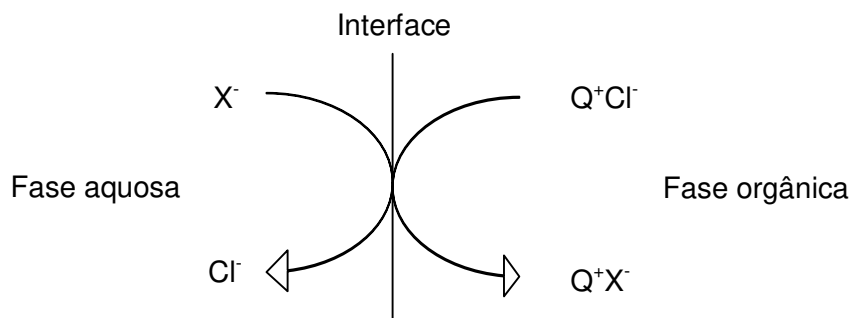


Figura 2: Esquema da reação de troca iônica que ocorre na interface entre as fases aquosa e orgânica durante a extração do íon, onde X^- é o ibuprofeno dissociado, Q^+ é o Aliquat e Cl^- , o contra-íon.

A extensão de cada reação até o equilíbrio pode ser descrita usando-se a Lei de Ação das Massas, em que a constante de equilíbrio para uma reação é descrita como o produto da atividade de cada espécie elevado pelo poder deste número estequiométrico. Para reações na fase líquida a atividade de cada espécie pode ser descrita pela fração molar da espécie, para baixas concentrações a atividade de cada espécie pode ser substituída pela concentração, com o coeficiente de atividade embutido na constante de equilíbrio¹³.

Hano et al mostrou que o Aliquat 336 foi capaz de extrair ânions di e trivalentes, e o número de moléculas de Aliquat 336 necessárias para extrair uma molécula polivalente foi igual à carga iônica do soluto¹³.

Pode-se reverter as extrações pelo contato da fase orgânica carregada com uma nova solução aquosa com excesso de NaCl ou HCl. Isso deslocará a posição de equilíbrio da reação de extração em direção aos reagentes, retornando o soluto para a fase aquosa e regenerando o Aliquat 336 à sua forma original¹³.

1.5.1.3. Plastificantes

A *International Union of Pure and Applied Chemistry* (União Internacional de Química Pura e Aplicada), IUPAC, define os plastificantes como "substâncias incorporadas a plásticos ou elastômeros com a finalidade de aumentar sua flexibilidade, processabilidade ou capacidade de alongamento. Um plastificante pode reduzir a viscosidade do fundido, abaixar sua temperatura de transição de

segunda ordem (temperatura de transição vítrea, ou T_g) ou diminuir seu módulo de elasticidade”¹⁴.

Os plastificantes são importantes porque reduzem a temperatura de transição vítrea do polímero, proporcionam homogeneidade e asseguram uma relativa mobilidade dos íons na membrana. Desta forma, eles devem ser compatíveis com todos os componentes da membrana¹⁵.

Os plastificantes usualmente empregados são o bis(2-etilhexil) sebacato (DOS), que é apolar, e o *o*-nitrofeniloctiléter (*o*-NPOE), que é polar. Dependendo da sua polaridade e lipofilicidade, os plastificantes podem influenciar na seletividade e resposta dos eletrodos íons-seletivos¹⁵.

A T_g é a propriedade do material onde podemos obter a temperatura da passagem do estado vítreo para um estado “maleável”, sem ocorrência de uma mudança estrutural. A parte amorfa do material (parte onde as cadeias moleculares estão desordenadas) é a responsável pela caracterização da Temperatura de Transição Vítrea. Abaixo da T_g , o material não tem energia interna suficiente para permitir deslocamento de uma cadeia com relação a outra por mudanças conformacionais. Portanto, quanto mais cristalino for o material, menor será a representatividade da Transição Vítrea¹⁵.

Um fator externo muito importante que pode modificar a T_g é a presença de líquidos plastificantes, adicionados propositalmente ou absorvidos pelo polímero. Essas moléculas normalmente são pequenas, se alojando entre as cadeias poliméricas, afastando-se uma das outras. Este afastamento reduz as forças de atração intermolecular secundárias, aumentando a mobilidade das cadeias. Isso reduz o nível energético necessário para dar mobilidade a toda cadeia, reduzindo assim a T_g do polímero¹⁵.

1.5.1.4. Matriz polimérica

A matriz polimérica fornece estabilidade mecânica à membrana. Esta deve ser inerte e não apresentar interação química com o analito. EIS de membrana polimérica geralmente empregam o cloreto de polivinila (PVC) como matriz.

Embora PVC foi por muito tempo o polímero mais empregado como suporte de matriz polimérica na preparação dos EIS, ultimamente vêm sendo utilizado diferentes copolímeros, os quais têm melhorado o desempenho e prolongado o tempo de vida dos EIS. Entre eles estão o metilmetacrilato decilmetacrilato (MMA-DMA) e o poli(etileno co-acetato de vinila) (EVA), prescindem do uso de plastificantes e apresentam temperaturas de transição vítrea menor em relação ao PVC¹¹.

1.6. Características operacionais dos EIS

Algumas características definem a qualidade de um EIS, sendo as mais importantes o tipo, a faixa, o tempo e a seletividade da resposta potenciométrica.

O tipo de resposta, seja ela nernstiana, sub ou supernernstiana, é definido pela declividade da curva analítica para o eletrodo na faixa linear de resposta. Esta é determinada em acordo com os limites de detecção e nernstiano¹⁰. A **Figura 3** ilustra essas características.

O tempo de resposta é definido como o tempo decorrido para que o potencial final no estado de equilíbrio, devido a mudança de concentração do íon de interesse da solução em contato com o EIS e o de referência, não varie mais que 0,6 mV/min¹⁰.

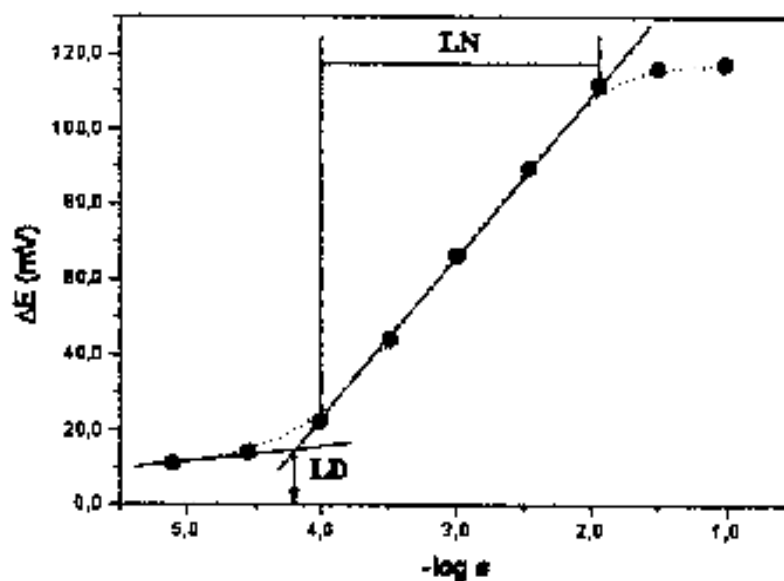


Figura 3: Curva analítica com a indicação do Limite Nernstiano (LN) e do Limite de Detecção (LD)

Em relação à seletividade da resposta é interessante mencionar que no início do surgimento dos eletrodos potenciométricos, a comunidade científica considerou que eles eram específicos. Contudo, com o passar do tempo, os pesquisadores começaram a descobrir que a especificidade dos sensores potenciométricos não era tão grande como se esperava e o termo seletivo foi consagrado, em substituição ao específico. Em potenciometria, o estudo de interferentes é feito através da determinação dos coeficientes de seletividade potenciométricos (K^{POT}), pelos métodos da interferência fixa ou das soluções separadas, na qual estes coeficientes são obtidos da equação de Nicolsky-Eisenman (N-E):

$$E = E^o \pm \frac{2,303RT}{z_A F} \log \left(a_A + \sum K_{A,B}^{POT} a_B^{z_A / z_B} \right) \quad (3)$$

Contudo, a equação N-E apresenta uma série de limitações. A primeira delas ocorre quando a carga do íon primário (A) é diferente da carga do íon interferente (B). Se a carga de A for menor, o coeficiente de seletividade determinado é extremamente baixo, indicando pequena interferência e vice-versa. Isso se deve à relação exponencial do K^{POT} com a carga do íon. Assim o valor do K^{POT} determinado desta maneira apresenta quase sempre grandezas fora da realidade com os dados experimentais, não possuindo significado prático. Outro problema da equação de N-E é a forma simétrica com que o eletrodo responde para o íon primário e o interferente, assumindo resposta nernstiana também para o íon interferente. Assim, a IUPAC recomenda como método para calcular o K^{POT} de um sensor potenciométrico, o do Potencial Equivalente (*matched-potential*) (P-E). Este método, proposto por Gadzekpo e Christian, consiste em determinar a concentração para o íon interferente na qual a variação de potencial é a mesma para uma dada concentração do íon primário em uma solução de referência. As principais características do método do P-E são:

- A carga do íon primário e do interferente não é levada em consideração;

- O método não assume resposta nernstiana para o íon primário nem para o íon interferente.

Estas características conferem ao método do P-E maior significado prático, que aquele em que se aplica a equação de N-E. Então, o K^{POT} pelo método do potencial equivalente pode ser obtido pela equação:

$$K_{A,B}^{POT} = \frac{a_A' - a_A}{a_B} \quad (4)$$

onde, a_A é a atividade do íon primário (A) onde o eletrodo começa a responder linearmente para o mesmo; a_B é a atividade do íon interferente que dá o mesmo potencial de uma determinada atividade do íon primário (a_A').

É importante ressaltar que o método do potencial equivalente é do ponto de vista prático conveniente, pois é simples de calcular e experimentalmente fácil de realizar. No entanto, os coeficientes obtidos não podem ser utilizados para obter valores para a atividade do íon primário em soluções desconhecidas. Assim, este método serve apenas como um guia para indicar o grau de seletividade de um EIS, não podendo ser utilizado de maneira quantitativa.

Outros fatores como tempo de vida do eletrodo, estabilidade e reprodutibilidade da resposta também são utilizados na caracterização da qualidade de um EIS¹⁰.

