



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

INVESTIGAÇÃO ELETROQUÍMICA E DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DO FÁRMACO MEBENDAZOL UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO

Arquimedes José Moura e Silva Filho

João Pessoa, PB – Brasil

Maio/2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

INVESTIGAÇÃO ELETROQUÍMICA E DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DO FÁRMACO MEBENDAZOL UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO

Arquimedes José Moura e Silva Filho*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Mário Cesar Ugulino de Araújo

* Bolsista CAPES

João Pessoa, PB - Brasil

Maio/2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586i Silva Filho, Arquimedes José Moura e.

Investigação eletroquímica e determinação voltamétrica do fármaco mebendazol utilizando eletrodo de carbono vítreo / Arquimedes José Moura e Silva Filho. - João Pessoa, 2018.

77 f. : il.

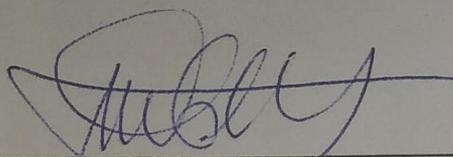
Orientação: Mário Cesar Ugulino de Araújo.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Química analítica. 2. Eletroquímica. 3. Voltametria.
I. Araújo, Mário Cesar Ugulino de. II. Título.

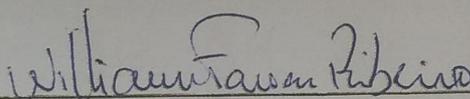
UFPB/BC

Investigação eletroquímica e determinação voltamétrica do fármaco mebendazol utilizando eletrodo de carbono vítreo.

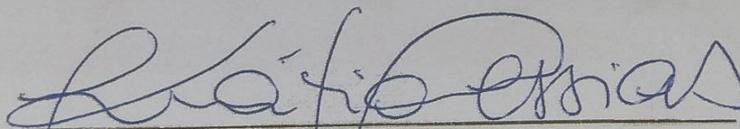
Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno Arquimedes José Moura e Silva Filho e aprovada pela banca examinadora em 28 de maio de 2018.



Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo
Orientador/Presidente



Prof. Dr. Williane Farias Ribeiro
Examinador



Profa. Dra. Kátia Messias Bichinho
Examinadora

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Arquimedes e Lúcia .

Com amor,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- À Universidade Federal da Paraíba, às pessoas com quem convivi nesses espaços ao longo desses anos.
- A meus amigos por terem feitos desses anos uma jornada mais agradável, em especial a David, Kiara, Ruliana, Breno, Paulo Victor, Daniel, Larissa, Janete, Rhayane, e a minha família pelo apoio de sempre.
- Aos professores Kátia e Edvan pelas valiosas contribuições na pré-defesa.
- Ao professor Dr. Mário César Ugulino de Araújo pela orientação.
- A CAPES, pela bolsa concedida.
- A Kelly, Matheus, Carlos, Willy, Socorro, Jéssica e a todos os colegas do LAQA e todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para este trabalho, mesmo nos menores detalhes, como uma sugestão ou uma crítica, serei eternamente grato.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1 – Estrutura química do mebendazol. | 15 |
| FIGURA 2 - Sinal de excitação proveniente da técnica vc (i), voltamograma cíclico esquemático para um processo redox de um sistema reversível (ii), quase-reversível (iii) e irreversível (iv) (Adaptado de BRETT E BRETT, 1996). | 20 |
| FIGURA 3 - Variação da corrente faradaica e corrente capacitiva com o tempo, em técnicas de pulso (SOUZA, MACHADO E AVACA, 2003). | 22 |
| FIGURA 4 – Sinal de excitação proveniente da técnica VPD (A) e voltamograma típico da vpd (B) (adaptado de BRETT E BRETT, 1996). | 23 |
| FIGURA 5 – Sinal de excitação usado na técnica VOQ (A), voltamograma esquemático de um processo REDOX de um sistema reversível da VOQ (B) e de um sistema irreversível (C) (Adaptado de BRETT E BRETT, 1996; SOUZA, MACHADO E AVACA, 2003). | 25 |
| FIGURA 6 – Sistema potenciostático eco chemie e o módulo polarográfico. | 28 |
| FIGURA 7 – Preparo das amostras de MBZ e procedimento de recuperação baseado no método de adição de padrão em amostras de comprimidos. | 33 |
| FIGURA 8 – Preparo das amostras de mbz e procedimento de recuperação baseado no método de adição de padrão em amostras de água. | 33 |
| FIGURA 9 – Voltamogramas cíclicos de uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de MBZ em uma solução de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH=1,0), $V = 50 \text{ mVs}^{-1}$: (...) branco; (—) 1ª, (—) 2ª E (—) 3ª varreduras e janela de potencial de $-0,8 \text{ A } +1,40 \text{ V vs } E_{\text{Ag}/\text{AgCl}}$ | 37 |
| FIGURA 10 – Voltamogramas cíclicos de uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de MBZ em uma solução de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH=1,0), $V = 50 \text{ mVs}^{-1}$. (...) branco; (—) 1ª varreduras e janela de potencial de $0,8 \text{ A } +1,40 \text{ V VS } E_{\text{Ag}/\text{AgCl}}$ | 37 |
| FIGURA 11 – Voltamogramas de velocidade de varredura variando de 25 a 500 mV s^{-1} uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH=1). | 38 |
| FIGURA 12 – Interferência da velocidade de varredura sobre a corrente de pico da oxidação do MBZ. Relação da IP_1 com (A) v e (B) $v^{1/2}$ em uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de MBZ em ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH=1). | 39 |
| FIGURA 13 – Influência do Log I do pico P_1 com Log V. [MBZ] DE $1,0 \times 10^{-3} \text{ Mol L}^{-1}$ em ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH=1). | 39 |
| FIGURA 14 – A) Voltamogramas de pulso diferencial em 3D obtidos em $3,74 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MBZ em diferentes eletrólitos em função do pH (TM = 70mS; IT = 0,2s; $\Delta E_S = 3 \text{ mV}$ e $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$). B) relação do I_p vs pH. | 40 |
| FIGURA 15 – Potencial aplicado no eletrodo de trabalho em função do pH por VPD em $3,74 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MBZ (TM = 70mS; IT = 0,2S; $\Delta E_S = 3 \text{ mV}$ E $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$). | 41 |
| FIGURA 16 – O mecanismo da reação redox do MBZ em $3,74 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MBZ (TM = 70mS; IT = 0,2S; $\Delta E_S = 3 \text{ mV}$ E $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$). | 42 |

| | |
|---|----|
| FIGURA 17 – Voltamograma de onda quadrada de uma solução $3,74 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MBZ em ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0). Correntes resultante – I_{Res} , direta – I_{D} e reversa – I_{R} ($F = 25\text{S}^{-1}$, $\Delta E_{\text{S}} = 2 \text{ mV}$ e $\Delta E_{\text{P}} = 50 \text{ mV}$)..... | 42 |
| FIGURA 18 – A) Voltamogramas de onda quadrada em 3d obtidos em $37,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MBZ em diferentes eletrólitos em função do pH ($f = 25\text{s}^{-1}$, $\Delta E_{\text{S}} = 2 \text{ mV}$ e $\Delta E_{\text{P}} = 50 \text{ mV}$). B) relação do I_{P} vs pH. | 43 |
| FIGURA 19 – Efeito de memória em voq usando uma solução $2,6 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR (PH 7,0) nos tempos de (A) 0 e (B) 30s. Parâmetros utilizados: $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_{\text{S}} = 1 \text{ mV}$ e $\Delta E_{\text{P}} = 80 \text{ mV}$ | 46 |
| FIGURA 20 – Curva analítica e inserção de voltamogramas de onda quadrada de MBZ em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0)..... | 47 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| TABELA 1 – Eficácia de drogas no tratamento contra helmintos transmitidos pelo solo em doses únicas ou múltiplas (adaptado DE FERREIRA, J. F. G.) | 10 |
| TABELA 2 – Propriedades do mebendazol (adaptado de FERREIRA, J. F. G.)..... | 16 |
| TABELA 3 – Testes diagnósticos para processos redox usando vc (adaptado de BRETT E BRETT, 1996; BARD E FAULKNER, 2001). | 21 |
| TABELA 4 – Parâmetros eletroquímicos estudados por voq com pré-concentração adsortiva para determinação de MBZ..... | 30 |
| TABELA 5 – OS parâmetros investigados e seus valores ótimos para a determinação de mbz por voq. concentração de MBZ $3,74 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR (pH 7,0). Condições iniciais de análise: $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_S = 2 \text{ mV}$ E $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$ | 44 |
| TABELA 6 – Comparação entre os resultados publicados na literatura para determinação de MBZ com diferentes metodologias e o presente estudo..... | 48 |
| TABELA 7 – Resultados do estudo de recuperação do mbz em amostras de comprimidos e água da torneira. | 49 |
| TABELA 8 – Resultado analítico do mbz em amostras reais. | 50 |

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BR: Britton-Robinson

CEs: Contaminantes emergentes

DPR: Desvio Padrão Relativo

E_{1/2}: Potencial de meia onda

ECV: Eletrodo de carbono vítreo

f: Frequência de Aplicação de Pulso

CLAE: Cromatografia Líquida de alto desempenho

I_d: Corrente direta

I_p ou I: Corrente de pico (“a” anódico e “c” catódico)

I_r: Corrente reversa

I_R: Corrente total ou resultante

IT: intervalo de tempo

IUPAC: (Do inglês : International Union of pure and Applied Chemistry)- União Internacional de Química Pura e Aplicada.

LD: Limite de detecção

LQ: Limite de quantificação

MBZ: Mebendazol

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada

v: Velocidade de varredura

VC: Voltametria Cíclica

VOQ: Voltametria de onda quadrada

VPD: Voltametria de pulso diferencial

ΔE_p : Amplitude de pulso

ΔE_s : Incremento de potencial

t_d : Tempo de modulação

OMS: Organização Mundial de Saúde

FDA: (Do inglês: Food and Drug Administration) - Administração de Comidas e Remédios

RESUMO

FILHO, A. J. M. S. Investigação eletroquímica e determinação voltamétrica do fármaco mebendazol usando eletrodo de carbono vítreo. 2018. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil, 2018.

Uma metodologia voltamétrica empregando VOQ com pré-concentração por adsorção foi proposta para determinação do contaminante emergente mebendazol em amostras de água da torneira e formulações comerciais deste fármaco, usando um sistema potenciostático com configuração de três eletrodos (fio de Pt como eletrodo auxiliar, Ag/AgCl como referência e carbono vítreo como eletrodo de trabalho) e tampão Britton-Robinson 0.1 mol L^{-1} (pH 7,0) como eletrólito de suporte. O material pré-concentrado por 30 s no ECV permitiu a análise do MBZ na ordem de $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ com boa precisão (testes de repetibilidade e reprodutibilidade abaixo de 5 %) e exatidão (estimada por ensaios de recuperação propriamente dita e aparente como valores superior a 94%). Comparações entre as figuras de desempenho analítico da metodologia com importantes referências da área, mesmo que sutis, também podem ser verificadas. Informações acerca do comportamento eletroquímico (reversibilidade, transporte de massa e elétrons) foram apresentadas decorrentes de estudos por VC, VPD e VOQ em diferentes meios eletrolíticos e um esquema sugestivo do provável mecanismo de reação redox foi apresentado. Trata-se, portanto, de um estudo com mérito e relevância científica, justificando a implementação de programas de monitoramento ambiental, subsidiando assim, a necessidade de criação de políticas públicas para o controle dessa substância em matrizes ambientais.

Palavras-chave: eletroquímica, voltametria, mebendazol.

ABSTRACT

A voltammetric methodology using VOQ with preconcentration by adsorption was proposed for the determination of the emerging contaminant mebendazole in samples of tap water and commercial formulations of this drug, using a potentiostatic system with configuration of three electrodes (Pt wire as auxiliary electrode, Ag / AgCl as reference and glassy carbon as working electrode) and Britton-Robinson buffer 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) as supporting electrolyte. The material preconcentrated for 30 s in the EVC allowed the analysis of the MBZ in the order of 10⁻⁸ mol L⁻¹ with good precision (repeatability and reproducibility tests below 5%) and accuracy (estimated by recovery tests above 94%). Comparisons between the figures of analytical performance of the methodology with important references of the area, even if subtle, can also be verified. Information on electrochemical behavior (reversibility, mass transport and electrons) were presented as a result of studies by VC, VPD and VOQ in different electrolytic media and a suggested scheme of the probable redox reaction mechanism was presented. Therefore, it is a study with merit and scientific relevance, justifying the implementation of environmental monitoring programs, thus subsidizing the need to create public policies to control this substance in environmental matrices.

Keywords: electrochemistry, voltammetry, mebendazole.

Sumário

| | |
|--|------|
| DEDICATÓRIA | IV |
| AGRADECIMENTOS..... | VI |
| LISTA DE FIGURAS | VII |
| LISTA DE TABELAS..... | IX |
| LISTA DE ABREVIATURAS | X |
| ABSTRACT | XIII |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 2 |
| 1.1 OBJETIVOS..... | 5 |
| 1.1.1 <i>Objetivo Geral</i> | 5 |
| 1.1.2 <i>Objetivos Específicos</i> | 5 |
| 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 7 |
| 2.1 Contaminantes emergentes | 7 |
| 2.2. Medicamentos anti-helmínticos | 9 |
| 2.3 Doenças intestinais e contaminação ambiental..... | 11 |
| 2.4 Mebendazol | 15 |
| 2.5 Métodos analíticos aplicados à análise do mebendazol | 17 |
| 2.6 Técnicas Voltamétricas..... | 18 |
| 2.6.1 Voltametria cíclica | 19 |
| 2.6.2 Voltametria de pulso diferencial | 21 |
| 2.6.3 Voltametria de onda quadrada | 23 |
| 3 EXPERIMENTAL..... | 27 |
| 3.1 Reagentes e soluções..... | 27 |
| 3.2 Instrumentação..... | 27 |
| 3.3 Preparo do eletrodo de trabalho..... | 28 |
| 3.4 Procedimento experimental..... | 29 |
| 3.4.1 Voltametria cíclica | 29 |
| 3.4.2 Voltametria de pulso diferencial | 29 |
| 3.4.3 Voltametria de onda quadrada | 30 |
| 3.4.4 Efeito de memória | 30 |
| 3.4.5 Parâmetros de desempenho analítico..... | 31 |
| 3.4.6 Preparação das amostras | 32 |
| 3.4.6.1 Preparo das amostras em comprimidos..... | 32 |
| 3.4.6.2 Preparação da amostra de água | 32 |

| | |
|---|----|
| 3.4.7 Pré-processamento dos voltamogramas | 34 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 36 |
| 4.1 Comportamento eletroquímico do MBZ | 36 |
| 4.2 Estudos por VPD | 39 |
| 4.3 Estudos por VOQ | 42 |
| 4.4 Determinação analítica do MBZ por VOQ | 44 |
| 4.4.1 Estudo dos parâmetros voltamétricos | 44 |
| 4.5 Efeito de memória | 45 |
| 4.6 Curva analítica e parâmetros de desempenho analítico | 46 |
| 4.7 Estudos de interferentes e a aplicações práticas para o MBZ | 49 |
| 5 CONCLUSÕES | 52 |
| 5.1 Propostas Futuras | 52 |
| REFERÊNCIAS | 54 |

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Lei do Saneamento Básico nº 6.766 de 1979, com modificações feitas no ano de 2007, é direito do cidadão brasileiro ter acesso à água tratada e saneamento básico **(BRASIL, 2007)**. No entanto, o Instituto Trata Brasil realizou uma pesquisa no ano de 2014 e constatou que mais de 35 milhões de brasileiros não possuem acesso à água potável. Isto causa uma série de problemas à saúde humana como, por exemplo, a diarreia que chegou a ter mais de 400 mil casos registrados em 2011 **(BRASIL, 2014)**.

Com a quantidade de doenças causadas por água contaminada, uma das consequências é a utilização de fármacos a fim de combater problemas relacionados a parasitas intestinais. Os fármacos mais utilizados para este fim são derivados dos benzimidazóis, tais como o albendazol e o mebendazol, que são de fácil administração e muito eficientes para esses fins **(FERNANDEZ, et al., 2012)**.

Doenças ocasionadas por helmintos são do tipo crônica e prejudicam de forma grave a saúde da população que vive em países de clima tropical ou subtropical com baixo poder aquisitivo. Estima-se que uma grande parte da população mundial esteja contaminada por helmintos gastrointestinais, principalmente em nações em desenvolvimento, onde há saneamento básico deficiente, assim como baixo nível educacional **(RANG et al., 2010)**.

