

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI -
UFVJM

FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS - FACET

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALÍTICA PARA
DETERMINAÇÃO DE NICOTINA EM TABLETES MASTIGÁVEIS PARA
FUMANTES USANDO ELETRODOS DE DIAMANTE DOPADOS COM BORO.**

Isabela Fernandes Rodrigues

Diamantina

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI -
UFVJM

FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS – FACET

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALÍTICA PARA
DETERMINAÇÃO DE NICOTINA EM TABLETES MASTIGÁVEIS PARA
FUMANTES USANDO ELETRODOS DE DIAMANTE DOPADOS COM BORO.**

Isabela Fernandes Rodrigues

Orientador:

Prof. Dr. Paulo Henrique Fidêncio

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Licenciatura em
Química, como parte dos requisitos
exigidos para a conclusão do curso.

Diamantina

2011

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALÍTICA PARA
DETERMINAÇÃO DE NICOTINA EM TABLETES MASTIGÁVEIS PARA
FUMANTES USANDO ELETRODOS DE DIAMANTE DOPADOS COM BORO.**

Isabela Fernandes Rodrigues

Orientador:

Prof. Dr. Paulo Henrique Fidêncio

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Licenciatura em
Química, como parte dos requisitos
exigidos para a conclusão do curso.

APROVADO em:/...../.....

Prof. Dr. Kassílio José Guedes – UFVJM

Prof. Dr. Robson Tadeu Soares de Oliveira Junior – UFTM

Prof^a. Dra. Cristina Fontes Diniz – UFVJM

Prof. Dr. Paulo Henrique Fidêncio - UFVJM

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre ao meu lado e ser Luz em meu caminho.

Aos meus pais, Ana Amélia F. D. Rodrigues e Joaquim Lúcio Rodrigues da Silva, que fizeram de meus objetivos, os seus objetivos.

Ao Prof. Dr. Robson Tadeu Soares de Oliveira Junior, pela amizade, incentivo, por toda contribuição no meu aprendizado, por não medir esforços para realização desse trabalho e por ser sempre o nosso orientador.

Ao Prof. Dr. Paulo Henrique Fidêncio, pelo apoio e compreensão.

À sempre amiga e eterna companheira, Marcela Portes de Castro, por dividir todos os momentos durante essa longa jornada e pelo incondicional apoio e paciência.

À técnica e amiga Flávia Cristina de Barros, pela disposição em ajudar e por contribuir na realização desse trabalho.

A todos os colegas que de alguma forma contribuíram para realização do presente trabalho.

“Existe uma coisa que uma longa existência me ensinou: toda a nossa ciência, comparada à realidade, é primitiva e inocente; e, portanto, é o que temos de mais valioso.”

Albert Einstein

RESUMO

A determinação de substâncias nocivas ao homem ou ao meio ambiente vem adquirindo uma importância fundamental, visto que há a necessidade da preservação ambiental e melhoria da qualidade de vida do ser humano. Neste sentido, existe um empenho da comunidade científica no desenvolvimento e otimização de metodologias, para determinação de substâncias danosas ao meio ambiente e à saúde humana. Esta necessidade se aplica particularmente no caso da nicotina, pois está presente no tabaco e causa dependência física e psíquica. A nicotina é geralmente analisada por métodos cromatográficos, sendo necessário à manipulação trabalhosa das amostras, devido à necessidade de prévias separações, que podem levar a perdas do analito. Deste modo, o presente trabalho tratou da determinação eletroquímica de nicotina em amostras de tabletes mastigáveis, que visam reduzir a dependência do cigarro. Como material eletródico utilizou - se eletrodos de diamante dopados com boro (DDB). Em meio a tampão BR (Britton - Robinson) pH 4, revelou - se através de experimentos em voltametria de Onda Quadrada, um pico de corrente para a oxidação da Nicotina em potencial 1,4V. A partir de experimentos em Voltametria de Onda Quadrada, obteve - se os parâmetros de otimização para determinação de Nicotina em tabletes mastigáveis para fumantes. Construiu - se curvas analíticas através de concentrações conhecidas de padrão de Nicotina, a fim de analisar o comportamento linear entre as concentrações e a corrente do pico da oxidação da Nicotina. Desse modo, foram analisadas as concentrações de nicotina em tabletes mastigáveis (Nicorette[®]), visando comparar os resultados obtidos com aqueles apresentados nas bulas dos produtos farmacêuticos. Obteve - se um limite de detecção igual a $3,0 \times 10^{-7}$ mol. L⁻¹. A concentração do analito encontrada foi de 1,94 mg. Por meio dos experimentos realizados nesse trabalho encontrou - se um valor de recuperação de aproximadamente 97%, muito próximo do valor esperado.

Palavras Chave. Nicotina, Voltametria de Onda Quadrada, Eletrodo de Diamante Dopado com Boro.

ABSTRACT

The determination of harmful substances to man or to the environment has acquired fundamental importance, since there is a need for environmental conservation and improving the quality of human life. In this sense, there is a commitment from the scientific community to the development and optimization methodologies for the determination of harmful substances to the environment and human health. This need is particularly true in the case of nicotine, since it is present in tobacco and causes physical and psychological dependence. Nicotine is generally analyzed by chromatographic methods, necessitating the laborious manipulation of the samples due to the need of previous separations, which can lead to losses of analyte. Thus, this study dealt with the electrochemical determination of nicotine in samples of chewable tablets, which aim to reduce tobacco dependence. As electrode material used - whether electrodes boron-doped diamond (BDD). In the midst of BR buffer (Britton - Robinson) pH 4, revealed - whether through experiments in square wave voltammetry, a peak current for the oxidation potential of 1.4 V. Nicotine From experiments in Square Wave Voltammetry, won - if the optimization parameters for determination of nicotine in smoking Chewable Tablets. Built - in analytical curves using known concentrations of standard nicotine in order to analyze the linear relationship between concentration and current peak of oxidation of nicotine. Thus, we analyzed concentrations of nicotine in chewable tablets (Nicorette ®), to compare the results with those presented in package inserts for pharmaceuticals. Obtained a detection limit of 3×10^{-7} mol. L⁻¹. The analyte concentration found was 1.94 mg. Through the experiments in this study found a recovery value of approximately 97%, very close to the expected value.

Key words. Nicotine, Square Wave Voltammetry, Electrode Boron Doped Diamond.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
1.1 NICOTINA	8
1.2 ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO	9
1.3 TEORIA DO MÉTODO	12
1.3.1 Técnicas Eletroquímicas	12
1.3.2 Voltametria Cíclica	13
1.3.3 Voltametria de Onda Quadrada	17
1.4 O TRATAMENTO DOS DADOS ANALÍTICOS	22
2 OBJETIVO	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1 MATERIAIS E REAGENTES	24
3.2 SOLUÇÕES	25
3.3 EQUIPAMENTOS UTILIZADOS	25
3.4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	26
3.4.1 Determinação da eletroatividade da nicotina em diferentes meios e sobre diferentes eletrodos	26
3.4.2 Escolha da técnica mais adequada para a análise do processo de oxidação da nicotina	26
3.4.3 Desenvolvimento da metodologia analítica para análise da nicotina em tabletes mastigáveis de liberação controlada	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 ESTUDOS BÁSICOS DAS CONDIÇÕES DE TRABALHO	28
4.2 INFLUÊNCIA DA AMPLITUDE DA ONDA QUADRADA	30
4.3 INFLUÊNCIA DA FREQUÊNCIA DE ONDA QUADRADA	31
4.4 PARÂMETROS VOLTAMÉTRICOS	33
4.4 APLICAÇÃO ANALÍTICA	34
5 CONCLUSÃO	40
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1 INTRODUÇÃO

1.1 NICOTINA

A nicotina é um alcalóide encontrado na família das solanáceas de plantas (Solanaceae), que constitui cerca de 0,6-3,0% de matéria seca de tabaco ¹. Em baixas concentrações (um cigarro tem em média cerca de 1 mg de nicotina absorvida), a substância age como um estimulante para os mamíferos e é um dos principais fatores responsáveis pelas propriedades de dependência de formação de tabagismo. Segundo a American Heart Association, “a dependência da nicotina tem sido historicamente um dos vícios mais difíceis de quebrar. As características farmacológicas e comportamentais que determinam a dependência do tabaco são similares àqueles que determinam a dependência de drogas como a heroína e a cocaína” ².

Quando a nicotina é absorvida pelo organismo ela é rapidamente distribuída pela corrente sanguínea e pode atravessar a barreira hemato-encefálica. Em média, leva cerca de sete segundos para a substância chegar ao cérebro quando inalada. A meia-vida da nicotina no organismo é de cerca de duas horas ³.

O uso crônico de nicotina pode aumentar a neurotransmissão dopaminérgica, principalmente no córtex pré-frontal ⁴. Reduzindo a atividade do córtex pré-frontal pode levar a sintomas negativos e cognitivos, déficits e, portanto, melhora na atividade dopaminérgica na região pela nicotina pode aliviar esses sintomas. O alívio dos sintomas resultantes poderiam motivar os pacientes a continuar a fumar ⁵. A quantidade de nicotina inalada com a fumaça do tabaco é uma fração da quantidade contida nas folhas do tabaco.

A quantidade de nicotina absorvida pelo corpo depende de muitos fatores, incluindo o tipo de tabaco, a quantidade de fumaça inalada, e se um filtro é usado. As análises de nicotina têm sido realizadas principalmente por métodos cromatográficos e espectrofotométricos com o objetivo de determinar sua concentração em diferentes amostras. Técnicas eletroanalíticas não têm sido utilizadas para determinar nicotina em amostras reais, tais como fumaça de cigarro e em amostras que contenham nicotina como fármaco, como tabletes mastigáveis, que liberam nicotina de maneira controlada.

Entretanto, apesar destas técnicas serem muito precisas e sensíveis, elas são dispendiosas e exigem preparação trabalhosa de amostras, e, portanto, um longo tempo de análise.