1.7. A técnica potenciométrica

A potenciometria pode ser utilizada de duas maneiras: de forma direta ou em titulação. Na potenciometria direta, a concentração da espécie é determinada por interpolação através de uma curva analítica, onde o potencial medido para cada padrão é plotado em função do logaritmo na base 10 da concentração do padrão. A quantidade de soluções-padrão a ser empregada na calibração varia de acordo com a precisão desejada. Entretanto, é necessário levar em consideração o tipo de amostra a ser analisada. Neste caso, a força iônica das soluções padrão

utilizadas na calibração deve ser a mais similar possível à da amostra. Outro fator que poder ser cuidadosamente considerado é a temperatura, pois o potencial é sensível a esta variável, de modo que se torna necessário realizar a sua compensação ou utilizar sistemas de termostatização.

A potenciometria direta é bastante utilizada para a determinação das mais variadas espécies. Esta técnica não apresenta uma precisão muito grande, entretanto apresenta a vantagem da simplicidade, rapidez, baixo custo e a possibilidade de especificação devido a sua seletividade¹⁰.

A utilização de EIS em análises farmacêuticas tornou possível a medida da atividade de vários íons orgânicos, em muitos casos sem separação prévia da substância na amostra bem como a determinação de fármacos em medicamentos, sendo necessária apenas uma etapa de pré-diluição ou dissolução de amostras sólidas no solvente apropriado seguido do ajuste do pH e força iônica⁵⁸.

A potenciometria também pode ser utilizada para a determinação do ponto final de uma titulação. Uma vantagem do acompanhamento da variação do potencial de uma célula eletroquímica com a adição de um titulante é o número de informações obtidas sobre o processo da titulação. A curva de titulação é obtida, fazendo-se as medidas de potencial em função do volume adicionado de titulante sobre uma quantidade fixa de titulado. Uma variação de potencial nas proximidades do ponto final é observada, sendo esta dependente da concentração do titulante e do titulado. Existem várias maneiras de determinar o ponto final da titulação. A precisão e a exatidão dependem do método escolhido para este fim. Os métodos mais comumente empregados são o da bissetriz, da primeira e segunda derivadas e o de Gran¹⁰.

2. Novas drogas antiinflamatórias

O universo das drogas mais utilizadas com ação analgésica e antitérmica gira em torno do ibuprofeno, paracetamol e dipirona. É sabido que o mundo ocidental sofre grande influência dos Estados Unidos, e o fato da dipirona não ser aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA), associado ao risco da Síndrome de Reye com a utilização de ácido acetil salicílico (AAS), em muitas viroses, impôs a estes fármacos uma série de restrições, favorecendo, nas últimas duas décadas, o aumento do consumo de ibuprofeno e do paracetamol. No caso do paracetamol, o número crescente de artigos originais e de revisão, comprovando a sua maior toxicidade e menor eficácia, não só como antitérmico, mas também como analgésico, quando comparado ao ibuprofeno e dipirona, vem influenciando os médicos a reavaliarem os seus conceitos¹⁶.

A aspirina[®] foi o único antiinflamatório não-esteróide por mais de meio século. Pessoas que sofrem de artrite ingerem freqüentemente aspirina em larga dose, pelo resto de suas vidas. Sob essas condições, os problemas de irritação e sangramento estomacal tornam-se sérios. O acetaminofeno neutraliza esses problemas até certo ponto, mas somente alivia as dores e não reduz as inflamações. A cortisona foi descoberta em 1948 e foi chamada de droga do milagre, mas tem efeitos adversos no metabolismo de proteínas¹⁷.

Os efeitos adversos da aspirina – em especial a irritação gástrica – levaram à busca de compostos alternativos. Começando com o ibuprofeno em 1974, várias drogas com propriedades semelhantes às da aspirina tiveram seu uso aprovado nos Estados Unidos para o tratamento da artrite reumatóide e da osteoartrite. Além do seu emprego em doenças articulares, vários dos novos **Antiinflamatórios Não Esteroidais** (AINE's) foram aprovados também para outras indicações. Embora a aspirina seja um AINE, este termo é usualmente empregado para designar os substituintes da aspirina[®], que são mais recentes¹⁸.

O uso dos AINE's é muito difundido em todo o mundo e continua a crescer. Em 1995, sua comercialização alcançava a cifra de 2,2 bilhões de dólares, com 73 milhões de prescrições anuais em todo o mundo¹⁹.

2.1. Ibuprofeno

O ibuprofeno é um derivado simples do ácido fenilpropiónico. Em doses de aproximadamente 2,4 g por dia tem efeito antiinflamatório equivalente ao de 4 g de aspirina[®]. O fármaco freqüentemente é prescrito em doses menores, nas quais tem ação analgésica, não tendo ação antiinflamatória. Com os nomes comerciais Advil[®] e Nuprin[®], por exemplo, é vendido sem prescrição, em apresentações que contêm baixas doses¹⁸. Aproximadamente 80% da dose é absorvida no trato gastrointestinal²⁰, havendo diferença quando da administração em jejum ou pós-refeição, pois a presença de alimentos diminui a absorção²¹. A ação se inicia em cerca de 30 minutos após a administração e o tempo de duração da ação analgésica é de 4 a 6 horas²¹. A **Figura 4** ilustra duas estruturas do ibuprofeno: protonado e sal de sódio.



Figura 4: Molécula de iuprofeno em sua forma protonada e do sal de sódio.

O ibuprofeno é metabolizado no fígado e menos de 10% são excretados sob forma inalterada. Irritação gastrointestinal e sangramento digestivo ocorrem, embora em menor escala do que com a aspirina¹⁸. A concentração plasmática máxima é atingida entre 1,2 e 2,1 horas. O uso concomitante de ibuprofeno e de aspirina[®] pode diminuir o efeito antiinflamatório total.

A atividade antiinflamatória dos AINEs, como citado anteriormente, tem mecanismo similar ao da aspirina, sendo mediada principalmente pela inibição da biossíntese das prostaglandinas¹⁸ e dos tromboxanos a partir do ácido araquidônico, via inibição da cicloxigenase, relacionadas ao processo de dor, inflamação e febre²¹. A menor liberação de mediadores por granulócitos, basófilos e mastócitos resulta em diminuição da inflamação. Os AINEs reduzem a sensibilidade dos vasos à bradicinina e à histamina, afetam a produção de

linfocinas pelos linfócitos T e reverter a vasodilatação. Em graus variáveis, todos os AINEs são inibidores da síntese de protombina; todos são analgésicos, antiinflamatórios e antipiréticos; todos inibem a agregação plaquetária. Observa-se cada vez mais nefrotoxicidade em associação às drogas com as quais ocorre experiência mais ampla¹⁸.

O uso da droga está contra-indicado em indivíduos com pólipos-nasais, angioedema e reações broncoespásticas à aspirina^{®18} (reação alérgica ou anafilática)²⁰. Além dos sintomas gastrointestinais (que podem ser modificados pela ingestão da droga às refeições), têm sido relatados exantemas, prurido, zumbido, tonteados, cefaléia, ansiedade, meningite asséptica e retenção hídrica¹⁸.

2.2. Métodos para determinação de ibuprofeno

Os métodos de análises oficiais de ibuprofeno são descritos pelas farmacopéias britânicas, americana, japonesa, suíça e iugoslava²². Além de um método titulométrico visual especificado pelas Farmacopéias Britânica²³, Japonesa e iugoslava²². Outros métodos, incluindo cromatografia líquida de alta eficiência²⁴⁻³⁰, cromatografia de camada delgada^{31,32}, eletroforese capilar^{33,34}, espectrofotometria³⁵⁻³⁸, espectrometria no infravermelho³⁹, polarografia⁴⁰, condutimetria⁴¹, titulometria não-aquosa⁴² e potenciometria⁴³ foram propostos.

3. OBJETIVO

O principal objetivo desse trabalho foi a construção e otimização de um eletrodo íon-seletivo para ibuprofeno, baseado no par-iônico aliquat-ibuprofeno, utilizando-se do copolímero EVA, buscando obter um sensor mais estável com ou sem do uso de plastificante.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Reagentes

Para a preparação do suporte condutor foi utilizada uma mistura de grafite em pó, resina epóxi e endurecedor (polimercaptanas), como citado na literatura⁴⁴.

Na construção da membrana foram utilizados os seguintes reagentes: Aliquat 336®, 1-decanol, como solvente, e ibuprofeno (sal de sódio) para formar o par-iônico; poli[(etileno)-co-(acetato de vinila)] (EVA), clorofórmio P.A. padrão ACS, como solvente do copolímero, e *o*-NPOE (orto-nitrofenil octil-eter) como plastificante, todos da Sigma-Aldrich (USA), exceto o clorofórmio, da Vetec (Brasil).

Os demais reagentes utilizados foram de grau analítico, utilizando-se para o preparo das soluções água deionizada pelo sistema Milli-Q da Millipore (São Paulo, Brasil).

4.2. Aparelhagem

As medidas de diferença de potencial foram realizadas com o potenciômetro e analisador de íons PHM250, da Radiometer (Dinamarca), e como eletrodo de referência usou-se o eletrodo de Ag/AgCl com solução interna de KCl 3M, da Metrohm (Suíça).

4.3. Preparação do eletrodo

A seguir serão descritas as etapas envolvidas na preparação do eletrodo.

4.3.1. Esquema do eletrodo

Como mostram as **Figuras 5 e 6**, o eletrodo foi projetado para que apenas as ponteiros fossem substituídas durante todo o estudo, se fosse necessária a substituição de alguma membrana.

A preparação do suporte condutor foi a mesma citada na literatura⁴⁴, pois, com 53,1% de grafite, o suporte apresenta incorporação total do grafite, melhor dureza e boa consistência.