Os fármacos têm um papel preponderante na sociedade moderna, pois oferecem mecanismos de combate a doenças, assim como são capazes de fornecer uma vida prolongada **(UEDA et al., 2009)**. No entanto, quando são ministrados de forma indevida ou desnecessária, acabam sendo substâncias tóxicas ao corpo e ao meio ambiente. A utilização inadequada de medicamentos ocorre pela sua compra em farmácias, mas outro ponto relevante se dá pelo compartilhamento de medicamentos por familiares ou amigos **(FALQUETO, 2010)**.

O Brasil é um demasiado consumidor de fármacos e como consequência esses fármacos acabam ultrapassando o seu prazo de validade **(FEBRAFARMA, 2002)**. Dessa forma, no decorrer do tratamento crônico ou urgente, a população consome apenas uma parte do medicamento comprado.

Posteriormente, são armazenados para uma outra possível ingestão que muitas vezes não ocorre, alcançando o seu prazo de validade e sendo descartado como lixo doméstico ou esgoto comum (**UEDA et al., 2009**). Os fármacos são considerados contaminantes emergentes (CEs) e o seu descarte com prazo de validade vencido poderá ocasionar impactos ambientais importantes assim como afetar os vários ecossistemas (**BARCELOS et al., 2015**).

As metodologias analíticas empregadas para a quantificação do fármaco mebendazol (MBZ), por exemplo, seguem aquelas fornecidas pela farmacopeia brasileira, como o doseamento por titulometria em meio não aquoso; para os comprimidos, pode ser realizado por espectrofotometria de absorção no ultravioleta e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Já para a suspensão oral, não há metodologia de doseamento por CLAE (**ANVISA, 2010**). No entanto, a tendência para a utilização de técnicas menos custosas e uma redução no uso de solventes orgânicos é favorável, uma vez que resultam em altos custos ecológicos.

Devido à sua alta sensibilidade, os métodos voltamétricos têm sido usados com sucesso para a detecção e determinação de vários compostos farmacêuticos. Voltametria e polarografia foram usados para a determinação de MBZ. A falta de métodos sensíveis, eficazes e rápidos exigem que sejam desenvolvidos novas metodologias para o controle dessa substância, em alternativa aos métodos cromatográficos e eletroforéticos, comumente usados. De acordo com **Souza, Machado e Avaca (2003)**, os métodos eletroquímicos são promissores para determinações em baixas concentrações, em matrizes complexas. A eficácia da técnica está ligada a uma variada disponibilidade de eletrodos de trabalho, que é um ponto muito relevante em análises eletroanalíticas, porque proporciona reações do tipo redox em moléculas e favorece a taxa de transferência de elétrons para moléculas eletroativas na região interfacial da solução com a superfície do eletrodo de trabalho. Diversos eletrodos como os de carbono e diferentes metais nobres (Au, Pt), podem ser utilizados para a determinação de compostos químicos. Entre esses, o eletrodo de carbono vítreo (ECV) tem sido amplamente utilizado para fins eletroanalíticos de compostos orgânicos, sobretudo por apresentar satisfatória janela de potencial e ser inerte em diferentes solventes orgânicos comuns.

Nesse contexto, este trabalho propõe investigar eletroquimicamente o fármaco mebendazol (MBZ) e desenvolver um método voltamétrico para análise desse composto em baixos níveis de concentração.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 *Objetivo Geral*

- Investigar o comportamento eletroquímico do fármaco mebendazol e desenvolver uma metodologia voltamétrica para a sua determinação em água e formulações comerciais.

1.1.2 *Objetivos Específicos*

- Investigar as propriedades eletroquímicas do mebendazol sobre o eletrodo de carbono vítreo (ECV).
- Propor um mecanismo de reação do mebendazol.
- Estabelecer condições experimentais e variáveis instrumentais da técnica voltametria de onda quadrada para o desenvolvimento de um método analítico para determinação de mebendazol.
- Determinar parâmetros de desempenho analítico: limites de detecção, e quantificação, repetibilidade e reprodutibilidade da metodologia proposta.
- Aplicar a metodologia desenvolvida para determinar o teor do fármaco MBZ em água e formulação comercial.

Capítulo 2

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Contaminantes emergentes

De acordo com **Seiffert (2010)**, o meio ambiente vem sofrendo diversas modificações nos últimos anos por conta do intenso desenvolvimento industrial e tecnológico. Conseqüentemente, os danos ambientais provenientes desse desenvolvimento têm chamado à atenção e advertido para que os recursos naturais sejam preservados imediatamente. Os recursos hídricos, que são fundamentais à vida, vêm sendo afetados intensamente pela degradação do meio ambiente. Dessa maneira, cresce a necessidade de um desenvolvimento mais sustentável, que nada mais é do que a execução de tecnologias alternativas mais limpas e de métodos mais eficientes para os efluentes gerados, sobretudo pelas indústrias.

Neste âmbito, é muito importante a elaboração de técnicas que sejam capazes de remover a grande quantidade de substâncias químicas lançadas de forma descontrolada no meio ambiente. Para isto, é importante que, primeiramente, sejam desenvolvidos métodos analíticos para determinação das substâncias poluentes.

Por conta dos baixos custos, os tratamentos biológicos são os mais utilizados para o tratamento de efluentes, pois além dos custos serem menores, esse tipo de tratamento consegue tratar uma quantidade muito elevada de efluentes. Porém, inúmeros poluentes orgânicos tóxicos são biorrefratários, ou seja, não são eliminados no tratamento utilizado, demandando outras técnicas para serem eliminados. As substâncias que podem contaminar as bacias hidrográficas são inúmeras, mas se destacam os fármacos e os metais pesados (**BRILLAS e CASADO, 2002**).

Os CEs envolvem diferentes grupos de substâncias químicas, tais como fármacos, cosméticos, pesticidas e nanomateriais (**USEPA, 2015**). Diversas substâncias químicas, incluindo os CEs, vêm sendo identificadas e quantificadas por métodos analíticos mais sensíveis. De acordo com a IUPAC, a expressão contaminante emergente ambiental é atribuída a uma série de substâncias que engloba tanto as novas substâncias, quanto as que já existem no ambiente há muito tempo, no entanto para os dados de monitoramento e

efeitos toxicológicos são limitados ou indisponíveis **(IUPAC, 2015)**. Os contaminantes emergentes também promovem uma facilitação o processo de bioacumulação, no qual as substâncias são retiradas do ambiente por microorganismos, plânctons, peixes, mamíferos, sendo introduzidas na cadeia trófica **(BAIRD e CANN, 2008)**.

Em maior parte dos casos, os CEs possuem características físico-químicas como persistência e bioacumulação. Estes fatores ocasionam a sua distribuição e fixação no meio ambiente **(MOURA, 2009; GATIDOU et al., 2010; PEDROUZO et al., 2011; GOMEZ et al., 2012)**. Compostos persistentes não sofrem alterações à degradação fotolítica, biológica e química, ficando inertes no ambiente por inúmeras décadas, sendo deslocados para outros lugares pelo vento, água ou por animais. Assim, causam a disseminação da poluição ambiental com ampla distribuição geográfica **(WONG et al., 2005)**.

Como no Brasil uma grande parte do esgoto produzido não é tratado, isto faz com que os CEs sejam inseridos no ambiente aquático com origem doméstica, além da contaminação gerada pelas indústrias **(MANAHAN, 2000)**. De acordo com os dados do Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento (SNIS), somente 32,% do esgoto gerado pelo povo brasileiro é submetido a tratamento **(SNIS, 2014)**. Dessa forma, a grande parte do esgoto é lançado *in natura*. Outro fato preocupante é que a maioria das estações de tratamento de esgotos - ETEs não possui uma estrutura física adequada e nem equipamentos que sejam capazes de remover as substâncias contaminantes **(MOURA et al., 2009; PEDROUZO et al., 2011)**. Outro ponto relevante é que mesmo os CEs que conseguem ser removidos facilmente, causam grande preocupação pelo simples fatos de serem lançados no meio ambiente, gerando contaminações inevitáveis e afetando a qualidade da água e até mesmo alimentos consumidos pelos seres humanos **(SODRE et al., 2010)**.

No Brasil existem alguns órgãos que são responsáveis pela fiscalização, controle e definição de quantidades permitidas em água. Ainda não foi desenvolvida uma legislação a respeito do mebendazol como resíduo. É imprescindível que estudos sejam aprofundados nessa área para que os órgãos responsáveis tomem providência para o controle dessa substância.

2.2. Medicamentos anti-helmínticos

De acordo com **Keiser e Utzinger (2010)**, cinco são as principais drogas que a Organização Mundial de Saúde (OMS) indica como medicamentos eficazes para o tratamento contra helmintos transmitidos pelo solo e infecções por *S. stercoralis*, ainda que existam outros fármacos comercializados. Estes medicamentos já são utilizados há mais de trinta anos, são eles: albendazol e mebendazol (benzimidazois), levamidazol, pamoato de pirantel e ivermectina.

O levamidazol e o pamoato de pirantel agem como antagonizando o receptor nicotínico de acetilcolina, enquanto os benzimidazois atuam no sistema microtubular do verme. Os benzimidazois, albendazol e mebendazol, são as drogas mais usadas na cura e controle de helmintos disseminados pelo solo e também bastantes utilizadas como tratamento preventivo em públicos de risco, sem diagnóstico prévio. O tratamento preventivo é defendido pela OMS e devido a sua eficácia no combate aos vermes e pela fácil administração oral **(KEISER e UTZINGER, 2010)**. Estes cinco fármacos, administrados nas doses indicadas para doses únicas e múltiplas, proporciona resultados que estão disponíveis de forma resumida na **Tabela 1 (KEISER e UTZINGER, 2010; FERREIRA, J. F. G.)**.

Medicamentos para tratamento de vermes, como o mebendazol (100 e 500 mg) e o albendazol (400 mg) estão disponíveis há muitos anos no mercado. O mebendazol tem sido muito utilizado em todo o mundo. Administrado oralmente possui relativamente baixa absorção, apresenta pequenos efeitos colaterais e tem amplo espectro contra helmintos transmitidos pelo solo. Outras vantagens são o baixo custo, boa eficácia e a não intervenção sobre a microbiota intestinal **(CAÑETE, et. al, 2009)**. Ambos albendazol e mebendazol são doados para os ministérios da saúde, através da OMS. A meta global da OMS é eliminar a morbidade em crianças devido a infecções por geo-helmintos até 2020 **(WHO, 2014)**.

Tabela 1 – Eficácia de drogas no tratamento contra helmintos transmitidos pelo solo em doses únicas ou múltiplas (Adaptado de FERREIRA, J. F. G.).

| Verme | Medicamento | Dose administrada | Cura (%) |
|------------------------|---|--|----------|
| <i>A. lumbricoides</i> | Albendazol | 400 mg (única dose) | 88 |
| | Mebendazol | 500 mg (única dose) | 95 |
| | | 100 mg, duas vezes por dia, em três dias seguidos | 92 |
| | Pamoato de pirantel | 10 mg Kg ⁻¹ (única dose) | 88 |
| | | 10 mg Kg ⁻¹ , em três dias consecutivos | 92 |
| <i>Ancilostomo</i> | Levamidazol | 2,5 mg Kg ⁻¹ (única dose) | 92 |
| | Albendazol | 400 mg (única dose) | 72 |
| | Mebendazol | 500 mg (única dose) | 15 |
| | | 100 mg, duas vezes por dia, em três dias seguidos | 80 |
| | Pamoato de pirantel | 10 mg Kg ⁻¹ (única dose) | 31 |
| | 10 mg Kg ⁻¹ , em três seguidos | 31 | |
| <i>T. trichiura</i> | Levamidazol | 2,5 mg Kg ⁻¹ (única dose) | 68 |
| | Albendazol | 400 mg (única dose) | 28 |
| | | 400 mg em três dias consecutivos | 53 |
| | Mebendazol | 500 mg (única dose) | 36 |
| | | 100 mg, duas vezes por dia, em três dias seguidos | 63 |
| | Pamoato de pirantel | 10 mg Kg ⁻¹ (dose única) | 27 |
| | | 10 mg Kg ⁻¹ , por três dias seguidos | 31 |
| | Levamidazol | 2,5 mg Kg ⁻¹ (única dose) | 10 |

| | | | |
|-----------------------|-------------|--|----|
| <i>S. stercoralis</i> | Ivermectina | 200 µg kg ⁻¹ (única dose) | 88 |
| | | 200 µg kg ⁻¹ , em dois dias seguidos | 96 |
| | Albendazol | 400 mg (única dose) | 69 |
| | Albendazol | 400 mg, duas vezes por dia, por três dias seguidos | 62 |

O mebendazol é um fármaco do tipo anti-helmíntico sintetizado através dos benzimidazóis. O medicamento age bloqueando a absorção de glicose nos vermes e conseqüentemente encurtando seu período de sobrevivência e procriação. Além de tudo, ele é capaz de erradicar os ovos de *Ancilostomídeos*, *Ascaris* e *Trichuris* (MEHTA, 2013).

Comprimidos de mebendazol são vendidos há muitos anos em doses únicas de 500 mg. São adequados tanto para crianças quanto para adultos. Uma nova possível infecção pode ocorrer, assim aconselha-se que depois de duas semanas da primeira dose, seja realizada uma nova ingestão do medicamento (FRIEDMAN, ALI, e ALBONICO, 2012).

O mebendazol também é vendido na forma de comprimidos de 100 mg e em suspensão oral de 20 mg mL⁻¹, tanto para crianças como para adultos. Por ser de fácil ingestão, a suspensão oral é a mais recomendada para uso pediátrico. Já os adultos utilizam mais os comprimidos (KOGIEN e TEIXEIRA, 2011). Também está disponível no mercado os comprimidos mastigáveis na dose de 100 mg (DRUGBANK, 2014).

2.3 Doenças intestinais e contaminação ambiental

As doenças intestinais helmintíases e protozooses são comuns em grandes centros urbanos de regiões tropicais. Os parasitas mais comumente encontrados no intestino das pessoas são: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e os *ancilostomídeos* (*necator americanus* e *Ancylostoma duodenale*).

Já entre os protozoários, destacam-se *Entamoeba histolytica* e a *Giardia intestinalis*. Os parasitas intestinais podem causar variados danos aos seres humanos, tais como obstrução intestinal (*Ascaris lumbricoides*), desnutrição (*Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*), anemia por carência de ferro (*ancilostomídeos*), diarreia e má absorção de nutrientes (*Entamoeba* e *Giardia*). Os sintomas manifestados no indivíduo vão depender do grau da carga parasitária presente no seu organismo **(TEIXEIRA e HELLER, 2004)**.

Doenças causadas por parasitas são caracterizadas pela agregação entre seres vivos. O parasita é o invasor e o hospedeiro é o que acomoda o parasita **(NEVES, 2004)**. Muitos são os distúrbios causados pelo parasitismo. Eles podem ser originados por protozoários (amebíase, giardíase, doença do sono, doença de Chagas, leishmaniose, malária, toxoplasmose, tricomoníase e epneumocistose), por helmintos que se dividem em três classes: nematodos, cestodos e trematodos; por insetos como a sarna, piolhos (pediculose) e larvas **(WILLIAMS e LEMKE, 2008)**. Os helmintos que infectam hospedeiros humanos subdividem-se em duas categorias ou filos: platelmintos (vermes achatados) e asquelmintos ou nematoides (lombrigas) **(WILLIAMS e LEMKE, 2008)**.

Protozoários e helmintos são os tipos de micro-organismos que podem hospedar-se no trato gastrointestinal **(HARHAY, HORTON, e OLLIARO, 2010)**. Os helmintos são espécies pluricelulares que podem hospedar-se em plantas e animais ou até mesmo viver livremente. Os seres humanos são os tipos de hospedeiros de diversos tipos de helmintos, proporcionando o seu crescimento e acomodação **(CASTIÑEIRAS e MARTINS, 2000-2003)**.

Os vermes, quando alcançam o estágio adulto, são capazes de colocar milhões de ovos diariamente no intestino humano. Posteriormente, os ovos são eliminados pelas fezes das pessoas infectadas e, em regiões onde há saneamento básico precário, esses ovos acabam infectando o solo e as águas. O clima quente e úmido contribui para que esses ovos se desenvolvam sobre o solo, sendo habitual em nações com clima tropical ou subtropical. O solo contaminando acaba contaminado águas e vegetais **(BETHONY, et al., 2006; WHO, 2014)**.

As larvas disponíveis no solo são capazes de introduzir-se na pele e contaminar o homem, pois além do contágio pelo contato direto com os ovos, é

possível contaminar-se por via cutânea. No entanto, não é possível contaminar-se através de pessoa para pessoa ou por contato com fezes frescas. A causa disto é pelo fato de os ovos precisarem de pelo menos vinte e um dias para alcançarem o seu ciclo e passarem a ter um poder de contaminação. Os vermes também são capazes de se proliferarem nos seres humanos. Assim, uma nova infecção sucede apenas com um novo contato com agentes infectados no meio ambiente **(WHO, 2014)**.

