



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO” - CAMPUS DE ARARAQUARA
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



MARCELA LOPES SANTIN

**ANÁLISE DE MATÉRIAS PRIMAS E SOLUÇÃO COMERCIAL EMPREGADA
NA PERFUSÃO E NO TRANSPORTE DE ÓRGÃOS DESTINADOS AO
TRANSPLANTE**

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Virgínia Scarpa

ARARAQUARA

2013

MARCELA LOPES SANTIN

**ANÁLISE DE MATÉRIAS PRIMAS E SOLUÇÃO COMERCIAL EMPREGADA
NA PERFUSÃO E NO TRANSPORTE DE ÓRGÃOS DESTINADOS AO
TRANSPLANTE**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de graduação em
Farmácia-bioquímica da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas de Araraquara,
da Universidade Estadual Paulista para
obtenção do grau de Farmacêutica-
Bioquímica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Virgínia Scarpa.

ARARAQUARA

2013

Dedico este trabalho aos meus pais, Carlos e Ana Paula, por serem a minha vida, e por estarem do meu lado em todos os momentos nunca deixando de acreditar em mim, mesmo quando eu mesma não acreditava. Eu amo vocês.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar sempre ao meu lado.

Aos meus irmãos, Carlinhos e Júlia, pelo carinho e amizade. Vocês são uma parte de mim.

Ao meu futuro esposo, Rogério. Obrigada por estar sempre perto me ajudando a levantar quando eu caía e, acima de tudo, obrigada pelo companheirismo e amor incondicional.

À minha grande amiga, irmã de coração, Karenn, por fazer minha vida em Araraquara muito mais feliz e cheia de emoção.

À minha companheira de TCC, Márcia Vilchenski, pelos ensinamentos. Obrigada por me ensinar que a rotina de um pesquisador tem seu lado bom.

A todos os meus professores, em especial a professora Maria Virgínia Scarpa, pela orientação. Obrigada a vocês por terem me passado um pouco de sabedoria.

À Fátima, uma pessoa sempre acessível e disposta a ajudar, meu muito obrigada.

E por fim, a todas as pessoas que de algum modo contribuíram para a realização deste sonho que é ser uma farmacêutica-bioquímica.

Fábula da Borboleta

Certo dia, um homem estava no quintal de sua casa e observou um casulo pendurado numa árvore. Curioso, o homem ficou admirando aquele casulo durante um longo tempo.

Ele via que a borboleta fazia um esforço enorme para tentar sair através de um pequeno buraco, sem sucesso. Depois de algum tempo, a borboleta parecia que tinha desistido de sair do casulo, as suas forças haviam se esgotado.

O homem, vendo a aflição dela para querer sair resolveu ajudá-la: pegou uma tesoura e cortou o restante do casulo para libertar a borboleta. A borboleta saiu facilmente, mas seu corpo estava murcho e as suas asas amassadas.

O homem, feliz por ajudá-la a sair, ficou esperando o momento em que ela fosse abrir as asas e sair voando, mas nada aconteceu. A borboleta passou o resto da sua vida com as asas encolhidas e rastejando o seu corpo murcho. Nunca foi capaz de voar...

O homem então compreendeu que o casulo apertado e o esforço da borboleta para conseguir sair de lá eram necessários para que o fluido do corpo da borboleta fosse para as suas asas para fortalecê-las e ela poder voar assim que se libertasse do casulo.

Moral da história: às vezes o esforço é necessário para o nosso crescimento e fortalecimento. Se vivêssemos a nossa vida sem passar por quaisquer obstáculos, talvez não conseguíssemos ser tão fortes quanto podemos ser.

Nickos Kasantekais

RESUMO

A solução HTK (histidina, triptofano e cetogluturato) foi especialmente desenvolvida para preservar a heterogeneidade morfológica e bioquímica dos órgãos destinados ao transplante. Contém exclusivamente substâncias existentes no organismo tais como cloretos de sódio, potássio e magnésio, histidina, triptofano, manitol e cetogluturato de potássio. Sua composição promove a inibição de todos os processos de ativação muscular, nervosa ou endócrina nas estruturas estimuláveis das membranas. Nos compêndios oficiais encontram-se métodos de análise qualitativa e quantitativa para matérias primas. Análises das matérias primas foram realizadas nos Laboratórios de Controle de Qualidade da faculdade de Farmácia e Laboratório de Eletroanalítica (NDcom) do Instituto de Química aplicando os métodos preconizados nos códigos oficiais. Os resultados obtidos com as matérias primas foram satisfatórios e confiáveis. Os mesmos métodos não possibilitaram a análise da Solução HTK acabada como proposto inicialmente. Esses métodos não apresentaram sensibilidade suficiente para a determinação das matérias primas empregadas no preparo desta solução, pois estas se encontram em concentrações bastante reduzidas, necessitando métodos mais sensíveis que realizem análise de traços de eletrólitos.

Palavras chaves: solução HTK; transplante de órgãos; matéria prima; métodos de análise.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	10
INTRODUÇÃO	11
Revisão Bibliográfica.....	12
OBJETIVO.....	18
1. MATERIAIS E MÉTODOS	18
1.1. Materiais.....	18
1.2. Métodos.....	25
1.2.1. Cloreto de Potássio.....	27
1.2.2. Cloreto de Cálcio Dihidratado.....	28
1.2.3. Cloreto de Magnésio Hexahidratado.....	29
1.2.4. Cloreto de Sódio.....	31
1.2.5. L-triptofano	33
1.2.6. Manitol	33
1.2.7. Histidina	Erro! Indicador não definido.
1.2.8. Histidina HCl.....	21
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
2.1. Cloreto de Potássio.....	37
2.1.1. Titulação Volumétrica.....	37
2.1.2. Acidez ou Alcalinidade	37
2.1.3. Iodeto.....	38
2.1.4. Sulfato	39
2.1.5. Bário	39
2.1.6. Ferro	40
2.2. Cloreto de Cálcio Dihidratado.....	40
2.2.1. Acidez	41
2.2.2. Sulfatos.....	41
2.2.3. Bário	42
2.2.4. Ferro	42
2.3. Cloreto de Magnésio Hexahidratado.....	42
2.3.1. Titulação Complexométrica de Magnésio.....	43
2.3.2. Cálcio	43
2.3.3. Ferro	44

2.4. Cloreto de sódio	44
2.4.1. Titulação Potenciométrica.....	45
2.4.2. Iodeto.....	47
2.4.3. Bário	47
2.4.4. Ferro	47
2.4.5. Ferrocianeto.....	47
2.4.6. Acidez ou alcalinidade	48
2.5. L-Triptofano.....	48
2.5.1. Titulação Não Aquosa	49
2.5.2. Rotação óptica específica	50
2.5.3 Cloreto.....	51
2.5.4 Sulfatos.....	51
2.6 Manitol	52
2.6.1. Açúcares Redutores (Iodometria).....	52
2.6.2. Rotação óptica específica	52
2.7. L-Histidina	53
2.7.1. Titulação potenciométrica	53
2.7.2. Rotação óptica específica	55
2.7.3. Cloretos	55
2.7.4. Sulfatos.....	56
2.8. L-Histidina HCl.....	56
2.8.1. Titulação Potenciométrica.....	56
2.8.2. Rotação óptica específica	58
2.8.3. Sulfatos.....	58
3. CONCLUSÃO	59
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Curva de Titulação Potenciométrica para o cloreto de sódio (a) e gráfico da segunda derivada (b).

Figura 2. Curva de Titulação Potenciométrica para o L-triptofano (a) e gráfico da segunda derivada (b).

Figura 3. Curva de Titulação Potenciométrica para histidina (a) e gráfico da segunda derivada (b).

Figura 4. Curva de Titulação Potenciométrica para histidina HCl (a) e gráfico da segunda derivada (b).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados das análises realizadas com o cloreto de potássio.

Tabela 2: Resultados das análises feitas com o cloreto de cálcio dihidratado.

Tabela 3: Resultados das análises feitas com o cloreto de magnésio hexahidratado.

Tabela 4: Resultados das análises feitas com o cloreto de sódio.

Tabela 5: Resultados das análises feitas com o L-triptofano.

Tabela 6: Resultados das análises feitas com o manitol.

Tabela 7: Resultados das análises feitas com a histidina.

Tabela 8: Resultados das análises feitas com a histidina HCl.

INTRODUÇÃO

A preservação dos órgãos desempenha um papel importante nos transplantes. Ela tem forte influência sobre a lesão de isquemia-reperfusão a qual é um pré-requisito essencial para o pós-transplante do paciente. A hipotermia é uma técnica muito útil empregada para preservação de órgãos, mas não inibe completamente o metabolismo celular para a produção de metabólitos e substâncias tóxicas. Por esta razão, soluções de preservação são necessárias para evitar danos celulares, inchaços, atrasos durante o transporte, seleção de destinatários e a preparação da equipe cirúrgica (GALLINA et al., 2013).

O sucesso de um transplante tem como fator primordial a viabilidade do enxerto (STARZL et al. 1989). A maior parte das dificuldades atuais não se encontra na técnica cirúrgica, mas no manejo da tríade preservação-rejeição-infecção. O fator preservação é o que mais vem se destacando por sua possibilidade de desenvolvimento, uma vez que o insucesso dos transplantes está na síndrome de isquemia e reperfusão hepática, desencadeando a liberação de radicais livres de oxigênio e reação inflamatória intensa mediada pelas células de Kupffer. No tecido, os efeitos são grandes, como necrose, apoptose, falência na microcirculação por dano parenquimatoso e no endotélio sinusoidal que culmina na perda do enxerto ou redução da sua função (TEOH, FARRE, 2003).

O processo básico da preservação consiste na remoção do órgão, armazenamento em solução de preservação com temperatura e tempo definidos e na avaliação da função do órgão preservado, excluindo a contaminação durante todo o processo. As variações nos métodos de preservação envolvem a temperatura (criopreservação, hipotermia e normotermia), os componentes da solução e diferentes regimes de perfusão do órgão, em presença ou não de oxigênio (BELZER, SOUTHARD, 1988). Ao formular novas soluções de preservação diversos fatores são considerados como a capacidade de prevenir a acidose tissular, o edema intersticial, dano por radicais livres e depleção energética, fenômenos desencadeados pelo processo de isquemia e subsequente reperfusão.

Atualmente, não há monografias farmacopeicas ou parâmetros de qualidade, estabelecidos por órgãos oficiais, para muitas matérias primas e para produtos acabados

empregados na preservação de órgãos que serão utilizados em transplantes, incluindo o material analisado neste trabalho.

A determinação de parâmetros de qualidade para matérias primas e produtos acabados é importante para viabilizar ações de fiscalização sanitária e favorecer medidas de implementação da produção destes em laboratórios acreditados por órgãos fiscalizadores.

A qualidade das matérias primas e produto acabado foram avaliados de acordo com testes físico-químicos estabelecidos na Farmacopeia Britânica (2010) e Americana (2012).

Revisão Bibliográfica

Sempre que se busca preservar órgãos para transplante, há a preocupação em obtê-los sob as melhores condições, logo, com a maior chance de imediata função. A probabilidade da função precoce depende do grau do dano celular induzido pela anóxia. Este pode ocorrer antes de iniciar a preservação e durante a fase de coleta do enxerto (isquemia quente), sendo a mais importante a viabilidade do órgão (GARCIA, 2006).

Para obter-se melhores resultados funcionais, a conduta recomendada tenta manter o mais curto tempo de isquemia quente possível. Técnicas atuais de remoção de múltiplos órgãos permitem por perfusão “in situ”, resfriar rapidamente os órgãos, diminuindo a poucos minutos o tempo de anóxia tissular. Por redução de temperatura do órgão se diminuem o consumo de oxigênio e a atividade metabólica de seus tecidos. Porém, segundo Marshall (2001) esse resfriamento vai induzir a ruptura aos processos metabólicos entre células, da homeostasia entre célula e inibição enzimática, sendo que algumas enzimas se modificam irreversivelmente, enquanto outros se recuperam com o reaquecimento.