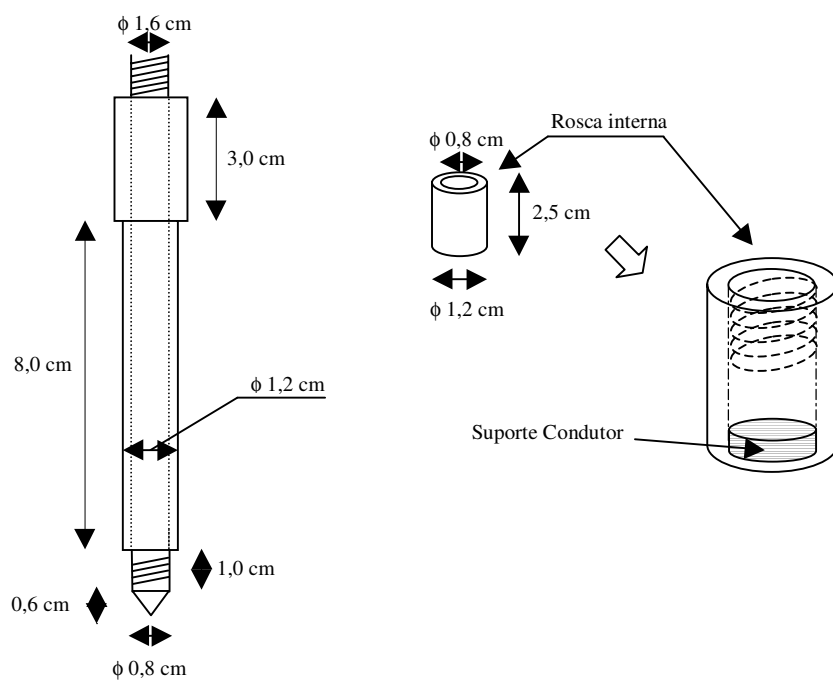


Figura 5: Esquema mostrando todos os detalhes do eletrodo e da ponteira



Figura 6: Detalhes da montagem do eletrodo utilizado

4.3.2. Suporte condutor

Para preparação do suporte condutor, foi utilizado uma mistura de grafite e resina epóxi previamente reportado na literatura, sendo 619,7 mg de resina epóxi (23,2%) + 635,9 mg de endurecedor (23,8%) + 1421,1 mg grafite em pó (53,1%)⁴⁴.

A resina e o endurecedor (polimercaptana) foram pesados em um recipiente e, o grafite, em outro. Após a pesagem, colocou-se o grafite no mesmo recipiente que o endurecedor e a resina, e fez-se uma rápida mistura, com o auxílio de uma espátula, evitando que a mistura secasse ainda no frasco. Após adquirir homogeneidade, colocou-se uma parte da mistura na ponta do eletrodo. Usou-se um guia para que fosse colocada uma quantidade exata de massa na ponta do eletrodo, como mostra a **Figura 7**.

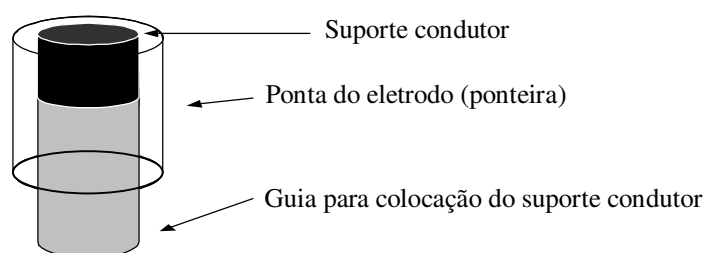


Figura 7: Esquema mostrando a ponteira com o suporte condutor e o guia.

Após compactar bem o suporte condutor na ponta do eletrodo, deixou-se secar durante, pelo menos, 2 (dois) dias. Em seguida, como mostrado na **Figura 8**, o excesso de massa foi retirado através de polimento, de modo a formar uma pequena depressão, com aproximadamente $0,5 \text{ cm}^2$ de área para que, posteriormente, fosse aplicada a membrana com espessura em torno de 0,2 cm.

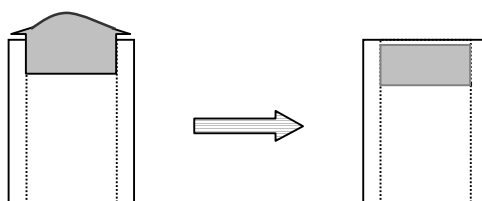


Figura 8: Suporte condutor antes e após a retirada do excesso do material condutor.

4.3.3. Preparação da Membrana

Para a preparação da membrana, primeiramente foi preparado o par-iônico seguindo-se diferentes procedimentos descritos na literatura⁴⁴⁻⁵². Para isso, reagiu-se 20 mL de Aliquat 336® 10% (v/v) em 1-decanol com 20 mL de solução de ibuprofeno 1,0 mol. L⁻¹.

A seguir, a solução foi agitada por aproximadamente 15 minutos, para que ocorresse a total miscibilidade, deixando em repouso até separação das duas fases. Repetiu-se o processo por três vezes, para formação do par-iônico desejado, Aliquat-ibuprofeno. Após essa etapa, a solução permaneceu em repouso por 4 horas, para completa separação das fases (orgânica e aquosa). Após isso, a fase de interesse, no caso, a fase orgânica, que continha o par-iônico, foi separada da fase aquosa e desidratada com sulfato de sódio anidro⁴⁵.

Para a preparação da membrana, diferentes concentrações do par-iônico e do plastificante *o*-NPOE (orto-nitrofeniloctil-eter), foram utilizados e adicionados à solução de 170 mg de EVA em 3 mL de clorofórmio. Diferentes soluções do par-iônico foram preparadas variando-se a concentração de ibuprofeno, até que fossem atingidos os melhores resultados. A **Figura 9** ilustra o esquema da confecção da membrana.

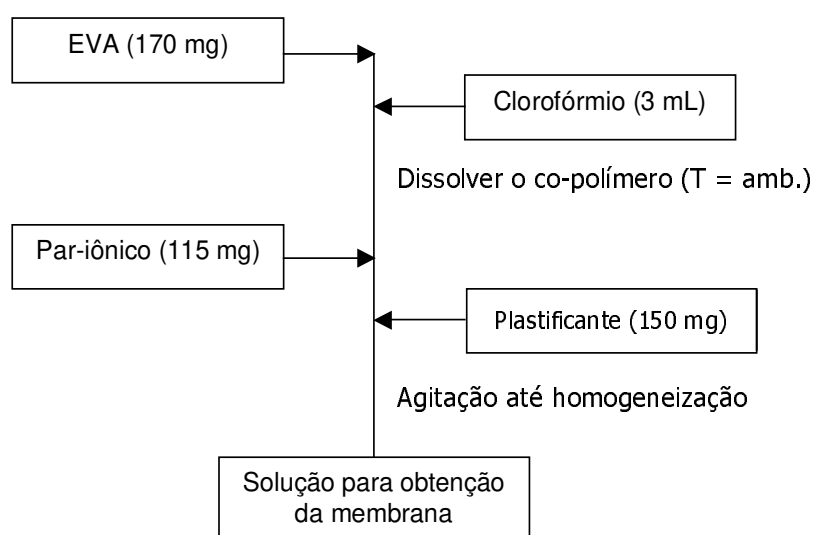


Figura 9. Diagrama do procedimento seguido na preparação da membrana para aplicação no suporte condutor.

Com a ajuda de uma micropipeta, colocaram-se de 200 a 250 μL da solução resultante na superfície do eletrodo, deixando em repouso por, no mínimo, uma semana, à temperatura ambiente, para secagem e formação de fina camada sobre o suporte condutor³⁹, como mostra a **Figura 10**.

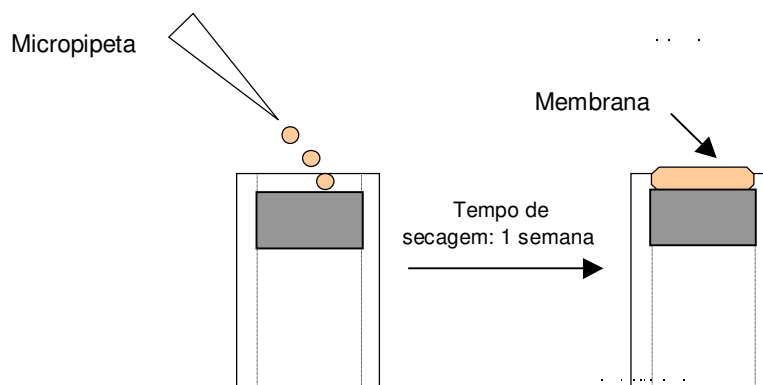


Figura 10: Preparação da membrana sobre o suporte condutor.

Para assegurar o contato elétrico do suporte condutor com o potenciômetro, uma barra de aço inox foi colocada no interior do corpo do eletrodo. Numa extremidade, através de uma rosca, encontra-se a ponteira e, na outra, uma pinça faz o contato com o potenciômetro, como descrito na **Figura 5**.

4.4. Estudos realizados em estado estacionário

Uma vez construído o eletrodo e montado conforme as indicações anteriormente mencionadas, procederam-se os estudos respectivos para otimização do mesmo.

4.4.1. Efeito do plastificante

Nesse estudo foram preparadas diversas membranas variando-se a quantidade de plastificante ou até não o utilizando. Utilizou-se uma solução estoque de ibuprofeno a $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$, variando-se a concentração, obtendo-se uma curva analítica preliminar.

4.4.2. Estudo da influência do valor do pH

Para o estudo da influência do pH, utilizou-se uma solução de ibuprofeno a $1,0 \cdot 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$ e soluções tampão fosfato $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, com pH variando de 5 a 10.

A concentração hidrogeniônica foi monitorada mediante o emprego de um pH-metro e um eletrodo de vidro.

4.4.3. Estudo da influência do meio e da concentração do tampão

Para realizar o correspondente estudo do efeito do tampão, foram preparadas soluções de diferentes tampões: HEPES (N-[2-hidroxi-etil]piperazina-N'-[ácido 2 etanosulfônico]), PIPES (piperazine-N,N'-bis[ácido 2-etanosulfônico]), TRIS (tris(hidroximetil)amino metano) e tampão Fosfato de potássio dibásico. Todas as soluções foram preparadas em concentrações de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Para o estudo da concentração foram preparadas soluções com 0,01; 0,05; 0,1 e 0,5 mol.L^{-1} . Todas as soluções foram ajustadas a $\text{pH} = 7,0$ usando-se para isto soluções de H_3PO_4 e NaOH a 1% v/v.

4.4.4. Estudo da seletividade analítica

Foi estudada a interferência analítica dos principais componentes utilizados no preparo de formas farmacêuticas contendo ibuprofeno: paracetamol, acetato de sódio, benzoato de sódio, citrato de sódio, sorbitol e glicerol. Outras substâncias auxiliares como agar, amido⁵³, gelatina, acetato de celulose, lactose, polietilenoglicol, estearato de magnésio, lauril sulfato de sódio ou solventes para injeções não perturbam as medidas potenciométricas⁷.

4.5. Análises de ibuprofeno em amostras comerciais

Após a otimização das condições de análises, utilizou-se o método proposto para determinação de ibuprofeno em amostras comerciais. Para cada determinação, o eletrodo foi condicionado durante 10 minutos, em solução de ibuprofeno $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, em tampão fosfato a $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ e $\text{pH} = 7,0$.