O Ministério da Saúde e o Ministério do Meio Ambiente são os órgãos responsáveis pelas normas do descarte adequado de medicamentos nos país. Assim, são fornecidos meios para que os usuários de medicamento possam descartar os resíduos medicamentosos de forma consciente **(FALQUETO et al., 2006)**.

Em 26 de janeiro de 1999, foi criado pelo Ministério da Saúde a Agência Nacional de Vigilância Sanitária **(ANVISA)**, que a uma entidade que estabelece instruções a fim de proporcionar assistência à população, através de controle sanitário da fabricação e da venda de produtos e serviços submetidos à vigilância sanitária. A ANVISA é também responsável em trazer contribuições de proteção do meio ambiente **(VAZ; FREITAS; CIRQUEIRA, 2011)**.

As indústrias farmacêuticas também devem seguir às normas adequadas com o intuito de causar menos danos ao meio ambiente. Para isso devem estar de acordo com as Boas Práticas de Fabricação previstas pela RDC 17 de 16 de abril de 2010 **(BRASIL, 2010)**, que também prevê o descarte correto dos resíduos produzidos. As indústrias de fármacos também estão sujeitas a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998, que estabelece punições penais e administrativas àqueles que realizarem atividades danosas ao meio ambiente (Lei de Crimes Ambientais). As imperfeições ou a falta de licenciamento ambiental é crime e pode levar a pena de detenção de um a seis meses e/ou multa para aqueles que realizarem serviços que gerem poluições sem licença ou autorização aos órgãos ambientais competentes. Tais serviços podem ser relacionados a construção, reformas, ampliações, instalações, dentre outros **(BRASIL, 1998)**.

Os hospitais, as drogarias, farmácias e distribuidoras de medicamento estão sujeitos à norma RDC nº 306, de 7 de dezembro de 2004, que estabelece a gestão de resíduos e serviços da saúde. Assim, são

estabelecidos uma série de procedimentos de como gerir, planejar e implementar de acordo com bases técnicas e científicas legais, objetivando amenizar a geração de resíduos de forma eficiente, oferecendo meios de proteção aos trabalhadores envolvidos, a preservação dos recursos do meio ambiente e da saúde pública **(ANVISA, 2004)**.

Em uma pesquisa feita por **Ueda et al. (2009)**, constatou-se que uma parcela expressiva da população não possui conhecimento a respeito do descarte de medicamentos e nem das possíveis consequências causadas ao meio ambiente e aos seres humanos, oriundas do descarte inadequado daqueles produtos.

A população, no entanto, não é responsável de forma exclusiva por tais condutas. Sabe-se que não há uma legislação específica sobre como realizar um descarte de maneira correta pelos usuários de medicamentos. Assim, como também, não existe um lugar específico para o recolhimento dos produtos com validade vencida ou até mesmo dentro do prazo de validade **(UEDA et al., 2009)**.

O rejeito de fármacos possui inúmeras consequências em meio aquoso. Uma mistura de fármacos no meio ambiente, em geral, causa impactos mais profundos do que um determinado fármaco isolado **(CARVALHO et al., 2009)**. De acordo com **Flaherty e Dodsos (2005)**, as combinações de diversas substâncias possuem um comportamento imponderável em meio aquático, provocando graves efeitos em *Daphnia magna*. Estas são espécies aquáticas que possuem efeito biorregulador e são bastante utilizadas em ensaios de laboratórios com a finalidade de verificar o grau de toxicidade, tais como elevação da mortalidade e deformidades.

Além de ser utilizado na medicina humana, o mebendazol também é utilizado na medicina veterinária. Em um estudo de toxicidade realizado, constatou-se que concentrações superiores a 10 mg L⁻¹ causavam danos branquiais que comprometiam as funções vitais dos peixes **(FUHR, 2015)**.

O flubendazol e o fenbendazol, pertencentes ao grupo dos benzimidazóis, são drogas anti-helmínticas amplamente utilizadas em medicina veterinária para tratar doenças na agricultura e na aquicultura e também na medicina humana **(WAGIL et al., 2015)**. De acordo com a literatura, os resíduos de flubendazol foram encontrados no lixiviado de estrume agrícola

para águas de drenagem atingindo valores de até 300 ng L⁻¹ (WEISS *et al.*, 2008), bem como afluentes (19,9-89,7 µg L⁻¹) e efluentes (55,0-671,0 ng L⁻¹) de águas residuais da indústria farmacêutica (VAN DE STEENE e LAMBERT 2008). Além disso, eles também foram detectados nas águas superficiais do rio Llobregat, Espanha, nas concentrações até 1,32 ng L⁻¹ (ZRNCIC *et al.*, 2014). Assim, esses compostos e outros produtos farmacêuticos foram classificados como contaminantes ambientais emergentes há quase 15 anos.

2.4 Mebendazol

O mebendazol (Figura 1), com massa molecular 295,3 g mol⁻¹, sendo constituído por 65,08% de carbono, 4,44% de hidrogênio, 14,23% de nitrogênio e 16,25% de oxigênio. É considerado uma molécula pequena e descrito como um pó branco ou quase branco, podendo ser levemente amarelado e sem cheiro. É praticamente insolúvel em água, álcool, clorofórmio, éter, diclorometano e em ácidos minerais diluídos; é livremente solúvel em ácido fórmico (DRUGBANK, 2014; SWEETMAN, 2005; O'NEIL, *et. al.*, 2013).

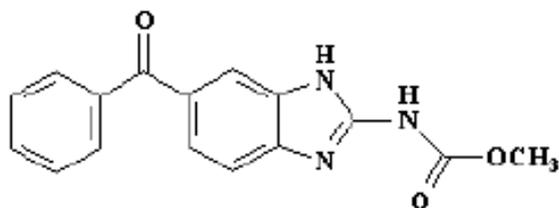


Figura 1 – Estrutura química do mebendazol.

O medicamento age bloqueando a absorção de glicose nos vermes e consequentemente encurtando seu período de sobrevivência e procriação. Além de tudo, ele é capaz de erradicar os ovos de *Ancilostomídeos*, *Ascaris* e *Trichuris* (MEHTA, 2013). Classifica-se nas categorias antinematóide e modulador da tubulina. Do ponto de vista químico, o MBZ é o metil 5-benzimidazol-2-carbanato. Algumas outras propriedades importantes preditas

do mebendazol estão descritas na **Tabela 2 (CHEMSPIDER, 2013; DRUGBANK, 2014)**.

Tabela 2 – Propriedades do mebendazol (Adaptado de FERREIRA, J. F. G.).

| Característica | Valor |
|-------------------------------------|--|
| Índice de refração | 1,70 |
| Volume molar | Em torno de 213 cm ³ |
| Número de aceptadores de hidrogênio | 6,00 |
| Número de doadores de hidrogênio | 2,00 |
| Refratividade molar | Em torno de 0,82 x 10 ² cm ³ |
| Polarizabilidade | Em torno de 3,30 x 10 ⁻²⁵ cm ³ |
| Densidade | Em torno de 1,40 g cm ⁻³ |
| Solubilidade em água | 3,87 x 10 ⁻² g L ⁻¹ |
| pK _a (meio muito ácido) | 8,44 |
| pKa (meio muito básico) | 3,93 |
| Coefficiente de partição | Em torno de 3,00 |

O mebendazol é uma substância orgânica, da classe do benzeno e derivados substituídos e subclasse das benzofenonas. As benzofenonas são compostos onde uma cetona central é ligada a dois grupamentos fenil **(DRUGBANK, 2014)**.

O mebendazol é adequado para o combate de *Enterobiusvermicularis* (traça), *Trichuristrichiura* (vermes chamadas de chicote), *Ascarislumbricoides* (lombrigas comuns), *Ancylostomaduodenale* (ancilostomíase comum), *Necatoramericanus* (ancilostomíase americano). A farmacodinâmica do medicamento fundamenta-se em impossibilitar a polimerização da tubulina e isto acaba resultando a destruição de microtubos citoplasmáticos. Essas perdas de microtubos citoplasmáticos tornam os parasitas (adultos ou em fase de larva) a ficarem com deficiência em glicose e, conseqüentemente, deficientes em glicogênio. Esta degradação se dá no retículo endoplasmático e nas mitocôndrias, com liberação dos lisossomos e causando uma diminuição da fração de energia fundamental para continuidade do helminto. Assim o parasita sofre um processo de imobilização até a sua morte **(DRUGBANK, 2014)**.

Apenas 5% a 10 % de MBZ é absorvido no trato gastrointestinal, no entanto a ligação a proteínas é alta, cerca de 90 % a 95 %. Seu metabolismo é principalmente hepático, cujo metabólito principal é o 2-amino-5-benzoilbenzimidazole. Todos os outros metabólitos conhecidos são desprovidos de atividade anti-helmíntica. Cerca de 2% do MBZ é eliminado pelas fezes como fármaco inalterado e o que resta como metabólito primário para pacientes com função hepática normal. Já a meia-vida é de 2,5 a 5,5 horas, podendo chegar a 9 horas; já em pessoas que possuam alguma deficiência na função hepática (colestase), a meia-vida de eliminação pode suceder em até 9 horas (**DRUGBANK, 2014**).

2.5 Métodos analíticos aplicados à análise do mebendazol

As determinações analíticas individuais e/ou simultâneas de mebendazol envolvem, geralmente, técnicas cromatográficas, espectrofotométricas e eletroanalíticas. **Lee et al. (2017)** utilizaram cromatografia líquida acoplada com espectrometria de massa para a determinação de resíduos de mebendazol em carnes de porco, frango e cavalo. Recuperações na faixa de 86 % a 101 % foram obtidas. Os resultado também demonstraram que o LD calculado e LQ foram de 0,07 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 0,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente.

Vichapong et al. (2015) propuseram um método CLAE para determinação de mebendazol em ovos de galinha, pato e codorna. LD 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ LQ 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. Para os ovos de galinha os testes de recuperação variaram de 96 % a 102,7 %. Já nos ovos de pato, os testes de recuperação variaram de 96% a 106 % e para os ovos de codorna houve uma variação de 92 % a 102,7 %.

Swamy et al. (2014) descreveram um método espectrofotométrico UV-VIS para a determinação de mebendazol em comprimidos. LD e LQ foram de 0,11 e 0,33 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente. Os testes de recuperação variaram de 97,38 % a 103,5 %.

Os métodos voltamétricos de análise vêm ganhando importância para determinação de fármacos. De acordo com **Baranowska et al. (2008)**, para a determinação de fármacos, normalmente são utilizadas os métodos

cromatográficos e eletroforese. É menos frequente a utilização de métodos espectrométricos e eletroanalíticos para determinação de medicamentos. Os métodos eletroanalíticos podem ser utilizados como métodos comparativos de outros métodos ou em materiais de referência certificados (por exemplo, urina com medicamentos diferentes) ou como métodos de detecção em cromatografia líquida de alta performance (CLAE). Assim, algumas pesquisas contidas na literatura mostraram pesquisas que utilizaram as técnicas voltamétricas para análise de determinação de mebendazol em diferentes matrizes.

Conesa (1996) realizou estudos para determinação do mebendazol em urina utilizando eletrodo de mercúrio gotejante (polarografia). O limite de detecção obtido variou de $3,7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,3 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$. A repetibilidade foi de 2,3 % e o teste de recuperação variou de 65,8 % a 75,9 %.

Tltus et al. (2003) fez uma determinação simultânea de uma mistura de anti-helmintos: mebendazol, fenbendazol, oxibendazol, thiabendazol e albendazol. O eletrodo utilizado foi o de carbono vítreo modificado com poly(3-methylthiophene). O limite de detecção do MDZ foi de $4,97 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ utilizando VPD. As análises foram feitas em resíduos de medicamentos veterinários.

2.6 Técnicas Voltamétricas

As técnicas voltamétricas são derivadas das técnicas eletroquímicas que começaram a ser estudadas na Itália ainda no fim do século XVIII, por Luigi Galvani. As técnicas eletroquímicas permitem que seja feita uma relação entre a concentração do analito e algumas grandezas elétricas, tais como: potencial, corrente elétrica, resistência e condutividade (**TICIANELLI e GONZÁLEZ, 2005; SOUZA, MACHADO E AVACA, 2003**). Nos últimos anos, estas técnicas vêm sendo aplicadas em diversas áreas do conhecimento como a biologia molecular, medicina, físico-química e química ambiental (**SKOOG et al. 2008**).

A voltametria compreende um conjunto de técnicas eletroanalíticas nas quais as informações do analito se baseiam na medida da corrente resultante da oxidação ou redução na superfície de um eletrodo de trabalho durante a

aplicação de uma diferença de potencial na célula eletroquímica, que será capaz de favorecer uma transferência de elétrons. Desde sua invenção em 1922, pelo professor Jaroslav Heyrovsky, a polarografia, que é um tipo particular de voltametria, chegou a ser a primeira técnica a ser utilizada em análise química e, no final dos anos trinta e início dos anos quarenta, a única técnica de análise automática **(SOUZA, MACHADO e AVACA, 2003;SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002)**.

O registro da corrente em função do potencial é denominado voltamograma e a magnitude da corrente obtida pela transferência de elétrons durante um processo de oxirredução pode ser relacionada com a quantidade de analito presente na interface do eletrodo, e, conseqüentemente, na cela eletroquímica **(SOUZA, MACHADO e AVACA, 2003; SKOOG, HOLLER e NIEMAN,2002)**.

Dentre as técnicas voltamétricas mais utilizadas em estudos eletroquímicos e desenvolvimento de métodos eletroanalíticos, destacam-se a voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada **(SOUZA, MACHADO E AVACA, 2003; BARD E FAULKNER, 2001)**.

2.6.1 Voltametria cíclica

Nos processos eletroquímicos, a voltametria cíclica é uma técnica bastante utilizada para fins qualitativos. Uma varredura de potencial direta e inversa é feita em ciclos consecutivos fornecendo uma possível visualização de picos catódicos e anódicos da espécie eletroativa envolvida. Essa técnica possui uma grande eficácia em proporcionar dados termodinâmicos envolvidos em processos de oxirredução, da cinética de reações heterogêneas de transferência de elétrons, assim como também é capaz de fornecer informações a respeito de reações químicas acopladas a processos adsorptivos e averiguar os possíveis intermediários ou produtos da reação **(WANG, 2006)**.

Um determinado potencial é aplicado ao eletrodo de trabalho, variando a uma determinada velocidade, até que seja alcançado um potencial máximo desejado. Posteriormente, a varredura é invertida e para processos reversíveis há uma formação de picos catódicos e anódicos que auxiliam na identificação

de parâmetros eletroquímicos tais como potenciais de pico catódico e anódico (E_{pc} e E_{pa}), correntes de pico catódico e anódico (I_{pc} e I_{pa}) e os potenciais de meia onda ($E_{1/2}$) (BRETT e BRETT, 1996; BARD e FAULKNER, 2001; ZOSKI, 2006). O sinal de excitação e os voltamogramas cíclicos exibindo processos eletroquímicos reversíveis são mostrados na **Figura 2**.

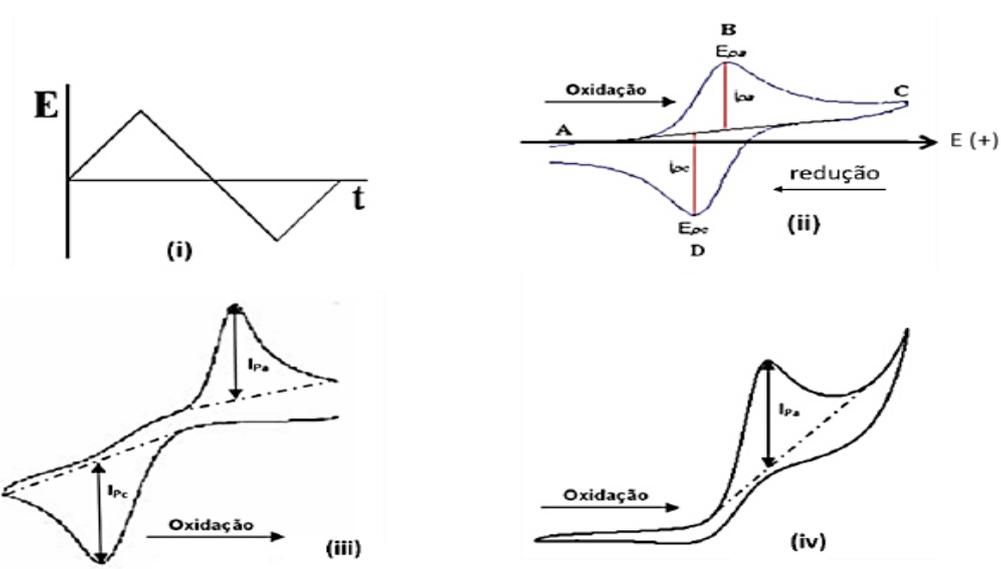


Figura 2 - Sinal de excitação proveniente da técnica VC (i), voltamograma cíclico esquemático para um processo redox de um sistema reversível (ii), quase-reversível (iii) e irreversível (iv) (adaptado de BRETT e BRETT, 1996).