De acordo com Gullo Neto (2006), durante o século XX, inúmeras experiências com preservação ex vivo de órgãos foram se acumulando, usando sangue ou componentes do plasma à temperatura ambiente ou com hipotermia, por perfusão arterial contínua, como conservadores de órgãos para transplante. Em 1966, Belzer

iniciou um programa de transplantes renais cadavéricos na Universidade da Califórnia, em São Francisco. Sabia-se desde 1959, que o frio diminui o metabolismo energético celular e o consumo de oxigênio (84% a 20°C e 95% a 10°C). Baseado nesse princípio, Belzer iniciou o programa de preservação por perfusão hipotérmica com máquina. Collins, em 1969, descreveu um novo método de perfusão com uma solução de composição eletrolítica semelhante à do meio intracelular, seguida de um armazenamento hipotérmico (2 a 4°C) antes do transplante, tendo descrito nos seus estudos, a obtenção de períodos de isquemia fria de 16, 24 e 30 horas. A perfusão e armazenamento hipotérmico são realizados com uma solução de hiperosmolaridade relativa, contendo solutos impermeabilizantes, como citrato, sulfato, fosfato, glicose ou manitol, magnésio e quantidades variáveis de sódio e potássio (CORREIA, 2002).

A preservação, especialmente de órgãos de cadáveres, permite o tempo necessário – após a remoção – para que se completem os estudos de histocompatibilidade, a seleção dos receptores, o transporte do enxerto e a adequada preparação do receptor (GARCIA, 2006). A preservação confere grandes vantagens a um programa de transplante, sendo elas: tempo para transportar o órgão do hospital doador para o hospital receptor; tempo para permitir que seja realizada a equivalência tecidual para os órgãos nos qual essa equivalência é importante (rim e coração); tempo para preparar adequadamente o receptor e a equipe cirúrgica e uma qualidade da função do órgão que torna a evolução pós-operatória mais tranquila (BELZER et al., 2004; GULLO NETO, 2006). Para que a preservação dos órgãos para transplante tenha resultados positivos, utiliza-se soluções de conservação de órgãos. Defini-se como solução de conservação de órgãos, como sendo uma solução estéril e apirogênica para perfusão de órgãos, antes, e/ou imediatamente após a colheita e para conservação hipotérmica dos mesmos, no tempo que antecede o transplante.

De acordo com Gullo Neto (2006), as soluções de preservação de órgãos devem ter as seguintes características básicas: 1. Agir sob hipotermia para diminuir o metabolismo celular. 2. Prover os elementos químicos para manter integras as estruturas celulares. 3. Incluir substâncias que reduzam a lesão induzida pela reperfusão. Devem incluir componentes específicos de modo a minimizar o edema intracelular que se desenvolve rapidamente, induzido pela hipotermia, utilizando concentrações adequadas de impermeabilizantes efetivos; soluções hiperosmóticas, que contribuem para minimizar o edema intracelular; soluções ricas em potássio, para controlar os movimentos iônicos através da membrana semipermeável da célula (CORREIA, 2002).

Deve-se também prevenir as lesões oxidativas originadas por radicais livres derivados do oxigênio com uma solução de composição química adequada. Para Muhlbacher (1999), as soluções de conservação são classificadas em dois grupos; sendo eles: a) composição semelhante ao líquido intracelular, sendo, portanto, pobres em sódio e ricas em potássio para diminuir o edema celular. Como exemplo tem-se Euro Collins, solução com citrato, solução de Wisconsin (sol. de Belzer). E, b) soluções que mimetizam o líquido extracelular (pobres em potássio e ricas em sódio) como Celsior, sol LDK , St Thomas, Perfadex, sol HTK. Quaisquer das soluções apresentam vantagens e desvantagens, dependendo do órgão em preservação.

As possíveis soluções usadas na preservação de órgãos são:

Solução de Euro-Collins

Nos princípios dos anos 1980 até 1987, o método de conservação usado, era a administração da solução de Euro-Collins de forma sistêmica. Com ele, foram obtidas boas funções hepáticas pós-operatórias, tendo apresentado tempos de isquemia inferiores a 9 horas (CORREIA, 2002). Apesar dos custos desta solução ser significativamente inferiores aos da solução de UW, o tempo de armazenamento dos órgãos é reduzido a metade.

Solução de Winsconsin (UW)

Esta solução foi apresentada em 1987 por Belzer na Universidade de Winsconsin (solução de Belzer, UW) que se utilizou igualmente na preservação de órgãos sólidos, permitindo tempos prolongados de isquemia fria (CORREIA, 2002). É ideal para preservar todos os órgãos abdominais nesta solução. As vantagens da utilização da solução UW são: aumento no tempo de armazenamento dos órgãos, aumento nas taxas de sobrevida dos enxertos e diminuição do não funcionamento primário, do enxerto, diminuição das incidências de trombozes e retransplante. O custo dessa solução é muito elevado, pois para cada doador adulto são necessários 5 litros desta solução. De acordo com Netto et al. (2001), dentre as manobras utilizadas para a preservação de órgãos, a hipotermia exerce efeito benéfico ao diminuir a demanda de oxigênio pelas células. No entanto, um pouco de energia ainda é necessária para manter a integridade celular. Por

outro lado, ao mesmo tempo em que a hipotermia causa benefícios como a redução do consumo de oxigênio e do metabolismo, causa também bloqueio de inúmeras reações enzimáticas, porém de maneira não idêntica.

Após o transplante temos, invariavelmente, a reperfusão do órgão. A reperfusão muitas vezes pode acelerar os danos ocorridos durante a fase de isquemia, expondo a célula a ambiente desfavorável à recuperação da função mitocondrial pelas alterações no metabolismo de fosfolípidos da membrana e entrada de cálcio no seu interior. Atualmente, e apesar do desenvolvimento de técnicas e soluções de preservação de órgãos para transplante, existem ainda dois obstáculos importantes que precisam ser vencidos: o primeiro é a eliminação dos danos causados pela preservação a frio e o segundo, a prevenção dos eventos que levam às lesões durante a reperfusão (NETTO et al., 2001).

Solução Histidina - Triptofano – Cetoglutarato (HTK)

Foi utilizada inicialmente para produzir cardioplegia, ou seja, como uma solução para promover a parada dos batimentos cardíacos durante uma cirurgia para evitar danos ao tecido.

Soluções contendo sódio em alta concentração e pouco potássio, produzem os melhores resultados na preservação cardíaca. O triptofano e histidina são considerados removedores de radicais livres (GARCIA, 2006).

A solução HTK (histidina, triptofano e cetoglutarato) foi desenvolvida nos anos de 1970 por H. J. Bretschneider, em Gottinger, na Alemanha com o propósito inicial de ser usada como cardioplegia. E desde então vem sendo amplamente usada. (BELLAMY et al., 2008). Seu uso, porém não se deteve apenas ao coração, mas sim, a diversos órgãos da cavidade abdominal tais como fígado, rins e pâncreas.

O uso da solução HTK para preservação de fígado teve início, na Europa, no final da década de 1980 quando um estudo comparativo entre a solução UW (*University Winsconsin*) e a solução HTK demonstrou uma maior eficiência desta última. Nos Estados Unidos, o uso desta solução só foi iniciado em 2002, na Universidade de Pittsburgh, quando da utilização dela no transplante de fígado de pacientes vivos e também mortos. Dentre suas principais características destacam-se os menores níveis de potássio, em comparação com a solução de Wisconsin (UW), e a baixa viscosidade o

que proporciona maior difusão na microcirculação hepática e isso leva a uma boa preservação de fígados retirados de pacientes que morreram de danos cardíacos, principalmente porque permite o rápido resfriamento do órgão.

A baixa concentração de potássio da solução (HTK) é uma vantagem em relação a outras como Euro-Collins®, UW ou outras de alta concentração porque estudos demonstram que altos níveis de potássio levam a vasoconstrição promovida pela abertura de canais de cálcio presentes nas células musculares lisas do endotélio e essa abertura leva ao aumento intracelular de potássio o que acaba causando lesão celular direta. Sua composição é à base de cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de magnésio, cloreto de cálcio, triptofano, histidina base, histidina HCl, manitol e cetoglutarato (BELLAMY et al., 2008).

A preservação do órgão é possível devido a retirada dos íons sódio e cálcio do meio intracelular combinada com alta capacidade tamponante do meio extra celular graças ao tampão histidina/histidina HCl. Além disso, tem-se o triptofano, que atua preservando as membranas e ajudando a manter o tamponamento do meio; o cetoglutarato, que serve como substrato para a obtenção anaeróbica de energia durante o período de indução isquêmica; e o manitol que atua como agente osmótico do meio extracelular, eliminando o edema. O que a faz ser amplamente usada, além das características citadas acima, é o preço mais acessível quando comparada com a solução UW ou mesmo com outras de função semelhante. Sendo assim, ter um rigoroso controle de qualidade tanto de matéria prima como da solução acabada é de suma importância para se garantir o sucesso no uso.

Solução de Potássio Baixo e Dextran (LDK), Solução de Perfadex

Tem sido utilizada com sucesso na preservação de pulmão. Essa formulação é pobre em potássio e inclui uma substância colóide (dextrano 40), previne o edema e age como solução antitrombótica.

Solução de ST Thomas

Inicialmente foi utilizada como indutora de cardioplegia em cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea. Produz proteção, porém por períodos não longos de isquemia fria.

Solução Celsior

Solução com baixa viscosidade e baixo conteúdo em potássio. Tem sido utilizado em transplantes hepáticos, renais e pancreáticos. Foi testado com bons resultados em transplantes cardíacos, pulmonares, renais e intestino delgado.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi o emprego de metodologia analítica no controle de qualidade físico químico de diversas matérias primas empregadas na formulação de solução HTK (histidina - triptofano - cetoglutarato). Solução esta, usada na perfusão e no transporte de órgãos destinados ao transplante contendo as matérias primas analisadas, em diferentes concentrações.

O resultado deste estudo poderá servir como critério para o controle de qualidade das matérias primas em estudo, sendo estas o cloreto de potássio, o cloreto de cálcio dihidratado, o cloreto de magnésio hexahidratado, o cloreto de sódio, o L-triptofano, o manitol, a histidina e a histidina HCl.

1. MATERIAIS E MÉTODOS

1.1. Materiais

Foram analisadas oito substâncias:

1. Cloreto de potássio (Lote 140312);
2. Cloreto de cálcio dihidratado (Lote 280709);
3. Cloreto de magnésio hexahidratado (Lote 271011);
4. Cloreto de sódio (Lote 300512);
5. Triptofano (Lote P831J049A);
6. Manitol (Lote 487704);
7. Histidina (Lote P016K042);
8. Histidina HCl (Lote P017J001).

Reagentes de grau analítico utilizados:

1. Ácido acético glacial (Vetec);
2. Ácido acético R (Vetec);
3. Ácido cítrico monohidratado (Merck);
4. Ácido clorídrico (Synth);
5. Ácido fórmico (Synth);
6. Ácido perclórico (Synth);
7. Ácido sulfúrico (Synth);
8. Ácido tioglicólico (Synth);
9. Água deionizada (resistividade de 18,2 MOhm cm);
10. Amido Solúvel (Merck);
11. Azul de bromotimol (Merck)
12. Cloreto de amônio (Synth);
13. Cloreto de bário (Synth);
14. EDTA Dissódico (Merck);
15. Eosina amarela (Merck);

16. Fenolftaleína (Merck);
17. Hidróxido de amônio (Merck);
18. Hidróxido de sódio lentilhas (Synth);
19. Iodo PA (Merck);
20. Metanol (Merck);
21. Mordant Black 11 triturado R (Synth);
22. Nitrato de prata (Synth);
23. Nitrito de sódio (Synth);
24. Oxalato de amônio (Synth);
25. Sulfato de cálcio (Synth);
26. Sulfato de cobre (Synth);
27. Sulfato de ferro (ico) amoniacal (Synth);
28. Sulfato de ferro (oso) (Synth);
29. Tetraborato dissódio (Merck).