4.6. Determinação de ibuprofeno em amostra de granulado solúvel

Homogeneizaram-se 6 g de granulado solúvel, efetuou-se a tomada de ensaio correspondente a 25 mg de ibuprofeno (142,5 mg de granulado solúvel), transferiu-se para um balão volumétrico de 25 mL e completou-se o volume com tampão Fosfato $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, pH = 7,0. A solução resultante contém $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de ibuprofeno. Transferiu-se o conteúdo do balão para um béquer de 50 mL e registrou-se o potencial, sob agitação constante.

4.7. Determinação de ibuprofeno em amostra líquida

Homogeneizou-se o conteúdo do frasco contendo 10 mL, efetuou-se a tomada de ensaio correspondente a 25 mg de ibuprofeno (0,5 mL), transferiu-se para um balão volumétrico de 25 mL e completou-se o volume com tampão fosfato $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, pH = 7,0. A solução resultante contém $4,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de ibuprofeno. Transferiu-se o conteúdo do balão para um béquer de 50 mL, verificando-se o potencial obtido, sob agitação constante.

4.8. Método de recuperação do padrão

A quantidade de dois envelopes de granulado (6 g) foi homogeneizado, efetuou-se a tomada de ensaio correspondente a 571 mg de ibuprofeno (2,855 g), transferiu-se para um balão volumétrico de 25 mL e completou-se o volume com tampão fosfato $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, pH = 7,0. A medida do potencial foi efetuada em uma solução contendo 22,5 mL da amostra. Um volume da solução estoque ($175 \mu\text{L}$), correspondente a 50% da concentração da amostra, foi adicionado e o potencial medido na seqüência. Uma adição de solução padrão é efetuada ($250 \mu\text{L}$) e o novo potencial registrado. Os potenciais foram utilizados para o cálculo de recuperação de ibuprofeno.

4.9. Análise Titulométrica

A Farmacopéia Britânica especifica um método titrimétrico para a determinação de ibuprofeno. Para condução do método, foram dissolvidos 0,450g do medicamento em teste em 50 mL de metanol e adicionou-se 0,4 mL de solução de fenolftaleína. Titulou-se essa solução com uma solução padrão de NaOH 0,1 mol L⁻¹ até obter-se uma cor violeta. Corrigiu-se o volume do titulante como auxílio de uma titulação em branco. Cada mililitro de solução padrão de NaOH 0,1 mol L⁻¹ equivale a 20,63 mg de ibuprofeno.



Figura 11: Foto que ilustra o tipo de equipamento utilizado após a preparação do eletrodo: ponteiras, potenciômetro, eletrodo íon-seletivo e eletrodo de referência de Ag/AgCl.

5. RESULTADOS

V.1. Membrana

Como descrito na parte experimental, diferentes concentrações de soluções de ibuprofeno foram utilizadas na preparação do par-iônico para se obter uma melhor resposta do eletrodo, sendo elas 0,1; 0,5; 0,8; 1,0 e 1,2 mol.L⁻¹.

Como os testes sem o plastificante não mostraram bons resultados, foi necessária a adição de um plastificante e verificada a melhor proporção deste na membrana. Na otimização da quantidade de plastificante, trabalhou-se com 100, 150 e 200 mg de *o*-NPOE (orto-nitrofeniloctil-éter), como ilustrado na **Tabela 1**.

Tabela 1: Estudo da composição da membrana variando-se os componentes a fim de se obter uma melhor inclinação.

Membrana	EVA (/mg)	par-iônico (/mg)	plastificante (/mg)	C _{par-iônico} (/mol L ⁻¹)	Inclinação
A	188	133	-	0,1	-
B	173	113	-	1,0	32,0
C	167	125	-	0,5	36,0
D	176	128	-	1,2	31,0
E	191	119	-	0,8	32,5
F	191	119	-	0,8	44,4
G	182	119	-	1,2	35,0
H	164	124	155	1,0	53,1
I	173	115	100	1,0	46,1
J	170	109	200	1,0	24,3
K	170	115	150	1,0	58,2

A proporção dos componentes da membrana que mostrou melhor sensibilidade, baseado nos testes, como mostra a **Figura 12**, foi a membrana K, com 170 mg de EVA dissolvidos em 3 mL de clorofórmio, 115 mg do par-iônico (formado por 20 mL de cloreto de tricaprilmetilamônio (Aliquat 336®) a 10% em 1-Decanol e 20 mL de ibuprofeno a 1,0 mol.L⁻¹) e 150 mg do plastificante *o*-NPOE (orto-nitrofeniloctil-éter).

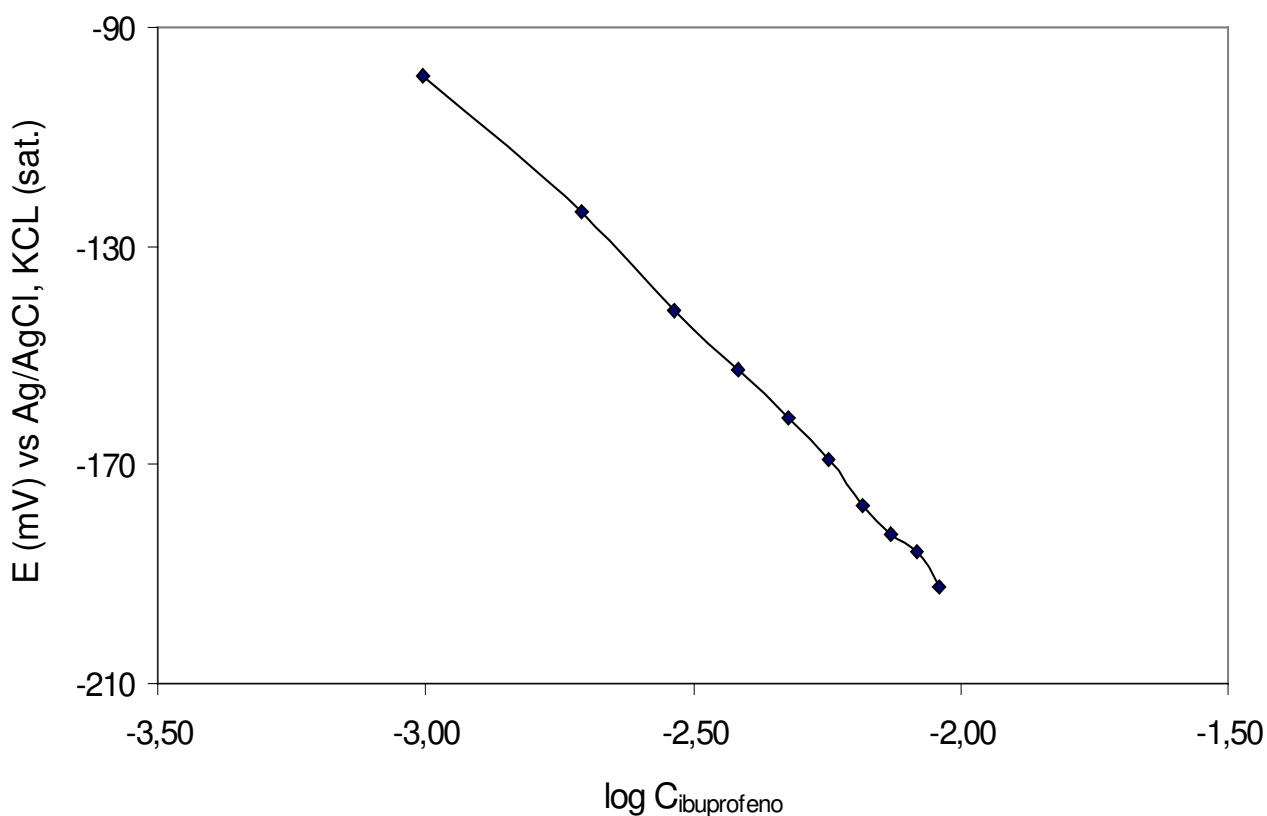


Figura 12: Curva analítica, em solução aquosa, para a membrana com quantidades otimizadas de seus componentes

V.2. Influência do valor do pH

No diagrama de Reilley da **Figura 13** observa-se que o eletrodo mostrou uma variação significativa para uma faixa de valores de pH entre 6,0 e 9,0. Acima de 9,0 há um decréscimo no valor do potencial devida à interferência do ânion hidroxila⁵⁴. O mesmo aconteceu em valores de pH menores que 6,0, condição na qual o ibuprofeno é insolúvel. Definiu-se trabalhar com o valor do pH igual a 7,0.