Em voltametria cíclica, existem testes de diagnósticos que permitem expressar se um processo de transferência de elétrons é reversível ou irreversível em reações químicas. Estes testes baseiam-se na dependência do potencial de pico e da corrente de pico em função da variação da velocidade de varredura estudadas. Os testes de diagnósticos que podem caracterizar determinados tipos de processos de oxirredução são descritos na **Tabela 3**.

Tabela 3 – Testes diagnósticos para processos redox usando VC (Adaptado de BRETT e BRETT, 1996; BARD e FAULKNER, 2001).

| REVERSÍVEIS | QUASE REVERSÍVEIS | IRREVERSÍVEIS |
|--|---|---|
| $I_p \propto v^{1/2}$ | I_{pc} aumenta com v | $I_{pc} \propto v^{1/2}$ |
| $ I_{pa}/I_{pc} = 1$ | $ I_{pa}/I_{pc} = 1$ se $\alpha = 0,5$ | ausência de pico reverso |
| $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 59/n$ (mV) | $\Delta E_p > 59/n$ (mV) e aumenta com v | $ dE_p/d\log v = 29,6/(\alpha n')$ (mV) |
| $ E_p - E_{p/2} = 56,6/n$ (mV) | - | $ E_p - E_{p/2} = 47,7/(\alpha n')$ (mV) |
| E_p independe de v | E_{pc} desloca negativamente com o aumento de v | E_p depende de v |

I_p : corrente de pico (“a” anódico e “c” catódico)
 v : velocidade de varredura
 E_p : potencial de pico (“a” anódico e “c” catódico)

α = proporcional
 α' = coeficiente de transferência de carga
 n = números de elétrons

2.6.2 Voltametria de pulso diferencial

O avanço da informática teve uma contribuição bastante relevante para as técnicas eletroquímicas, sobretudo, às técnicas voltamétricas e, em particular, às técnicas de pulso em substituição às técnicas polarográficas. Assim, foi possível haver um interfaciamento dos equipamentos eletroanalíticos proporcionando um monitoramento digital de uma perturbação sobreposta ao eletrodo de trabalho (**WIGHTMAN et al., 1982**).

De acordo com **Souza et al. (2003)**:

“[...] A corrente capacitiva é proporcional a $e^{-t/RC}$, onde t é o tempo, R a resistência da solução e C a capacitância da dupla camada, e a corrente faradaica é aproximadamente proporcional a $t^{-1/2}$. O decaimento da primeira, após a aplicação do pulso de potencial, é muito mais rápido que o da última. Assim, as medidas de corrente somente são realizadas após a contribuição da corrente capacitiva ter se minimizado. [...] A corrente é medida em uma fração de tempo fixa chamada de período (τ).”

Dessa forma, observa-se na **Figura 3** que a medida da corrente é feita quando a corrente capacitiva é minimizada.

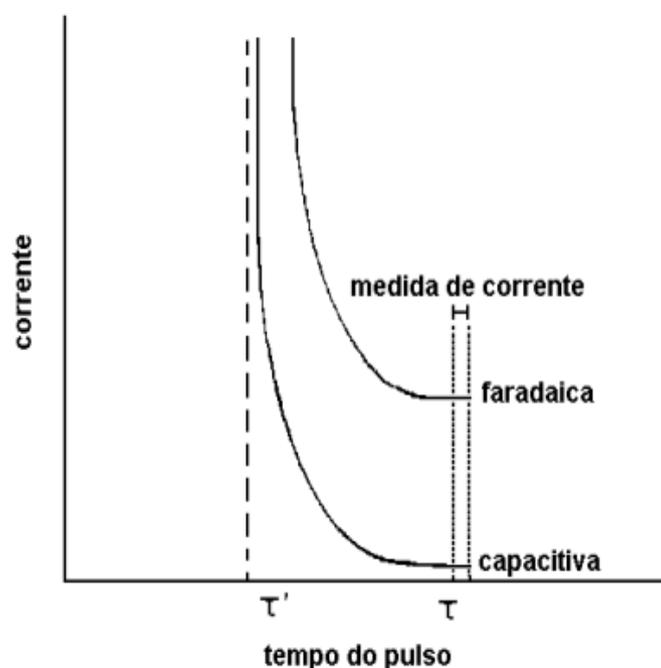


Figura 3 - Variação da corrente faradaica e corrente capacitiva com o tempo, em técnicas de pulso (SOUZA, MACHADO e AVACA, 2003).

Os pulsos de potencial subsequente de igual amplitude (ΔE_p) são aplicados sobre uma rampa linear ou escada de potencial com incremento (ΔE_s) em intervalos de tempo e a corrente é medida antes do pulso ser aplicado (I_1) e logo no final do pulso (I_2), de acordo com a **Figura 4A**. Estas correntes são subtraídas, já que a primeira é principalmente a contribuição da corrente capacitiva e a segunda a contribuição da corrente faradaica, e então registradas contra o potencial, gerando o voltamograma de pulso diferencial (**Figura 4B**) (BRETT e BRETT, 1996; BARD e FAULKNER, 2001).

O tempo t durante o qual o pulso de potencial é aplicado define a largura do pulso. O tempo t' é o intervalo entre duas aplicações sucessivas de pulso, e determina conjuntamente com o valor do incremento de potencia (ΔE_s) e a velocidade de varredura (v), de acordo com a **Equação 2.1**. Em VPD, a velocidade de varredura varia normalmente entre 1 e 10 mV s^{-1} (BRETT e BRETT, 1996; ZOSKI, 2006).

$$v = \tau x \Delta E_s$$

(Equação 2.1)

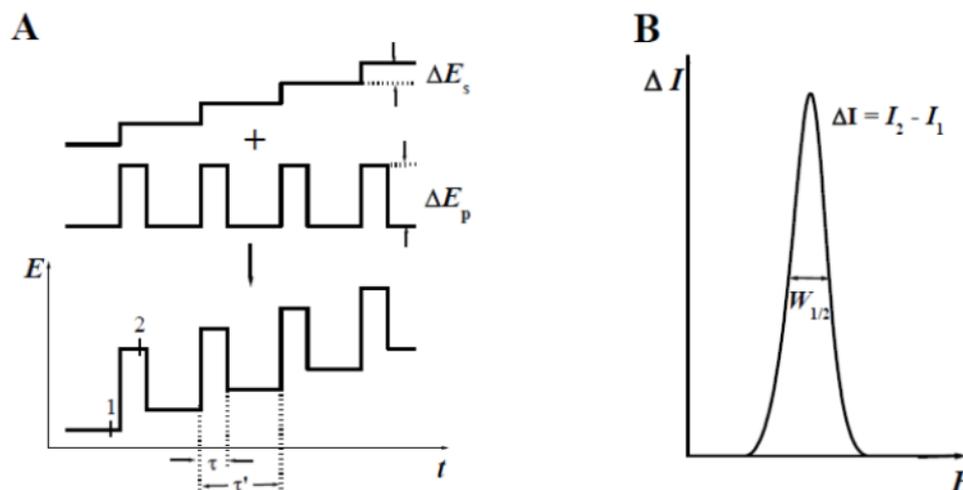


Figura 4 – Sinal de excitação proveniente da técnica VPD (A) e voltamograma típico da VPD (B) (Adaptado de BRETT e BRETT, 1996).

Através da VPD, estima-se o número de elétrons presentes em processos REDOX. O número de elétrons é calculado (Equação 2.2) a partir da medição da largura do pico a meia altura ($W_{1/2}$), que é proporcional ao número de elétrons quando a amplitude do pulso está tendendo a zero (WANG, 2000).

$$W_{\frac{1}{2}} = \frac{3,52RT}{nF}$$

(Equação 2.2)

Onde R é a constante universal dos gases ($8,314 \text{ Pa m}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T é a temperatura absoluta (K), F é a constante de Faraday ($96.485 \text{ C mol}^{-1}$) e n é o número de elétrons envolvidos no processo. A 298 K, espera-se um $W_{1/2}$ de 90, 45 ou 30 mV para reações envolvendo 1, 2 ou 3 elétrons, respectivamente.

2.6.3 Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada, assim como a VPD, é uma técnica de pulso, bastante utilizada na determinação de compostos orgânicos, que

apresenta rapidez e uma boa sensibilidade. Os seus limites de detecção podem ser equiparados aos da cromatografia e espectroscopia. A técnica foi desenvolvida por Geoffery Barker e colaboradores no ano de 1953 com o intuito de amenizar as correntes capacitivas obtidas nas análises polarográficas.

A VOQ também é capaz de estimar informações a respeito da cinética e do mecanismo levando em consideração se a espécie adsorve ou não na superfície do eletrodo de trabalho **(CARRACEDO et al, 2002; MICHALKIEWICZ et al, 2002; ZHENG et al, 2001)**.

Na VOQ, as correntes elétricas são medidas de modo diferencial ao fim dos pulsos diretos e reversos e o sinal é dado como sendo a intensidade da corrente resultante. Dessa forma, o método demonstra ter uma ótima sensibilidade e alta rejeição às correntes capacitivas. O pico de corrente resultante é originada porque os pulsos de potenciais são submetidos a pulsos de potenciais com amplitude ΔE_p , que podem sofrer variações conforme com a programação de potenciais em forma de escada, com o incremento ΔE_s e duração $2t$ (período) **(OSTERYOUNG e OSTERYOUNG,1985)**.

Nesta técnica, o regime de amostragem permite obter como resposta três tipos de curvas: a corrente I_1 (ou I_d) registrada no final do pulso de potencial direto (corrente direta), a corrente I_2 (ou I_r) registrada no final do pulso reverso (corrente reversa) e a corrente total ou resultante (ΔI ou I_t) que corresponde à diferença entre essas duas. A corrente I_2 possui sinal contrário a I_1 **(SOUZA, MACHADO e AVACA, 2003; ZOSKI, 2006)**. O sinal de excitação e os voltamogramas correspondentes às amostragens de corrente estão apresentados na **Figura 5**.

De acordo com **BRETT e BRETT (1996)** e **FAULKNER (2001)**, utilizar a técnica VOQ traz algumas vantagens quando se compara com a utilização de outras técnicas de pulso, tais como:

- Observar correntes de pico bem definidas em análises realizadas com elevada velocidade de varredura, (podendo chegar a 1 Vs^{-1}), com ótima discriminação entre a corrente capacitiva e a faradaica, ocasionando em uma melhor sensibilidade da técnica.

- Redução nos problemas de passivação dos eletrodos e baixo consumo de espécies eletroativas.
- A interferência do O_2 dissolvido, muitas vezes, é pouco significativa em medidas com VOQ.
- A velocidade efetiva para uma análise por VOQ é obtida pelo produto da frequência (f) de aplicação de pulso e ΔE_s .

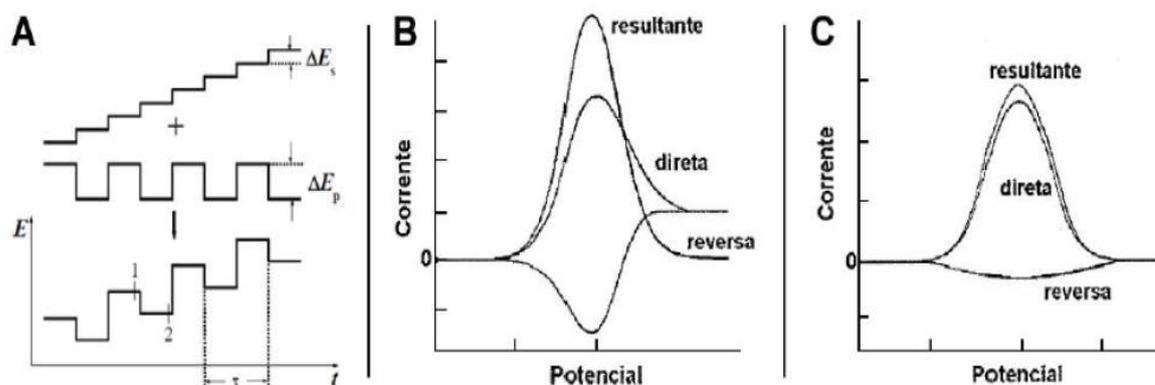


Figura 5 – Sinal de excitação usado na técnica VOQ (A), voltamograma esquemático de um processo redox de um sistema reversível da VOQ (B) e de um sistema irreversível (C) (Adaptado de BRETT e BRETT, 1996; SOUZA, MACHADO e AVACA, 2003).

Capítulo 3

EXPERIMENTAL

3 EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Uma solução estoque de concentração $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de MBZ foi preparada em ácido fórmico P.A. (85%), devido sua baixa solubilidade em água ($71,3 \text{ mg L}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$).

Os eletrólitos suporte utilizados para os estudos de pH foram o tampão Britton-Robinson (BR) e o ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A solução tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada de acordo com os procedimentos relatados por **Ensafi, Khayamian e Khaloo (2004)**: mistura de 2,3 mL de ácido acético glacial, 2,7 mL de ácido fosfórico e 5g de ácido bórico diluídas para 1L de solução. O pH do tampão BR foi ajustado em um medidor de pH por meio de adições de uma solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, a faixa de pH estudada foi de 2,0 a 10,0. Uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido sulfúrico foi utilizada como eletrólito suporte (pH 1,0).

Para o estudo de interferentes, uma solução estoque mista dos íons Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^- e NO_3^{2-} (possíveis interferentes da água da torneira) na concentração de $1,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e no eletrólito suporte tampão BR pH 7,0. Amostras de substâncias orgânicas também foram utilizadas para os estudos de interferentes, onde uma solução estoque mista de lactose, sacarose e ácido glutâmico (excipientes como possíveis interferentes dos comprimidos) na concentração de $1,7 \times 10^{-4}$ no eletrólito de suporte tampão BR (pH 7,0) foi preparada.

Para a limpeza do eletrodo trabalho foi utilizado uma solução de HCl de concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Todos os reagentes utilizados no devido trabalho eram de grau analítico, obtidos pela Sigma-Aldrich. As soluções aquosas foram preparadas com água purificada em sistema Milli-Q Plus $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$. As soluções preparadas eram armazenadas sob refrigeração.

3.2 Instrumentação

As medições voltamétricas foram realizadas em um potenciostato Eco Chemie, $\mu\text{Autolab}^{\text{®}}$ Type II, acoplado a um módulo polarográfico Metrohm, 663

VA Stand[®], funcionando no modo potenciostático (**Figura 6**), interfaceado a um *notebook* HP pavilion g4 1180br. A célula eletroquímica (vidro Pyrex[®] fechada com uma tampa de Teflon[®]) foi equipada com três eletrodos: um eletrodo de referência Ag/AgCl – KCl (3,0 mol L⁻¹), um fio de platina como eletrodo auxiliar e como eletrodo de trabalho, empregou-se o ECV ($\phi = 3$ mm).



Figura 6 – Sistema potenciostático Eco Chemie e o módulo polarográfico.

Para as medições de pH, foi utilizado pHmetro 713 da Metrohm. Para homogeneizações das soluções, foi utilizado o banho-ultrassônico USC 1400 da Ultrasonic Cleaner.

3.3 Preparo do eletrodo de trabalho

Inicialmente, o ECV era polido em papel filtro embebido com spray de grão de diamante (1 μm) da Kemet International Ltda, UK, seguido de uma lavagem com água deionizada. O eletrodo foi condicionado em ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ mediante 10 voltamogramas cíclicos, numa janela de 0 a +1,4 V com velocidade de 0,05 V s⁻¹. Antes da realização das medidas propriamente ditas, foram realizadas algumas varreduras no eletrólito suporte, para então ser registrado o sinal do branco.

3.4 Procedimento experimental

As medições voltamétricas foram realizadas à temperatura ambiente no eletrólito de suporte não deaerado. Com o intuito de evitar contaminações, utilizou-se duas células eletroquímicas: uma para o branco e outra para o eletrólito de suporte com o MBZ.

3.4.1 Voltametria cíclica

O comportamento voltamétrico de MBZ de concentração $24,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ foi investigado por VC em eletrólito suporte de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH=1,0) na célula eletrolítica. Os seguintes parâmetros iniciais foram utilizados:

- ✓ velocidade (v): 50 mV s^{-1} .
- ✓ Incremento de potencial (ΔE_s): 2 mV .
- ✓ Janela de potencial: 0 a $1,45 \text{ V}$.

Também foi feito um estudo de velocidade de varredura que permitiu analisar se a natureza do processo eletroquímico era governada por difusão ou adsorção. Para isso, variou-se a velocidade de varredura de 25 a 500 mV s^{-1} , numa concentração de $24,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MBZ em eletrólito suporte tampão BR (pH=7).