Por outro lado, as técnicas eletroanalíticas são também precisas, sensíveis e permitem custos e tempos de análise menores. Dentre elas, a voltametria de onda quadrada pode ser utilizada, sem a necessidade de dispendiosas manipulações das amostras, sendo de baixo custo e necessitando de pequeno tempo para a realização das análises. Desta forma, ela tem sido empregada de forma crescente na quantificação de diversas substâncias⁶⁻⁷. Normalmente, os limites de detecção e a precisão das técnicas eletroanalíticas são muito próximos daqueles observados em experimentos cromatográficos.

1.2 ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO

O diamante é uma forma alotrópica rara do carbono, possuindo elevados graus de densidade atômica, de dureza e de resistência mecânica⁸. É um material exótico de difícil acessibilidade e devido ao seu grande *gap* de energia (mais de 5 eV), o diamante puro é normalmente um isolante e não pode ser usado como um material para eletrodo. Contudo, o diamante pode ser usado como condutores quando dopados com alguns elementos. Na maioria dos casos, é utilizado como dopante o boro, obtendo – se assim como resultado da dopagem semicondutores do tipo p⁹.

Os dois métodos mais empregados para a síntese do diamante são a deposição química a partir da fase vapor (Chemical Vapor Deposition - CVD) e o crescimento a alta pressão/ alta temperatura (High – Pressure/ High Temperature - HPHT). O processo que mais se assemelha ao processo de formação do diamante natural é o HPHT, porém o método mais utilizado para a síntese dos filmes de diamante em série é o CVD, que permite produzir filmes finos de diamante sintéticos a partir de reagentes gasosos¹⁰.

A técnica de CVD vem constantemente sofrendo aprimoramento com estudo de novas fases-vapor e implementação de novos reatores para a confecção de filmes ultrafinos de DDB em diferentes substratos.

O elemento químico usado na dopagem é o Boro, geralmente proveniente do gás trimetil-boro, numa concentração que varia entre 10 e 25000 ppm, fornecendo ao material as características de um semiconductor, dependendo da concentração do dopante utilizada ¹¹. A concentração do Boro também determina a resistência específica de um filme de DDB, concentrações de 10^{18} átomos cm^{-3} determinam uma resistência na ordem de 10^4 Ohms, enquanto que concentrações de 10^{21} átomos cm^{-3} conduzem a uma resistência na ordem de 10^{-2} Ohms.

A fonte de carbono pode ser o metano, a acetona ou qualquer composto orgânico volátil. Usualmente escolhe-se o metano por ser um composto abundante e que preenche todos os requisitos para uma boa deposição pela técnica de CVD. O substrato também é outro fator importante na confecção do eletrodo, o melhor substrato é aquele que possui boa resistência mecânica e coeficiente de dilatação parecido com o do filme de diamante, para evitar eventuais rachaduras após a retirada do eletrodo do reator.

Desta forma, o eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) tem despertado o interesse de eletroquímicos de todo o mundo, devido à superioridade de suas propriedades eletroquímicas em relação aos outros alótropos do carbono, como o carbono vítreo e o pirolítico ^{12,13}. Este material apresenta várias propriedades atrativas, que incluem uma larga janela eletroquímica de potencial entre as reações de desprendimento de hidrogênio (RDH) e oxigênio (RDO) em meio aquoso e não aquoso; alta estabilidade química e mecânica e alta resistência contra a corrosão; baixas correntes capacitivas e baixa sensibilidade ao oxigênio dissolvido ¹⁴; estabilidade de resposta em longo prazo; fraca adsorção em moléculas polares. Neste eletrodo, a evolução de hidrogênio começa em -1,5V e a evolução de oxigênio em + 2,3V *versus* Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ molL}^{-1}$).

No Brasil já estão sendo preparados eletrodos de diamante dopado com boro utilizando-se a técnica de CVD ¹⁵, inclusive sob diferentes substratos ¹⁶⁻¹⁷ e estão sendo utilizados para diversas aplicações em eletroquímica, como por exemplo, para a oxidação de compostos orgânicos ^{18,19}. Esse diamante produzido localmente tem levantado o interesse para outras aplicações além da eletroquímica, como o

desenvolvimento de brocas odontológicas com pontas de diamante sintético, que apresentam vida superior às brocas tradicionais²⁰. No entanto, esses eletrodos ainda não estão disponíveis comercialmente.

O eletrodo de DDB, em função de suas propriedades únicas, está sendo cada vez mais utilizado no desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para a determinação de compostos orgânicos e inorgânicos, em diversas matrizes^{21,22}. Neste sentido, Zhang e Oyama²³ utilizaram o eletrodo de DDB para a determinação de mioglobina e hemoglobina por meio da voltametria cíclica e obteve um limite de detecção da ordem de 2,98 e $6,95 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ respectivamente. Já Nekrassova *et al*²⁴ estudaram a oxidação da cisteína por voltametria de onda quadrada. Obtiveram um limite de detecção da ordem de 0,5 µM e também estudaram o efeito de vários possíveis interferentes biológicos incluído outro compostos thiois. Su *et al.*²⁵ determinaram glicose por meio da modificação da superfície do eletrodo de DDB com a enzima glicose-oxidase. Utilizaram a voltametria cíclica para estudar a modificação da superfície do eletrodo de DDB e na faixa de concentração de 10 a 35 µM obtiveram um limite de concentração da ordem de 0,5 µM. Swain e Xu²⁶ utilizaram o eletrodo de DDB para o estudo da oxidação de azida, por meio da técnica de voltametria de pulso diferencial e o limite de detecção (LD) obtido foi de 4,3 µg L⁻¹. No entanto, melhor valor de LD foi obtido utilizando análises com injeção em fluxo e detecção amperométrica (0,3 µg L⁻¹).

Adicionalmente, existem vários outros trabalhos na literatura que mostram a aplicabilidade e a viabilidade da utilização do eletrodo de DDB para a determinação de diversos compostos orgânicos, como por exemplo, poliaminas²⁷, serotonina e histamina²⁸, ácido úrico²⁹ e captopril³⁰.

A determinação de pesticidas também tem sido realizada com sucesso sobre eletrodos de diamante. Fujishima *et al*³¹ fizeram a determinação eletroanalítica de 11 clorofénois em amostras de águas utilizando um eletrodo de DDB com análises de injeção em fluxo e detecção amperométrica. O limite de detecção obtido com a utilização do eletrodo de DDB para os clorofénois foi da ordem de 10^{-9} mol L⁻¹.

Por outro lado, Rao *et al.*³², desenvolveram uma metodologia eletroanalítica para a determinação de pesticidas da classe dos carbamatos, utilizando o eletrodo de diamante e detecção amperométrica. Neste trabalho foram utilizados dois métodos para

a determinação dos pesticidas, ou seja, a determinação direta sem derivatização e a determinação após a as amostras de pesticidas serem submetidas a uma reação de hidrólise. Os compostos obtidos após a hidrólise apresentaram potencial de oxidação menor do que os de origem, aumentando a sensibilidade do método. Os valores de limite de detecção obtidos foram de 5,0-20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, para o método direto e de 0,6-1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, após a derivatização.

O crescimento no desenvolvimento dos eletrodos de diamante pela técnica de CVD, fez com que este material despertasse o interesse econômico, devido a sua vasta aplicação, principalmente em curto prazo, resultante de suas propriedades únicas.

O emprego desse eletrodo para a determinação do analito de interesse pode ser justificado por diversos motivos, entre eles: a ampla janela útil de potenciais desse eletrodo, o fato de que não há necessidade de renovação de sua superfície, podendo melhorar a repetibilidade dos resultados e, também devido ao fato do eletrodo apresentar baixa adsorção.

1.3 TEORIA DO MÉTODO

1.3.1 Técnicas Eletroquímicas

Têm sido utilizadas na eletroanálise, várias técnicas eletroquímicas. Tais métodos podem ser divididos em duas classes: métodos eletrolíticos e não eletrolíticos, sendo o primeiro baseado em fenômenos físicos – químicos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo e a solução da amostra, e o segundo baseado nos fenômenos que ocorrem no seio da solução. Técnicas voltamétricas estão incluídas nos métodos eletrolíticos.

1.3.2 Voltametria Cíclica

A voltametria cíclica é uma técnica cujo princípio básico consiste na medida da corrente gerada em um eletrodo em solução, em função do potencial aplicado neste eletrodo. O eletrodo no qual o potencial é varrido é chamado de eletrodo de trabalho. Muitos materiais têm sido utilizados como eletrodos de trabalho, mas os mais importantes são mercúrio (Hg), platina (Pt), ouro (Au) e grafite.

Desta forma a voltametria cíclica é definida como medida (*metria*) da interdependência do potencial do eletrodo (em *Volts por segundo*) com a corrente que circula pelo sistema eletródico da célula eletroquímica (em *Amperes*).

A técnica consiste em, a partir de um potencial aplicado inicial (E_1), variar o potencial do eletrodo até um potencial final (E_2), e então retornar à mesma velocidade ou não, ao valor inicial ou outro valor qualquer de potencial³³. Esta programação imposta ao eletrodo de trabalho pode ser observada na Figura 1.1. Na prática utilizam-se velocidades de varreduras entre 10 mV/s e 10 KV/s, sendo mais comum trabalhar entre 20 e 200 mV/s.

O perfil do voltamograma cíclico teórico (I versus ($E - E^0$)) apresentado na Figura 1.2, ilustra os processos ocorridos na reação:



O pico catódico de corrente pode ser associado com a redução de O para R , enquanto que o pico da varredura reversa refere-se à oxidação de R formado na etapa anterior retornando a O .

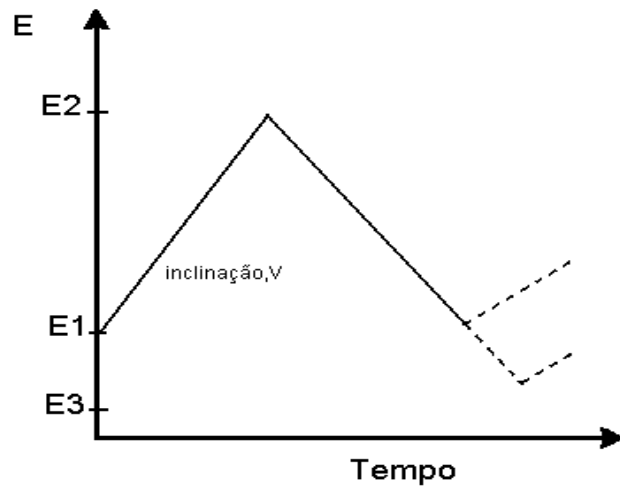


Figura 1. 1: Representação esquemática do perfil da varredura voltamétrica potencial-tempo.

