

**PATRÍCIA XAVIER BALIZA**

***ESTUDO POTENCIOMÉTRICO DE REAÇÕES OSCILANTES PARA A  
DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO, POR PERTURBAÇÃO DO  
PADRÃO DE OSCILAÇÃO***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA**

**MINAS GERAIS – BRASIL**

**2006**

**PATRÍCIA XAVIER BALIZA**

***ESTUDO POTENCIOMÉTRICO DE REAÇÕES OSCILANTES  
PARA A DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO,  
POR PERTURBAÇÃO DO PADRÃO DE OSCILAÇÃO***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 21 de julho de 2006

---

Prof. César Reis  
(Co-orientador)

---

Prof. Benjamin Gonçalves Milagres

---

Prof. Paulo Henrique Fidêncio

---

Prof. Per Christian Braathen

---

Prof. Efraim Lázaro Reis  
(Orientador)

*“Não existem erros, apenas lições. O crescimento é um processo de tentativa e erro: experimentação. As experiências que não deram certo fazem parte do processo, assim como as bem-sucedidas. As respostas estão dentro de você. Tudo o que tem a fazer é analisar, ouvir e acreditar.”.*

(AUTOR DESCONHECIDO)

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ter sempre guiado meus passos e por ter me dado oportunidades de realizar projetos como este.

Aos meus pais e meu irmão, pelo apoio, carinho e dedicação em todos os momentos.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Química pela oportunidade concedida.

Ao professor Efraim Lázaro Reis pela orientação e amizade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida.

Aos professores César Reis e Benjamin Gonçalves Milagres pelos aconselhamentos.

À Marisa, que sempre foi prestativa e dedicada.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Instrumentação e Quimiometria: Viviane, Leandra, Lidiane, Juracir, Ricardo, Silvéria, José Carlos, Alex, Henrique, Fernanda, Flávia, Anderson, Glasiela, pela agradável convivência e ajuda no que foi necessário durante o desenvolvimento do trabalho.

À Ana Paula pela amizade e colaboração durante todo o trabalho

Aos amigos, Cléber, João, Cristiane, Fred, Nayara, Teresa e Kitê que sempre proporcionaram um ambiente agradável enquanto estive em Viçosa.

Ao meu grande amigo Marcelo, pelo companheirismo, carinho e atenção.

À minha amiga de infância, Maria Teresa, que sempre acompanhou e esteve presente nos momentos mais importantes de minha vida.

Ao professor Valfredo Lemos pela amizade e incentivo.

Aos ex-companheiros de curso e laboratório da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia: Adriana, Luana, Ana Paula, Douglas, Lindomar, Nai, Gama, Bruno e Robson, que mesmo distantes acreditaram e incentivaram o meu trabalho.

Enfim, a todos não citados, mas que de alguma forma participaram deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

PATRÍCIA XAVIER BALIZA, filha de José Geraldo Baliza e Alzira Xavier Baliza, nasceu em Montes Claros, Minas Gerais, em 25 de maio de 1980.

Em março de 1999 iniciou o Curso de Licenciatura em Química na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, diplomando-se em Julho de 2004.

Durante este período, foi bolsista por dois anos do programa de Bolsas do CNPq, onde desenvolveu pesquisas na área de Química Analítica. Atuou em projetos, como Produção de novos reagentes orgânicos e resinas funcionalizadas utilizados em metodologias de pré-concentração para determinação de quantidades traços de metais.

Participou de congressos regionais e nacionais apresentando trabalhos científicos

Em agosto de 2004 ingressou no programa de Pós-Graduação em Agroquímica, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, MG, submetendo-se à defesa de dissertação em julho de 2006.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	ix
LISTA DE TABELAS .....	xi
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiv
INTRODUÇÃO .....	1
1. Introdução .....	2
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
2. Revisão Bibliográfica .....	6
2.1. Reações Oscilantes.....	6
2.1.1. Aplicações de reações oscilantes em determinações analíticas .....	10
2.2. Determinação de Ácido Ascórbico .....	11
2.3. Potenciometria .....	14
2.3.1. Aplicações da potenciometria para a determinação de ácido ascórbico .....	16
2.3.2 Aplicação da potenciometria em sistemas em fluxo para a determinação de ácido ascórbico.....	18
2.4. Planejamento Fatorial.....	19
2.5. Comunicação de Sinais.....	20
2.5.1. Comunicação serial e paralela .....	21
2.5.2. Comunicação serial RS232C.....	22
2.5.3. Linguagens de programação .....	23
2.5.4. Linguagem Quick-Basic.....	25
PARTE EXPERIMENTAL .....	26
3. Parte Experimental .....	27
3.1. Montagem do Sistema .....	27