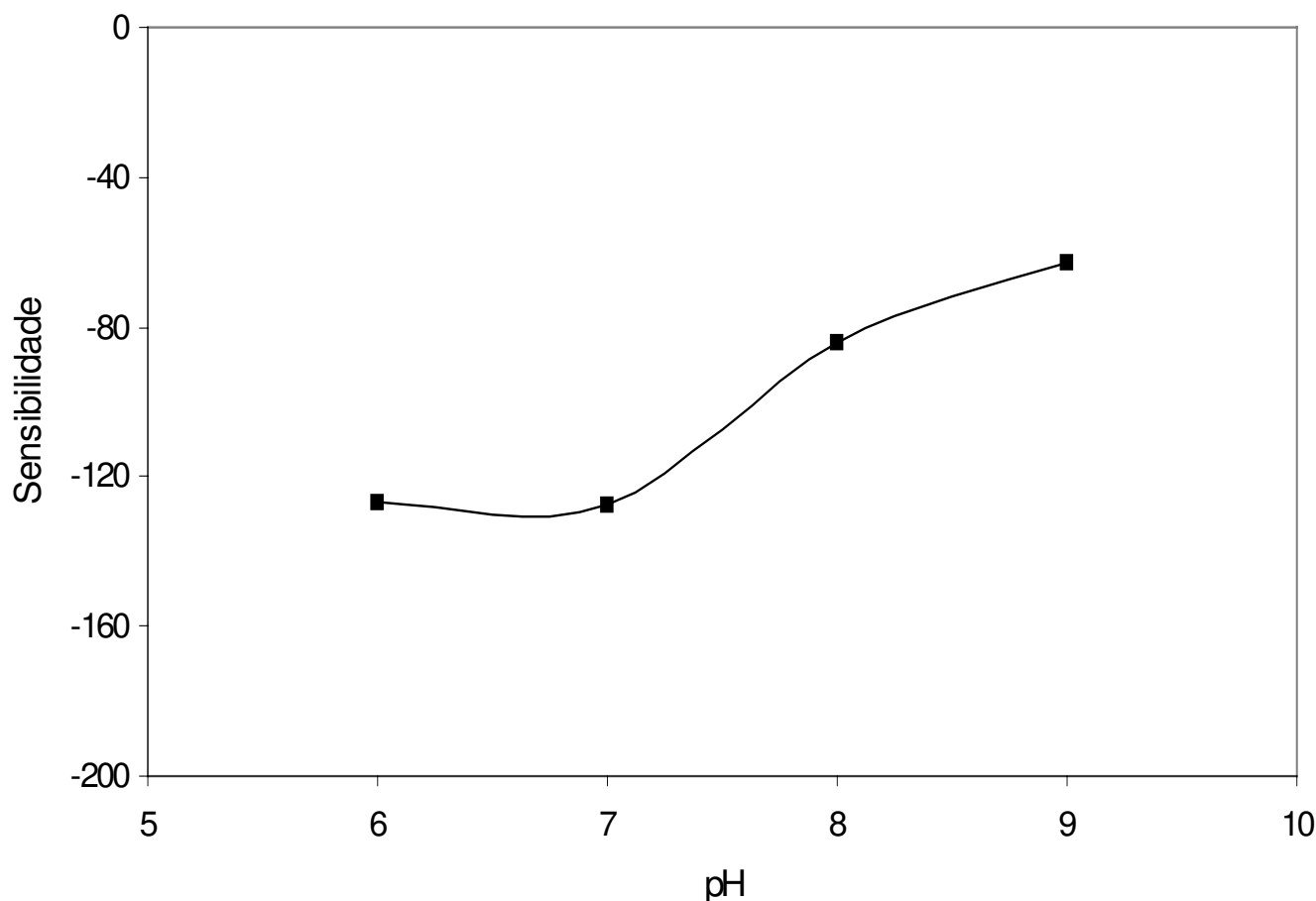


Figura 13: Diagrama de Reilley para o eletrodo íon-seletivo para ibuprofeno: variações na sensibilidade do eletrodo na faixa de valores do pH entre 6 e 9.

V.3. Influência da natureza do tampão

A **Figura 14** apresenta as respostas para os quatro diferentes tampões testados: HEPES, PIPES, TRIS e Fosfato. Em todos a concentração utilizada foi $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Observa-se uma resposta semelhante para os sistemas HEPES, PIPES e TRIS, possivelmente, por serem substâncias orgânicas, apresentem algum tipo de interação com a membrana lipofílica. Já o tampão fosfato manteve uma melhor linearidade. Pelos resultados, todos os sistemas podem ser utilizados, sem problemas, entretanto, optou-se pelo tampão Fosfato por apresentar uma maior faixa linear.

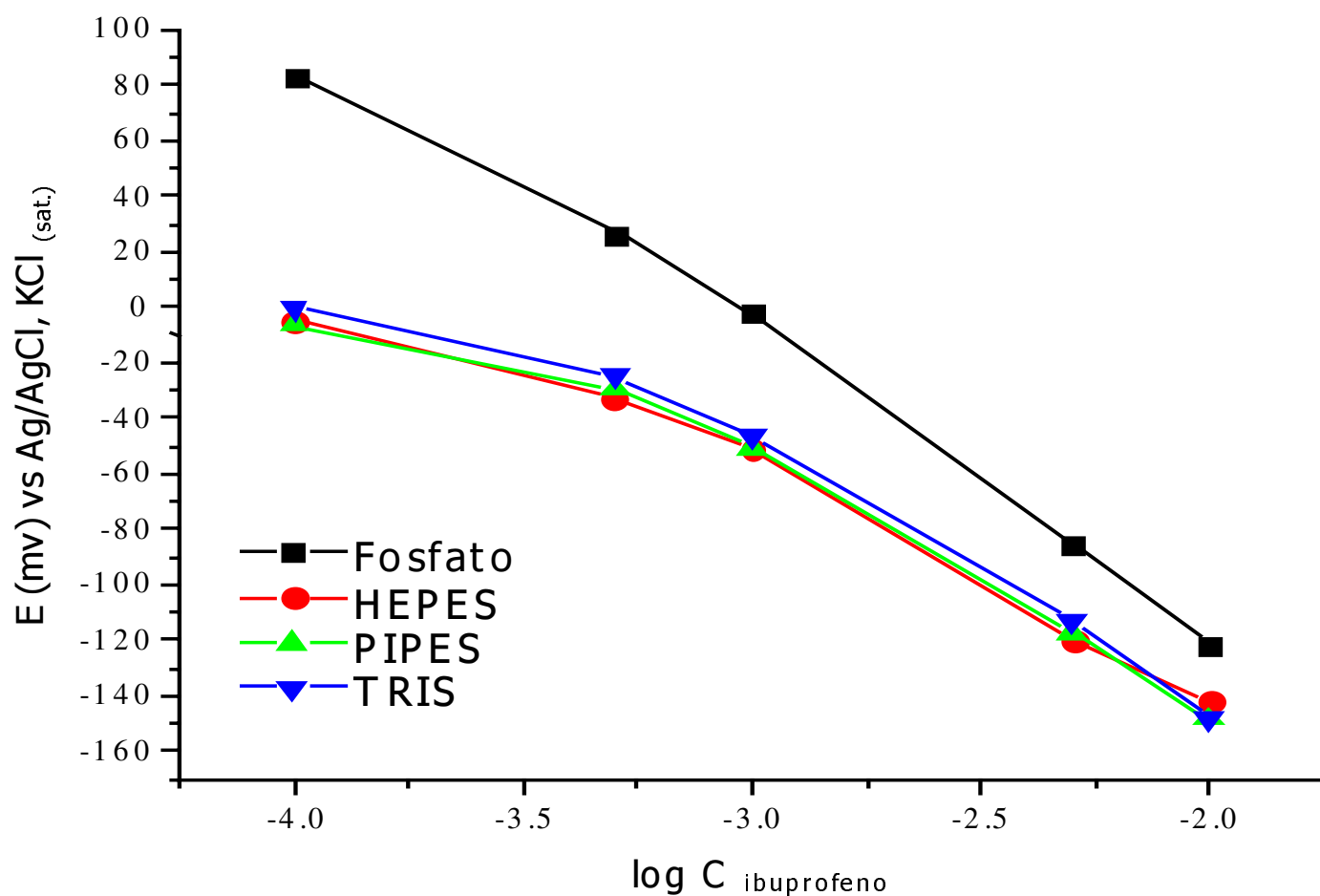


Figura 14: Efeito do tampão na resposta do eletrodo, numa concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{pH} = 7,0$.

V.4. Efeito da concentração do tampão

Para este estudo usou-se solução tampão fosfato em diferentes concentrações a $\text{pH} 7,0$, ajustado com soluções de H_3PO_4 e NaOH a 1% e 10% v/v. Observou-se que um aumento na concentração do tampão causa aumento da sensibilidade do eletrodo, para uma faixa linear de $2,9 \cdot 10^{-3}$ a $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, como mostram a **Tabela 2** e a **Figura 15**.

Tabela 2: Efeito da concentração do tampão na resposta do eletrodo.

Concentração do tampão (mol L ⁻¹)	Faixa Linear			
	1,0.10 ⁻³ a 1,0.10 ⁻²		2,9.10 ⁻³ a 1.10 ⁻²	
	S	r	S	r
0,5	-116,8 mV	0,9980	-127,1 mV	0,9999
0,1	-105,1 mV	0,9929	-123,9 mV	0,9989
0,05	-107,8 mV	0,9949	-122,8 mV	0,9993
0,01	-104,4 mV	0,9962	-117,2 mV	0,9991

Leituras efetuadas em tampão fosfato com valor do pH igual a 7. S = coeficiente angular; r = coeficiente de correlação linear.

V.5. Estudo dos interferentes

Os interferentes estudados foram algumas das substâncias normalmente utilizadas nas preparações dos fármacos a base de ibuprofeno. Substâncias auxiliares como agar, amido⁵³, gelatina, acetato de celulose, lactose, polietilenoglicol, estearato de magnésio, lauril sulfato de sódio ou solventes para injeções não perturbam as medidas potenciométricas⁷.

Como mostra a **Tabela 3**, nenhum das substâncias estudadas apresentou alterações significativas no potencial inicial, o que mostra que não há interferência por parte dos principais constituintes das formulações farmacêuticas. O estudo foi realizado com 50 mL de uma solução 1,0.10⁻³ mol L⁻¹ de ibuprofeno, em tampão fosfato 0,5 mol L⁻¹, pH = 7,0 e adições fixas de 500 µL de solução estoque do interferente à uma concentração de 1,0.10⁻¹ mol L⁻¹. Todas as medidas foram realizadas sob agitação constante.

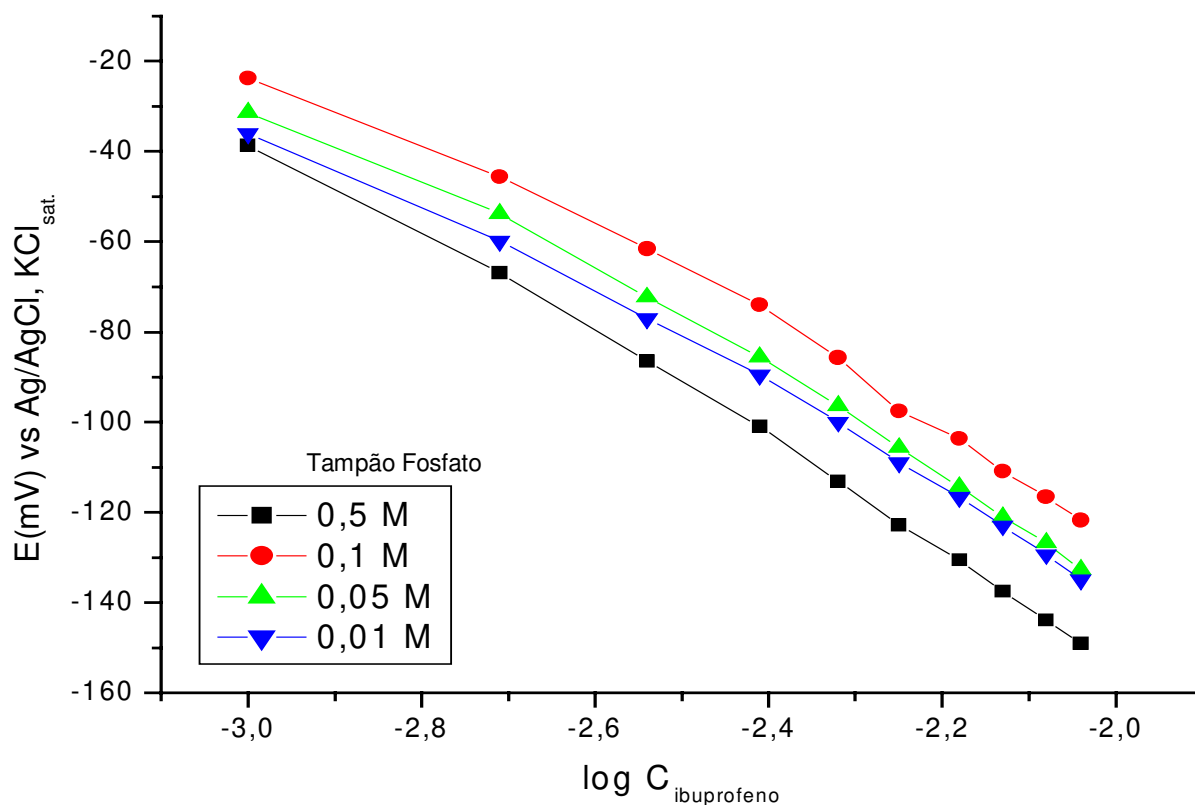


Figura 15: Efeito da concentração do tampão na resposta do eletrodo íon-seletivo para ibuprofeno em diferentes concentrações de tampão Fosfato.