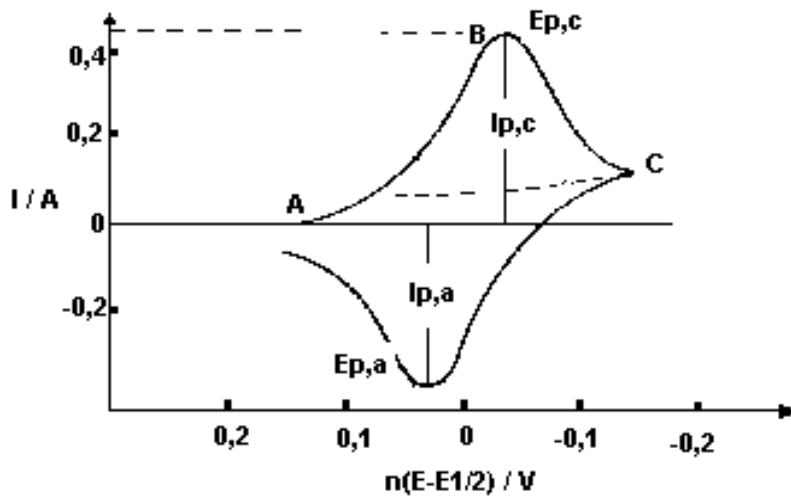


Figura 1. 2: Representação esquemática de voltamograma cíclico para sistema reversível.

Na Figura 1.2, observa-se que:

E_p^A = Potencial de pico anódico

E_p^C = Potencial de pico catódico

I_p^A = Corrente de pico anódico

I_p^c = corrente de pico catódico

Com a voltametria cíclica podemos determinar parâmetros para avaliar a reversibilidade dos sistemas eletroquímicos, como pode ser mostrado nas tabelas de diagnósticos abaixo:

Tabela 1.1: Diagnóstico para sistemas reversíveis

Diagnóstico para sistemas reversíveis
1- $\Delta E_p = E_p^A - E_p^C = 59/n \text{ mV}$
2- $ E_p - E_{p/2} = 59/n \text{ mV}$
3- $ I_p^A / I_p^C = 1$
4- $I_p \propto v^{1/2}$
5- E_p é independente de v

Tabela 1.2: Diagnóstico para sistemas totalmente irreversíveis

Diagnóstico para sistemas totalmente irreversíveis
1-Não há pico reverso
2- $I_p^c \propto v^{1/2}$
3- E_p^c muda com $-30 / n_c \alpha_c \text{ mV}$ para cada aumento de década de v
4- $ E_p - E_{p/2} = 48 / n_c \alpha_c \text{ mV}$

Tabela 1.3: Diagnóstico para sistemas quase – reversíveis

Diagnóstico para sistemas quase reversíveis
1- $ I_p $ aumenta com aumento de $v^{1/2}$, mas não é proporcional a este.
2- $ I_p^A/I_p^c =1$ e α_c e $\alpha_a=0,5$
3- ΔE_p é maior do que 59/ n mV e aumenta com aumento de v
4- E_p^c muda negativamente com aumento de v

De acordo com o voltamograma da Figura 1.3 pode-se notar a diferença entre um processo reversível e irreversível. Este efeito na reversibilidade é observado de acordo com a posição dos picos anódicos e catódicos, com relação aos critérios de diagnóstico já explicitados anteriormente.

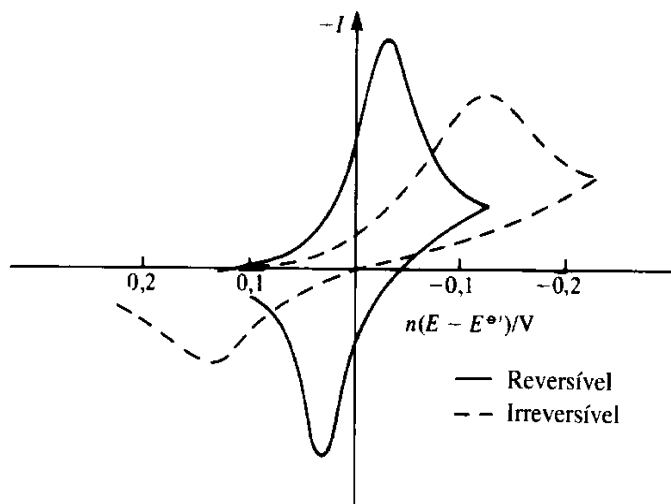


Figura 1. 3: Representação esquemática do efeito da irreversibilidade na forma dos voltamogramas cíclicos.

A voltametria cíclica permite também uma relação linear entre corrente de pico versus concentração da espécie eletroativa no seio da solução ³⁴, isto é evidenciado pela equação de *Randles-Sevcik* (para sistemas reversíveis):

$$I_p = - (2.69 \times 10^{-5}) n^{3/2} C_o^\infty D^{1/2} v^{1/2} \quad (\text{Equação 1})$$

onde, I_p é a densidade de corrente de pico em $A.cm^{-2}$, D é o coeficiente de difusão em $cm^2.s^{-1}$, v é a velocidade de varredura em $V.s^{-1}$ e C_o^∞ é a concentração da espécie eletroativa no seio da solução.

1.3.3 Voltametria de Onda Quadrada

A voltametria de onda quadrada é uma técnica sofisticada que faz uso da tecnologia computacional não somente para a implementação de experimentos, mas também para prever as respostas teóricas destes, podendo desta forma comparar os resultados teóricos com os experimentais ³⁵. Por meio do auxílio computacional também tornou - se possível realizar os tratamentos teóricos com maior profundidade, podendo - se fazer modelos teóricos que envolvam sistemas reacionais não reversíveis ou que estejam associados com a transferência de elétrons.

O potencial é aplicado ao eletrodo na forma de uma onda quadrada, e esta representa uma função monotônica (Figura 1.4 - A), superposta a uma função periódica de amplitude E_{sw} (Figura 1.4 - B) dando origem à onda quadrada apresentada na Figura 1.4 - C.

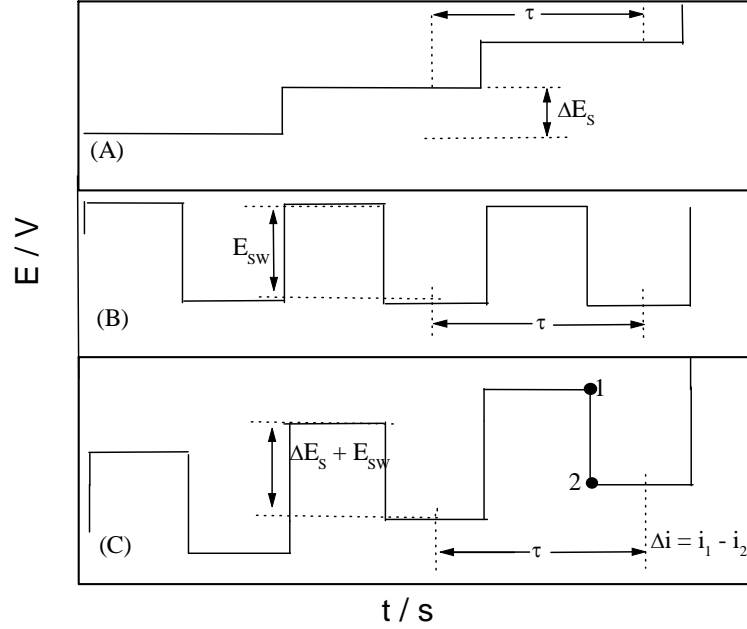


Figura 1. 4: Representação esquemática de uma onda quadrada (A) Função monotônica de período τ com incremento de varredura E_s , (B) Função periódica de amplitude E_{sw} , (C) função resultante da sobreposição de (A) e (B).

Nesta figura E_{sw} é a amplitude do pico de potencial, τ é o período, $\Delta E_s + E_{sw}$ é a altura do pulso de potencial e E_s é o incremento de varredura. Desta forma o período τ da onda quadrada mantém-se constante entre as cristas desta. Os valores de E_s e E_{sw} são tipicamente $10/n$ mV e $50/n$ mV, para um valor $\tau = 10$ ms, onde n é o número de elétrons transferidos no processo em estudo. Com isso mede-se corrente (I) como função do potencial aplicado (E), onde aparecem a corrente direta, inversa e resultante. Isso pode ser expresso através da equação 2:

$$I_{res} = I_{dir} - I_{rev}$$

(Equação 2)

A Figura 1.5 mostra o esboço de um voltamograma de onda quadrada, onde podem ser evidenciadas as variáveis explicitas acima, onde n representa a corrente resultante, f é a corrente direta e r a corrente reversa.

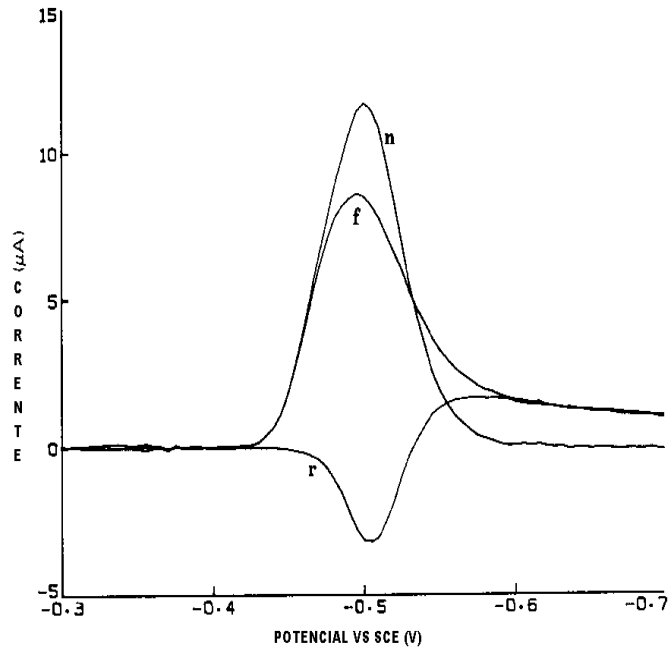


Figura 1. 5: Representação esquemática de um voltamograma de onda quadrada.