Preparo das soluções usadas nos teste:

1. Ácido clorídrico R1: diluir 70 g de ácido clorídrico para 100 mL de água deionizada.
2. Mordant Black 11 triturado R: mistura de uma parte de Mordant Black 11 com 99 partes de cloreto de sódio
3. Solução de fenolftaleína R: dissolver 0,1 g de fenolftaleína em 80 mL de álcool 96°GL e diluir para 100 mL com água deionizada.
4. Solução alcoólica padrão de cálcio (100 ppm de Ca) R: imediatamente antes do uso, diluir, em etanol 96%, para 10 vezes o volume de uma solução de água deionizada contendo 2,5 g de carbonato de cálcio, 12 mL de ácido acético glacial e diluída para 1000 mL de água deionizada.
5. Solução aquosa padrão de cálcio (10 ppm): imediatamente antes do uso, diluir com água deionizada para 100 vezes o volume de uma solução contendo 0,624 g de carbonato de cálcio, 3 mL de ácido acético glacial e diluída para 250 mL.
6. Solução azul de bromotimol R1: 50 mg de bromotimol adicionados em uma mistura de 4 mL de solução de NaOH 0,02M e 20 mL de

etanol 96°GL. Diluir para 100 mL com água deionizada. O pH deve estar entre 6 e 7,6.

7. Solução cítrica de cobre R: dissolver 25 mg de sulfato de cobre II, 50 mg de ácido cítrico e 144 mg de carbonato anidro de sódio em água deionizada e diluir para um litro com este mesmo solvente.

8. Solução de ácido acético R: solução preparada a partir de 30g de ácido acético glacial para 100 mL de água deionizada.

9. Solução de ácido sulfúrico diluído R: 5,5 mL de ácido sulfúrico em 60 mL de água deionizada. Deixar arrefecer e depois completar o volume para 100 mL com água deionizada.

10. Solução de amido livre de iodeto R: triturar um grama de amido solúvel com 5 mL de água deionizada. Adicionar essa mistura em água deionizada quente, mexendo vigorosamente. Completar com água deionizada até 100 mL.

11. Solução de nitrato de prata R2: solução a 1,7% (m/v) de nitrato de prata.

12. Solução de nitrito de sódio R: solução a 10% (m/v) de nitrito de sódio.

13. Solução de oxalato de amônio R: solução a 4% (m/v) de oxalato de amônio.

14. Solução de sulfato de cálcio R: agitar 5 g de sulfato de cálcio hemihidratado em 100 mL de água deionizada por uma hora e filtrar.

15. Solução forte de hidróxido de sódio R: solução 42% (m/v) de hidróxido de sódio em água deionizada.

16. Solução padrão cloreto (5 ppm de cloreto) R: imediatamente antes do uso, diluir, com água deionizada, para 100 vezes, o volume de uma solução contendo cloreto de sódio equivalente a 0,824 g em um litro de água deionizada.

17. Solução padrão de ferro (1 ppm Fe) R: diluir solução de padrão ferro 20 ppm para 20 vezes o volume com água deionizada.

18. Solução padrão de ferro 20 ppm: diluir 10 vezes o volume de uma solução contendo sulfato férrico amoniacal equivalente a 0,863 g em 25 mL de ácido sulfúrico diluído R e diluir para 500 mL de água deionizada.

19. Solução padrão sulfato (10 ppm) R1: imediatamente antes do uso diluir com etanol 30% (v/v) para 100 vezes o volume de uma solução contendo sulfato de potássio equivalente a 0,181 gramas em 100 mL de etanol 30% (v/v).

20. Solução tampão de cloreto de amônio a pH 10: dissolver 5,4 g de cloreto de amônio em 20 mL de água deionizada, adicionar 35 mL de amônia e diluir para 100 mL.

1.2. Métodos

Para o desenvolvimento deste trabalho fez-se uso das FARMACOPÉIAS BRITÂNICA (2009) E AMERICANA (2012).

Os testes descritos abaixo, que se encontram nestes dois compêndios, foram realizados com o propósito de identificar e quantificar tanto as substâncias em análise bem como possíveis impurezas presentes.

Os testes de sulfato, iodeto, brometos, bário, ferro, cálcio, ferrocianetos e cloretos são de identificação de impurezas, sendo portanto, semiquantitativos.

As titulações, potenciométricas, volumétricas ou complexométricas, são métodos quantitativos, e se prestam, portanto, para quantificar a substância desejada na amostra.

- Titulação potenciométrica

A titulação potenciométrica baseia-se na medida da diferença de potencial de uma célula eletroquímica na ausência de corrente. Este método é utilizado para detectar o ponto final de titulações específicas, ou para a determinação direta de um determinado constituinte em uma amostra, através da medida do potencial de um eletrodo íon-seletivo, aquele que é sensível exatamente ao íon em análise. (BACCAN, 2001)

Para a titulação potenciométrica do presente trabalho fez-se uso de um eletrodo de vidro combinado, peagômetro digital Marte, modelo MB-10. Este é um eletrodo compacto no qual o eletrodo de vidro acha-se envolvido pelo eletrodo de referência de

prata/cloreto de prata. É um eletrodo adequado para a maioria das aplicações de laboratório sendo mais fácil de manusear que o par de eletrodos separados.

O problema crítico na titulação é a identificação do ponto em que as espécies que reagem estão em quantidades equivalentes. Na titulação potenciométrica, esse ponto deve coincidir com o ponto de inflexão da sigmóide que se origina de $E \text{ (mV)} \times V \text{ (mL)}$, na qual $E \text{ (mV)}$ é o potencial lido e $V \text{ (mL)}$ é o volume de titulante adicionado. (ALEIXO, GODINHO, 1985)

Determinar esse ponto na curva pode induzir a erro. Pode-se determinar o ponto de variação máxima de potencial (ponto de inflexão) com mais segurança pelo método da 1ª derivada. Para que esse método seja factível, é necessário que em torno do ponto de equivalência haja muitas medidas de potencial, isto é, adições de volume muito pequenas antes e depois desse ponto. Para construir o gráfico da primeira derivada, temos que obter uma nova série de pontos a partir dos valores de E e V , que virão da operação $\Delta E/\Delta V$, isto é, a ordenada de um ponto menos a ordenada do ponto anterior, dividida pela abcissa do mesmo ponto menos a abcissa do ponto anterior. Isto traduz o quanto a função $E(V)$ variou entre cada ponto. Obtém-se assim uma nova ordenada que deve ser esboçada contra a mesma abcissa. Isto dá origem a uma nova série de dados. (WEBER, 2011)

Além disso, pode-se obter a 2ª derivada fazendo uma operação semelhante. Nesse caso, apenas subtrai-se a ordenada de um ponto da ordenada do ponto anterior, fazendo-se a operação $\Delta(\Delta E/\Delta V)$. A nova ordenada é também esboçada contra a abcissa $V(\text{mL})$. Nesse caso, a própria curva obtida corta, no eixo das abcissas, o volume que corresponde ao ponto final da titulação. (WEBER, 2011)

- Titulação Volumétrica

A titulação volumétrica envolve a medida de volume de uma solução de concentração conhecida necessária para reagir completamente com o analito (solução a ser titulada) (SKOOG, 2006).

- Titulação Complexométrica

A titulação complexométrica tem como base a formação de um complexo colorido entre o analito e o titulante para indicar o ponto final

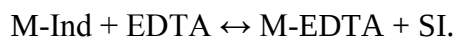
da titulação. Seu principal titulante é o EDTA sódico, que também foi utilizado nas titulações descritas nessa monografia. (BACCAN, 2001).

O EDTA é um ligante hexadentado que contém seis átomos capazes de atuar como doadores de elétrons. Destes seis átomos, quatro são oxigênios provenientes dos grupos carboxílicos e dois são nitrogênios. (BACCAN, 2001).

São nestes átomos doadores que o metal (cálcio, magnésio) se liga durante a titulação. Esse procedimento deve ser feito em pH controlado devido a necessidade de cada indicador. O indicador usado nesta titulação foi o Negro de Eriocromo T, que atua exclusivamente na faixa de pH entre 7 e 11. Neste intervalo a cor azul predomina na ausência do metal e a cor violeta aparece na presença dele (BACCAN, 2001).

Uma proporção dos íons metálicos presentes na solução liga-se ao indicador formando a cor correspondente (violeta, para o Negro de Eriocromo T), a outra parte fica livre pronta para ser titulada. Ao adicionar o titulante, ele passa a reagir com o excesso de metal da solução. Quando esse excesso termina de ser titulado começa o deslocamento dos íons do indicador para o titulante e é neste momento que a cor da solução muda (passa de violeta para azul, no caso da titulação do magnésio) indicando o fim da titulação. (BACCAN, 2001).

O esquema da reação geral da titulação está representado abaixo:



Na qual M é o metal e SI, o indicador.

- Titulação não aquosa

A titulação em meio não aquoso é baseada no conceito ácido / base de Brönsted-Lowry, sendo o ácido a substância que doa próton e a base aquela que o recebe.

O solvente utilizado desempenha um papel muito importante na determinação do caráter ácido-básico de uma substância. A água poderia ser o solvente de escolha, contudo, devido ao seu caráter anfótero ela pode competir com a base ou com o ácido a ser determinado pela, "captura" ou "doação" do próton do analito (caso o mesmo tenha pK_b ou pK_a maiores que a água, respectivamente) (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Deste modo, é de suma importância a escolha adequada do solvente na titulação não aquosa. Ele deve satisfazer algumas exigências tais como não reagir com a substância nem com o titulante; dissolver o produto da titulação - se a precipitação for inevitável, o precipitado deve ser compacto e cristalino, possibilitar, com facilidade, a visualização do ponto final, seja esse medido com o uso de indicadores ou potenciômetro e ser de baixo custo e de fácil purificação (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Os solventes utilizados na titulação não aquosa foram o ácido acético glacial e o ácido fórmico.

- Titulação por Oxidação-Redução (Iodometria)

A titulação iodimétrica indireta ou iodometria é baseada na dosagem de substâncias oxidantes através da adição de um excesso de iodeto. Este íon é oxidado a iodo e posteriormente titulado com uma solução padrão de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) (VOGEL, 1981).

O indicador usado na iodometria é uma suspensão de amido que em presença de iodo adquire uma coloração azul intensa. Esta cor se deve à adsorção de íons triiodeto (I_3^-) pelas macromoléculas do amido (VOGEL, 1981).

Com isso, ao se adicionar a solução de iodo à mistura, poderemos dosar o iodo liberado da oxidação dos íons iodeto presentes na solução adicionada com solução padronizada de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), usando goma de amido como indicador (VOGEL, 1981). E foi este procedimento desenvolvido no presente trabalho.

- Rotação Óptica Específica

Este teste possui o objetivo de identificar substâncias que apresentam isomeria óptica, ou seja, substâncias que podem desviar a luz polarizada. Valores de referência de inúmeras substâncias são encontrados em compêndios, como a Farmacopéia Britânica (2009) usada neste trabalho. A medida da rotação óptica específica ou $[\alpha]$, como é expressa, se dá da seguinte maneira: a luz monocromática de uma lâmpada de sódio de 589nm, ao atravessar um prisma de Nicol, polariza-se e passa a vibrar em um só plano. Essa luz atravessa o tubo onde a amostra está diluída em um solvente especificado nos compêndios oficiais e então, é desviada. Se, para o sentido horário, a substância é

designada dextrógira; se, para o sentido anti-horário, a substância é designada levógira. Esse desvio passa por um prisma analisador, que por um sistema de compensação óptico, mede o ângulo de rotação sobre uma escala graduada em graus sexagemais. Esse valor é então aplicado em uma fórmula, que exprimirá a rotação óptica específica da substância. Para substâncias em solução: (SKOOG, 2006; FARMACOPÉIA BRITÂNICA, 2010).

$$[\alpha]_{25}^T = 100 \alpha / lc$$

Equação 1

Na qual:

T é de 25 °C e D é o raio da luz de sódio e vale 589,3 nm

α = rotação observada corrigida, em graus

l = comprimento do tubo do polarímetro em decímetros

c = concentração da substância em percentagem peso/volume

O aparelho utilizado no teste foi Polarímetro Carl Zeiss Jena (Graduação 0-180°; valor de graduação 1°; máxima longitude 200 mm; diâmetro do campo visual ~4,5°; ângulo de penumbra 2x6°).