3.4.2 Voltametria de pulso diferencial

Inicialmente, foi realizado um estudo de pH variando-o de 1 a 10. Para isto, utilizou-se ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH=1) e tampão BR para os estudos de pH variando de 2 a 10, em uma janela de potencial de $0,0$ a $+1,4 \text{ V}$ vs Ag/AgCl. Os parâmetros instrumentais, com uma concentração de MBZ na célula eletroquímica de $12,3 \mu\text{mol L}^{-1}$, foram:

- ✓ Tempo de modulação (TM): 70 ms .
- ✓ Intervalo de tempo (IT): $0,2 \text{ s}$.

- ✓ Incremento de potencial (ΔE_s): 3 mV.
- ✓ Amplitude de pulso (ΔE_p): 50 mV.

3.4.3 Voltametria de onda quadrada

Um estudo de pH na faixa de 1 a 10 foi realizado nas mesmas condições que a VPD. Os seguintes parâmetros iniciais foram utilizados:

- ✓ Frequência de pulso (f): 25 s^{-1} .
- ✓ Incremento de potencial (ΔE_s): 2 mV.
- ✓ Amplitude de pulso (ΔE_p): 50 mV.

Para a construção da curva analítica, foram estabelecidas as melhores condições em VOQ. Os parâmetros foram otimizados de forma univariada, visando uma melhor sensibilidade analítica em termos de corrente. A otimização dos parâmetros foi realizada em uma solução de $37,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MBZ, nas condições experimentais descritas na **Tabela 4**.

Tabela 4 – Parâmetros eletroquímicos estudados por VOQ com pré-concentração adsortiva para determinação de MBZ.

| Parâmetros | Intervalo estudado |
|-----------------------------|--------------------|
| Frequência, s^{-1} | 10 – 150 |
| Incremento de potencial, mV | 1 – 10 |
| Amplitude de pulso, mV | 10 – 100 |
| Tempo de deposição, s | 0 – 120 |

3.4.4 Efeito de memória

Utilizando a técnica de VOQ, foi realizado um estudo do efeito de memória do MBZ sobre a superfície do ECV. Utilizou-se solução tampão BR (pH 7,0) como eletrólito suporte e uma solução diluída do padrão analítico de concentração $2,6 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, foram realizadas oito medidas alternadas em tempo zero e com tempo de acumulação de 30 s, a fim de

verificar se a intensidade de corrente elétrica retornava à medida inicial após um tempo de deposição.

3.4.5 Parâmetros de desempenho analítico

De acordo com **Brito et al. (2003)**, a eficiência de uma metodologia analítica é estimada pelas variáveis de desempenho analítico, tais como sensibilidade, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e precisão (repetibilidade e reprodutibilidade).

A sensibilidade de um método mede a sua capacidade em distinguir entre pequenas diferenças na concentração de um analito. Ela foi avaliada através dos valores de LD e LQ, calculados conforme as **Equações 3.1** e **3.2**. Dez medidas realizadas em eletrólito puro (brancos) foram usadas para estimar o desvio-padrão da média do sinal analítico, que representa o nível de ruído da técnica (**SKOOG et al, 2002**).

$$LD = 3S_b / b \quad \text{(Equação 3.1)}$$

$$LQ = 10S_b / b \quad \text{(Equação 3.2)}$$

Onde:

S_b = desvio-padrão da média do sinal do branco em eletrólito puro

b = sensibilidade da curva analítica (coeficiente angular da reta).

A precisão do método foi estimada através dos testes de repetibilidade e da reprodutibilidade calculada em termos de coeficiente de variação (CV), também chamada de desvio padrão relativo, conforme **Equação 3.3 (INMETRO, 2007)**. A repetibilidade é definida como a diferença máxima aceitável entre as repetições dos voltamogramas em um mesmo nível de concentração da amostra, já a reprodutibilidade é a diferença máxima aceitável entre os resultados obtidos para o registro do voltamograma em amostras diferentes. A repetibilidade foi estimada a partir de 10 medidas sucessivas de uma solução de MBZ. As medidas de reprodutibilidade foram realizadas em 5 dias e com soluções diferentes de mesma concentração para estimar a

reprodutibilidade. Para os dois testes, foi utilizada uma solução de MBZ de concentração $2,6 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

$$\%CV = (S / \bar{x}) \times 100\% \quad \text{(Equação 3.3)}$$

Onde:

S = desvio padrão do conjunto de medidas

\bar{x} = média do conjunto de medidas

3.4.6 Preparação das amostras

A exatidão do método foi feita com base nos testes de recuperação. De acordo com **Burns, Danzer e Townshed (2001)**, a exatidão proporciona uma conexão do valor real da concentração do analito com o valor obtido pelo método analítico. A exatidão do método foi estimada em termos de testes de recuperação em amostras de comprimidos (100 e 500 mg) e água da torneira.

3.4.6.1 Preparo das amostras em comprimidos

As amostras de comprimidos (100 e 500 mg) de MBZ foram adquiridas em farmácias locais de João Pessoa-PB. A determinação do MBZ em comprimido foi realizada baseada no método farmacopéico que consistiu em pulverizar 20 comprimidos, em seguida, transferir 50 mg do mebendazol pulverizado para um balão volumétrico de 100 mL com 10 mL de ácido fórmico. Agitou-se em por 15 min. O volume do balão foi completado com álcool isopropílico, homogeneizou-se e filtrou-se. Uma alíquota de 1 mL da solução filtrada foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL, onde foi adicionado 5 mL de ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, seu volume foi completado com álcool isopropílico e homogeneizado (**Figura 7**).

3.4.6.2 Preparação da amostra de água

Para as amostras de água da torneira, o eletrólito suporte, tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0, foi preparado diretamente na própria amostra. Em seguida,

as curvas de recuperação foram obtidas, para ambas as amostras, por adição de três alíquotas de 100 µL de uma solução de $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ de MBZ, usando o método de adição de padrão.

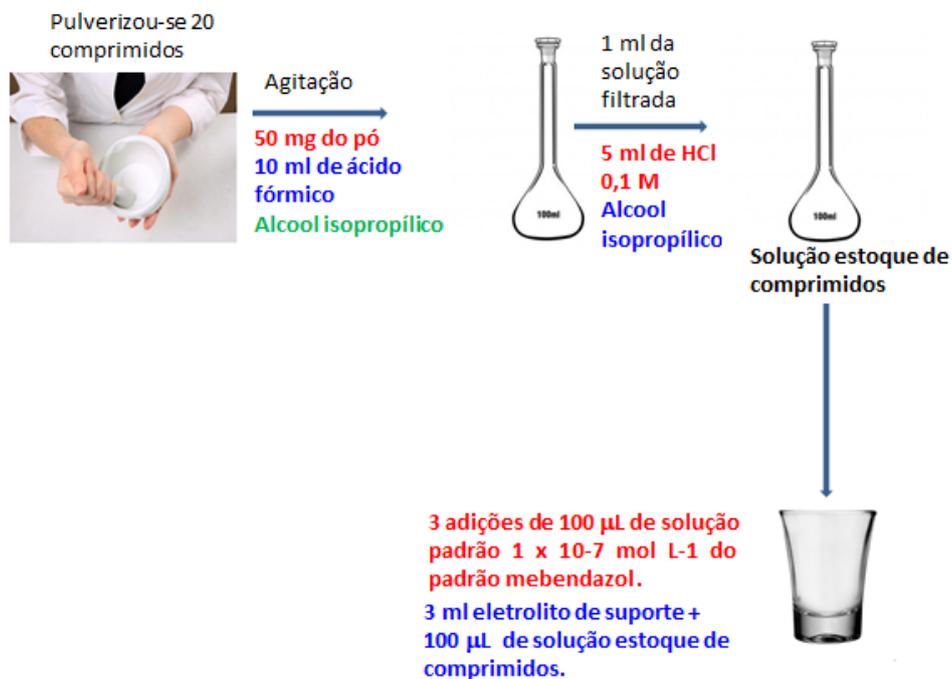


Figura 7 - Preparo das amostras de MBZ e procedimento de recuperação baseado no método de adição de padrão em amostras de comprimidos.



Figura 8 - Preparo das amostras de MBZ e procedimento de recuperação baseado no método de adição de padrão em amostras de água.

3.4.7 Pré-processamento dos voltamogramas

Nos voltamogramas, foram feitas suavizações através da função Savitsky-Golay smooth nível 4 ou 3, dependendo do nível de ruído do sinal analítico, tendo como finalidade a eliminação do ruído de fundo sobreposto ao sinal voltamétrico. Depois, foram feitas correções da linha de base através da função *moving average* com um *step window* de 3 mV, ambas disponíveis no software GPES versão 4.9. Com esse tratamento matemático realizado nos voltamogramas, a visualização e identificação dos picos da oxidação do MBZ em relação à linha de base foi melhorada. Também foi utilizado o *software Origin*[®] 5,0 para plotar as figuras dos voltamogramas e das curvas apresentadas no texto.

Capítulo 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Comportamento eletroquímico do MBZ

A eletroatividade de uma solução de MBZ de concentração $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em uma solução de ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹ (pH 1,0) foi estudada por VC em ECV. Os voltamogramas foram registrados, inicialmente, em uma janela de potencial de -0,8 a +1,4 V vs E_{Ag/AgCl} (**Figura 9**). Os voltamogramas cíclicos registrados não evidenciaram nenhum sinal analítico na faixa de potenciais negativos. Portanto, os estudos foram repetidos considerando apenas a região de potenciais positivos. Na varredura direta de potencial, um processo de oxidação foi observado em $P_1 \approx + 1,15$ V. Invertendo-se a varredura de potencial, foi observado um sinal analítico correspondente à redução, $P_2 \approx +1,10$ V, sendo um indicativo de um processo reversível. Ciclos sucessivos na mesma solução, sem a limpeza da superfície do eletrodo, foram registrados visando obter informações de possíveis produtos de oxidação, além de ser um diagnóstico inicial sobre a natureza adsorptiva e/ou difusional do processo redox, onde foi observado um produto de oxidação eletroativo $P_3 \approx +0,39$ V. Os resultados podem ser observados na **Figura 9**. Já na **Figura 10**, observa-se os picos de oxidação e redução em uma janela de potencial menor.

O uso da VC para estudar o efeito da velocidade de varredura sobre a resposta eletroquímica de uma substância de interesse possibilita avaliar o grau de reversibilidade e a natureza do transporte do material eletroativo (**BRETT e BRETT, 1996**). O efeito da velocidade de varredura sobre o potencial e a corrente de pico do pico P_1 foi investigado entre 25 a 500 mV s⁻¹ por VC (**Figura 11**), evidenciando a reversibilidade do MBZ.

Sendo a dependência da corrente de pico uma função linear com a velocidade de varredura descrita pela **Equação 4.1**, valores de x iguais a 1,0 e 0,5 são esperados para processos de eletrodos governados por adsorção e difusão, respectivamente (**ERK, 2003**).

$$I_p = K v^x \quad \text{(Equação 4.1)}$$

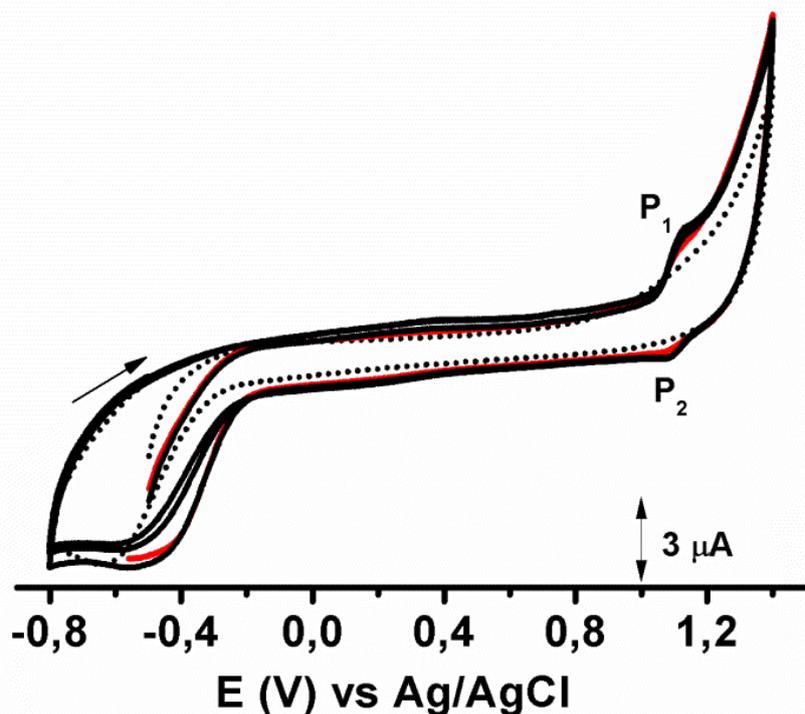


Figura 9 – Voltamogramas cíclicos de uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de MBZ em uma solução de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=1,0$), $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$: (...) branco; (—) 1ª, (—) 2ª e (—) 3ª varreduras e janela de potencial de $-0,8$ a $+1,40 \text{ V}$ vs EAg/AgCl.

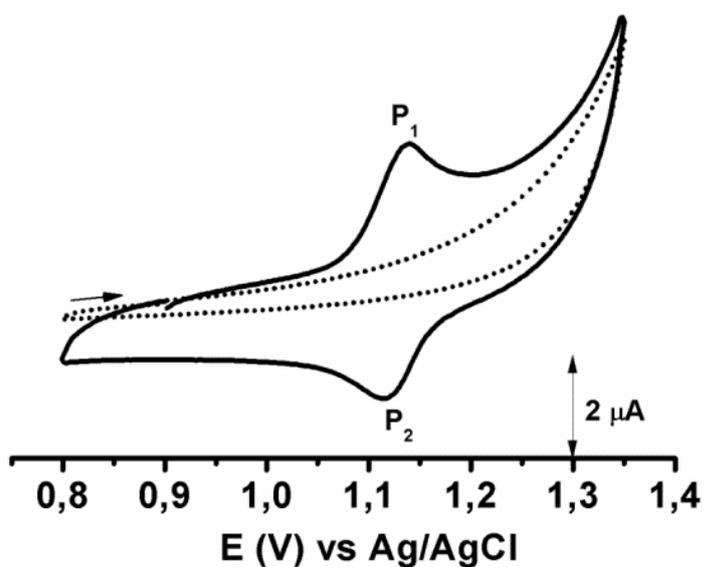


Figura 10 – Voltamogramas cíclicos de uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de MBZ em uma solução de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=1,0$), $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$. (...) branco; (—) 1ª varreduras e Janela de potencial de $0,8$ a $+1,40 \text{ V}$ vs EAg/AgCl.

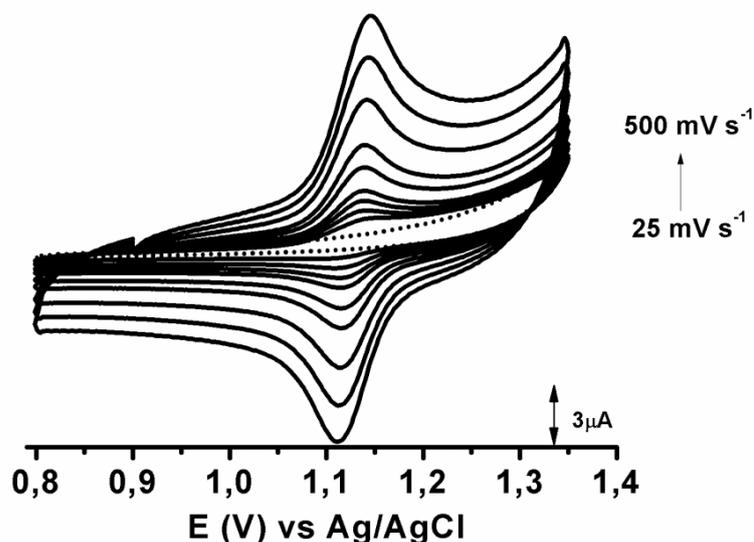


Figura 11 – Voltamogramas de velocidade de varredura variando de 25 a 500 mV s^{-1} uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH=1).

A corrente de pico I_{p1} em função da velocidade de varredura (v), demonstra um crescimento linear da corrente de pico (**Figura 12 A**), conforme a seguinte equação e coeficiente de correlação linear: $I_{p1} (\text{A}) = 2,0 \times 10^{-5} v (\text{V s}^{-1}) + 1,0 \times 10^{-6}$; $R^2 = 0,99$, propondo que o processo redox é governado por adsorção. Esta análise é comprovada pela **Figura 12 B**, que expressa I_{p1} em função da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$), originando um gráfico com crescimento da corrente de pico não linear, de acordo com a equação e coeficiente de correlação linear: $I_{p1} (\text{A}) = 1,3 \times 10^{-5} v^{1/2} (\text{V s}^{-1})^{1/2} - 2,2 \times 10^{-6}$; $R^2 = 0,57$.