A voltametria de onda quadrada permite também obter relações lineares entre I_p (corrente de pico) versus concentração da espécie eletroativa no seio da solução.

Com a diminuição do período aumenta-se a sensibilidade da técnica, pois a corrente de pico é inversamente proporcional a este.

$$\Delta I_p = 0,928 n F A C (2 D_r / \pi \tau)^{1/2} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde,

ΔI_p - Variação da corrente de pico

n - Número de elétrons envolvidos no processo

A - Área do eletrodo

F - Constante de Faraday

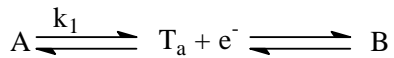
D_r - Coeficiente de difusão

τ - Período

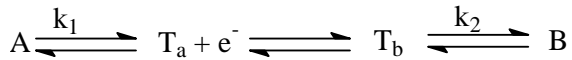
C- Concentração da espécie eletroativa no seio da solução

Na voltametria de onda quadrada é possível alcançar limites de detecção próximos a 10^{-8} mol.L⁻¹, sendo também possível determinar parâmetros cinéticos como a reversibilidade e irreversibilidade de reações eletródicas assim como processos adsorptivos^{36,37}, isto é observado nos esquemas reacionais mostrados abaixo:

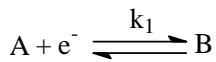
a) Processo de adsorção dos reagentes



b) Processo de adsorção dos reagentes e produtos



c) Processo sem adsorção



Por meio de uma modelagem matemática chegou-se a equações que descrevem os tipos de reações eletródicas explicitadas anteriormente. Estas equações são mostradas abaixo:

**Reações redox totalmente irreversíveis dos esquemas (a) e (b)*

$$I_p = \text{const} \alpha n^2 \Delta E f a^x t_0^{1/2} C^* \quad (x < 1) \quad (\text{Equação 4})$$

$$\partial E / \partial \log f = -2,3 RT / \alpha n F \text{ mV} / \text{dc} \quad (\text{Equação 5})$$

$$\partial E_{p/2} = (63,5 \pm 0,5) / \alpha n \text{ mV} \quad (\text{Equação 6})$$

**Reações redox reversíveis do esquema (a).*

$$I_p = \text{const} \alpha n^x \Delta E f a^y t_o^{1/2} C^* \quad (1 < x < 2, y < 1) \quad (\text{Equação 7})$$

$$\partial E / \partial \log f = -2,3 RT / 2nF \text{ mV} / \text{dc} \quad (\text{Equação 8})$$

**Reações redox reversíveis do esquema (b)*

$$I_p = \text{const} \alpha n^x f^{1/2} a^y t_o^{1/2} C^* \quad (1 < x < 2, y < 1) \quad (\text{Equação 9})$$

$$\partial E / \partial \log f = 0 \quad (\text{Equação 10})$$

Onde:

α - Coeficiente de transferência

n- Número de elétrons envolvidos no processo

f- Frequência

a- Amplitude do pulso de potencial

t_o - Tempo de polarização

C^* - Concentração da espécie eletroativa

Na Figura 1.6 nota-se o aumento da corrente de pico em função do aumento da concentração em um exemplo.

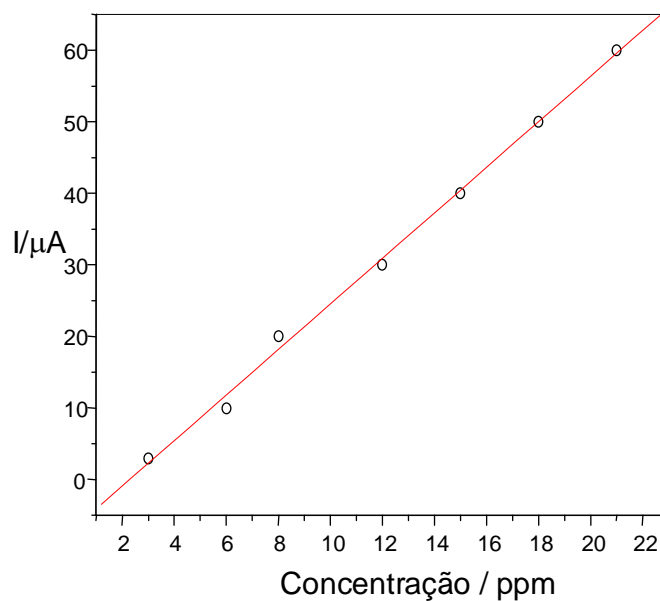


Figura 1. 6: Representação esquemática da corrente de pico versus concentração de um composto exemplo.

1.4 O TRATAMENTO DOS DADOS ANALÍTICOS

A química analítica moderna tem um caráter essencialmente quantitativo. Mesmo quando uma resposta qualitativa é solicitada, métodos quantitativos têm que ser empregados para obtê-la. Os resultados quantitativos devem ser acompanhados de alguma estimativa dos erros inerentes. Um conhecimento dos erros experimentais é crucial para interpretação inequívoca dos resultados. Segundo Osmair B. S., os estatísticos dizem que erros randômicos afetam a precisão ou a reprodutibilidade de um experimento, enquanto que os erros sistemáticos afetam a exatidão ³⁸.

A análise instrumental oferece a possibilidade de se experimentar um grande intervalo de concentrações, ao invés de uma única amostra medida repetidas vezes. Isso significa que os resultados obtidos são calculados e os erros envolvidos avaliados.

Quando um analista utiliza uma série de amostras, nas quais a concentração do analito é conhecida, esses padrões de calibração são medidos no instrumento analítico

sob as mesmas condições do que aquelas a serem utilizadas para o teste de uma solução desconhecido.

Uma vez que o gráfico de calibração foi obtido, a concentração do analito em qualquer análise é obtida, por interpolação.

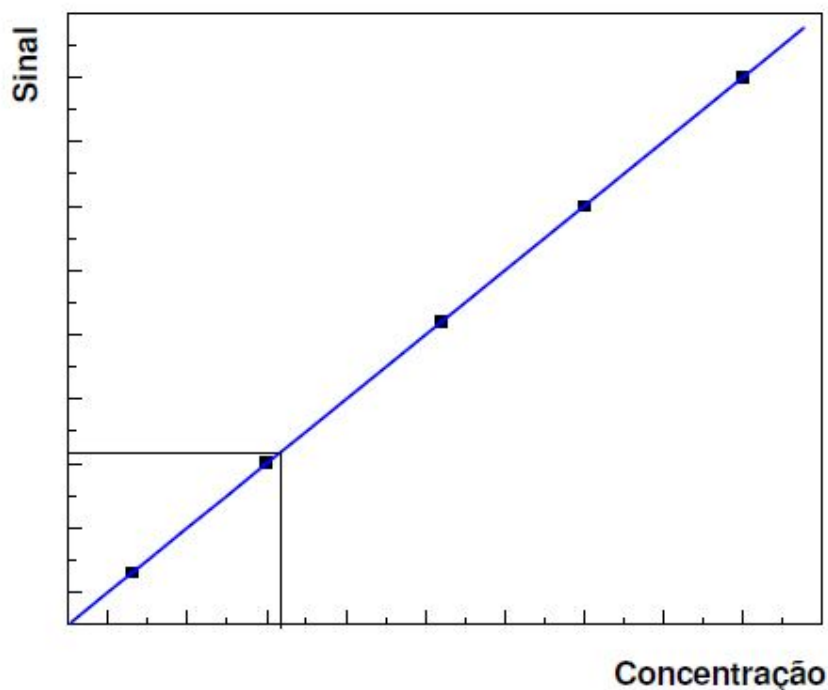


Figura 1. 6: Representação de uma Curva de Calibração

Incluir o valor para uma amostra do “branco” na curva de calibração é de extrema importância, uma vez que o “branco” não contém qualquer quantidade de analito deliberadamente adicionado, mas contém os mesmos solventes, reagente, do que as outras amostras e é sujeito exatamente ao mesmo procedimento analítico que as amostras.

O sinal do instrumento lido para a amostra do “branco” frequentemente não será zero, pois, ele é naturalmente sujeito a erros como todos os outros pontos da curva de calibração.

A curva de calibração deve ser plotada sempre com a resposta do instrumento na vertical (Y) e com as concentrações dos padrões na horizontal (X), como apresentado na Figura 1.7.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral do presente trabalho é desenvolver uma metodologia eletroanalítica para a determinação de nicotina em amostras de tabletes utilizados contra o tabagismo. Para isso, foi proposto utilizar o eletrodo de diamante dopado com boro e a voltametria de onda quadrada. Neste sentido, a eletroatividade da nicotina sobre eletrodos de diamante dopado com boro (DDB) foi investigada em diferentes valores de pH e eletrólitos. Finalmente, foi proposta uma metodologia eletroanalítica para análise da nicotina em amostras de fármacos, para avaliar a influência de interferentes presentes nas amostras e como estes alteram a sensibilidade e seletividade da técnica empregada.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS E REAGENTES

- HCl 0,5 mol.L⁻¹
- KCl 3,0 mol.L⁻¹
- NaClO₄ P.A
- H₃PO₄ P.A
- HAc P.A
- H₃BO₃ P.A
- NaOH 0,1 mol.L⁻¹
- Padrão de Nicotina 10⁻² mol.L⁻¹

- Micropipeta 20 - 200 μL
- Ponteiras descartáveis
- Tabletes mastigáveis de Nicorette 2mg
- Água destilada
- Balões volumétricos, espátulas, béquers e funis de separação.