1.2.1. Cloreto de potássio

Solução S: dissolveram-se 10 g de cloreto de potássio em água livre de gás carbônico (levou-se água deionizada a ebulição por aproximadamente cinco minutos) e completou-se o volume para 100 mL num balão deste mesmo volume.

- Titulação Volumétrica (FARMACOPEIA AMERICANA, 2012)

Amostra: 200 mg de cloreto de potássio.

Análise: a amostra foi dissolvida em 10 mL de água deionizada. A essa solução foram adicionados 10 mL de ácido acético glacial, 75 mL de metanol e três cristais de eosina amarela, como indicador.

A titulação foi realizada com nitrato de prata 0,1N como titulante e o ponto final foi a viragem da cor amarela para rosa.

- Acidez ou Alcalinidade

Foram tomados 50 mL de solução S e a este volume foi adicionado 0,1 mL de solução azul de bromotimol R1. Seguiu-se com a titulação usando ácido clorídrico a 0,01 M para teste de alcalinidade e hidróxido de sódio 0,01 M para teste de acidez.

- Iodeto

Cinco gramas do sal foram umedecidos, gota a gota, com uma solução contendo 0,15mL de solução de nitrito de sódio R, 2 mL de ácido sulfúrico 0,5 M, 25 mL de solução de amido livre de iodeto R.

- Sulfatos

Diluiu-se 5 mL da solução S para 15 mL de água deionizada. Esses 15 mL de solução foram transferidos para um tubo de Nessler e a eles foram adicionados 0,5 mL de solução de ácido acético R e 2,5 mL de solução preparada da seguinte maneira: foram adicionados 3 mL de uma solução de cloreto de bário com uma concentração de 250g/L em 4,5 mL de solução padrão sulfato (10 ppm) R1. Essa mistura foi agitada e permaneceu em repouso por um minuto. Depois deste tempo a alíquota para o teste foi retirada.

O padrão foi preparado usando 15 mL de solução padrão sulfato (10 ppm) R1, 2,5 mL da solução descrita e 0,5 mL de ácido acético R.

- Bário

Em 5 mL de solução S adicionar 5 mL de água deionizada e 1 mL de ácido sulfúrico diluído R. Uma segunda solução (sem ácido sulfúrico) foi preparada usando 5 mL de solução S e 6 mL de água deionizada. Aguardou-se quinze minutos.

- Ferro

Diluiu-se 5 mL de solução S para 10 mL de água deionizada. Essa solução foi transferida para uma proveta e a ela foi adicionada 2 mL de solução de ácido cítrico em uma concentração de 200g/L e 0,1 mL de ácido tioglicólico. Fez-se a mistura e a seguir alcalinizou-se a solução com algumas gotas de hidróxido de amônio concentrado. Posteriormente foi completado o volume da solução para 20 mL.

A solução padrão foi preparada usando 10 mL de solução padrão de ferro (1 ppm Fe) R, 2 mL de solução de ácido cítrico a 200g/L e 0,1 mL de ácido tioglicólico. Após a mistura, a solução foi basificada com gotas de amônia.

Seguiu-se com a análise.

1.2.2. Cloreto de cálcio dihidratado

Solução S: dissolveu-se 10 g de cloreto de cálcio dihidratado em água livre de gás carbônico (levou-se água deionizada a ebulição por aproximadamente cinco minutos) e completou-se o volume para 100 mL num balão deste mesmo volume.

- Acidez

Foram tomados 10 mL de solução S e a este volume foi adicionado 0,1 mL de solução de fenolftaleína R e seguiu-se com a titulação usando solução de hidróxido de sódio 0,01 N porque a solução ficou incolor.

- Sulfatos

Diluiu-se 5 mL da solução S em 15 mL de água deionizada. Esses 15 mL de solução foram transferidos para um tubo de Nessler e a eles foram adicionados 0,5 mL de solução de ácido acético R e 2,5 mL de solução preparada da seguinte maneira: foram adicionados 3 mL de uma solução de cloreto de bário com uma concentração de 250g/L em 4,5 mL de solução padrão sulfato (10 ppm) R1. Essa mistura foi agitada e permaneceu em repouso por um minuto. Depois deste tempo foi retirada uma alíquota para o teste.

O padrão foi preparado usando 15 mL de solução padrão sulfato (10 ppm) R1, 2,5 mL da solução descrita e 0,5 mL de ácido acético R.

- Bário

A 10 mL de solução S foi adicionado 1 mL de solução de sulfato de cálcio R e seguiu-se com a análise.

- Ferro

Diluiu-se 5 mL de solução S para 10 mL de água deionizada. Essa solução foi transferida para uma proveta e a ela foi adicionada 2 mL de solução de ácido cítrico em uma concentração de 200g/L e 0,1 mL de ácido tioglicólico. Fez-se a mistura e a seguir alcalinizou-se a solução com algumas gotas de hidróxido de amônia concentrado. Posteriormente completou-se o volume da solução, para 20 mL, com água.

A solução padrão foi preparada usando 10 mL de solução padrão de ferro (1 ppm Fe) R, 2 mL de solução de ácido cítrico a 200g/L e 0,1 mL de ácido tioglicólico. Após a mistura, a solução foi basificada com gotas de hidróxido de amônio.

Ambas as soluções, padrão e amostra foram adicionadas em tubo de Nessler para análise.

1.2.3. Cloreto de magnésio hexahidratado

Solução S: dissolveram-se 10 g de cloreto magnésio hexahidratado em água livre de gás carbônico (levou-se a água deionizada a ebulição por aproximadamente cinco minutos) e completou-se o volume para 100 mL num balão deste mesmo volume.

- Titulação Complexométrica do Magnésio

Dissolveram-se 0,3 g do sal em 50 mL de água deionizada. Essa solução foi transferida para erlenmeyer de 500 mL e diluída para 300 mL com água deionizada.

Adicionou-se 10 mL de solução tampão de cloreto de amônio a pH 10 e 50 mg de Mordant Black 11 triturado R. Aqueceu-se a solução a 40°C e titulou-se nesta temperatura com EDTA 0,1 M até mudança de cor (violeta para azul).

- Cálcio

Dilui-se 1 mL de solução S para 15 mL de água deionizada R.

A 0,2 mL de solução alcoólica padrão de cálcio (100 ppm de Ca) R, foi adicionado 1 mL de solução de oxalato de amônio R. Depois de um minuto foram adicionados 1 mL de solução de ácido acético diluído R e os 15 mL da solução preparada acima.

Uma solução padrão foi preparada usando 2 mL de solução alcoólica padrão de cálcio (100 ppm de Ca) R, 1 mL de solução de oxalato de amônio R. Após um minuto, adicionou-se 1 mL de solução de ácido acético R, 10 mL de solução aquosa padrão de cálcio (10 ppm) e 5 mL de água deionizada.

Aguardou-se 15 minutos e seguiu-se com a análise.

- Ferro

Diluíram-se 5 mL de solução S para 10 mL de água deionizada. Essa solução foi transferida para uma proveta e a ela foi adicionada 2 mL de solução de ácido cítrico em uma concentração de 200g/L e 0,1 mL de ácido tioglicólico. Fez-se a mistura e a seguir alcalinizou-se a solução com algumas gotas de hidróxido de amônio concentrado. Posteriormente completou-se o volume da solução para 20 mL usando água deionizada.

A solução padrão foi preparada usando 10 mL de solução padrão de ferro (1 ppm Fe) R, 2 mL de solução de ácido cítrico a 200g/L e 0,1 mL de ácido tioglicólico. Após a mistura, a solução foi basificada com gotas de hidróxido de amônia.

1.2.4. Cloreto de sódio

Solução S: dissolveram-se 20 g de cloreto de sódio em água livre de gás carbônico (levou-se a água deionizada a ebulição por aproximadamente cinco minutos) e completou o volume para 100 mL num balão deste mesmo volume.

- Titulação Potenciometrica

Dissolveram-se 50 mg da amostra em água deionizada e dilui-se para 50 mL. Fez-se a titulação com nitrato de prata 0,1 M, determinando o ponto final potenciometricamente.

- Acidez ou Alcalinidade

Foram tomados 50 mL de solução S e a este volume foi adicionado 0,1 mL de solução azul de bromotimol R1. Seguiu-se com a titulação usando ácido clorídrico a 0,01 M para teste de alcalinidade e hidróxido de sódio 0,01 M para teste de acidez.

- Ferrocianetos

Foram dissolvidos 2 g do sal em 6 mL de água deionizada. A essa mistura foram adicionados 0,5 mL de uma mistura contendo 5 mL de uma solução de sulfato férrico amoniacal a 10 g/L, solução de ácido sulfúrico a 2,5 g/L e 95 mL de uma solução de sulfato ferroso a 10 g/L.

- Iodeto

Cinco gramas do sal foram umedecidos, gota a gota, com uma solução contendo 0,15mL de solução de nitrito de sódio R, 2 mL de ácido sulfúrico 0,5 M, 25 mL de solução de amido livre de iodeto R.

- Sulfatos

Diluíram-se 7,5 mL da solução S para 30 mL de água deionizada. Pegou-se, então, 15 mL da solução preparada e transferiu-os para um tubo de Nessler adicionando

a eles 0,5 mL de solução de ácido acético R e 2,5 mL de solução preparada da seguinte maneira: foram adicionados 3 mL de uma solução de cloreto de bário com uma concentração de 250g/L em 4,5 mL de solução padrão sulfato (10 ppm) R1. Essa mistura foi agitada e permaneceu em repouso por um minuto. Depois deste tempo a alíquota foi retirada e seguiu-se com a análise.

- Bário

A 5 mL de solução S adicionar 5 mL de água deionizada R e 2 mL de ácido sulfúrico diluído R. Outra solução também deve ser preparada para comparação com a primeira. Esta solução é feita usando 5 mL de solução S e 7 mL de água deionizada.

- Ferro

Diluiu-se 5 mL de solução S para 10 mL de água deionizada R. Essa solução foi transferida para uma proveta e a ela foram adicionados 2 mL de solução de ácido cítrico em uma concentração de 200g/L e 0,1 mL de ácido tioglicólico. Fez-se a mistura e a seguir alcalinizou-se a solução com algumas gotas de hidróxido de amônio concentrado. Posteriormente completou-se o volume da solução para 20 mL.

A solução padrão foi preparada usando 4 mL de solução padrão ferro (1 ppm) R e 6 mL de água deionizada.

1.2.5. L-triptofano

- Rotação Óptica Específica

Foram dissolvidos 0,25 g da substância em água deionizada. Para facilitar a solubilização a mistura foi levada em banho maria. Após esse procedimento ela foi transferida para balão volumétrico de 25 mL e a solução foi diluída até o máximo volume do balão com água deionizada. Em seguida fez-se a leitura no polarímetro.

- Titulação Não Aquosa (FARMACOPEIA AMERICANA, 2012)

Solução amostra: foram colocados 200 mg de triptofano em um erlenmeyer de 125 mL. A esse pó foram adicionados 3 mL de ácido fórmico e 50 mL de ácido glacial acético.

Análise: a titulação foi realizada com solução de ácido perclórico 0,1N e o ponto final foi determinado potenciometricamente.

- Cloreto

Foram dissolvidos 0,25 g da substância em 3 mL de ácido nítrico diluído R e diluiu-se a solução para 15 mL com água deionizada.

Nestes 15 mL de solução foi adicionado 1 mL de ácido nítrico diluído R e colocou-a em tubo de Nessler contendo 1 mL de solução de nitrato de prata R2.