A natureza do transporte de massa também foi verificada analisando-se uma relação linear do $\log I_{p1}$ versus $\log v$ (**FIGURA 13**), com equação e coeficiente de correlação linear: $\log I_{p1} = 0,93 \log v - 4,840$ ($R^2 = 0,99$). De acordo com **Gosser (1993)**, a natureza do transporte de massa pode ser estipulada através de uma análise do coeficiente angular do $\log I_{p1}$ em função de $\log v$. Sendo o coeficiente angular igual a 0,50 em um processo difusional e igual a 1 em processos governados por adsorção. Sendo o valor de inclinação

da reta igual a 0,93, fica evidenciando que o processo é de fato governado predominantemente por adsorção.

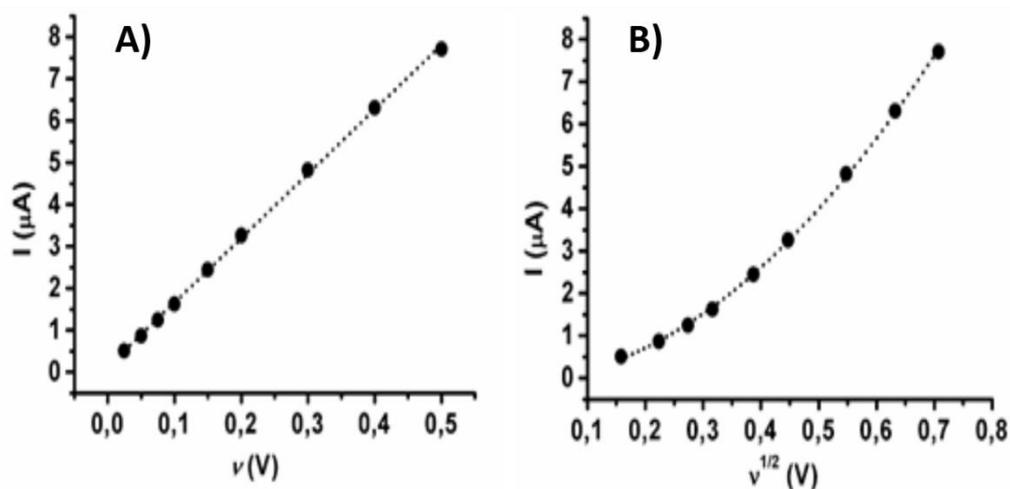


Figura 12 – Influência da corrente de pico I_{p1} com a (A) e a $v^{1/2}$ (B). uma solução $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em ácido sulfúrico $0,1$ mol L^{-1} ($\text{pH}=1$).

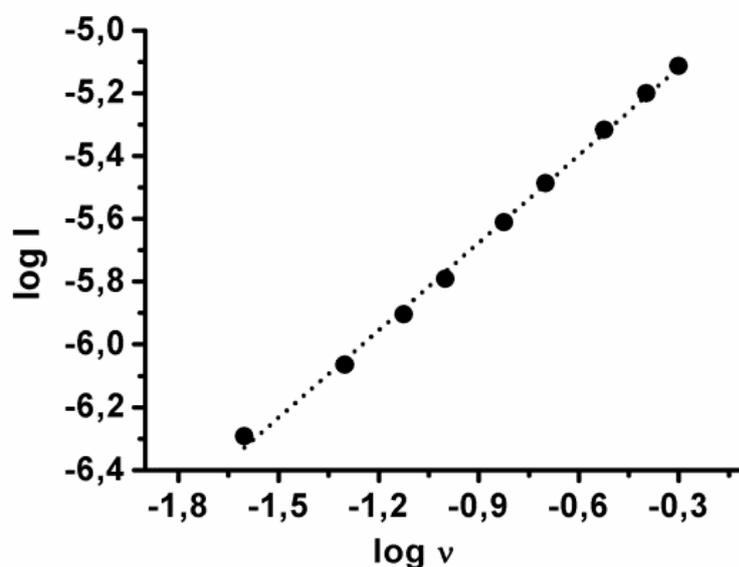


Figura 13 – Influência do $\log I$ do pico $p1$ com $\log v$. $[\text{MBZ}]$ de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em ácido sulfúrico $0,1$ mol L^{-1} ($\text{pH}=1$).

4.2 Estudos por VPD

A influência do pH na oxidação eletroquímica da MBZ foi estudada em uma ampla faixa de pH , entre 1,0 e 10,0, utilizando VPD. Os voltamogramas foram registrados em soluções recém-preparadas de MBZ $37,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ em

diferentes eletrólitos suporte (**Figura 14A**). Analisando-se os voltamogramas de pulso diferencial, **Figuras 14B**, a corrente de pico mais significativa para o pico P_1 foi verificada empregando-se a solução de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0) como eletrólito suporte, portanto determinante para fins analíticos, por estabelecer condição de compromisso entre a sensibilidade e a resposta analítica.

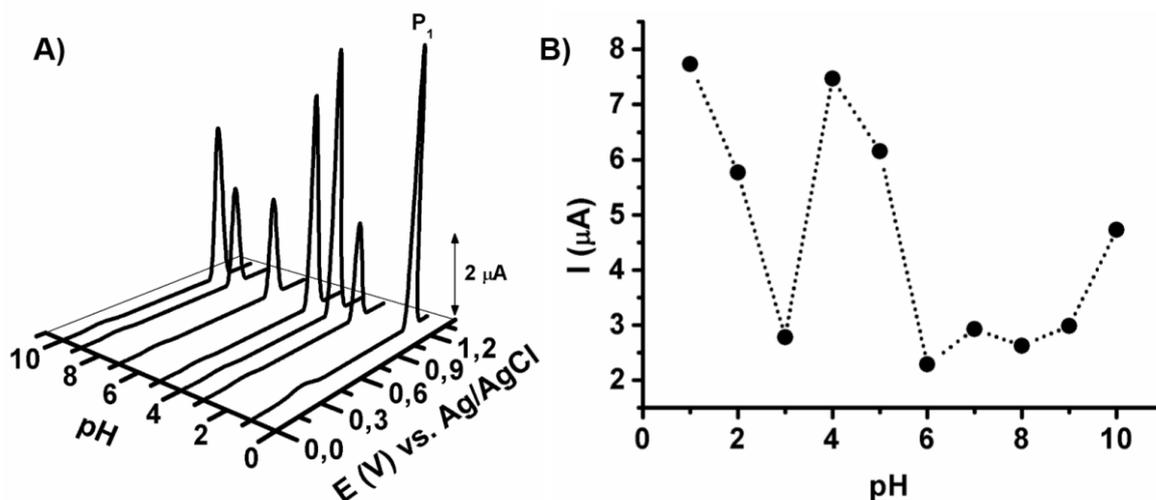


Figura 14 – A) Voltamogramas de pulso diferencial em 3D obtidos em $3,74 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MBZ em diferentes eletrólitos em função do pH (TM = 70ms; IT = 0,2s; $\Delta E_s = 3\text{mV}$ e $\Delta E_p = 50\text{mV}$). B) Relação do I_p vs pH.

O potencial do pico P_1 variou com o pH (E vs. pH), indicando que o processo de oxidação do MBZ é dependente do pH para valores de $1,0 \leq \text{pH} \leq 4,0$, deslocando-se para valores menos positivos com o aumento do pH (**Figura 15**). A relação entre (E vs. pH) é linear e apresenta uma inclinação de $-51,0 \text{ mV/pH}$. Deslocamento negativos do potencial para um aumento do pH do meio é uma característica de processos onde ocorre a protonação da espécie (**SMITH, 2006**). Sendo $E_1 = -51\text{mV}$ caracteriza um mecanismo de reação que envolve o mesmo número de prótons e elétrons para o processo, valor relativamente próximo ao valor de $-59,2 \text{ mV/pH}$ esperado para reações de eletrodo que envolvem o mesmo número de prótons e elétrons no processo (**BARD e FAULKNER, 2001; LUZ et al., 2004; SMITH, 2006**).

Considerando-se que a largura do pico a meia altura ($W_{1/2}$) possui um valor igual a 53 mV para P_1 , entende-se que processo de oxidação envolve a

transferência de dois prótons (2H^+) e dois elétrons (2e^-). Os valores obtidos estão em concordância com o previsto teoricamente, obedecendo à relação $W_{1/2} = 90/n$, fornecendo valores de $W_{1/2}$ da ordem de 45 e 90 mV para reações eletroquímicas governadas pela transferência de $n = 2$ e $n = 1$ elétrons, respectivamente (**BRETT e BRETT, 1996**).

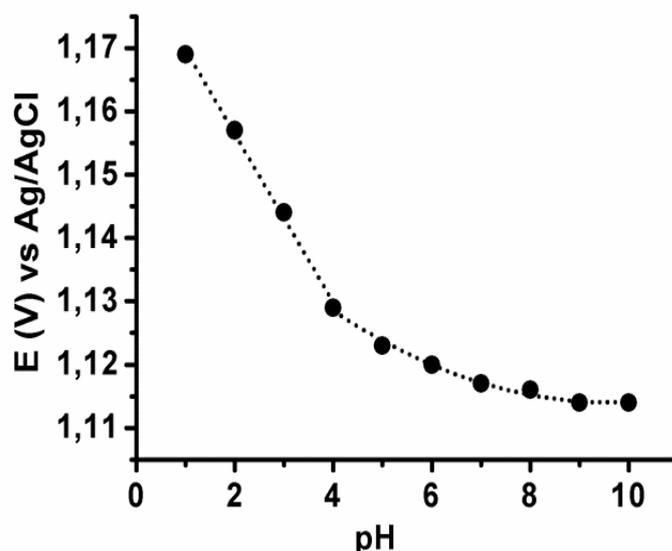


Figura 15 – Potencial aplicado no eletrodo de trabalho em função do pH por VPD em $3,74 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de MBZ (TM = 70ms; IT = 0,2s; $\Delta E_s = 3\text{mV}$ e $\Delta E_p = 50\text{mV}$).

Para valores de $5,0 \leq \text{pH} \leq 10,0$, o potencial de pico P_1 praticamente independe do pH, sendo encontrada uma inclinação de 2 mV/pH, sugerindo que o mecanismo de reação envolve apenas a transferência de elétrons. Experimentalmente, um valor de 59 mV foi obtido para o ($W_{1/2}$), sugerindo que o processo de oxidação envolve a transferência de dois elétrons (2e^-). Assim, pode ser que o produto de oxidação apresenta desprotonação química em meio alcalino. Também foi verificado um valor de pKa em torno de 4,0 foi determinado para o pico de oxidação do MBZ, o que corrobora com a literatura, que afirma que o pka dessa molécula é de 3,5 (**CONESA et al., 1996**).

Baseado nos resultados obtidos, até então discutidos, em que o MBZ é reversível, o processo de oxidação do MBZ é dependente do pH para valores de $1,0 \leq \text{pH} \leq 4,0$ envolvendo $2\text{e}^-/2\text{H}^+$, logo, uma sugestão de mecanismo de reação eletroquímica, que está de acordo com **Ghalkhani, Beheshtian e Salehi (2016)**, pode ser realizada (**Figura 16**).

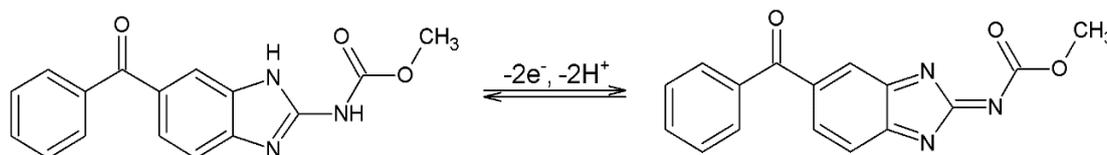


Figura 16 – O mecanismo da reação redox do MBZ em $3,74 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de MBZ (TM = 70ms; IT = 0,2s; $\Delta E_s = 3$ mV e $\Delta E_p = 50$ mV).

4.3 Estudos por VOQ

Assim como feito em VC, o estudo de reversibilidade do MBZ também foi comprovado fazendo-se uma verificação da corrente de pico direta e inversa das varreduras realizadas por VOQ. Uma das grandes vantagens da técnica VOQ é a possibilidade de determinar se a reação de transferência de elétrons é reversível ou irreversível. Os picos correspondentes à oxidação e redução das espécies eletroativas na superfície do eletrodo podem ser obtidos na mesma medida eletroquímica, uma vez que a amostragem de corrente dá-se durante a aplicação do pulso direto e reverso (**OLIVEIRA *et al.*, 2007**). Visando comprovar a reversibilidade dos processos redox do MBZ, concomitantemente com experimentos de VC, foi realizada uma medida eletroquímica em uma solução de concentração $37,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ do MBZ (**Figura 17**).

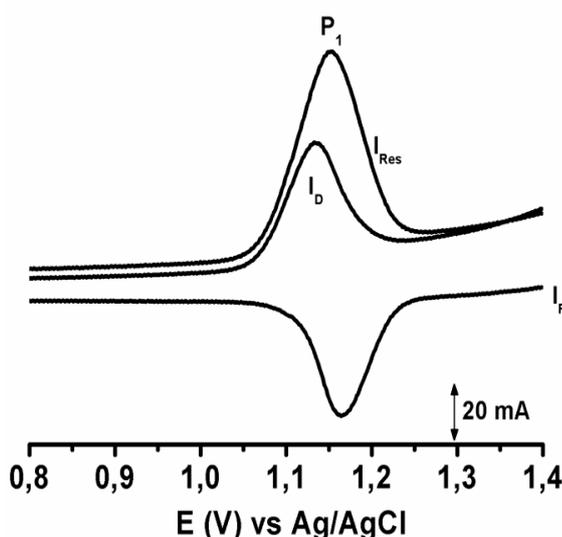


Figura 17 – Voltamograma de onda quadrada de uma solução $3,74 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MBZ em ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0). Correntes resultante – I_{Res}, direta – I_D e reversa – I_R (f = 25s⁻¹, $\Delta E_s = 2$ mV e $\Delta E_p = 50$ mV).

Para o nível de concentração de MBZ estudado, observa-se que há simetria entre a corrente direta e reversa gerada para o processo de oxidação de P_1 . Assim, a separação das correntes de pico mostra que a corrente resultante advém da contribuição da corrente direta e reversa, sugerindo a reversibilidade dos processos, portanto, corroborando os estudos de VC.

Um estudo de pH também foi realizado por VOQ, a fim de verificar o comportamento de uma solução $37,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MBZ frente a diferentes pH (**Figura 18A**). O processo de oxidação do MBZ é independente do pH para valores de $1,0 \leq \text{pH} \leq 10,0$, onde seu potencial foi de $E_p \approx 1,2\text{V}$. A sensibilidade em termos de corrente foi observada, sugerindo que o pH 7,0 em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi o que apresentou maior corrente de pico (**Figura 18B**), portanto determinante para fins analíticos, por apresentar uma maior sensibilidade. Logo, uma metodologia voltamétrica com onda quadrada poderá ser desenvolvida utilizando-se uma solução tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) como eletrólito suporte.

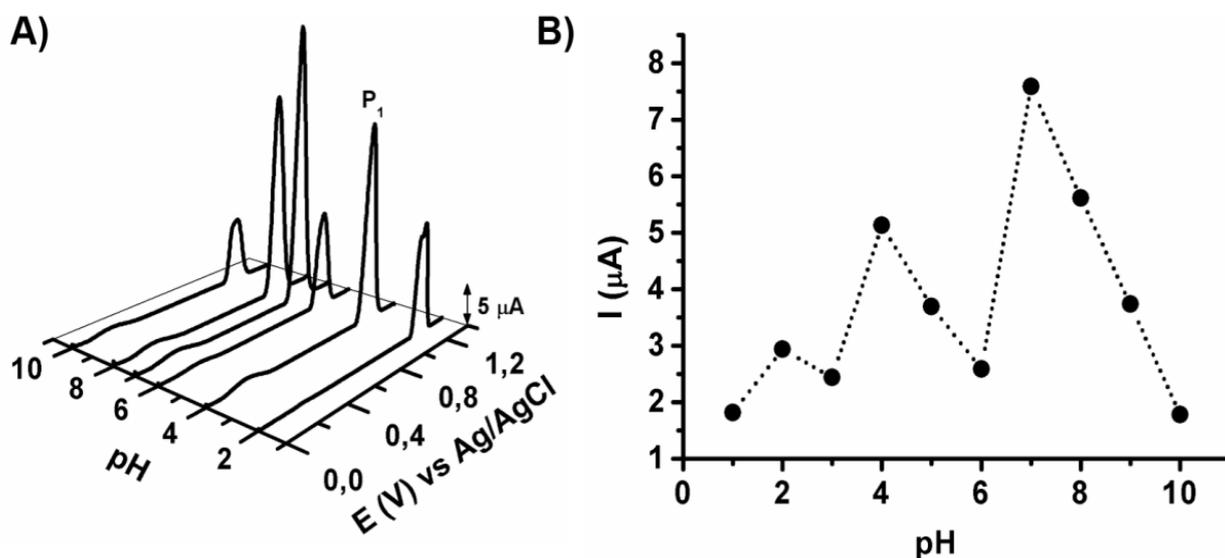


Figura 18 – A) Voltamogramas de onda quadrada em 3D obtidos em $37,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MBZ em diferentes eletrólitos em função do pH ($f = 25\text{s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$). B) Relação do I_p vs pH.