3.2 SOLUÇÕES

Inicialmente preparou – se solução de 1,0L tampão BR (Britton - Robinson) a partir de NaClO_4 P.A (14,046 g), H_3PO_4 P.A (2,31 mL), HAc P.A (2,28 ML) e H_3BO_3 P.A (2,437 g). A partir da solução de tampão BR (Britton - Robinson) preparou – se outras soluções nos seguintes valores de pH: 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 e 10 pela adição de solução de NaOH 0,1M.

Preparou – se 50 mL de solução padrão de nicotina 10^{-2} M.

A partir de solução HCl $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ e solução KCl $3,0 \text{ mol.L}^{-1}$, preparou – se o eletrodo de referência Ag/AgCl.

3.3 EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

Para realização de medidas foi utilizado uma célula eletroquímica com capacidade de 15 mL, um eletrodo de diamante dopado com boro, um eletrodo de platina e um potenciostato PSLite vs 1.73.

3.4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.4.1 Determinação da eletroatividade da nicotina em diferentes meios e sobre diferentes eletrodos

Inicialmente, desenvolveu - se uma metodologia eletroanalítica para a determinação de nicotina. Este procedimento consistiu - se em encontrar as condições adequadas para obter um (ou mais) pico de oxidação, em um potencial acessível para a técnica utilizada. Executou - se experimentos de voltametria cíclica e onda quadrada para avaliar os processos eletroquímicos apresentados pela nicotina em meio aquoso. Neste caso, parâmetros como pH e a natureza do eletrodo de trabalho foram variados com o intuito de se obter picos voltamétricos que estejam associados com a oxidação da substância a ser investigada.

3.4.2 Escolha da técnica mais adequada para a análise do processo de oxidação da nicotina

Depois de otimizadas as condições experimentais, para a obtenção da resposta eletroquímica da nicotina, analisou - se utilizando o eletrodo que ofereceu a melhor resposta eletroquímica (*DDB com diversos níveis de dopagem*) em função da técnica mais adequada. Deste modo, utilizou - se a voltametria linear, voltametria de onda quadrada e a voltametria de pulso diferencial, visando-se obter um pico máximo de corrente em função da concentração. Esta corrente máxima definiu a técnica eletroanalítica utilizada.

Parâmetros como velocidade de varredura de potenciais, amplitude, tempo e potencial de condicionamento dos eletrodos (pré-concentração do analito) foram variados para maximizar a resposta obtida.

3.4.3 Desenvolvimento da metodologia analítica para análise da nicotina em tabletes mastigáveis de liberação controlada

Após a determinação da eletroatividade da nicotina, estabeleceu – se uma rotina de análise, com a utilização da técnica eletroanalítica mais conveniente, utilizando-se os eletrodos já citados. Levantou - se curvas de trabalho variando-se a concentração da nicotina em solução aquosa. Desta forma, realizou - se testes de recuperação em amostras contaminadas intencionalmente e calculou - se os limites de detecção. Analisou - se amostras reais, utilizando-se fármacos. Realizou - se um tratamento estatístico comparando os resultados obtidos com os valores máximos de contaminação permitidos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESTUDOS BÁSICOS DAS CONDIÇÕES DE TRABALHO

Experimentos de voltametria cíclica, sobre eletrodo de diamante dopado com boro, para solução padrão de nicotina 10^{-2} mol.L⁻¹ em meio a 10 mL tampão BR (Britton - Robinson) em pH 4,02, revelaram um pico de corrente em 1,4 V, sugerindo assim, um processo de oxidação da nicotina, como pode ser observado na Figura 4.1.

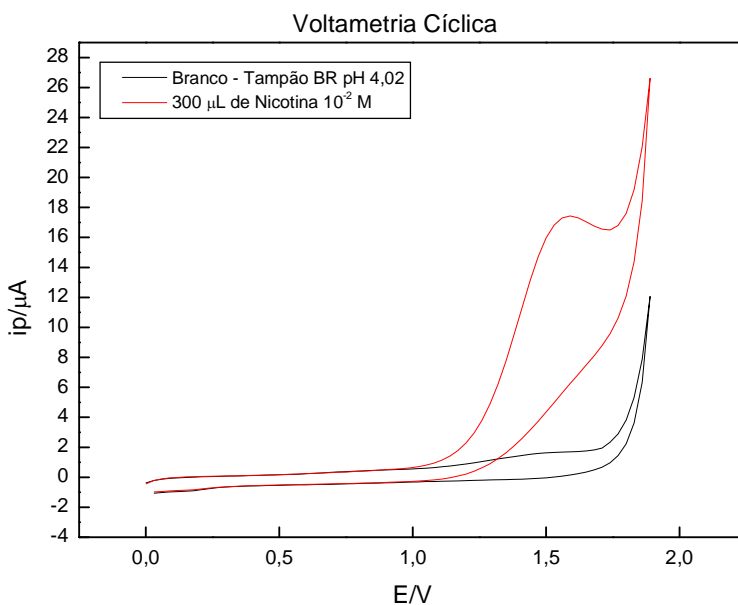


Figura 4. 1: Voltametria cíclica em meio a tampão BR pH 4 e da nicotina sobre o DDB. Velocidade de Varredura: 100 mV/s. [Nicotina] = 10^{-2} M.

Os parâmetros voltamétricos foram escolhidos, em primeira aproximação, por fornecerem as melhores condições para a determinação da região de potencial onde ocorreu a oxidação da nicotina, assim como para se encontrar uma máxima I_p (corrente de pico) em função de uma dada concentração.

A eletroatividade da nicotina foi constatada sobre eletrodos de diamante dopado com boro (8000 ppm) utilizando-se como eletrólito de suporte o tampão BR (Britton - Robinson).

Posteriormente, realizou-se experimentos usando voltametria cíclica com a nicotina em meio a tampão BR (Britton - Robinson) sobre o DDB em diferentes valores de pH, conforme demonstrado na Figura 4.2.

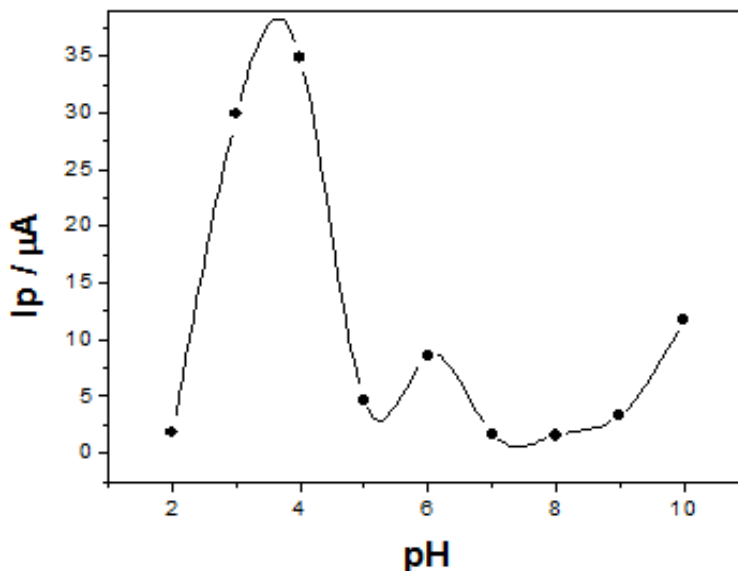


Figura 4. 2: Ip x pH da Nicotina em meio a tampão BR (Britton - Robinson). Velocidade de varredura 100 mV/s. [Nicotina] = 2×10^{-2} M

As condições de voltametria cíclica para tal experimento foram: E 0 até 2,0V, E_{step}: 0,003 V e velocidade de varredura igual a 100 mV/s.

Como pode ser observado na Figura 4.2 a Nicotina apresenta uma maior eletroatividade em valor de pH 4, pois neste valor observa-se um ponto de máximo de corrente para o pico. Assim o melhor valor de pH para determinação da concentração de Nicotina em pastilhas mastigáveis pra fumantes se localiza no ponto de pH igual a 4.

4.2 INFLUÊNCIA DA AMPLITUDE DA ONDA QUADRADA

A Figura 4.3, mostra o aspecto geral dos voltamogramas de onda quadrada para a Nicotina como função da amplitude de onda quadrada.

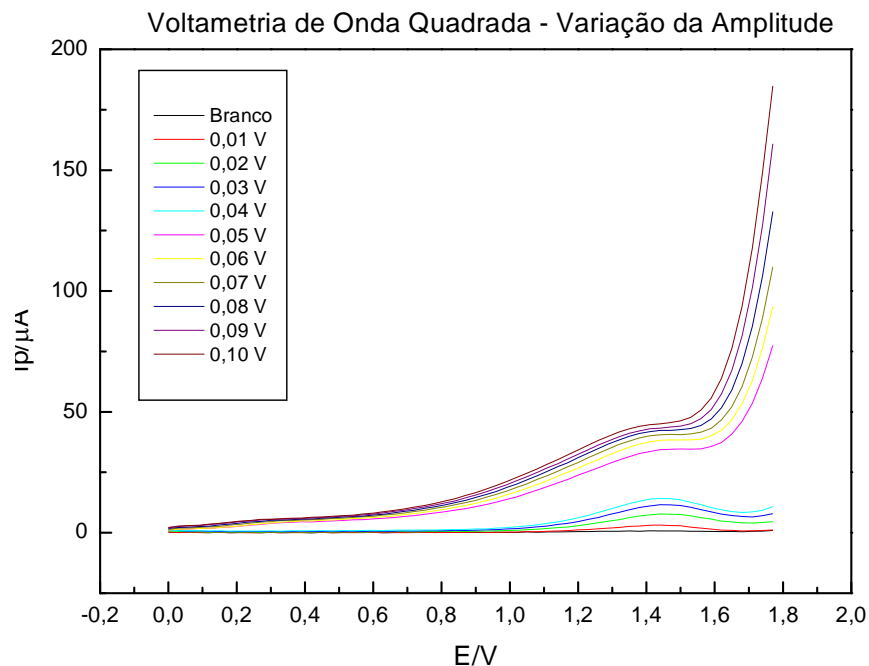


Figura 4. 3: Voltamogramas de Onda Quadrada para a Nicotina (10^{-2} M) em meio de tampão BR, pH 4, em função da amplitude da Onda Quadrada. Frequência 25Hz e t_{eq} : 1s.