A solução padrão foi preparada da mesma maneira usando 10 mL de solução padrão cloreto (5 ppm de cloreto) R e 5 mL de água deionizada. A essa solução foi adicionado 1 mL de ácido nítrico diluído R e depois ela foi transferida para um tubo de Nessler contendo 1 mL de solução de nitrato de prata R2. As soluções foram protegidas da luz e examinadas após cinco minutos e, novamente, após vinte minutos contra um fundo preto.

- Sulfatos

Diluíram-se 5 mL da solução S em 15 mL de água deionizada.

Esses 15 mL de solução foram transferidos para um tubo de Nessler e a eles foram adicionados 0,5 mL de solução de ácido acético R e 2,5 mL de solução preparada da seguinte maneira: foram adicionados 3 mL de uma solução de cloreto de bário com uma concentração de 250g/L em 4,5 mL de solução padrão sulfato (10 ppm) R1. Essa mistura foi agitada e permaneceu em repouso por um minuto. Depois deste tempo uma alíquota foi retirada para análise.

O padrão foi preparado usando 15 mL de solução padrão sulfato (10 ppm) R1, 2,5 mL da solução descrita e 0,5 mL de ácido acético glacial.

1.2.6. Manitol

- Rotação óptica específica

Foram dissolvidos dois gramas da substância anidra (dessecada em estufa a 105°C) e 2,6 gramas de tetraborato dissódio em aproximadamente 20 mL de água deionizada aquecida até uma temperatura de 30°C. A mistura foi levada para aquecimento por aproximadamente 20 minutos com constante agitação, sem permitir que a mesma entrasse em ebulição. Após esse tempo foi transferida para balão de 25 mL e o volume foi completado com água deionizada.

Seguiu-se, então, com o teste.

- Açúcares redutores (Iodometria)

Foram dissolvidos 5 gramas da substância em 25 mL de água deionizada com o auxílio de aquecimento brando. A mistura foi resfriada, adicionaram-se 20 mL de solução cítrica de cobre R e foi colocada em agitador magnético para mantê-la sob agitação. A mistura foi submetida novamente a aquecimento de modo que o calor fornecido foi apenas o suficiente para que esta só entrasse em ebulição após quatro minutos e mantivesse a ebulição por três minutos. Após esse aquecimento a mistura foi rapidamente resfriada e a ela foram adicionados 100 mL de solução de ácido acético glacial a 2,4 % (v/v) e 20 mL de solução de iodo a 0,025M. Com agitação contínua adicionou-se 25 mL de uma mistura de seis volumes de ácido clorídrico e 94 volumes de água. Quando o precipitado formado se dissolveu, a mistura foi titulada com tiosulfato de sódio 0,05M, usando 1 mL de solução de amido como indicador que foi adicionado no final da titulação.

1.2.7. Histidina

Solução S: Foram dissolvidos 2,5g da substância em água deionizada. Essa mistura foi levada ao aquecimento em banho maria para facilitar a solubilização da histidina. Após essa solubilização a mistura foi transferida para balão de 50 mL e o volume completado com água deionizada.

- Titulação Potenciométrica

Foram dissolvidos 0,130 gramas de histidina base em 50 mL de água deionizada. Fez-se a titulação com ácido clorídrico 0,1N. O ponto final da titulação foi determinado potenciometricamente.

- Cloreto

Foram diluídos, em proveta, 5 mL de solução para 15 mL de água deionizada. Nestes 15 mL de solução foi adicionado 1 mL de ácido nítrico diluído R. A solução foi colocada em tubo de Nessler contendo 1 mL de solução de nitrato de prata R2. Uma solução padrão foi preparada da mesma maneira usando 10 mL de solução padrão cloreto (10 ppm de cloreto) R e 5 mL de água deionizada. A essa solução foi adicionado 1 mL de ácido nítrico diluído R e transferiu-a para tubo de Nessler contendo 1 mL de solução de nitrato de prata R2.

As soluções foram protegidas da luz e examinadas após cinco minutos, e também após vinte minutos contra um fundo preto.

- Rotação óptica específica

2,75 mg da substância, previamente dessecada em estufa a 105°C, foram dissolvidos em 12 mL de solução de ácido clorídrico R1. Diluiu-se essa mistura com água deionizada até um volume de 25 mL.

- Sulfatos

Diluíram-se, em proveta, 10 mL da solução S para 15 mL de água deionizada. Esses 15 mL de solução foram transferidos para um tubo de Nessler e a eles foram

adicionados 0,5 mL de solução de ácido acético R e 2,5 mL de solução preparada da seguinte maneira: foram adicionados 3 mL de uma solução de cloreto de bário com uma concentração de 250g/L em 4,5 mL de solução padrão sulfato (10 ppm) R1. Essa mistura foi agitada e permaneceu em repouso por um minuto. Depois deste tempo uma alíquota foi retirada e seguiu-se com teste.

O padrão foi preparado usando 15 mL de solução padrão sulfato (10 ppm) R1, 2,5 mL da solução descrita e 0,5 mL de ácido acético R.

1.2.8. Histidina HCl

Solução: foram adicionados 2,5g da amostra em água livre de carbono e diluiu-se a mistura para 50 mL com o mesmo solvente.

- Rotação óptica específica

Foram dissolvidos 2,75g da substância em 12 mL de ácido clorídrico R1. Diluiu-se para 25 mL com água deionizada.

- Sulfatos

Diluíram-se, em proveta, 10 mL da solução S para 15 mL de água deionizada. Esses 15 mL de solução foram transferidos para um tubo de Nessler e a eles foram adicionados 0,5 mL de solução de ácido acético R e 2,5 mL de solução preparada da seguinte maneira: foram adicionados 3 mL de uma solução de cloreto de bário com uma concentração de 250g/L em 4,5 mL de solução padrão sulfato (10 ppm) R1. Essa mistura foi agitada e permaneceu em repouso por um minuto. Depois deste tempo uma alíquota foi retirada e seguiu-se com o teste.

O padrão foi preparado usando 15 mL de solução padrão sulfato (10 ppm) R, 2,5 mL da solução descrita e 0,5 mL de ácido acético R.

- Titulação potenciométrica

Foram dissolvidos 0,160 g em 50 mL de água livre de gás carbônico e titulou-se com hidróxido de sódio 0,1M, determinando o ponto final potenciométricamente.

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1. Cloreto de Potássio

Tabela 1: Resultados das análises realizadas com o cloreto de potássio.

	Teste	Literatura	Resultado	Conclusão
1	Titulação Volumétrica	99% a 100,5%	99,5%	Aprovado
2	Acidez	Até 0,5 mL de base	0,32 mL	Aprovado
3	Alcalinidade	Até 0,5 mL de ácido	0,34 mL	Aprovado
4	Iodeto	Ausência de coloração azul na substância	Ausência de coloração azul na substância	Aprovado
5	Sulfato	Máximo de 300 ppm	Abaixo do limite	Aprovado
6	Bário	Menor turbidez na solução amostra que no padrão.	Abaixo do limite	Aprovado
7	Ferro	Máximo de 20 ppm	Abaixo do limite	Aprovado

2.1.1. Titulação Volumétrica

A média dos volumes obtidos na titulação foi de 26,7 mL. Cada mililitro do titulante equivale 7,455 mg de cloreto de potássio. Isso quer dizer que a massa contida na solução amostra foi de 199,0485 mg do sal, o que resulta em uma porcentagem de 99,5%. O teor esperado deve ficar em um intervalo que varia de 99% a 100,5%. A matéria prima foi considerada aprovada.

2.1.2. Acidez ou Alcalinidade

Ao adicionar o indicador (azul de bromotimol) a solução apresentou coloração esverdeada. Com a adição de 0,34 mL (média de triplicata) de ácido a solução passou à coloração amarela. Com a adição de 0,32 mL (média de triplicata) de base a solução apresentou a cor azul.

A faixa do indicador apresenta o seguinte esquema:

Faixa de pH	Cor da solução
Até 5,8 (pH ácido)	amarela
Entre 5,8 e 7,6	verde
Acima de 7,6 (pH básico)	azul

Por se tratar de um sal formado por um ácido forte (ácido clorídrico) e base também forte (hidróxido de potássio) o sal em questão é considerado neutro, ou seja, em solução aquosa a dissociação do sal forma concentrações semelhantes de íons hidróxido e hidrônio que reagem formando moléculas de água. Com isso o pH que irá prevalecer no teste, se a substância analisada não estiver adulterada será o pH da água usada. Neste caso, pH de aproximadamente 6.

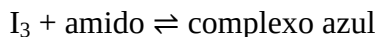
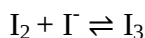
Segundo a Farmacopeia Britânica (2009), para a solução estar dentro do que é aceitável, não é permitido que haja a necessidade de adição de mais que 0,5 mL seja do ácido, seja da base.

Como os resultados foram 0,34 mL de ácido e 0,32 mL de base, a substância, de acordo com este teste, está dentro dos parâmetros esperados.

2.1.3. Iodeto

Ao ser observada à luz do dia, a mistura preparada não apresentou qualquer sinal de coloração azul.

De acordo com a Farmacopeia Britânica (2009), a substância estaria contaminada com iodo se a coloração azul aparecesse, pois o amido em presença de iodo forma um complexo que possui a coloração citada, seguindo a seguinte reação:



Como a coloração não apareceu isso significa que a amostra está livre de iodeto.

2.1.4. Sulfato

Passado um intervalo de cinco minutos foi realizada a comparação entre a solução padrão e a solução amostra. Ambos os tubos foram colocados contra um fundo escuro para facilitar a observação de qualquer opalescência presente neles. A opalescência presente no tubo de solução amostra era muito menos intensa (quase imperceptível) quando comparada com o tubo contendo a solução padrão. Isso significa que a concentração de sulfato que possa estar presente na amostra está dentro do permitido, que é de, no máximo, 300 ppm (partes por milhão). Essa opalescência é graças à reação dos íons sulfato com o bário, que forma uma substância insolúvel, o sulfato de bário.

2.1.5. Bário

Passados os quinze minutos as duas soluções, contendo a amostra e solução padrão, foram analisadas e comparadas. A solução contendo a amostra apresentou opalescência muito menor que a solução padrão.

Essa opalescência ocorre devido à reação do cloreto de bário com o ácido sulfúrico diluído, que forma sulfato de bário, uma substância insolúvel em água.

Como na solução padrão foram adicionados o ácido sulfúrico e o cloreto de bário, a opalescência apareceu. Em contrapartida, na solução amostra só havia o ácido sulfúrico, que reagiria com algum átomo de bário que estivesse presente no sal analisado.

Na solução analisada, não houve opalescência significativa, o que demonstra a ausência ou presença desprezível (tolerável) de bário na substância em questão.

2.1.6. Ferro

Após cinco minutos de repouso as soluções foram comparadas e o que se observou foi o aparecimento da coloração rósea em ambas. Essa coloração é devido a reação do ferro com o ácido tioglicólico formando um complexo de coloração avermelhada, que diluído apresenta a cor rósea.

Comparativamente, não houve coloração significativa na solução amostra. Isso significa que a quantidade de íon ferro na amostra é tolerável, ou seja, está abaixo do limite estabelecido pela literatura que é de 20 ppm.

2.2. Cloreto de Cálcio Dihidratado

Tabela 2: Resultados das análises feitas com o cloreto de cálcio dihidratado.

	Teste	Literatura	Resultado	Conclusão
1	Acidez	Até 0,2 mL de base	0,05 mL	Aprovado
2	Sulfatos	Máximo de 300 ppm	Abaixo do limite	Aprovado
3	Bário	Menor turbidez na solução amostra que no padrão	Abaixo do limite	Aprovado
4	Ferro	Máximo de 10 ppm	Abaixo do limite	Aprovado

2.2.1. Acidez

Ao adicionar a solução de fenolftaleína na solução S não houve o aparecimento de coloração. Isso demonstra que a solução tinha $\text{pH} < 8$. A fenolftaleína é o indicador frequentemente utilizado em titulações na forma de sua solução alcoólica. Mantém-se incolor em soluções ácidas e torna-se cor-de-rosa em soluções básicas. A mudança de coloração ocorre em valores de pH entre 8,2 e 9,8.