Tabela 3: Coeficientes de seletividade potenciométrico, $K_{A,B}$, determinado de acordo com o método dos potenciais equivalentes.

Interferente analisado	Coeficiente de seletividade, $K_{A,B}^{POT}$ (nas variações encontradas)	Variação de potencial medida (/mV)
Paracetamol	$1,9 \times 10^{-2}$	2,5
Acetato de sódio	$4,4 \times 10^{-3}$	0,8
Benzoato de sódio	$4,0 \times 10^{-4}$	0,1
Citrato de sódio	$1,1 \times 10^{-2}$	2,4
Sorbitol	$1,9 \times 10^{-2}$	2,2
Glicerol	$5,8 \times 10^{-2}$	5,6

A partir dos resultados verifica-se uma grande seletividade do sensor desenvolvido na presença destas substâncias, que na maioria dos casos podem estar presentes nos produtos comerciais analisados.

V.6. Tempo de resposta do eletrodo

Entende-se como tempo de resposta o tempo que o eletrodo demora para alcançar o potencial de equilíbrio (potencial com uma variação menor que 0,6 mV min⁻¹) após alterar a concentração em um década.

Mediu-se o potencial de uma solução de ibuprofeno 10⁻³ mol L⁻¹, levou-se a uma concentração de 10⁻² mol L⁻¹ e aguardou-se até que o potencial de equilíbrio fosse atingido. O tempo médio foi de 56,3 segundos, conforme a **Tabela 4**.

Tabela 4: Verificação do tempo de resposta do eletrodo.

	Concentração		Tempo (/s)
	10 ⁻³ mol L ⁻¹	10 ⁻² mol L ⁻¹	
ΔE (/mV)	-13,1	-56,6	59
	-17,9	-58,1	55
	-15,8	-56,9	55
			Tempo médio = 56,3

O tempo de resposta do eletrodo proposto nesse trabalho está acima dos demais citados na literatura. Para esses, os tempos variam de 8 a 20 segundos^{7, 43, 54}.

V.7. Tempo de vida do eletrodo

Uma vez construído o eletrodo, este foi testado continuamente, sendo feitas 180 determinações. O eletrodo apresentou um bom desempenho até, aproximadamente, a centésima leitura. A partir disso, passou a apresentar uma perda significativa nas respostas, como ilustrado na **Figura 16**.

O tempo de condicionamento do eletrodo e a extensão de utilização podem afetar diretamente sua vida útil. Algumas revisões sobre o assunto também sugerem que o tempo de meia vida de sensores baseados em membranas poliméricas é determinado pelas condições da análise, composição química e ao processo de lixiviação de ionóforos e plastificantes presentes na membrana⁶.

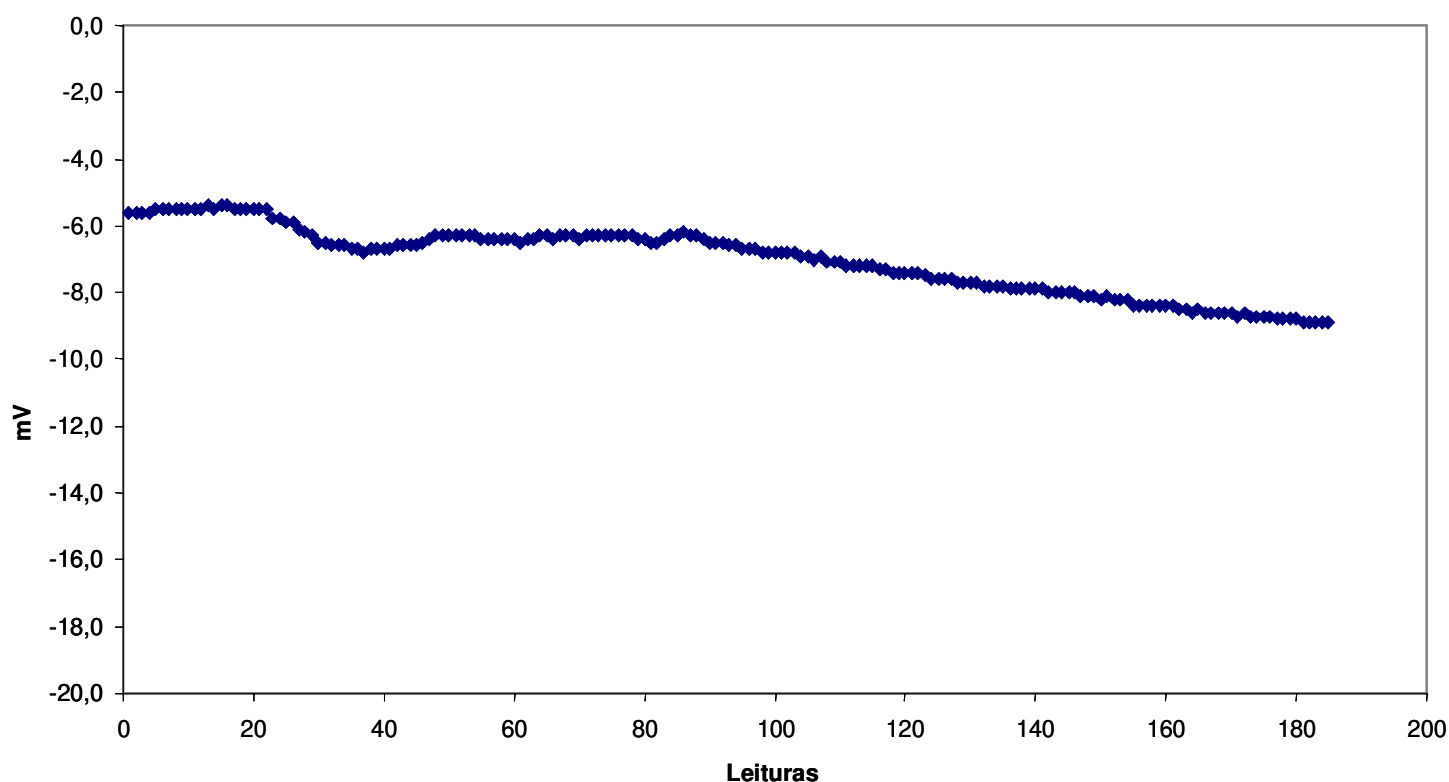


Figura 16: Resultados obtidos no estudo de tempo de vida útil do eletrodo através de sucessivas determinações utilizando solução de ibuprofeno $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol. L}^{-1}$, pH = 7,0 e eletrodo de Ag/AgCl como referência.

V.8. Curva analítica nas condições otimizadas

A **Figura 17** mostra a curva analítica do eletrodo sensível a ibuprofeno nas condições otimizadas, indicando o limite de detecção (L.D.).

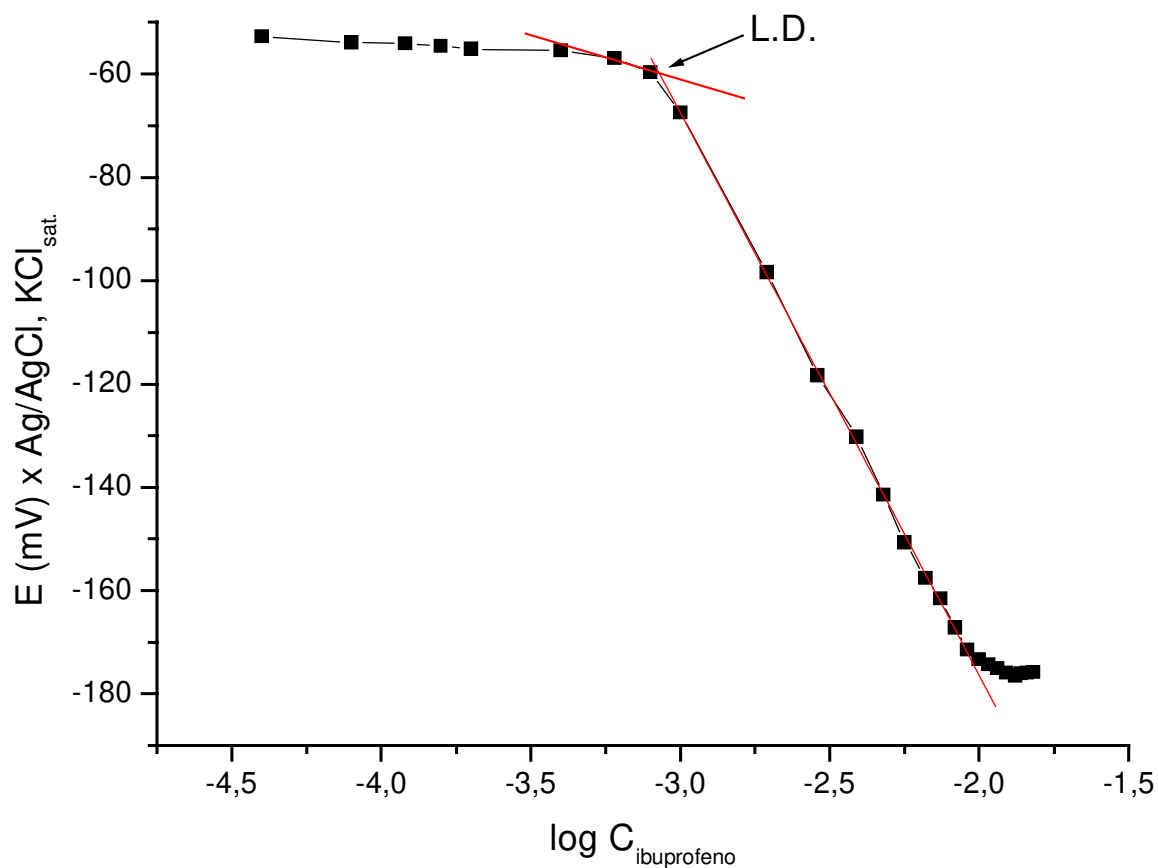


Figura 17. Curva analítica do eletrodo íon-seletivo para ibuprofeno, em tampão Fosfato $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 7,0$. L.D. = limite de detecção.