Dispondo em forma gráfica as correntes de pico em função da amplitude da onda quadrada, como mostrado na Figura 4.4, nota-se um comportamento linear até as proximidades de 0,04 V. Após este valor um desvio desta linearidade é observado até que a corrente de pico torna-se independente da amplitude. Observa-se também que a partir deste valor de amplitude ocorre uma diminuição da resolução do pico, pois nota-se um alargamento no pico de oxidação, sem aumento significativo na intensidade da corrente de pico.

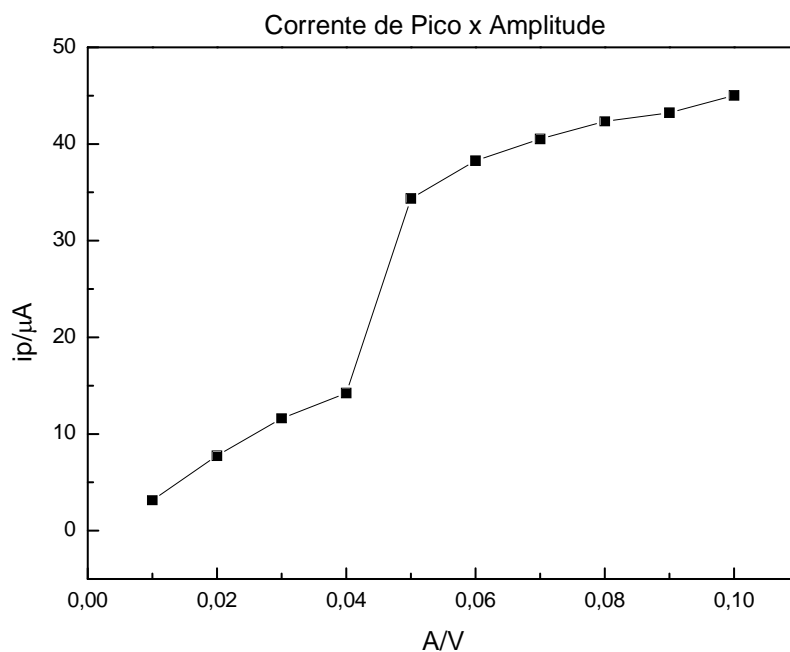


Figura 4. 4: i_p vs. amplitude de onda quadrada para a nicotina em meio de tampão BR pH 4. Frequência 25Hz e t_{eq} : 1s.

Desta forma, para valores de amplitude maiores que 0,04V, parece não haver melhoria na sensibilidade do método.

Portanto, analisando os dados obtidos, nota-se que o comportamento eletroquímico do sistema em estudo está de acordo com a teoria da voltametria de onda quadrada desenvolvida para sistemas adsorvido, que afirma que para amplitudes acima de 50 mV a corrente de pico se torna praticamente constante.

4.3 INFLUÊNCIA DA FREQUÊNCIA DE ONDA QUADRADA

A frequência é a variável mais utilizada na determinação mecânica de reações eletródicas. Pela variação da frequência podem-se estudar processos de reversibilidade

de reações eletródicas, assim como espécies adsorvidas sobre a superfície destes eletrodos.

Quando a concentração é mantida constante, é ela quem determina a intensidade dos sinais, e, conseqüentemente a sensibilidade obtida nas análises. Quando variamos a frequência em uma análise, estamos variando a velocidade de varredura do potencial aplicado ao sistema, alterando assim profundamente os resultados obtidos³⁹.

Para a nicotina, nota-se que o aumento da frequência provoca um aumento proporcional da corrente de pico como pode ser visualizado na Figura 4.5.

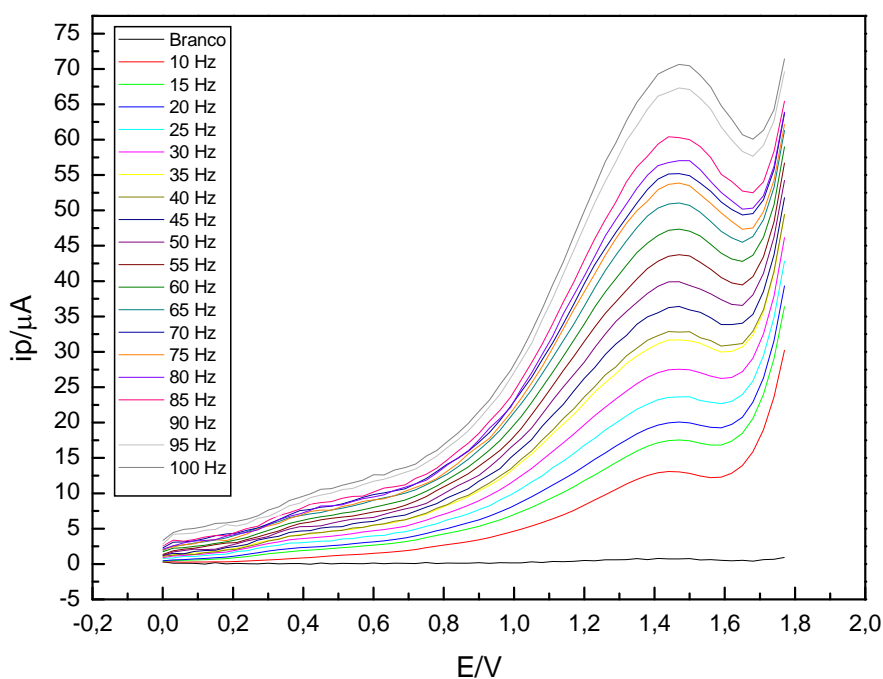


Figura 4. 5: Voltamogramas de onda quadrada para a nicotina 10^{-2} M em meio a tampão BR pH 4, em função do aumento da frequência da onda quadrada. Amplitude 50 mV e t_{eq} 1 s.

As intensidades das correntes de pico variam linearmente com o aumento da frequência. Este comportamento é vantajoso do ponto de vista analítico, pois permite trabalhar em frequências mais altas, aumentando desta maneira a sensibilidade do método eletroanalítico e a rapidez das análises. Este aumento linear da corrente de pico em função da frequência pode ser visualizado na Figura 4.6.

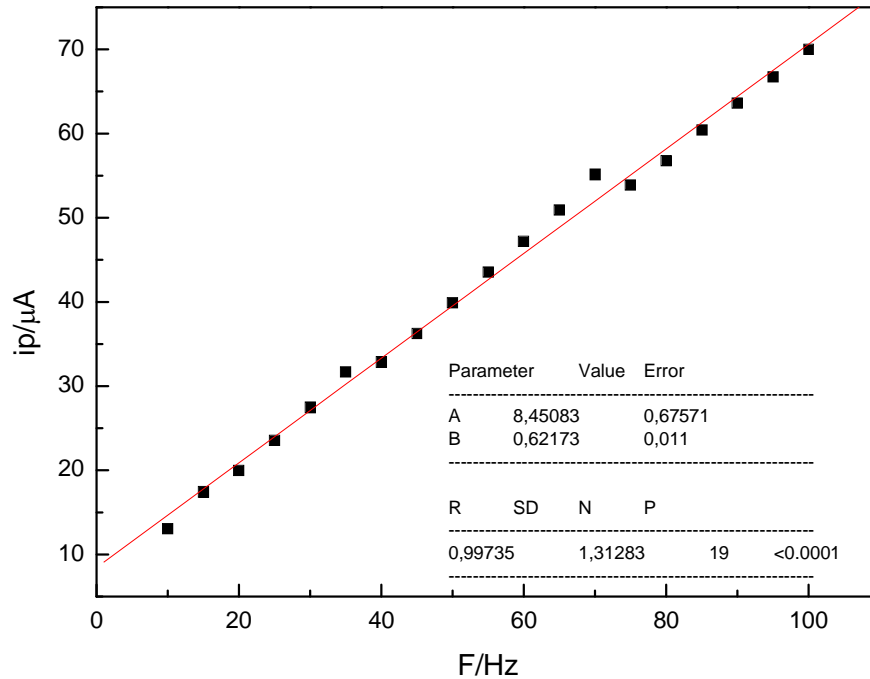


Figura 4. 6: i_p vs. F para a nicotina 10^{-2} M em meio a tampão BR pH 4, em função do aumento da frequência da onda quadrada. Amplitude 50 mV e t_{eq} 1 s.

4.4 PARÂMETROS VOLTAMÉTRICOS

Após os estudos sobre os parâmetros que influenciam na resposta voltamétrica da Nicotina sobre o eletrodo de diamante dopado com boro, chegou-se às melhores condições para sua determinação em pastilhas mastigáveis para fumantes.

Primeiramente, concluiu-se que o pH do tampão BR (Britton - Robinson) que permitiu as melhores respostas voltamétricas foi pH 4, uma vez que observou-se uma maior corrente de pico em tal valor.

A corrente de pico se manteve dependente da amplitude da onda quadrada até 0,04 V, após este valor de amplitude observou-se um alargamento dos picos, reduzindo

sua resolução. O parâmetro escolhido como ótimo de amplitude da onda quadrada foi 0,01 V, pois observou – se melhor resolução do pico.

Ao realizar estudos com relação à frequência da onda quadrada, observou-se que esta era linear com a corrente de pico. Utilizou-se como valor ótimo de frequência 20 Hz. Este valor foi escolhido uma vez que observou – se melhor resolução no pico. A utilização de valores maiores de frequência levou uma dispersão entre os calores de concentração vs. I_p . Para 20 Hz, observou-se uma melhor linearidade entre I_p vs. [Nicotina].

Tabela 4.1: Parâmetros voltamétricos otimizados para determinação da Nicotina em pastilhas mastigáveis para fumantes.

Parâmetros Otimizados	Valores
pH do tampão	pH 4
Amplitude de Onda Quadrada	0,01 V
Frequência de Onda Quadrada	20 Hz

4.4 APLICAÇÃO ANALÍTICA

Utilizou-se a voltametria de onda quadrada para a determinação da nicotina em pastilhas mastigáveis para fumantes (Nicorette®), sem que tais amostras sofressem qualquer tipo de separações e pré-tratamentos.