4.4 Determinação analítica do MBZ por VOQ

4.4.1 Estudo dos parâmetros voltamétricos

Na VOQ, as respostas analíticas dependem de alguns parâmetros instrumentais que são característicos da técnica, são eles: frequência (f), incremento de varredura (ΔE_s) e amplitude de pulso (ΔE_p). Esses, influenciam fortemente a o posição do potencial de pico, a intensidade da corrente de pico e a seletividade ($W_{1/2}$) da VOQ, determinando, assim, a sensibilidade da técnica. A fim de determinar a influência dos parâmetros sobre a resposta eletroquímica do MDZ para o potencial e a corrente de pico (processo P_1), estudos univariados foram realizados nas condições iniciais dos experimentos (**seção 3.4.3**), considerando uma solução $37,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MBZ em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) sobre o ECV. Os parâmetros ajustados estão expressos na **Tabela 5**.

Tabela 5 – Os parâmetros investigados e seus valores ótimos para a determinação de MBZ por VOQ. Concentração de MZD $3,74 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR (pH 7,0). Condições iniciais de análise: $f = 50 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$.

| Parâmetros | Faixa estudada | Valor ótimo |
|--------------------------------|----------------|-------------|
| Frequência (s^{-1}) | 10 – 150 | 80 |
| Incremento de potencial (mV) | 1 – 10 | 1 |
| Amplitude de pulso (mV) | 10 – 100 | 80 |
| Tempo de deposição (t_d) | 0 – 120 | 30 |

^a Circuito aberto

Da mesma forma que a velocidade de varredura está para VC, a frequência de aplicação de potencial está para a VOQ, pois determina a intensidade dos sinais para a maioria dos processos e, conseqüentemente, a sensibilidade do método (**BARD e FAULKNER, 2001; BRETT e BRETT, 1996**). Além disso, é um parâmetro importante para a investigação do comportamento redox de espécies eletroativas (**SOUZA e MACHADO, 2003**). A frequência foi estudada num intervalo de 10 a 150 s^{-1} , sendo 80 s^{-1} , a frequência escolhida por apresentar uma boa resposta analítica conferindo sensibilidade à medida.

A velocidade de varredura na VOQ é o produto entre a frequência de aplicação do pulso e o incremento de potencial (**BARD e FAULKNER, 2001**), que assim como a frequência, influencia também na sensibilidade do método. Assim, o incremento de 1 mV foi escolhido por estabelecer uma melhor relação entre sensibilidade e resposta analítica. A influência da amplitude do pulso de potencial sobre a intensidade da corrente de pico foi também estudada, considerando valores de amplitude na faixa de 10 a 100 mV. Sua variação influencia diretamente na seletividade do pico, que tende a ficar mais largo para altos valores de amplitude (**ZOSKY, 2006**). Onde uma amplitude de 80 mV por representar uma boa relação entre sensibilidade e seletividade.

Assim, otimizados os parâmetros da VOQ, foi realizado um estudo da pré-concentração por adsorção, em circuito aberto, para avaliar a influência do tempo de deposição ou de acumulação (t_d) frente à resposta voltamétrica do MBZ.

O estudo do t_d , revela que a corrente de pico alcança um valor máximo para 30 s de acumulação e há um decaimento da resolução do pico com o aumento do tempo de deposição, indicando a saturação dos sítios ativos da superfície do eletrodo. Além disso, para este tempo de acumulação o ganho de corrente foi bem considerável quando comparado à varredura de potencial sem pré-concentração ($t_d = 0$ s) aumentando a sensibilidade, que pode ser comprovado no estudo do efeito de memória.

4.5 Efeito de memória

O efeito da pré-concentração sobre superfície do ECV foi estudando com base no tempo de deposição (t_d) em uma concentração de 26,0 nmol L⁻¹ em 0,1 mol L⁻¹ de tampão BR (pH 7,0) como eletrólito suporte, realizado em circuito aberto (mostrado anteriormente na **Tabela 5**). Uma das dificuldades encontradas na utilização de eletrodos sólidos, utilizados em estudos analíticos, é a regeneração da superfície do eletrodo após cada medida. Para avaliar a magnitude do efeito de memória na determinação do MBZ no ECV, foram feitos alguns voltamogramas consecutivos variando os tempos de deposição do material eletroativo de 0 e 30s. Sabendo-se que o MBZ adsorve na superfície do eletrodo, então seu produto de oxidação ou sofre dessorção e

migra para o a solução ou também permanece adsorvido. No entanto, com o estudo realizado, não foi verificado nenhum efeito de memória, mostrando a plena regeneração da atividade do sensor após o uso, através de uma simples lavagem com água (**Figura 19**).

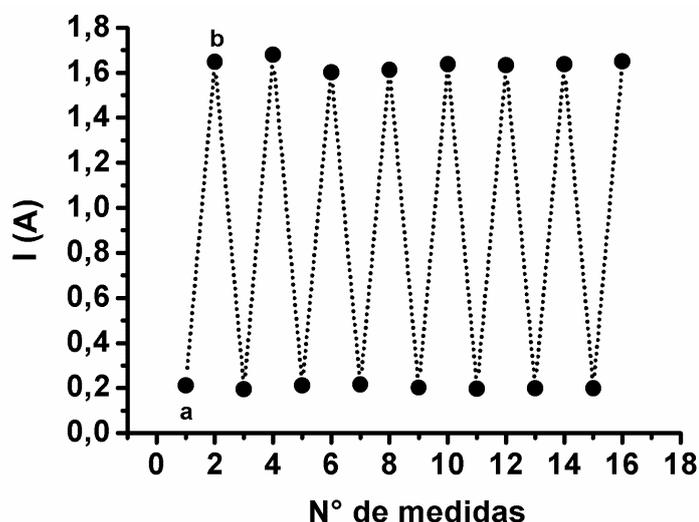


Figura 19 – Efeito de memória em VOQ usando uma solução $2,6 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR (pH 7,0) nos tempos de (a) 0 e (b) 30s. Parâmetros utilizados: $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 80 \text{ mV}$

4.6 Curva analítica e parâmetros de desempenho analítico

Com os parâmetros da VOQ já otimizados, construiu-se a curva analítica (**Figura 20**), em tampão BR (pH 7,0). A curva analítica apresentou significativa relação linear entre a corrente de pico e a concentração na faixa de $1,23 \times 10^{-8}$ a $1,84 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ com $N = 9$ e R^2 igual a 0,99. A equação de regressão linear construída a partir da curva analíticas obedece a **Equação 4.2**.

$$I_{p1} \text{ (A)} = 1,43 (\pm 1,49 \times 10^{-7}) + 1,0 \times 10^2 (\pm 1,32 \times 10^{-6}) [\text{MBZ}] \text{ (mol L}^{-1}\text{)}$$

(Equação 4.2)

Os valores encontrados LD e LQ foram executados de acordo com as **Equações 3.1** e **3.2**, descritas na **seção 3.4.5**. Os valores encontrados foram $1,99 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e $6,65 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. A repetibilidade foi estimada considerando-se 10 medições sucessivas realizadas em uma mesma

solução contendo 26 nmol L^{-1} de MBZ, nas mesmas condições da curva analítica e o valor obtido foi de 3,91%. Já a reprodutibilidade foi estudada considerando-se 5 medições diferentes, em 5 dias diferentes em solução contendo 26 nmol L^{-1} de MBZ, nas condições consideradas otimizadas. A reprodutibilidade foi de 4,60%. Assim, compreende-se que o eletrodo utilizado apresenta boa repetibilidade e reprodutibilidade para realizar determinação analítica de MBZ.

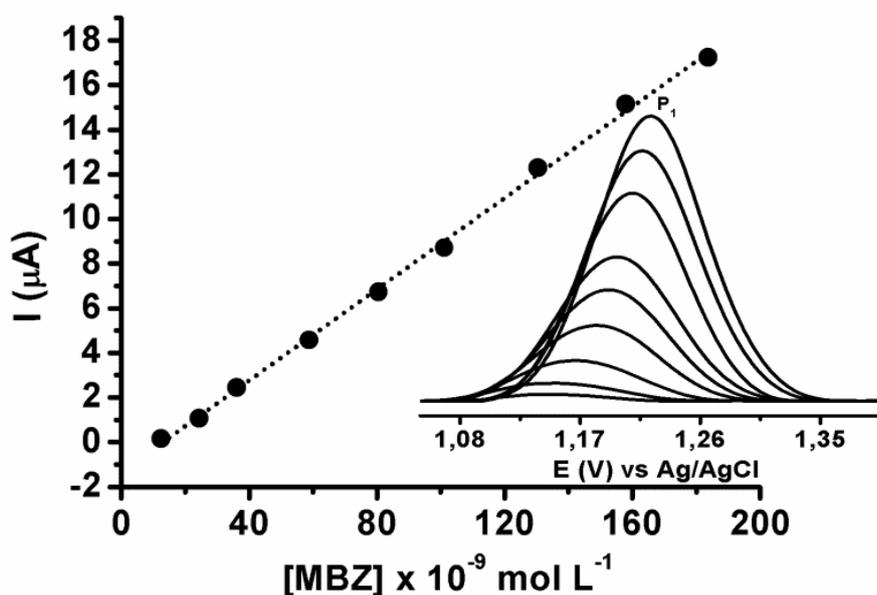


Figura 20– Curva analítica e inserção de voltamogramas de onda quadrada de MBZ em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0).

Fazendo-se uma comparação com outros resultados presentes na literatura, a metodologia proposta para determinar MBZ apresentou-se relevantemente mais sensível, mostrando-se melhor do que algumas pesquisas que utilizaram as técnicas voltamétricas e equiparando-se, inclusive, a métodos mais sofisticados, como a cromatografia. A comparação está exposta na **Tabela 6**.

Com base nos bons resultados obtidos, optou-se por não modificar o eletrodo quimicamente, pois modificar a superfície do eletrodo CV não é uma tarefa fácil. Resultados melhores poderiam ser obtidos, mas a difícil modificação pode até mesmo não ser tão vantajosa, pois

Ghalkhani, Shahrokhian e Beheshtian (2013) modificaram o eletrodo de CV com nanotubos de grafeno e nanotubos de carbono e obtiveram um limite de detecção mais alto do que aquele obtido neste trabalho. **Conesa et al. (1996)** obtiveram um LD na mesma ordem de grandeza do que o obtido neste trabalho, no entanto utilizou a polarografia que utiliza mercúrio causando danos ao meio ambiente. Modificar a superfície do eletrodo nem sempre é uma tarefa fácil, tais como os etrodos sólidos, que em geral, envolvem etapas de deposição e secagem do material modificante, as quais requerem longo tempo e comprometem a reprodutibilidade das medidas (**MANISANKAR et al., 2006**). Essas etapas não são triviais de serem realizadas e podem provocar o desprendimento de materiais modificadores da superfície do eletrodo durante as medidas. Outra desvantagem é a etapa de limpeza, em que o material depositado sobre o eletrodo precisa ser removido, tornando necessária uma nova preparação da superfície do eletrodo para garantia da reprodutibilidade das medidas subsequentes, o que demanda ainda mais tempo de análise.

Tabela 6 – Comparação entre os resultados publicados na literatura para determinação de MBZ com diferentes metodologias e o presente estudo.

| Técnica | Amostra | LD (mol L ⁻¹) | Referência |
|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Polarografia | Urina e água | 3,7 × 10 ⁻⁹ | Conesa et al. (1996) |
| VOQ | Mistura de anti-helmínticos | 5,0 × 10 ⁻⁷ | Tltus et al 2003 |
| VPD, GNS-CNS/CS/CGE | Urina e água | 1,1 × 10 ⁻⁸ | Ghalkhani et al. (2013) |
| HPLC | Ovos de galinha | 3,38 × 10 ⁻⁸ | Vichapong et al. (2015) |
| VPD | Fármaco | 6,00 × 10 ⁻⁷ | Macedo et al. (2016) |
| espectrofotometria UV-VIS | Fármaco | 4,68 × 10 ⁻⁸ | Swamy et al. (2014) |
| VOQ | Fármaco | 1,99 × 10 ⁻⁹ | Este trabalho |

A exatidão foi avaliada através de um teste de recuperação em três amostras da torneira e comprimidos de MBZ, pelo método da adição padrão. Para as amostras estudadas, o ECV respondeu eficientemente para uma faixa

de concentração de MBZ entre $4,0$ a $10,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Os valores médios obtidos para as recuperações foram de $95,0 \%$ e $99,8 \%$ para as amostras de comprimidos e de $97,5 \%$ a $102,0\%$ para as amostras da água da torneira, estando em conformidade com a recomendação da IUPAC, onde valores de recuperação na faixa de 70 a 120% são aceitáveis para a quantificação de analitos em concentrações traço. Foram determinados a recuperação percentual e os desvios-padrão relativos Os resultados são apresentados na **Tabela 7** e revelaram a possibilidade de utilizar o método analítico proposto para a determinação de MBZ em comprimidos.

Tabela 7 – Resultados do estudo de recuperação do MBZ em amostras de comprimidos e água da torneira.

| Amostra | MBZ / $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ | | Recuperação ^a (%) | DPR ^b (%) |
|----------------------|------------------------------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| | Adicionado | Recuperado ^a | | |
| Comprimido de 100 mg | 4,76 | 4,52 | 95,0 | 4,32 |
| Comprimido de 500 mg | 4,76 | 4,50 | 94,5 | 5,00 |
| Água da torneira | 4,76 | 4,64 | 97,5 | 2,44 |
| Comprimido de 100 mg | 6,97 | 6,85 | 98,3 | 3,96 |
| Comprimido de 500 mg | 6,97 | 6,86 | 98,4 | 4,75 |
| Água da torneira | 6,97 | 6,94 | 99,5 | 1,46 |
| Comprimido de 100 mg | 9,09 | 9,07 | 99,8 | 1,80 |
| Comprimido de 500 mg | 9,09 | 9,16 | 100,8 | 4,15 |
| Água da torneira | 9,09 | 9,10 | 100,1 | 1,66 |

^a($100 \times \text{obtido} / \text{adicionado}$); ^bN = 3

4.7 Estudos de interferentes e a aplicações práticas para o MBZ

Com base nos principais produtos que este trabalho visa determinar, água e formulações comerciais, foram analisados alguns íons (Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} e NO_3^{2-}) numa solução mista de concentração $1,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, esses íons foram escolhidos por serem possíveis interferentes nas amostras de água. Também foram analisadas algumas moléculas orgânicas, lactose, sacarose e ácido glutâmico numa solução mista de concentração $1,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ como possíveis interferentes.

Sob as condições ótimas definidas para o método proposto por VOQ, não foram observadas nenhuma interferência, considerando uma concentração

de MBZ utilizada, $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, indicando que a resposta obtida por VOQ é seletiva para MBZ.

O método em VOQ foi aplicado para duas amostras de comprimidos, contendo MBZ em sua formulação. Nas amostras de comprimidos, em seu rótulo já vinha especificando a quantidade de MBZ em sua composição. Sua extração foi realizada pelo método da farmacopeia (**seção 3.4.6.1**). Como pode ser observado na **Tabela 8**, o método se mostrou eficaz, obtendo-se valores de recuperação acima de 99%, evidenciando sua eficácia e revelando a possibilidade de utilizar o método analítico proposto para a determinação de MBZ no controle da qualidade nas amostras de comprimidos.

Tabela 8 – Resultado analítico do MBZ em amostras reais.

| Amostras | Concentração do rótulo | Encontrado (mg) ± DPR | Potencial de pico (V) | Recuperação (%) |
|--------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------|
| Comprimido 1 | 100 mg | 99,8 ± 4,99 | 1,191 | 99,8 |
| Comprimido 2 | 500 mg | 500,5 ± 5,31 | 1,197 | 100,1 |

^an = 3

Capítulo 5

CONCLUSÕES

5 CONCLUSÕES

Com base nos estudos realizados, constatou-se que é possível fazer a determinação do fármaco por VOQ. O MBZ apresentou um processo oxidativo $E_{p1} \approx +1,15V$ e um processo redutivo $E_{p2} \approx +1,10V$. Os processos P_1 e P_2 correspondem a sistemas reversíveis comprovados tanto por VC quanto por VOQ.

Utilizando-se VPD, um mecanismo reversível envolvendo 2 elétrons foi observado para o pico P_1 , ($1,0 \leq pH \leq 4$), envolvendo $2e^-/2H^+$. Com isto foi possível realizar uma proposta de mecanismo.