A **Tabela 5** sintetiza as respostas características do eletrodo.

Tabela 5: Resposta características do eletrodo nas condições otimizadas.

Parâmetro	Respostas características
Sensibilidade (mV/decada)	-127,1
Coeficiente de correlação (r)	- 0,9999
Faixa de resposta linear (mol L ⁻¹)	$2,9 \cdot 10^{-3}$ a $1,0 \cdot 10^{-2}$
Limite de detecção (mol L ⁻¹)	$8,7 \cdot 10^{-4}$
pH de trabalho (tampão Fosfato)	7,0

V.9. Aplicação em amostras reais

Foram analisados amostras de granulados e gotas e os teores de ibuprofeno determinados em função da equação da reta, obtida através da construção da curva analítica, como mostram a **Figura 18** e a **Tabela 6**.

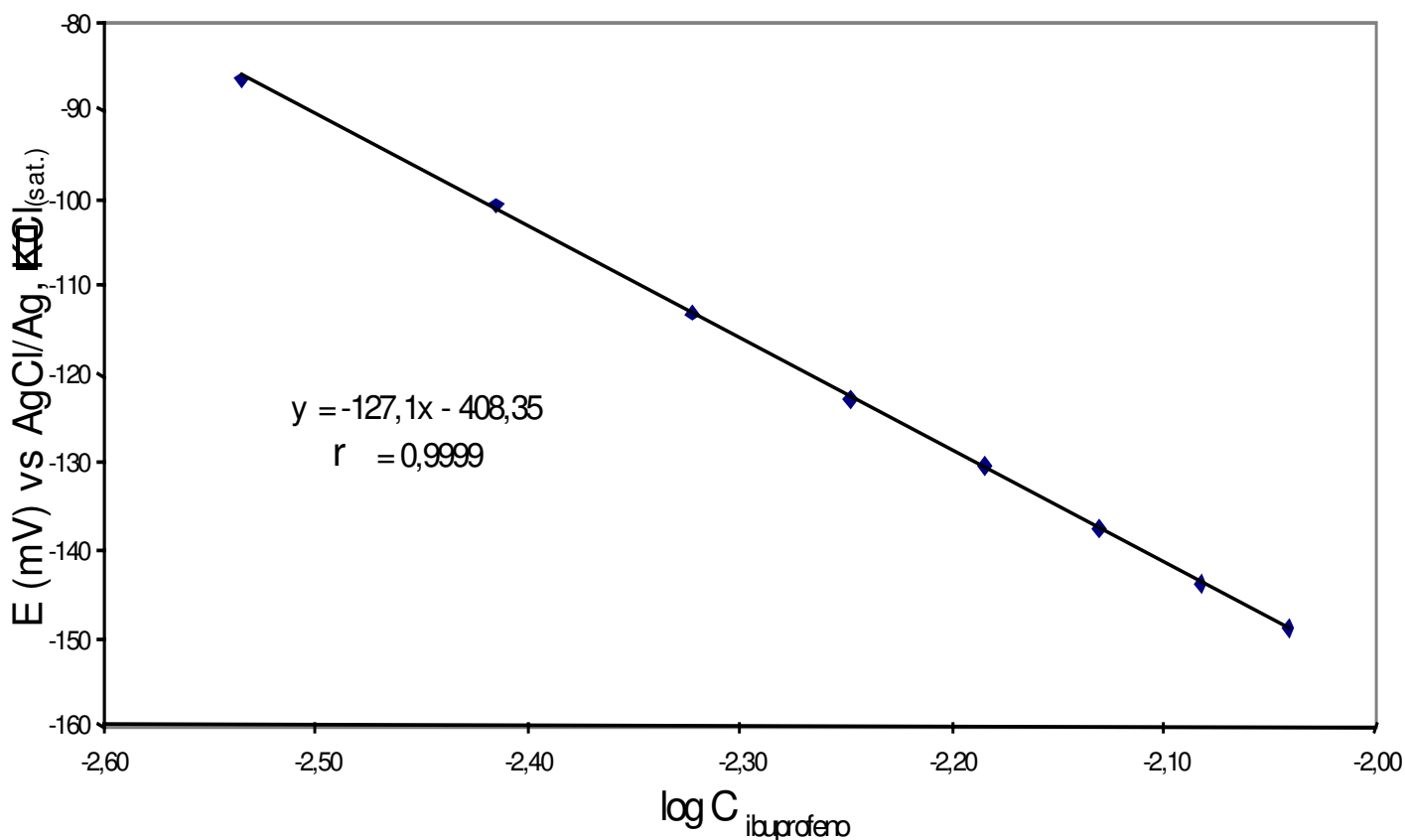


Figura 18: Curva analítica obtida empregando-se solução de ibuprofeno na concentração de $2,9 \cdot 10^{-3}$ a $1 \cdot 10^{-2}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato 0,5 mol L⁻¹, pH = 7,0

Tabela 6: Resultados obtidos através do tratamento estatístico na determinação de ibuprofeno em medicamentos.

Medicamentos	Concentração nominal	Potenciometria	Método titulométrico
Alivium (gotas)	50 mg/mL	$49,7 \pm 0,6$ mg/mL	$48,3 \pm 0,7$ mg/mL
Spidufen 600 (granulado)	600 mg/3g	$598,7 \pm 2,1$ mg/3g	$602,3 \pm 2,4$ mg/3g

* média de 3 determinações

Não há uma diferença significativa entre os resultados encontrados através do método potenciométrico proposto e o método de referência ao nível de

confiança de 95%, comprovada pelo tratamento estatístico (testes 'F' e 't'). As estimativas de desvio padrão e os valores médios encontrados são muito semelhantes, indicando precisão e exatidão compatíveis, respectivamente.

Os resultados obtidos no teste de recuperação do padrão encontram-se na **Tabela 7**, calculados em função da equação da reta obtida a partir dos resultados da construção da curva analítica. Utilizou-se, tanto para a solução padrão como para a amostra, solução estoque 1.10^{-1} mol L⁻¹.

Tabela 7: Valores experimentais obtidos no teste de adição de ibuprofeno com um medicamento (Alivium).

Quantidade determinada (/mol L-1)	Quantidade adicionada (/mol L-1)	Quantidade encontrada (/mol L-1)	% Recuperação
$2,00 \cdot 10^{-1}$	$1,06 \cdot 10^{-1}$	$2,95 \cdot 10^{-1}$	96,4

VI. CONCLUSÕES

Análises potenciométricas para detecção de espécies iônicas em amostras complexas através dos EIS têm mostrado resultados satisfatórios.

Os EIS, baseados em pares iônicos complexos numa matriz polimérica, como PVC ou EVA, constituem o tipo mais importante desses sensores para aplicações em análise inorgânica, biomédica e farmacêutica¹².

Uma das principais vantagens desses dispositivos é, em princípio, a possibilidade de serem construídos para vários fármacos.

As aplicações da potenciometria com EIS em análises farmacêuticas podem abranger desde o controle de qualidade do princípio ativo até o do medicamento em formulações complexas.

O desenvolvimento do EIS proposto foi concluído, mostrando que é possível a construção de eletrodos, utilizando-se do copolímero EVA, minimizando o uso de plastificantes. Nesse caso, obteve-se um resultado satisfatório, com um comportamento super-ernstiano e uma faixa de resposta linear semelhante à outros sensores potenciométricos para ibuprofeno estudados, como mostrado na **Tabela 8**. Esses sensores, também desenvolvidos para análise potenciométrica direta de ibuprofeno, apresentam algum tipo de variação na composição da membrana ou do método, o que confere algumas diferenças entre os trabalhos propostos.

Modificações dessa natureza podem ser feitas na constituição da membrana proposta visando melhorar as respostas obtidas, como mudança na matriz polimérica, tempo de condicionamento da membrana e substituição ou eliminação do plastificante, pois o EVA, devido à sua baixa temperatura de transição vítrea, pode ser utilizado sem o uso deste. O **Tabela 9** mostra a composição das membranas utilizadas nos eletrodos citados na **Tabela 8**.

Além de não haver uma diferença significativa entre os resultados encontrados através do método potenciométrico proposto e o método de referência, certamente as maiores vantagens em comparação aos demais métodos citados anteriormente

(ver item II.2) são a simplicidade, a fácil construção, o fato das medições não serem afetadas pela coloração ou turvação da amostra, utilização de pequenas quantidades de reagentes e exige apenas dissolução e/ou diluição da amostra para as análises, sem necessidade de filtração ou pré-tratamento.

Tabela 8: Comparação das características dos sensores desenvolvidos para determinação de ibuprofeno e outros fármacos.

Parâmetros	Princípios ativos de interesse											
	Ibuprofeno	Ibuprofeno (PU)	Ibuprofeno (PVC)	Ibuprofeno	Ibuprofeno (1)	Ibuprofeno (2)	Warfarina	Flurbiprofeno	Piroxicam	Tenoxicam	Salicilato	Ácido acetilsalicílico
Sensibilidade (mV/decada)	-127,1	-55,0±1,0	-53,0±1,0	-59,1±0,2	60,0	61,0	-60,3±0,8	55,4	55,8±0,3	53,8±0,7	-56	43
Coeficiente de correlação (r)	- 0,9999	0,998	0,996	0,998	-	-	0,998	-	-	-	-	-
Faixa de resposta linear (mol.L ⁻¹)	2,9.10 ⁻³ a 1,0.10 ⁻²	-	-	-	1,0.10 ⁻⁴ a 1,0.10 ⁻¹	1,0.10 ⁻⁴ a 1,0.10 ⁻¹	-	1,0.10 ⁻⁶ a 1,0.10 ⁻²	5,2.10 ⁻⁵ a 1,0.10 ⁻²	1,0.10 ⁻⁵ a 1,0.10 ⁻²	4,0.10 ⁻⁵ a 1,0.10 ⁻¹	7,5.10 ⁻³ a 7,5.10 ⁻²
Limite de detecção (mol.L ⁻¹)	2,3.10 ⁻³	2,7.10 ⁻⁶	3,1.10 ⁻⁶	6,5.10 ⁻⁶	4,0.10 ⁻⁵	6,0.10 ⁻⁵	2,5.10 ⁻⁶	4,1.10 ⁻⁵	2,4.10 ⁻⁶	6,0.10 ⁻⁶	2,0.10 ⁻⁵	-
pH de trabalho	6,0 a 9,0	5,0 a 9,0	4,4 a 8,5	5,5 a 8,5	6,6 a 8,5	6,0 a 9,0	5,5 a 10,0	-	-	-	7,0 a 9,5	-
Tampão	Fosfato	Fosfato	Fosfato	-	-	-	-	Fosfato	Fosfato	Fosfato	TRIS	-
Referência bibliográfica	-	54	54	43	7	7	43	12	53	53	47	45

Tabela 9: Composição das membranas utilizadas nos eletrodos citados na Tabela 8.