A nicotina apresenta um processo de oxidação em meio aquoso, como foi demonstrado anteriormente. Com os parâmetros voltamétricos otimizados, uma metodologia eletroanalítica para a determinação de nicotina em meio aquoso foi desenvolvida. Inicialmente, foram construídas curvas analíticas para a nicotina (padrão) em meio à solução tampão BR (Britton - Robinson) pH 4, em intervalos de concentrações que variaram de $1,48.10^{-4}$ mol.L⁻¹ até $7,08.10^{-4}$ mol.L⁻¹, como observado na Figura 4.7.

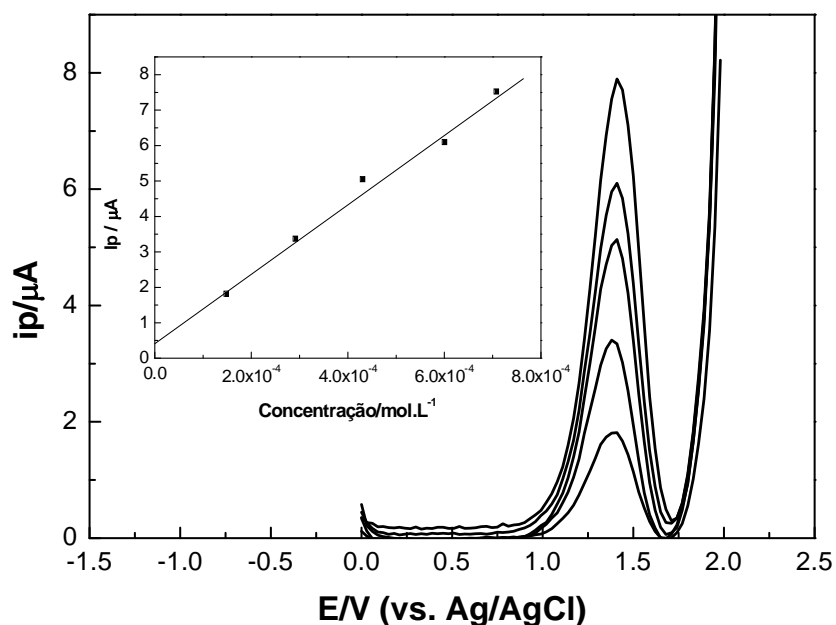


Figura 4. 7: Curva analítica para a Nicotina em meio de tampão BR pH 4. $E_1:0 \text{ V}$ $E_2: 2 \text{ V}$, $E_{\text{step}}: 0,03 \text{ V}$, Amplitude: $0,04 \text{ V}$, Frequência 20 Hz e $t_{\text{eq}}: 1 \text{ s}$.

A curva analítica apresentou $r = 0,996$ para $n=3$. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para a nicotina em meio aquoso foram obtidos por meio da relação entre o coeficiente angular da curva de calibração (b) pelo desvio padrão de amostras do branco. Nesse caso, o desvio padrão de corrente do branco (S_B) foi obtido por meio de 10 determinações dos valores de corrente no potencial de oxidação da nicotina. Os limites de detecção e quantificação são representados pelas equações (11 e 12).

$$LD = 3 S_b/b$$

(equação 11)

$$LQ = 10 S_b/b$$

(equação 12)

Os limites de detecção e quantificação foram obtidos por meio de três determinações de nicotina em água pura usando o DDB como eletrodo e a voltametria

de onda quadrada. Os limites de detecção e quantificação estão apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2: Limites de detecção e quantificação obtidos por meio de determinações de nicotina em água pura usando o DDB como eletrodo e a voltametria de onda quadrada.

<i>Amostra</i>	<i>Intercepto</i> (μA)	<i>Inclinação</i> ($\mu\text{A/mol L}^{-1}$)	<i>R</i>	<i>Sb</i>	<i>LD</i> mol L^{-1}	<i>LQ</i> mol L^{-1}
Nicotina	0,46	9701,15	0,996	0,001	$3,0 \times 10^{-7}$	$1,0 \times 10^{-6}$

Experimentos de recuperação foram realizados utilizando soluções contaminadas intencionalmente. Esses experimentos visaram avaliar a eficiência do método empregado para analisar nicotina em amostras aquosas. Portanto, foram adicionadas 1,0 mL de solução padrão de nicotina, cuja concentração foi 1,0 mg, a 9,0 mL de tampão BR, pH4. Os resultados de recuperação (n=3) estão apresentados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3: Resultados do teste de recuperação realizados utilizando soluções contaminadas intencionalmente.

<i>Amostra</i>	<i>Quantidade adicionada</i>	<i>Quantidade recuperada</i> (g)	<i>% Recuperação</i>
Amostra	1,0 mg	$0,98 \pm 0,01$	$98,0 \pm 1,0$

Experimentos para avaliar a resposta eletroquímica de nicotina em amostras de tabletes mastigáveis foram realizados por meio da maceração destes tabletes em solução de tampão BR pH4. Portanto, uma pastilha foi macerada em 10 mL de tampão BR e uma alíquota de 1,0 mL foi transferida para 9,0 mL de tampão BR contidos na célula

eletroquímica. A resposta eletroquímica foi avaliada por meio da voltametria de onda quadrada usando o DDB (Figura 4.8).

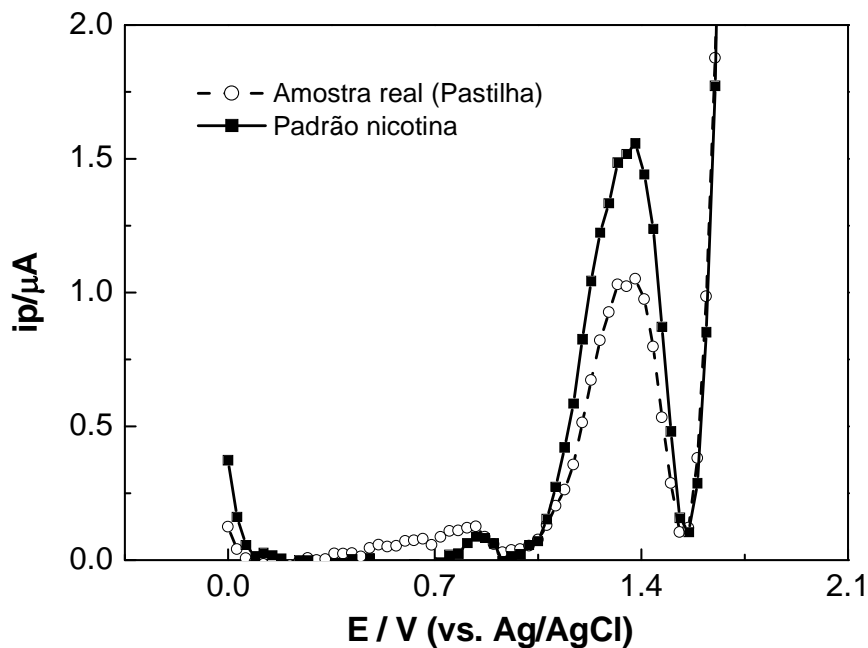


Figura 4. 8: Voltamogramas de onda quadrada para a nicotina padrão e amostra de tabletes mastigáveis dissolvidas em meio de tampão BR pH 4. E_1 :0 V E_2 : 2 V, E_{step} : 0,03 V, Amplitude 0,04 V, Frequência 20 Hz e t_{eq} : 1s.

Pode-se observar que os picos apresentados nos voltamogramas da Figura 4.8 estão no mesmo potencial, confirmando que a metodologia permite a detecção desse analito em amostras reais.

Em uma segunda etapa, foram realizadas investigações para quantificar a nicotina em amostras de tabletes mastigáveis, cuja massa de nicotina que consta no rótulo dos produtos é 2,0 mg. Desta forma, novamente os tabletes mastigáveis do fármaco foram macerados em meio de tampão BR pH 4 (10,0 mL) para a extração da nicotina. Posteriormente, a solução foi filtrada e 1 mL dessa solução foi adicionada a 9,0 mL de tampão BR para ser analisada por meio da voltametria de onda quadrada, usando como eletrodo o DDB. O método empregado para análise da nicotina foi o método da adição

de padrão. A quantidade de nicotina obtida por meio das medidas eletroanalíticas foi comparada com a quantidade especificada no rótulo do produto.

Os voltamogramas de onda quadrada relativos à quantificação de nicotina em amostras de tabletes mastigáveis estão apresentados na Figura 4.9 juntamente com a curva analítica de recuperação. Os experimentos mencionados foram realizados em triplicata.

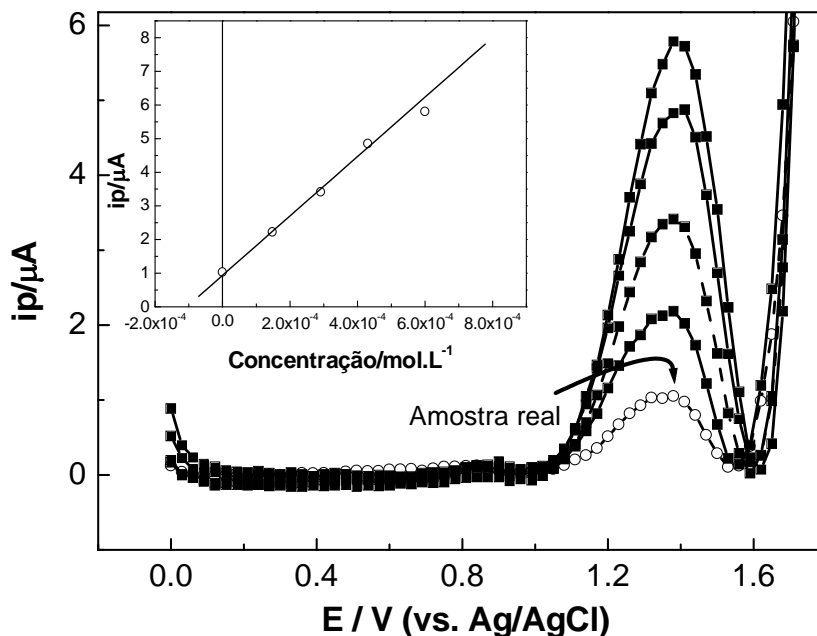


Figura 4. 9: Voltamogramas de onda quadrada para a determinação de nicotina contida em amostra de tabletes mastigáveis dissolvidos em meio de tampão BR pH 4. E_1 : 0 V E_2 : 2 V, E_{step} : 0,03 V, Amplitude 0,04 V, frequência 20 Hz e t_{eq} : 1s.