Empregando a técnica VOQ, foi desenvolvido um método analítico para a determinação de mebendazol, para isso utilizou-se como eletrólito de suporte tampão Br $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7) no ECV, com uma curva analítica $I_{p1} \text{ (A)} = 1,02 \times 10^2 [\text{MBZ}] \text{ (mol L}^{-1}) - 1,0 \times 10^{-6}$. As melhores condições experimentais obtidas na VOQ foram $f = 80 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $\Delta E_v = 80 \text{ mV}$ e $t_d = 30 \text{ s}$. A curva analítica foi obtida uma faixa linear de $1,23 \times 10^{-8}$ a $1,84 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ com LD: $1,99 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e LQ: $6,65 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$; repetibilidade (DPR = 3,91 %) e reprodutibilidade (DPR = 4,60 %) em uma concentração de $2,6 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de MBZ na célula eletrolítica e percentuais de recuperação em torno dentre 95 % e 102 % para formulações comerciais e água.

Assim, foi realizado um estudo muito relevante para comunidade científica, constatando a necessidade de implementação de programas de monitoramento ambiental e a criação de políticas públicas para o controle do mebendazol em matrizes ambientais

5.1 Propostas Futuras

- Fazer um estudo de degradação do fármaco.
- Aplicar em matrizes biológicas.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ADMINISTRATION, F. **Guidance for Industry Q3B (R2) Impurities in new drug products**. Rockville, MD, 2006.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Descarte de medicamentos: responsabilidade compartilhada. Disponível em: <<http://189.28.128.179:8080/descartemedicamentos/apresentacao-1>> Acesso em: 08 de julho 2017.

BAIRD, C.; CANN, C. **Environmental Chemistry**. New York: H. H. Freeman and Company, 2008.

BARANOWSKA, I., MARKOWSKI, P., GERLE, A., & BARANOWSKI, J. Determination of selected drugs in human urine by differential pulse voltammetry technique. **Bioelectrochemistry**, v. 73, n. 1, p. 5-10, 2008.

Barcelos MN, Peres AP, Pereira IO, Chavasco LS, Freitas DF. Aplicação do método Failure Mode and Effect Analysis (FMEA) na identificação de impactos ambientais causados pelo descarte doméstico de medicamentos. *Engenharia Ambiental*. 8(4): 62-68, 2015.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R., **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. 2ª ed. New York: John Wiley & Sons, INC, 2001.

BRASIL,(2015). **Trata Brasil Saneamento é saúde**. Disponível em: <<http://www.tratabrasil.org.br/diagnostico-da-situacao-dos-planos-municipais-desaneamento-basico-e-da-regulacao-dos-servicos-nas-100-maiores-cidadesbrasileiras> 3> Acesso em: 18 Junho 2017.

BRASIL. Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente; e dá outras providências. Disponível em: <

http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9605.htm> Acesso em: 18 de Junho de 2017.

BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A., **Electroquímica. Princípios, Métodos e Aplicações**. New York: Oxford University Press Inc., 471, .1996

BRITO, N. M.; AMARANTE JR. O. P. de; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão, Pesticidas. **Revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, 13: 129, 2003.

BYRN SR, Pfeiffer RR, Stowell, JG. **Solid-state chemistry of drugs**. 2nd. ed. West Lafayette: SSCI; 1999.

BAIRD, C.; CANN, C. **Environmental Chemistry**. New York: H. H. Freeman and Company, 2008.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R., **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. Electrochemical methods: fundamentals and applications (Vol. 2). New York: John Wiley e Sons, 2001).

BETHONY, J. R. et al.. **Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm**. The Lancet, 367, 2006, p. 1521-1532.

BRILLAS, E.; CASADO, J. Aniline degradation by electro-Fenton and peroxicoagulation processes using a flow reactor for wastewater treatment. **Chemosphere**, v. 47, p. 241– 248, 2002.

BURNS, D. T.; DANZER, K.; TOWNSHED, A. **Recommendations for the use of the term “recovery” in analytical procedures**. IUPAC, 2001.

CAÑETE, R. et. al. **Mebendazole in parasitic infections other than those caused by soil-transmitted helminthes**. Elsevier, 2009, p. 437-442.

Carracedo, M. P. A.; Carra, R. A. G.; Misiego, A. S.; **Electroanalysis** 14, 433,2002.

Carvalho, E. V., Ferreira E.; Mucini, L.; Santos, C. Aspectos legais e Toxicológicos do descarte de medicamentos. **Rev. Bras. Toxicol.** 22(1): 1-8, 2009.

CASTIÑEIRAS, T. M.; MARTINS, F. S. **Infecções por helmintos e enteroprotzoários.** CIVIS, 2003.

CHEMSPIDER. 2013. Disponível em: <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3890.html?rid=db46a1c8-6a15-43b0-b62c-930180258502>> Acesso em: 19 de Janeiro de 2018.

CONESA, A.J.;PINILLA,J.M.;HERNÁNDEZ,L.Determination of mebendazole in urine by cathodic stripping voltammetry. **Analytica Chimica Acta** , 111-116, Madrid, Spain, 1996.

DRUGBANK. 2014. Disponível em: <<http://www.drugbank.ca/drugs/DB00643>> Acesso em: 16 Junho 2017.

ENSAFI, A. A., KHAYAMIAN T., KHALOO, S. S. Application of adsorptive cathodic differential pulse stripping method for simultaneous determination of copper and molybdenum using pyrogallol red. **Analytica Chimica Acta**, 505: 201, 2004.

ERK, N. Differential pulse anodic voltammetric determination of pantoprazole in pharmaceutical dosage forms and human plasma using glassy carbon electrode. **Analytical Biochemistry**, 323: 48, 2003.

FALQUETO, E.; KLIGERMAN, D. C.; ASSUMPÇÃO, R. F. Como realizar o correto descarte de resíduos de medicamentos? **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, p.3283-3293, 2006. Disponível em:

<redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=63019111031>. Acesso em: 18 de julho 2017.

FERNANDES, S. et al. Protocolo de parasitoses intestinais. **Acta Pediatr Port**, v. 43, n. 1, p. 35-41, 2012.

FERREIRA, J. F. G. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para a determinação de mebendazol em formas farmacêuticas por cromatografia líquida de alta eficiência e estudo de estabilidade. Dissertação de mestrado. **Universidade estadual de goiás**, Anápolis, 2015.

Flaherty, C. M.; Dodson, S. I. Effects of pharmaceuticals on Daphnia survival, growth, and reproduction. **Chemosphere**. 1: 200-07, 2005.

FRIEDMAN, A. J.; ALI, S. M.; ALBONICO, M. **Safety of a New Chewable Formulation of Mebendazole for Preventive Chemotherapy Interventions to Treat Young Children in Countries with Moderate-to-High Prevalence of Soil Transmitted Helminth Infections**. Journal of Tropical Medicine, 2012.

FUHR, F.; PEREIRA, J.; ROMANO, L.; ALMEIDA, F. Gill injury after treatment with mebendazole on mullets mugil liza. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol, 2012, v.15. p. 32(5).

GATIDOU, G. et al. Bioconcentration of selected endocrine disrupting compounds in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*. **Marine Pollution Bulletin**, 60, 2111-2116, 2010.

Ghalkhani, M.; BEHESHTIAN, J.; Salehi, M. Electrochemical and DFT study of an anticancer and active anthelmintic drug at carbon nanostructured modified electrode. **Materials Science and Engineering**; v.69. p. 1345–1353, 2016).

GHISELLI, G. JARDIM, W. Interferentes endócrinos no ambiente. **Quím. Nova**. 30: 695-706, 2007.

GOMEZ, E. et al. Bioconcentration of two pharmaceuticals (benzodiazepines) and two personal care products (UV filters) in marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*) under controlled laboratory conditions. **Environmental Science and Pollution Research**, 19, 2561–2569, 2012.

GOSSER Jr., D. K. **Cyclic Voltammetry: Simulations and analysis of reaction mechanisms**. New York: Wiley-VHC, 1993.

HARHAY, M. O.; HORTON, J.; OLLIARO, P. L. **Epidemiology and control of human gastrointestinal parasites in children**. National Institutes of Health, 2010.

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry. Disponível em: <http://www.iupac.org/nc/home/projects/project-db/project-details.html?tx_wfqbe_pi1 %5Bproject_nr%5D=2012-034-1-600 > Acesso em: 21/08/2017.

INMETRO. Orientação sobre validação de métodos analíticos. DOQ-CGCRE-008, disponível em: . Acesso em Fevereiro de 2018.

KEISER, J.; UTZINGER, J. **The Drugs We Have and the**. In: **Advances in Parasitology Vol. 73**. Elsevier, 2010.

KOGIEN, M.; TEIXEIRA, C. A. **Mebendazol no tratamento de helmintíases intestinais – revisão de literatura e considerações de Enfermagem**. Enfermeria Global, 2011.

KOROKOLVAS, A.;FRANÇA, F. F.A. C. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. E. 2009/2010. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,2009. P.10.18.

LEE, J. SUN;CHO,S. H.;LIM, C. M.;CHANG,M. I.; JOO, H. J.; BAE,H.;PARK,H. J. A Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Approach for the Identification of Mebendazole Residue in Pork, Chicken, and Horse. **PloS one**, v. 12, n. 1, p. e0169597, 2017.

LUZ, R. C. S. Voltammetric determination of 4-nitrophenol at a lithium tetracyanoethylene (LiTCNE) modified glassy carbon electrode. **Talanta**, 64, 935–942, 2004.

MANAHAN, S. E. **Environmental Chemistry**. Boca Raton: Lewis Publishers, 2000.

MANISANKAR, P. et al. Determination of pesticides using heteropolyacid montmorillonite clay-modified electrode with surfactant. **Talanta**, 68, 686, 2006.

MARTINEZ, J. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environm. Pollution*. 157: 2893-2902, 2009.

MEHTA, P. N. **Drugs for intestinal helminths**. Elsevier. *Pediatric Infectious Disease*, 2013, p. 22-25.

MICHALKIEWICZ, S.; TUTAJ, M.; KACZOR, M.; MALYSZKO, J.; *Electroanalysis* **2002**, 14, 297.

MOURA, J. A. Estudo da eficiência de estações de tratamento de esgoto - ETE e estações de tratamento de água – ETA na eliminação de resíduos de Estrógenos Naturais e Sintéticos na UGRHI-13 (Tietê-Jacaré). Araraquara. Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista. Tese de Doutorado. 2009.

NEVES, D. P. Glossário. In: D. P. NEVES. **Parasitologia Humana**. 11ª Edição, Editora Atheneu. São Paulo, 2004.

OLIVEIRA, S. C. B. et al. Electrochemical oxidation of ochratoxin A at a glassy carbon electrode and in situ evaluation of the interaction with deoxyribonucleic acid using an electrochemical DNA-biosensor. **Analytica Chimica Acta**, 588, 283, 2007.

O'NEIL, M. J. et. al. **The Merck Index: an Enciclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals**. The Royal Society of Chemical, 2013.

OSTERYOUNG, J.; OSTERYOUNG, R.; **Anal. Chem.** 1985, 57, 101A.

PEDROUZO, M. et al. Presence of pharmaceuticals and hormones in waters from sewage treatment plants. **Water Air Soil Pollut**, 217, 267–281, 2011.

Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M., & Moore, P. K. **Farmacologia**. 6ª edição. Rio de Janeiro: Guabanara, Koogan AS. **Farmacologia**. 6ª edição. **Rio de Janeiro: Guabanara, Koogan AS**, 2007.

SCHWART, T.; KOHNEN, W.; JANSEN, B. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water and drinking water biofilms. **Microbiol. Ecol.** 1470: 1-11, 2002.

SEIFFERT, M. E. B. **Gestão ambiental: instrumentos, esferas de ação e educação ambiental**. São Paulo: Atlas, 2010.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO (SNIS). **Ministério das cidades-Secretaria de Nacional de Saneamento Ambiental**, 2014.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN T. A., **Princípios de análise Instrumental**. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.

SMITH, E. T. Examination of n=2 reaction mechanisms that reproduce pH-dependent reduction potentials. **Analytica Chimica Acta**, 572, 2006, 259.

SODRE, F. F. et al. Occurrence of emerging contaminants in Brazilian drinking waters: A sewage-to-tap issue. **Water Air Soil Pollut**, 206, 57-67, 2010

SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A., Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos, **Química Nova**, 26: 81, 2003.

SWAMY, N.; PRASHANTH, K. N.; BASAVAIHAH, K. Spectrophotometric assay of mebendazole in dosage forms using sodium hypochlorite. **Journal of applied spectroscopy**, v. 81, n. 3, p. 525-533, 2014.

SWEETMAN, S. C.. Martindale, 2005.

TEIXEIRA, J. C.;HELLER,L. Fatores ambientais associados às helmintoses intestinais em áreas de assentamento subnormal, Juiz de Fora, MG. **Eng. Sanit. Ambient.**,v.9,n.4,p.301-305,2004.

TICIANELLI, E. A.; GONZÁLEZ, E. R. **Eletroquímica , Princípios e aplicações**. 2ª edição. São Paulo,2005.

Titus, A.M; Msagati, A. M;Catherine, N. J. Voltammetric Determination of a Benzimidazole Anthelmintic Mixture at a Poly(3-methylthiophene)-modified Glassy Carbon Electrode. **S. Afr. J. Chem.**, v.56, p.5-9, 2003.

UEDA, Joe et al. Impacto ambiental do descarte de fármacos e estudo da conscientização da população a respeito do problema. **Revista Ciências do Ambiente On-line**, Campinas, v. 5, n. 1, p.1-6, jul. 2009.

USEPA, United States Environmental Protection Agency. Drinking Water Contaminant Candidate List and Regulatory Determinations. Disponível em: <<http://www2.epa.gov/ccl>> Acesso em 21/08/2017.

VAN DE STEENE, J.; LAMBERT, W.; Validation of a solid-phase extraction and liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometric method for the determination of nine basic pharmaceuticals in wastewater and surface water samples. **J Chromatogr A**, 2008, v.1182, p.153–160.

VAZ, Kleydson Vinicius; FREITAS, Marcílio Mendes de; CIRQUEIRA, JULYENE ZORZETT. Investigação sobre a forma de descarte de

medicamentos vencidos: **Cenarium Farmacêutico**, Ano 4, nº 4, Maio/Nov 2011.

VICHAPONG, J.,SANTALADCHAIYAKIT,Y., BURAKHAM, R., & SRIJARANAI, S. Determination of Benzimidazole Anthelmintics in Eggs by Advanced Microextraction with High-Performance Liquid Chromatography. **Analytical Letters**, v. 48, n. 4, p. 617-631, 2015.

VILLERS, M. M. Variable-temperature X-ray powder diffraction analysis of the crystal transformation of the pharmaceutically preferred polymorph C of mebendazole. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 2005 p. 435-441.

VIPPAGUNTA, S.; BRITAIN, H. G.; GRANT, D. J. **Crystalline solids**. Advanced Drug Delivery Reviews, 2001, p.3-26.

WAGIL,M.;BIALKBIELINSKA,A.;PUCKOWSKI,A.;WYCHODNIK,K.;MASZKOWSKA,J.;MULKIEWICZ,E.;KUMIRSKA,J.;STEPNOWSKI,P.;STEFAN, S.;Toxicity of anthelmintic drugs (fenbendazole and flubendazole) to aquatic organisms. **Environ Sci Pollut**, 2015; v.22. p.2566–2573.

WANG, J. **Analytical electrochemistry**. 3^a ed. New Jersey: John Wiley and Sons Ltd., 2006.

WANG, J. **Analytical Eletrochemistry**. 2^a ed. New York: John Wiley, 2000.

WEISS K, SCHÜSSLER W, PORZELT M. Sulfamethazine and flubendazole in seepage water after the sprinkling of manured areas. **Chemosphere**, 2008, v.72, p.1292–1297.

WHO. **Soil-transmitted Helminth Infections**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs366/en/>> Acesso em: 10 out. 2017.

WILLIAMS, D. A.; LEMKE, T. L. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry** 6^a ed., Baltimore and Philadelphia, 2008.

WIGHTMAN, R. M.; MALOY, J. T.; FAULKNER, L. R.; OSTERYOUNG, R.A.; ANSON, F. C.; *Anal. Chem.* 1982, 54, 698A.

ZRNCIC, M.;GROS, M.; BABIC, S.; KASTELAN-MACAN, M.;BARCELO, D.; PETROVIC, M. Analysis of anthelmintics in surface water by ultra high performance liquid chromatography coupled to quadrupole linear ion trap tandem mass spectrometry. **Chemosphere**. 2014;99:224–232

ZOSKI, C. G. **Handbook of eletrochemistry**. 1^a Ed. Netherlands: Elsevier, 2006.

ZHENG, L. Z.; WU, S. G.; LIN, X. Q.; NIE, L.; RUI, L.; ***Electroanalysis***, 13, 1351, 2001,