Com a titulação volumétrica usando hidróxido de sódio a 0,01 M foi necessário 0,05 mL para que a solução passasse de incolor para rósea.

Como a recomendação da Farmacopeia Britânica (2009) é não usar mais que 0,2 mL de fenolftaleína durante a titulação, e foi necessário apenas 0,05 mL. Portanto o produto está dentro das determinações farmacopeicas.

2.2.2. Sulfatos

Após um intervalo de cinco minutos foi realizada análise comparativa entre a solução padrão e a solução amostra. Ambos os tubos foram colocados contra um fundo escuro para facilitar a observação de opalescência ou turvação.

A opalescência presente no tubo de solução amostra era muito menos intensa (quase imperceptível) quando comparada com o tubo contendo a solução padrão. Isso significa que a concentração de sulfato que possa estar presente na amostra está abaixo do limite que a literatura preconiza, que é um valor máximo de 300 ppm de íons sulfato.

2.2.3. Bário

Após quinze minutos de repouso as duas soluções foram analisadas comparativamente. Na solução amostra a opalescência foi muito menor em relação à solução padrão. Isso demonstra a ausência ou presença desprezível (tolerável) de bário na substância em questão.

2.2.4. Ferro

Após cinco minutos de repouso as soluções foram analisadas comparativamente e a presença da coloração rósea da solução amostra era bem menos intensa que a da solução padrão.

Conclui-se com isso que a quantidade de íon ferro na amostra é tolerável, ou seja, está abaixo do limite estabelecido pela literatura que é de 10 ppm.

2.3. Cloreto de Magnésio Hexahidratado

Tabela 3: Resultados das análises feitas com o cloreto de magnésio hexahidratado.

	Teste	Literatura	Resultado	Conclusão
1	Titulação Volumétrica	-	99,62%	Aprovado
2	Cálcio	Máximo 0,1% de íons cálcio	Abaixo do limite	Aprovado
3	Ferro	Máximo de 10 ppm	Abaixo do limite	Aprovado

2.3.1. Titulação Complexométrica de Magnésio

Foram usados na titulação os volumes de 14,6mL, 14,8mL e 14,7mL. A média dos três valores foi de 14,7mL. De acordo com a Farmacopeia Britânica (2009), 1mL de EDTA sódico equivale a 20,33 mg de cloreto de magnésio hexahidratado. Sendo assim, na amostra obteve-se o equivalente a 298,85 mg de cloreto de magnésio hexahidratado. Em concentração percentual esse resultado é igual a 99,62%.

2.3.2. Cálcio

Fazendo a comparação das duas soluções preparadas foi observada a turbidez de ambas. A turbidez foi maior na solução padrão que na solução amostra.

A turvação das soluções é devido à reação dos íons cálcio com o ânion oxalato, que foi colocado na solução analisada sob a forma de oxalato de amônio.

Como a turvação da solução teste foi menor que a da solução padrão, concluiu-se que os níveis de cálcio na substância analisada estão abaixo do limite que preconiza a literatura, que é de no máximo 0,1%.

2.3.3. Ferro

Cinco minutos após o preparo as soluções, elas foram analisadas comparativamente e notou-se a presença da coloração rósea em ambas.

Contudo a intensidade dessa cor era maior na solução padrão que na solução amostra. Isso significa que a quantidade de íons ferro nesta última está abaixo do limite permitido, que é de 10 ppm.

2.4. Cloreto de sódio

Tabela 4: Resultados das análises feitas com o cloreto de sódio.

	Teste	Literatura	Resultado	Conclusão
1	Titulação Potenciometrica	-	123%	Reprovado
2	Iodeto	Ausência de coloração azul na substância.	Ausência de coloração azul na substância.	Aprovado
3	Ferrocianeto	Ausência de coloração azul na solução.	Ausência de coloração azul na solução.	Aprovado
4	Bário	Menor turbidez na solução amostra que no padrão.	Abaixo do limite	Aprovado
5	Ferro	Máximo de 2 ppm	Abaixo do limite.	Aprovado
6	Acidez	Até 0,5 mL de base.	0,31 mL	Aprovado
7	Alcalinidade	Até 0,5 mL de ácido.	0,32 mL	Aprovado

2.4.1. Titulação Potenciometrica

A adição de volume do titulante foi realizada com espaçamentos maiores no início da titulação, pois a variação de potencial era pequena. Ao se aproximar do ponto de equivalência teórico, foram adicionados menores quantidades de titulante, para que fosse possível detectar o ponto final analiticamente utilizando a primeira derivada segunda derivada dos dados obtidos. Optou-se por demonstrar apenas a segunda derivada visto que é ela quem fornece os dados mais precisos para os cálculos a que se propõe este trabalho.

As figuras 1a e 1b apresentam, respectivamente, os gráficos resultantes da titulação potenciométrica e da segunda derivada para o cloreto de sódio. O gráfico do potencial medido em função do volume de titulante (1a) pode-se observar uma curva com ponto de inflexão acentuado, facilitando o cálculo da segunda derivada e aumentando a precisão do ponto exato de equivalência.

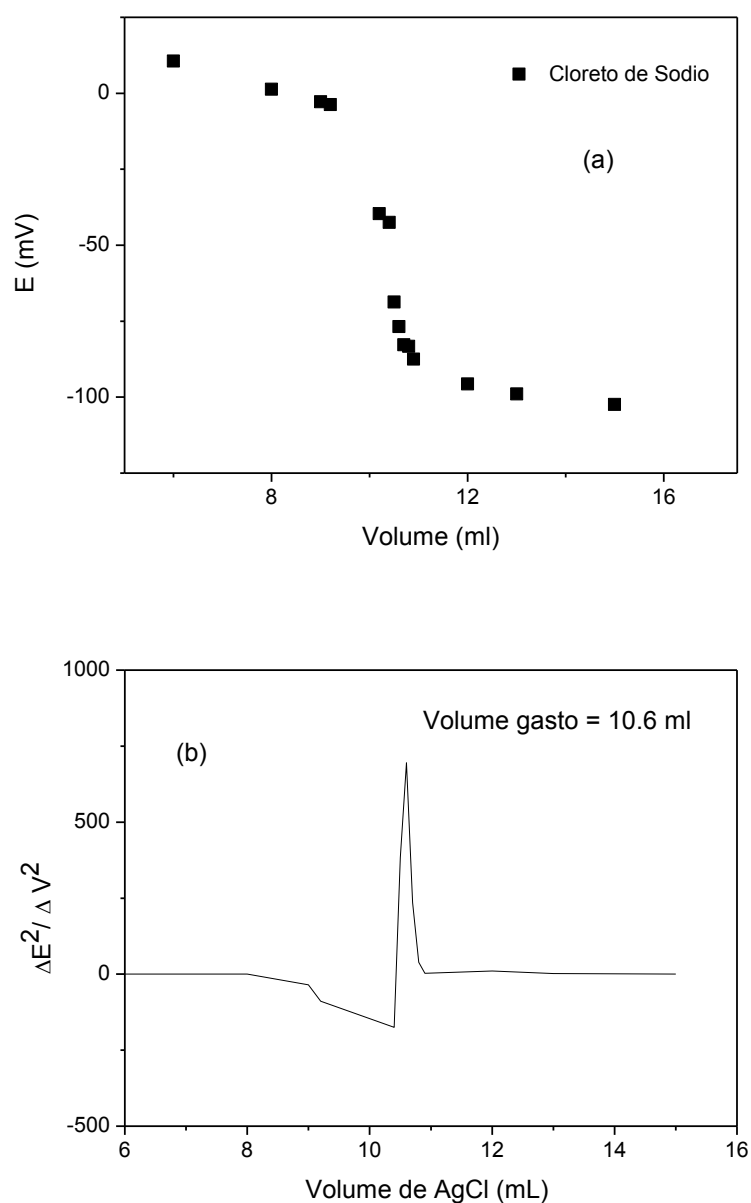


Figura 1. Curva de Titulação Potenciométrica para o cloreto de sódio (a) e Gráfico da Segunda Derivada (b).

A média dos volumes das titulações realizadas foi de 10,6 mL de nitrato de prata 0,1N. Cada mL do titulante corresponde a 5,844g de cloreto de sódio. Sendo assim obteve-se uma massa de 61,9 mg deste sal.

Em concentração percentual esse valor corresponde a 123,9%, pois a amostra continha 50 mg do sal analisado.

Pode-se concluir deste modo que a substância, com relação a teor, foi considerada reprovada, ou seja, fora dos parâmetros farmacopeicos.

2.4.2. Iodeto

Ao ser observada à luz do dia, a mistura preparada não apresentou qualquer sinal de coloração azul. Isso significa que ela está livre de íons iodeto.

2.4.3. Bário

Passadas duas horas do preparo das soluções, elas foram analisadas e observou-se opalescência em ambas.

Na solução amostra, essa opalescência não se mostrou significativa, o que significa a ausência ou presença desprezível (tolerável) de bário na substância em questão.

2.4.4. Ferro

Cinco minutos após o preparo das soluções, elas foram analisadas comparativamente e notou-se a presença da coloração rósea em ambas.

Contudo a intensidade dessa cor era maior na solução padrão que na solução amostra. Isso significa que a quantidade de íons ferro nesta última está abaixo do limite permitido, que é de 2 ppm.

2.4.5. Ferrocianeto

Após o tempo de 10 minutos não houve o aparecimento da cor azul na solução, o que comprova que o sal analisado está livre do contaminante ferrocianeto.

A coloração que apareceria se a substância analisada estivesse contaminada com o ânion em questão é devido à reação do íon ferrocianeto com o íon ferroso,

colocado na solução, em meio ácido formando um complexo azul que recebe o nome de Azul da Prússia.

2.4.6. Acidez ou alcalinidade

Ao adicionar o indicador (azul de bromotimol) a solução apresentou coloração esverdeada. Com a adição de 0,32 mL (média de triplicata) de ácido, a solução passou à coloração amarela. Com a adição de 0,31 mL (média de triplicata) de base, a solução apresentou a cor azul.

Segundo a Farmacopeia Britânica (2009), para a solução estar dentro do que é aceitável, não é permitido que haja a necessidade de adição de mais que 0,5 mL seja do ácido, seja da base.

Como os resultados foram 0,32 mL de ácido e 0,31 mL de base, a substância, de acordo com este teste, está dentro dos parâmetros esperados.

Ressaltando que a solução preparada possuía coloração esverdeada.

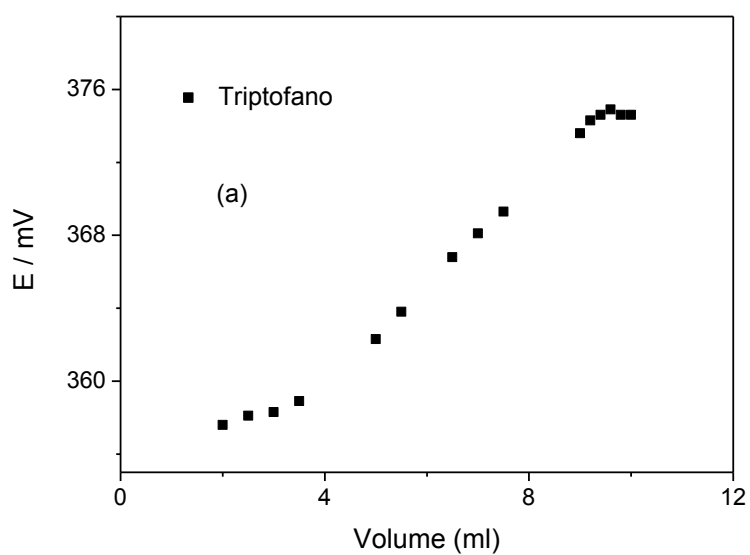
2.5. Triptofano

Tabela 5: Resultados das análises feitas com o triptofano.