De acordo com o gráfico I_p vs. $Conc.$ Adicionada de nicotina, foi possível obter a equação $Y=0,98 \mu A + 8192,52 (\mu A/ mol L^{-1}) X$, onde Y representa a corrente de pico e X a concentração de nicotina. Fazendo $Y=0$ a concentração do analito encontrada foi de $0,194 \pm 0,003$ mg. Esse resultado representa a quantidade de nicotina presente em 1,0 mL da solução de analito dissolvida em 9,0 mL de eletrólito. Como a quantidade de nicotina em 1,0 mL é aproximadamente 0,194 mg, logo, em 10,0 mL onde uma pastilha foi macerada a quantidade é de 1,94 mg. Portanto, no rótulo do produto há a indicação de que cada tablete mastigável apresenta 2,0 mg de nicotina. Por meio dos experimentos

realizados nesse trabalho encontrou-se um valor de recuperação de aproximadamente 97%, muito próximo do valor esperado.

5 CONCLUSÃO

No presente trabalho aplicou-se a voltametria de onda quadrada visando a determinação de nicotina em tabletes mastigáveis para fumantes (Nicorette®). A técnica voltamétrica utilizada apresentou bons resultados, desta forma, tornou-se possível o desenvolvimento de uma metodologia analítica adequada para a determinação de nicotina em tabletes mastigáveis para fumantes (Nicorette®).

A voltametria de onda quadrada se mostrou eficiente para a determinação da nicotina em tabletes mastigáveis para fumantes (Nicorette®). Obteve-se um limite de detecção igual a $3,0 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$. A concentração do analito encontrada foi de 1,94 mg, uma vez que no rótulo do produto há a indicação de que cada tablete mastigável apresenta 2,0 mg de nicotina, por meio dos experimentos realizados nesse trabalho encontrou-se um valor de recuperação de aproximadamente 97%, muito próximo do valor esperado.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - B.SIEGMUND, E.LEITNER, W.PFANNHAUSER, **J. Agric. Food Chem.**, 1999, 47 (8), 3113–3120
- 2 - <http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=4753>, acessado em 04/04/2010
- 3 - N.L.BENOWITZ, P.JACOB, R.T.JONES, J.ROSENBERG. **J Pharmacol Exp Ther.**; , 1982, 221, 368-372.
- 4 - P.VEZINA, G. BLANC, J. GLOWINSKI, J. P. TASSIN **J. Pharmcol Exp Ther.** 1992, 261(2), 484

- 5 - T. H. SVENSSON . **The Biology of Nicotine Dependence**. New York: Wiley; 1990. p. 69-80.
- 6 - J. M. ZEN, L. L. CHEN, Y. SHIH. **Anal. Chim. Acta** **369** ,1998, 103.
- 7 - J. M. ZEN, J. J. JOU, A. S. KUMAR, **Anal. Chim. Acta** **396**, 1999, 39.
- 8 – BANDA, G. R. S., **Estudos da eletroquímica do diamante dopado com boro e da sua superfície modificada com catalisadores para a oxidação de metanol e etanol**, São Carlos, 2006. p. 1 - 3. Dissertação de doutorado. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- 9 – LOURENÇÃO, B.C., **Determinação voltamétrica simultânea de paracetamol e cafeína e de ácido ascórbico e cafeína em formulações farmacêuticas empregando um eletrodo de diamante dopado com boro**, São Carlos, 2009. p. 42 – 50. Dissertação de mestrado. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- 10 - SPEARKS K. E; DISMUKES E. J. P., **Synthetic Diamond-Emerging Cvd. Science And Technology**, 1994, New York, John Wiley And Sons.
- 11 - ZHANG, R. J., LEE, S. T., LAM, Y. W. **Characterization Of Heavily Boron-Doped Diamond. Diamond And Related Materials**, 1996, N 5, P 1288-1234.
- 12 - RAO, T. N.; FUJISHIMA, A. **Recent Advances In Electrochemistry Of Diamond. Diamond And Related Materials**, 2000, N. 9, P. 384-389.
- 13 - FUJISHIMA, A.; RAO, T. N. **Diamond And Related Materials**, 2001, N. 10, P. 1799-1803.
- 14 - PLESKOV, Y., **Russian Journal Of Electrochemistry**, 2002, V. 38, N. 12, P. 1275-1291.

- 15 - FERREIRA, N. G.; SILVA, L. L. G.; CORAT, E. J.; TRAVA-AIROLDI, V. J. ; IHA, K., **Brazilian Journal Of Physics**, 1999, V. 29, N. 4, P. 760-763.
- 16 - FERREIRA, N. G.; SILVA, L. L. G.; CORAT, E. J.; **Diamond And Related Materials**, 2002, V. 11, P. 657-661.
- 17 - SILVA, L. L. G., FERREIRA, N. G.; CORAT, E. J.; SUMODJO, P. T. A. ; **Annual Meeting Of The International Society Of Electrochemistry**, 54., São Pedro, 2003. **Book Of Abstracts**. São Paulo, International Society Of Electrochemistry, 2003. P. 180.
- 18 - DINIZ, A. V.; FERREIRA, N. G.; CORAT, E. J.; TRAVA-AIROLDI, V. J.; **Diamond And Related Materials**, 2003, V. 12, N. 3-7, P. 577-581.
- 19 - RIBEIRO, M. C.; SILVA, L. L. G.; SUMODJO, P. T. A. ; **Annual Meeting Of The International Society Of Electrochemistry**, 54., São Pedro, 2003. **Book Of Abstracts**. São Paulo, International Society Of Electrochemistry, 2003. P. 179.
- 20 - TRAVA-AIROLDI, V. J.; CORAT, E. J.; BARANAUSKAS, V.; **Advanced Ceramic Tools For Machining Application – Iii. Key Engineering Materials**, 1998, V. 138-1, P. 195-244.
- 21 - PLESKOV, Y.; **Journal Of Analytical Chemistry**, 200, V. 55, N. 11, P. 1165-1171.
- 22 - BAIRU, S. G.; STEFAN, R. I.; VAN STADEN J. F., **Critical Reviews In Analytical Chemistry**, 2003, V. 33, N. 2, P. 145-153.
- 23 - ZHANG, J. D., OYAMA, M.; **Microchemical Journal**, 2004, V.78, N. 2, P. 217-222,

- 24 - NEKRASSOVA, O.; LAWRENCE, N. S.; COMPTON, R. G., **Electroanalysis**, 2004, V. 16, N.16, P. 1285-1291.
- 25 - SU, L.; QIU, X. P.; GUO, L. H.; ZHANG, F. H.; TUNG C. H.; **Sensors And Actuators B-Chemical**, 2004, V. 99, N. (2-3), P. 499-504.
- 26 - XU, J.; SWAIN, G. M., **Analytical Chemistry**, 1998, V. 70, P.1502-1510.
- 27 - KOPPANG, M. D.; WITEK, M., BLAU, J.; SWAIN, G. M.; **Analytical Chemistry**, 1999, V. 71, P. 1188-1195.
- 28 - SARADA, B. V.; RAO, T. N.; TRYK, D. A.; FUJISHIMA, A., **Analytical Chemistry**, 2000, V. 72, P. 1632-1638.
- 29 - POPA, E.; KUBOTA, Y.; TRYK, D. A.; FUJISHIMA, A., **Analytical Chemistry**, 2000, V. 72, P. 1724-1727.
- 30 - SIANGPROH, W.; NGAMUKOT, P.; CHAILAPAKUL, O., **Sensors And Actuators B**, 2003, p. 60-66, V. 91.
- 31 - TERASHIMA, C.; RAO, T. N.; SARADA, B. V.; TRYK, D. A.; FUJISHIMA, A., **Analytical Chemistry**, 2002, p. 895-902, V. 74.
- 32 - RAO, T. N.; LOO, B. H.; SARADA, B. V.; TERASHIMA, C.; FUJISHIMA, A., **Analytical Chemistry**, 2002, V. 74, P. 1578-1583.
- 33 - BARD, A.; FAULKNER, L., **Electrochemical Methods**, 1980, United States of American, John Wiley, p. 227-243.

- 34 - SAWYER, D.; SOBKOVIK, A.; ROBERTS, J.L., **Electrochemistry For Chemists**, 1995 , 2nd ed. John Wiley & Sons, p.68-78.
- 35 - JOHN, J.; O'DEA, JANET OSTERYOUNG AND ROBERT, A. OSTERYOUNG., **Theory of square wave voltammetry for kinetic systems**. Analytical chemistry, 1981. v.53, n^o4, p.695-701.
- 36 - LOVRIC, M.; SEBOJKA, K.; MURRAY, W., **Adsorption Effects In Square-Wave Voltammetry Of Totally Irreversible Redox Reactions**, Electrochimica Acta, 1988, v 33, n^o 6, p 739-744.
- 37 - LOVRIC, M.; SEBOJKA, K., **Square-Wave Voltammetry Of Adsorbed Reactant**, J.Electroanal. Chem, 1988 , v.248, p 239-253
- 38 – SILVA, O.B., **Estudo estatístico do desempenho analítico das técnicas eletroquímicas VPD, VOQ e MVOQ para a redução do herbicida paraquat em UME – Au e sua quantificação em águas puras e naturais**, São Carlos, 2008. p. 11. Dissertação de mestrado. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- 39 - SOUZA, D., **Estudos Mecanísticos da Redução do Herbicida Picloram por Voltametria de Onda Quadrada**, São Carlos, 2000. p. 186. Dissertação de mestrado. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.