	Composição da membrana				
Componente	Ibuprofeno (PU)	Ibuprofeno (PVC)	Ibuprofeno	Ibuprofeno (1)	Ibuprofeno (2)
Par-iônico ou ionóforo	5,10,15,20-tetrafenilporfirinato de índio (III) - TPP In(III) 10 mg (1%)	5,10,15,20-tetrafenilporfirinato de índio (III) - TPP In(III) 10 mg (1%)	Ibuprofeno-ferroína 10 mg	Cloreto de metiltrioctilamônio (MTOA-Cl) + ibuprofeno - 10%	Cloreto de metiltrioctilamônio (MTOA-Cl) + ibuprofeno - 10%
Plastificante	Dibutilsebacato – DBS 360 mg (66%)	Dibutilsebacato – DBS 360 mg (66%)	Diocetil ftalato (DOP) 350 mg	60% (5% Tributíil fosfato - TBP + 95% Diisobutil ftalato - DIBP)	60% (5% Tributíil fosfato - TBP + 95% orto-nitrofeniloctil-éter - <i>o</i> -NPOE)
Matriz Polimérica	Poliuretano – PU 170 mg (33%)	Cloreto de polivinila – PVC 170 mg (33%)	PVC 190 mg	PVC 30%	PVC 30%
Referência Bibliográfica	54	54	43	7	7

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MERMET, J.M., OTTO, M.; WIDMER, H. M.; *Analytical Chemistry*, **1999**, (v), 282.
2. COUTO, C. M. C. M.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M.; *Química Nova*, **2000**, 23, 774.
3. TROJANOWICZ, M.; ALEXANDER, P. W.; HIBBERT, D. B.; *Analytica Chimica Acta*, **1998**, 366, 23.
4. BAKKER, E.; PRETSCH, E.; *Analytical Chemistry*, **2002**, 1, 420 A.
5. FERNANDES, J. C. B.; KUBOTA, L. T.; NETO, G. O.; *Química Nova*, **2001**, 24, 120.
6. DIAS, I. L.T. et. al.; **Construção e avaliação de eletrodos íon-seletivos à furosemida**, 2002, Tese de Doutorado (Química Analítica), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, São Paulo.
7. LENIK, J.; MARCZEWSKA, B.; WARDAK, C.; *Desalination*, **2004**, 163, 77.
8. STEFAN, R. I.; BAIULESCU, G. E.; ABOUL-ENEIN, H. Y.; *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **1997**, 27, 307.
9. SCHWABE, K.; DAHMS, H. Z.; *Zeitschrift fur Elektrochemie*, **1961**, 65, 518.
10. FERNANDES, J. C. B.; **Desenvolvimento de um Sistema Multi-Componente de Injeção em Batelada com Detecção Potenciométrica, Aplicado à Análise de Substâncias de Interesse Biológico**, 2000, Tese de Doutorado (Química Analítica), Instituto de Química, UNICAMP, São Paulo.
11. TORRES, K. Y. C.; **Desenvolvimento de eletrodos íon-seletivos: Aplicação em sistema de detecção em FIA e estratégias para a melhoria do limite de detecção**, 2005, Tese de Doutorado (Química Analítica), Instituto de Química, UNICAMP, São Paulo.
12. BAILEY, P. L.; **Analysis with ion-selective electrodes**, 2. ed., London: Heyden, 1980, 247.
13. Pursell, M. R., Mendes-Tatsis, M. A., Stuckey, D. C.; *Biotechnology and Bioengineering*, **2003**, 82, 533.
14. <http://www.plastico.com.br/revista/pm357/plastificantes4.htm> (acesso: 14/03/06)
15. <http://www.micronal.com.br/artigostecnicos/transicaovitrea.htm> (acesso: 14/03/06)
14. http://www.somerj.com.br/revista/200312/2003_12_artigocientifico.htm (acesso: 10/05/05)
15. REUBEN, B. G.; WITTCOFF, H. D. **Pharmaceutical Chemicals in Perspective**, 1^a. ed., Nova Iorque: Wiley, **1989**, 334.
16. KATZUNG, BERTRAM G. **Farmacologia Básica e Clínica**, 5^a. Edição, São Paulo: Guanabara Koogan, **1994**, 372.
17. WANNMACHER, L.; BREDEMEIER, M.; **Antiinflamatórios não-esteróides: uso indiscriminado de inibidores seletivos de cicloxigenase-2. Uso racional de medicamentos: temas selecionados**, 2004, 1, 2.
18. Dicionário de Especialidades Farmacêuticas 2000/01, 29^a edição, Editora de Publicações Científicas Ltda; São Paulo, 365.

19. Dicionário de Especialidades Farmacêuticas 2000/01, 29^a edição, Editora de Publicações Científicas Ltda; São Paulo, 407.
20. MEDENICA, M.; IVANOVIC; *Arzneim.-Forsch./ Drug Res*, **1998**, 48, 73.
21. British Pharmacopoeia, **1998**, Vol. I, Pharmaceutical Press, London.
22. LAMPERT, B. M.; STEWART, J. T.; *J. Chromatogr.* **1990**, 504, 381.
23. HAIKALA, V. E., HEIMONON, I. K., VUORELA, H. J.; *J. Pharm. Sci.*, **1991**, 80, 456.
24. BAEYENS, W. R. G. et al.; *Biomed. Chromatogr.* **1995**, 9, 249.
25. BAKER, J. A.; *Chirality*, **1997**, 9, 75.
26. SOCHOR, J., KLIMES, J., ZAHRADNICEK, M., SEDLACEK, J.; *J. Chromatogr. B, Biomed. Appl.*, **1994**, 654, 282.
27. SOCHOR, J., KLIMES, J., SEDLACEK, J., ZAHRADNICEK, M.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1995**, 13, 899.
28. DEVRIES, J. X., SCHMITZ-KUMMER, E., SIEMON, D.; *J. Liq. Chromatogr.* **1994**, 17, 2127.
29. LIPPSTONE, M. B.; SHERMA; *JPC-Journal of planar chromatography-modern*, **1995**, 8, 427.
30. J. GE; Y. HE; *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao*, **1987**, 18, 95.
31. RAWJEE, Y. Y., WILLIAMS, R. L.; VIGH, G.; *J. Chromatogr. A.*, **1994**, 680, 599.
32. SHIHABI, Z. K.; HINSDALE, M. E.; *J. Chromatogr. B, Biomed. Appl.*, **1996**, 683, 115.
33. WANG, R.; ZHANG, Q.; ZHANG, X.; *Yaowu Fenxi Zazhi*, **1989**, 9, 190.
34. LIU, C. X.; GU, Y. B.; YING, Y. M.; *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, **1994**, 29, 288.
35. EI-RAGEHY; N. A.; KAWY. M. A.; EL-BAYOUMY A.; *Anal. Lett.*, **1994**, 27, 2127.
36. SANYAL, A.K.; LAHA, D.; *Journal of AOAC International*, **1994**, 77, 1108.
37. DREASSI, E.; *Analyst*, **1995**, 120, 2361.
38. KANOUT, C.; BOUCLY P.; GUERNET-NIVAUD E.; GUERENT M.; *Ann. Pharm., Fr.*, **1985**, 43, 265.
39. ALY, F. A.; BELAL, F.; *Pharmazie*, **1994**, 49, 454.
40. UMAPATHI, P.; *Indian Drugs*, **1993**, 30, 596.
41. HASSAN, S. S. M.; MAHMOUD, W. H.; ABDEL-SAMAD, M. S.; *Mikrochim Acta*, **1998**, 129, 251.
42. TORRES, K. Y. C.; **Desenvolvimento de um eletro ion-seletivo para cálcio e sua aplicação em fia na análise de soro sanguíneo**, 2001. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química, Unicamp, Campinas.
43. TORRES, K.Y.C., GARCIA, C.A.B., FERNANDES, J.C.B., NETO, G.D., KUBOTA, L.T.; *Talanta*, **2001**, 53, 807.
44. COSOFRET, V. V.; **Membrane Electrodes in Drug-substances Analysis**, 1^a edição. Pergamon Press, 1982, 140.
45. CHOI, K. K.; FUNG, K. W.; *Analytica Chimica Acta*, **1982**, 138, 385.
46. CRAGGS, A.; MOODY, G. J.; THOMAS, J. D. R.; *Journal of Chemical Education*, **1974**, 51, 541.
47. CREAGER, S. E.; LAWRENCE, K. D.; TIBBETS, C. R.; *Journal of Chemical Education*, **1995**, 72, 274.
48. MEDENICA, M.; IVANOVIC, D.; *Arzneimittel –Forschung/Drug Research*, **1998**, 48, 74.

49. EL-JAMMAL, A.; BOUKLOUZE, A. A.; PATRIARCHE, G. J.; *Talanta*, **1991**, 38, 929.
50. ALONSOCHAMARRO, J., BARTROLI, J., JUN, S., LIMA, J.L.F.C., CONCEICAO, M., MONTENEGRO, B.S.M.; *Analyst*, **1993**, 118, 1527.
51. KHALIL, S.; BORHAM, N.; EL-RIES, M. A.; *Analytica Chimica Acta*, **2000**, 414, 215.
52. HASSAN S.S.M., MAHMOUD, W.H., ELMOSALLAMY, M.A.F., ALMARZOOQI, M.H.; *Analytical Sciences*, **2003**, 19, 675.
53. BUNACIU, A. A., GRASU, A., ABOUL-ENEIN, H. Y.; *Analytica Chimica Acta*, **1995**, 311, 193.
54. Torres, K. Y. C. et al.; *Talanta*, **2001**, 53, 807.
55. Fernandes, J.C.B., Garcia, C.B., Grandin, L.A., Neto, G.D., Godinho, O.E.S.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **1998**, 9, 249.