	Teste	Literatura	Resultado	Conclusão
1	Titulação Potenciométrica Não Aquosa	98,5% a 101,5%	96%	Aprovado*
2	Rotação Óptica Específica	-30.0° a -33.0°	-31,0°	Aprovado
3	Cloretos	Máximo 200 ppm	Abaixo do limite	Aprovado
4	Sulfatos	Máximo 300 ppm	Abaixo do limite	Aprovado

2.5.1. Titulação Não Aquosa

As figuras 2a e 2b apresentam, respectivamente, a curva potenciométrica e a segunda derivada para o triptofano.



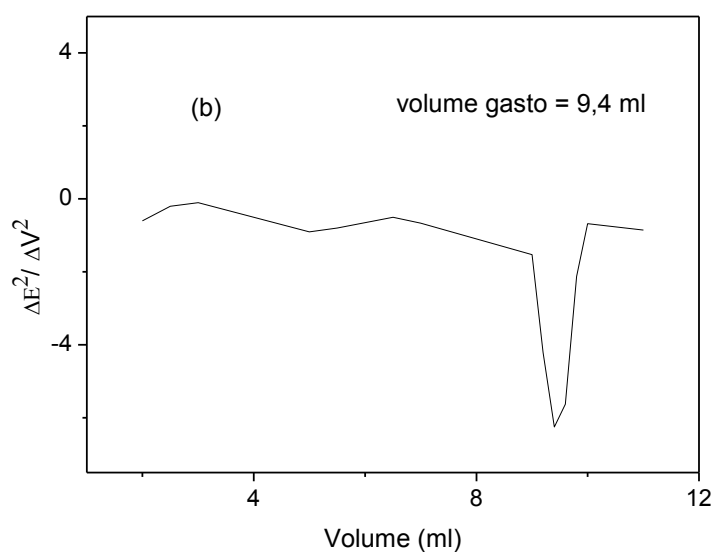


Figura 2. Curva de Titulação Potenciométrica para o Triptofano (a) e gráfico da segunda derivada (b).

A média dos volumes obtidos na titulação (feita em triplicata) foi de 9,4 mL. Como cada mL de ácido perclórico 0,1N (titulante) corresponde a 20,42 mg de triptofano, conclui-se que a massa deste aminoácido presente na amostra é de 191,95 mg. Como se partiu de uma substância de 200,0 mg, o teor foi equivalente a 96%.

*A substância é considerada aprovada no teste de teor (titulação) mesmo estando fora do padrão farmacopeico porque no teste de rotação óptica específica ela foi considerada aprovada. Isso ocorre porque este último teste também leva em consideração a concentração da solução preparada para ser medida no polarímetro e isso prevalece sobre a titulação.

2.5.2. Rotação óptica específica

De acordo com a equação 1, tem-se:

$$[\alpha]_{25}^T = 1000 \alpha / lc$$

$$[\alpha]_{25}^T = (1000 * 0,62) / 2 * 10$$

$$[\alpha]_{25}^T = -31^\circ$$

A substancia é levógira, e por isso recebe o sinal negativo ao lado do número.

O valor de referência da substancia dessecada é de -30.0° a -33.0° . Como o resultado obtido no teste está dentro do intervalo, a substância é considerada aprovada.

2.5.3 Cloreto

Depois de cinco minutos protegida da luz, a amostra foi analisada e a opalescência da solução teste não foi mais intensa que a da solução padrão.

Feita esta análise, os tubos foram novamente escondidos da luz e passados mais quinze minutos (aproximadamente 20 minutos após o preparo da solução) os recipientes foram novamente analisados com a finalidade de comparar a intensidade do aparecimento da coloração azul na solução que inicialmente era vermelha. A coloração azul apareceu de maneira bem discreta, sendo bastante difícil sua visualização tanto na solução padrão quanto na solução teste. Isso demonstra que a concentração de íons cloreto na amostra estava dentro do limite permitido, que é um valor referência de, no máximo, 200 ppm.

A opalescência presente na solução se deve a formação de cloreto de prata, que é um composto insolúvel em água, e portanto provoca uma turvação na solução. A coloração vermelha é explicada pela formação de um complexo entre o aminoácido e os íons prata. E a posterior mudança da solução para coloração azul é devido a redução dos íons Ag^{+1} para Ag^0 em presença de luz.

2.5.4 Sulfatos

Após intervalo de cinco minutos foi realizada a comparação entre a solução padrão e a solução amostra. Ambos os tubos foram colocados contra um fundo escuro para facilitar a observação de qualquer opalescência presente neles.

A opalescência presente no tubo de solução amostra era muito menos intensa (quase imperceptível) quando comparada com o tubo contendo a solução padrão. Isso

significa que a concentração de sulfato que possa estar presente na amostra está dentro do limite que a literatura preconiza, que é um valor máximo de 300 ppm de íons sulfato.

2.6 Manitol

Tabela 6: Resultados das análises feitas com o manitol.

	Teste	Literatura	Resultado	Conclusão
1	Açúcares Redutores (Iodometria)	Acima de 12,8 mL de tiosulfato de sódio 0,05 M	17,1 mL	Aprovado
2	Rotação Óptica Específica	+23,0° a +25,0°	+23,75°	Aprovado

2.6.1. Açúcares Redutores (Iodometria)

O volume encontrado na média da triplicata do processo foi de 17,1 mL. Considerando que o valor de referencia é qualquer volume acima de 12,8 mL de tiosulfato de sódio 0,05M, conclui-se que a substância analisada está dentro dos parâmetros determinados pelo compendio oficial adotado, que é um máximo de 0,2% (calculado como equivalente da glicose).

2.6.2. Rotação óptica específica

Segundo a equação 1:

$$[\alpha]_{25}^T = 1000 \alpha / lc$$

$$[\alpha]_{25}^T = (1000 * 3,8) / 2 * 80$$

$$[\alpha]_{25}^T = +23,75^\circ$$

A substância é dextrógira, e por isso recebe o sinal positivo ao lado do número.

O valor de referência da substância dessecada é de $+23,0^{\circ}$ a $+25,0^{\circ}$. Como o resultado obtido no teste está dentro do intervalo, a substância é considerada aprovada.

2.7. Histidina

Tabela 7: Resultados das análises feitas com a histidina.

	Teste	Literatura	Resultado	Conclusão
1	Titulação Potenciometrica	-	109,8%	Aprovado*
2	Rotação Óptica Específica	$+11,4^{\circ}$ a $+12,4^{\circ}$	$+11,4^{\circ}$	Aprovado
3	Cloretos	Máximo de 200 ppm	Abaixo do limite	Aprovado
4	Sulfatos	Máximo de 300 ppm	Abaixo do limite	Aprovado

2.7.1. Titulação potenciométrica

Nas figuras 3a e 3b encontram-se os gráficos resultantes da titulação potenciométrica e da segunda derivada para histidina .

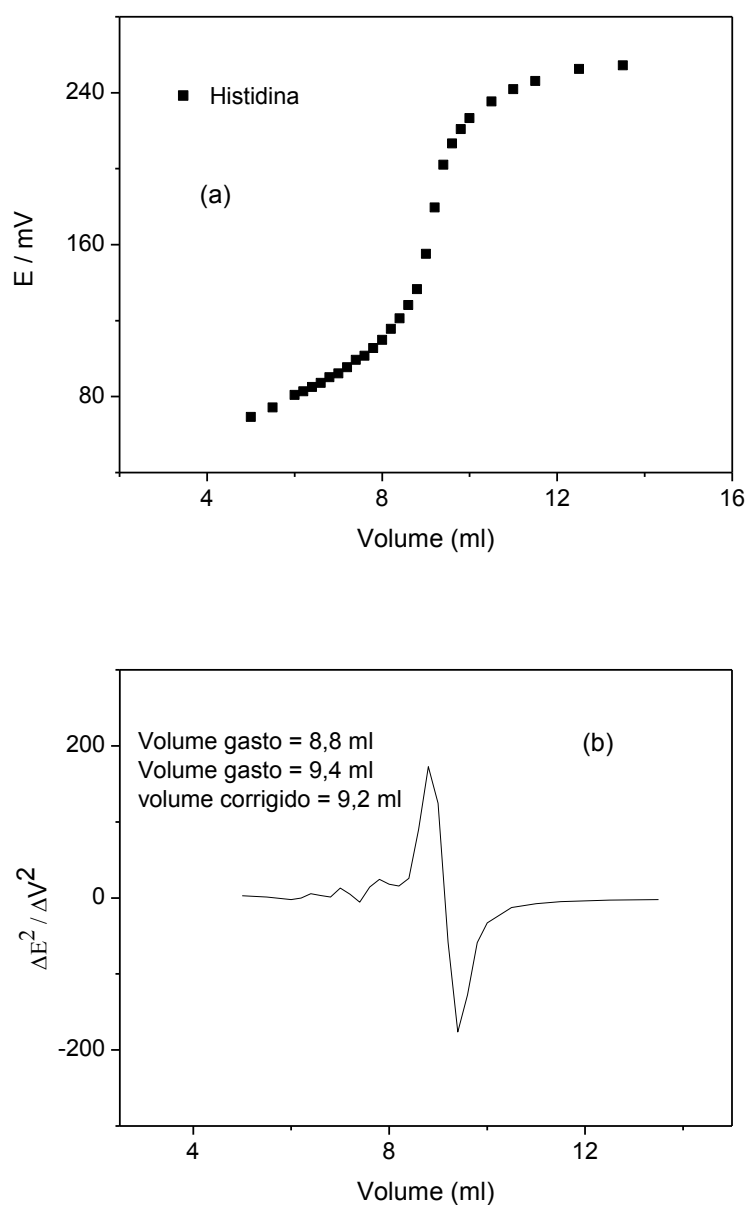


Figura 3. Curva de Titulação Potenciométrica para histidina (a) e gráfico da segunda derivada (b).

A média dos volumes das triplicatas realizadas durante a titulação resultou em um volume de ácido clorídrico 0,1 N igual a 9,2 mL.

Cada mL de ácido clorídrico 0,1N equivale a 15,52 mg de histidina. Deste modo a massa encontrada é de 142,8 mg de histidina. Em concentração percentual tem-se um valor de 109,8%, pois foram utilizados 130 mg da amostra para análise.

*A substância é considerada aprovada no teste de teor (titulação) mesmo estando fora do padrão farmacopeico porque no teste de rotação óptica específica ela foi aprovada. Isso ocorre porque este último teste também leva em consideração a concentração da solução preparada para ser medida no polarímetro e isso prevalece sobre a titulação.

2.7.2. Rotação óptica específica

De acordo com a equação 1, temos:

$$[\alpha]_{25}^T = 1000 \alpha / lc$$

$$[\alpha]_{25}^T = (1000 * 2,5) / 2 * 110$$

$$[\alpha]_{25}^T = +11,4^\circ$$

A substância é dextrógira, e por isso recebe o sinal positivo ao lado do número.

O valor de referência da substância dessecada é de $+11,4^\circ$ a $+12,4^\circ$. Como o resultado obtido no teste está dentro do intervalo, a substância é considerada aprovada.

2.7.3. Cloretos

Depois de cinco minutos protegida da luz, a amostra foi analisada e a opalescência da solução teste não foi mais intensa que a da solução padrão.

Feita esta análise, os tubos foram novamente escondidos da luz e passados mais quinze minutos (aproximadamente 20 minutos após o preparo da solução) os recipientes foram novamente analisados com a finalidade de se comparar a intensidade do aparecimento da coloração azul na solução que inicialmente era vermelha. A coloração azul apareceu de maneira bem discreta, sendo bastante difícil sua visualização tanto na solução padrão quanto na solução teste. Isso demonstra que a concentração de íons cloreto na amostra estava abaixo do limite permitido, que é um valor de, no máximo, 200 ppm.

2.7.4. Sulfatos

Após intervalo de cinco minutos foi realizada a comparação entre a solução padrão e a solução amostra. Ambos os tubos foram colocados contra fundo escuro para facilitar a observação de opalescência.

A opalescência presente no tubo de solução amostra era muito menos intensa (quase imperceptível) quando comparada com o tubo contendo a solução padrão. Isso significa que a concentração de sulfato que possa estar presente na amostra está abaixo do limite que a literatura preconiza, que é um valor máximo de 300 ppm de íons sulfato.

2.8. Histidina HCl

Tabela 8: Resultados das análises feitas com a histidina HCl.

	Teste	Literatura	Resultado	Conclusão
1	Titulação Potenciométrica	-	95,8%	Aprovado *
2	Rotação Óptica Específica	+ 9,2° a +10,6°	+ 9,5°	Aprovado
3	Sulfatos	Máximo de 300 ppm	Abaixo do limite	Aprovado

2.8.1. Titulação Potenciométrica

As figuras 4a e 4b apresentam os gráficos resultantes da titulação potenciométrica e da segunda derivada para histidina HCl .

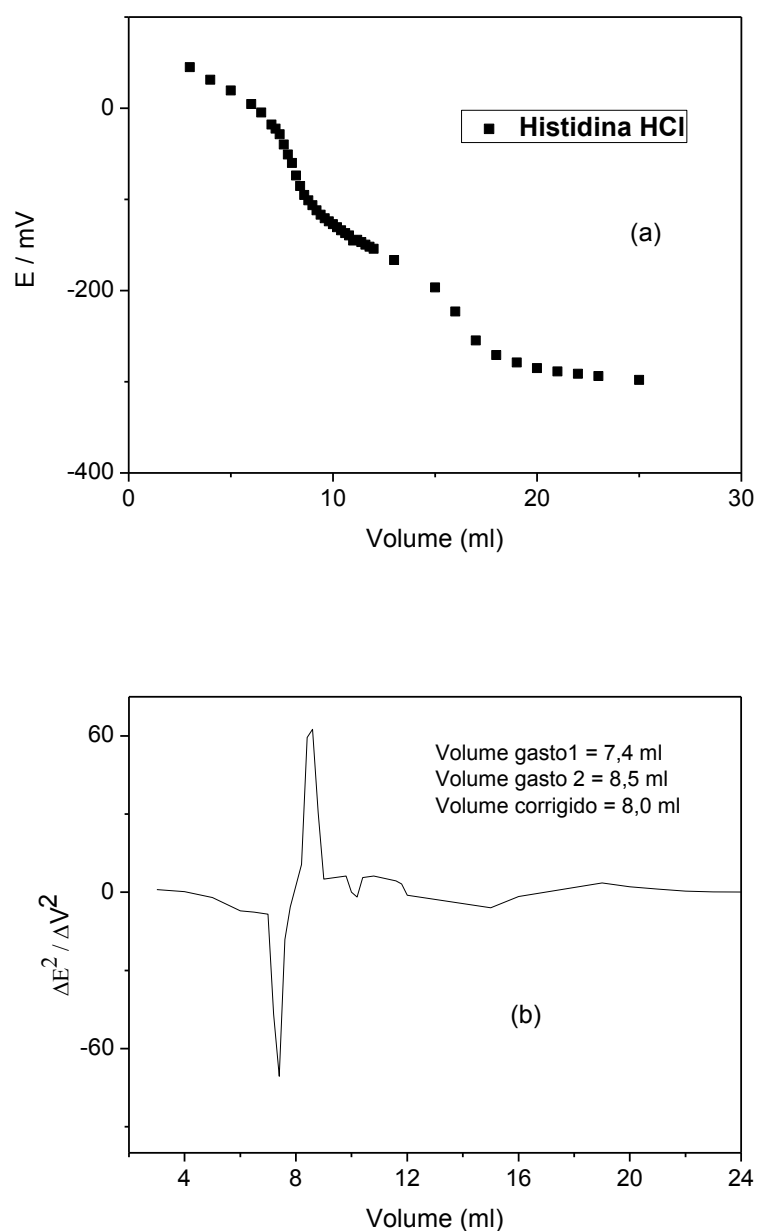


Figura 4. Curva de Titulação Potenciométrica para Histidina HCl (a) e gráfico da segunda derivada (b).

A média dos volumes das triplicatas realizadas forneceu um volume de 8,0 mL de hidróxido de sódio 0,1N.

Cada mL de solução de hidróxido de sódio 0,1N corresponde a 19,16 mg de histidina HCl. Deste modo tem-se uma massa de 153,5 mg de histidina HCl na substância analisada. Isso equivale a 95,8% de teor de histidina HCl na solução titulada, pois para proceder com o teste adicionou-se 160,0 mg de histidina HCl.

*A substância é considerada aprovada no teste de teor (titulação) mesmo estando fora do padrão farmacopeico porque no teste de rotação óptica específica ela foi considerada aprovada. Isso ocorre porque este último teste também leva em consideração a concentração da solução preparada para ser medida no polarímetro e isso prevalece sobre a titulação.

2.8.2. Rotação óptica específica

$$[\alpha]_{25}^T = 1000 \alpha / lc$$

$$[\alpha]_{25}^T = (1000 * 2,1) / 2 * 110$$

$$[\alpha]_{25}^T = +9,5^\circ$$

A substância é dextrógira, e por isso recebe o sinal positivo ao lado do número.

O valor de referência da substancia dessecada é de + 9,2° a +10,6°. Como o resultado obtido no teste está dentro do intervalo, a substância foi considerada aprovada.

2.8.3. Sulfatos

Passado um intervalo de cinco minutos foi realizada a comparação entre a solução padrão e a solução amostra. Ambos os tubos foram colocados contra um fundo escuro para facilitar a observação de qualquer opalescência presente neles.

A opalescência presente no tubo de solução amostra era muito menos intensa (quase imperceptível) quando comparada com o tubo contendo a solução padrão. Isso significa que a concentração de sulfato que possa estar presente na amostra está abaixo do limite que a literatura preconiza, que é um valor máximo de 300 ppm de íons sulfato.

3. CONCLUSÃO

A realização das análises das matérias primas presentes na solução HTK (histidina-triptofano-cetoglutarato) deu-se de maneira eficiente, ou seja, foram feitas utilizando as técnicas preconizadas pelos compêndios oficiais, Farmacopeias Americana (2012) e Britânica (2010), sendo possível concluir que tais matérias primas se encontram em conformidade e estão aptas para uso.

Com relação à análise da solução HTK acabada, esta foi feita utilizando os mesmos métodos quantitativos empregados para análise das matérias primas, ou seja, as titulações potenciométricas e volumétricas.

Contudo, não foi possível a quantificação dos analitos presentes nesta solução, pois os métodos utilizados não se mostraram sensíveis devido à baixa concentração destes analitos presentes na solução em questão.

Para a realização desta quantificação seria necessário o uso de equipamentos mais sensíveis que não estão disponíveis na Faculdade de Farmácia nem no Instituto de Química da UNESP.

De todo modo, ambas as análises, das matérias primas e da solução acabada, são necessárias para garantir a qualidade do produto final empregado no transporte de órgãos para transplante. A qualidade das matérias primas garante a qualidade do produto, mas a análise da solução HTK é importante para a verificação da concentração adequada dos eletrólitos presente.

4. REFERÊNCIAS

- ALEIXO, L. M.; GODINHO, E. S.. Química Nova. Abril, 1985. p. 113.
- BACCAN, N.; ANDRADE, J. C. de; GODINHO, O. E. S.; BARONE, J. S. 3.ed. Química Analítica Elementar. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.
- BELLAMY, C. A. et al. Comparative analysis of clinical efficacy and cost between University of Wisconsin solution and histidine-tryptophan-ketoglutarate. Columbia: AACCN, 2008. p. 166-172.
- BELZER, F. O.; SOUTHARD, J. H. Principles of solid-organ preservation by cold storage. Transplantation, n.45, v. 4, p. 673-6, 1988.
- BELZER, O. et al. Preservação de órgãos. Clínicas Cirúrgicas da América do Norte, 2004.
- CHAN, S.C. et al. Applicability of histidine-tryptophan-ketoglutarate solution in right lobe adult-to-adult live donor liver transplantation. Liver Transplantation, v. 10, n. 11, p. 1415-1421, 2004.
- CORREIA, E. **Soluções para conservação de órgãos: princípios básicos**. 2002.
- EGHTESAD, B.; AUCEJO, F.; FUNG, J.J. Preservation solutions in liver transplantation: What Are the Options? **Liver Transplantation**, n. 12, p. 196-198, 2006.
- THE UNITED STATES PHARMACOPEIA: USP 35 the national formulary: NF30/by authority of the United States Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2012. 3 v
- BRASIL FARMACOPEIA 2010. Agencia nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Fundação Oswaldo Cruz, 2010. 2 v.
- BRITISH PHARMACOPEIA 2010. London: Stationary Office, 2009. 1, 2 e 4 v.
- FENG, L. et al. Histidine-tryptophan-ketoglutarate solution Vs. University of wisconsin solution for liver transplantation: a systematic review. **Liver Transplantation**, n. 13, p. 1125-1136, 2007.
- GALLINAT, A.; LÜERB, B.; SWOBODA, S.; RAUEN, U.; PAUL, A.; MINOR, T. Use of the new preservation solution Custodiol-N supplemented with dextran for

hypothermic machine perfusion of the kidney. **Cryobiology**, n. 66, v. 2, p. 131–135, apr. 2013.

GARCIA, V. D. **Transplantes de órgãos e tecidos**. 2. ed. São Paulo: Segmento Pharma; 2006.

GULLO NETO DAS. Preservação de órgãos, 2006.

LOGANATHAN, S et al. Effects of custodiol-N, a novel organ preservation solution, on ischemia/reperfusion injury. **Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Cardiothoracic Transplantation**, 2010.

MARSHALL, V. C. Renal preservation. In: MORRIS, P. J.(Ed.) **Kidney transplantation: principles and practice**. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001.

MATIAS, J. E. F. et. al. Prevenção de isquemia hepática normotérmica durante in situ com três diferentes soluções de preservação: análise com três diferentes soluções de preservação: análise experimental através de termografia por radiação. *Rev. Col. Bras. Cir.*, v. 3, n.37, p. 211-217, 2010.

MEINE, M. H. M. **Ensaio clínico randomizado da preservação de enxertos hepáticos com solução de perfusão de UW e HTK no transplante ortotópico de fígado**. 2005. f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

MÜHLBACHER, F.; LANGER, F.; MITTERMAYER, C. Preservation solutions for transplantation. *Chirurgische Universitätsklinik Wien, Abteilung für Transplantation*, , v. 5, n.31, 1999.

NETTO, J et al. Cloropromazina e função mitocondrial na isquemia: reperfusão renal. *Acta Cir. Bras*, São Paulo, 2001.

REUNIÃO DE DIRETRIZES BÁSICAS PARA CAPTAÇÃO E RETIRADA DE MÚLTIPLOS ÓRGÃOS E TECIDOS, 1., 2003, Campos do Jordão. **Associação Brasileira de Transplante de Órgãos**. Campos do Jordão, 2003.

SKOOG, Douglas A. **Fundamentos de química analítica**. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2006.

STARZL, T. E.; DEMETRIS, A. J.; THIEL, D. Van. Liver transplantation. **N Engl J Med**, v.15, n. 321, p. 1014-22, 1989.

TEOH, N. C.; FARRELL, G. C. Hepatic ischemia reperfusion injury: pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection. **J Gastroenterol Hepatol**, v. 8, n.18, p. 891-902, 2003.

- WEBER, T. M. **Estudo e comparação de métodos de análise de comprimido de atenol utilizando espectroscopia ultravioleta e titulação potenciométrica**. 2011. **f** Trabalho de Conclusão de Curso (Obtenção do grau de químico industrial). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.
- ZULUAGA, G. L. L; AGUDELO, R. E. S.; TOBÓN, J. J. Z. Preservation solutions for liver transplantation in adults: Celsior versus Custodiol: a systematic review and meta-analysis withan indirect comparison of randomized trials. **Transplantation Proceedings**, v. 45, p. 25-32, 2013.

DADOS FINAIS

De acordo com:

Professora Doutora Maria Virgínia Scarpa

Marcela Lopes Santin

Araraquara, de outubro de 2013