3.2. Aquisição de Dados .....	30
3.3. Preparo de Soluções .....	34
3.3.1. Solução de sulfato de cério(IV) 0,1000 mol L <sup>-1</sup> .....	34
3.3.2. Solução de sulfato ferroso amoniacal 0,06000 mol L <sup>-1</sup> ....	34
3.3.3. Solução de dicromato de potássio 0,03000 mol L <sup>-1</sup> .....	34
3.3.4. Solução de bromato de potássio 0,4000 mol L <sup>-1</sup> .....	35
3.3.5. Solução de ácido malônico 0,8000 mol L <sup>-1</sup> .....	35
3.3.6. Solução de ácido sulfúrico 1,5000 mol L <sup>-1</sup> .....	35
3.3.7. Soluções de ácido ascórbico .....	35
3.3.8. Soluções para estudo de interferentes .....	36
3.4. Procedimento Geral .....	36
3.5. Planejamento Fatorial .....	37
3.6. Preparo de Amostras .....	38
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	39
4. Resultados e Discussão .....	40
4.1. Cálculo da Amplitude e da Frequência no Gráfico das Oscilações .....	40
4.2. Planejamento Fatorial .....	42
4.3. Estudo Univariado das Concentrações dos Reagentes .....	46
4.3.1. Influência da concentração de bromato de potássio .....	47
4.3.2. Influência da concentração de sulfato de cério(IV).....	48
4.3.3. Influência da concentração de ácido malônico .....	49
4.3.4. Influência da concentração de ácido sulfúrico .....	50
4.4. Influência da Temperatura no Sistema BZ .....	51
4.5. Determinação de Ácido Ascórbico .....	53
4.5.1. Curva Analítica .....	53
4.6. Estudo de Interferentes .....	56

4.7. Aplicação em Amostras Reais .....	57
CONCLUSÕES .....	59
5. Conclusões .....	60
PERSPECTIVAS FUTURAS.....	62
6. Perspectivas Futuras.....	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	64
7. Referências Bibliográficas .....	65
APÊNDICE .....	71

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da reação de Belousov-Zhabotinskii .....	08
Figura 2: Reação de cério (IV) com ácido ascórbico .....	13
Figura 3: Comunicação serial .....	22
Figura 4: Comunicação paralela .....	22
Figura 5: Conectores DB25 (a) e DB9 (b) usados na interface serial RS232C .....	23
Figura 6: Esquema da cela com os eletrodos para a determinação de ácido ascórbico .....	28
Figura 7: Detalhes da construção das tampas do recipiente e da cela .....	28
Figura 8: Cela utilizada na determinação de ácido ascórbico .....	29
Figura 9: Sistema empregado para o monitoramento do sinal da reação oscilante .....	29
Figura 10: Sistema utilizado no processo de aquisição de dados .....	30
Figura 11. Tela de arquivos de fontes de dados.....	31
Figura 12. Tela de opções de configuração do programa.....	31
Figura 13. Tela de eventos do programa.....	32
Figura 14: Tela principal do programa comercial ASPM durante aquisição de dados.....	32
Figura 15: Gráfico da oscilação em tempo real .....	33
Figura 16: Gráfico de oscilação do sistema BZ .....	41
Figura 17: Gráfico de oscilação do sistema BZ, com pontos para cálculo da freqüência .....	41
Figura 18: Gráficos de oscilação do sistema BZ correspondentes ao planejamento experimental. Os números dos gráficos correspondem aos números dos experimentos .....	44

Figura 19: Gráficos de oscilação do sistema BZ correspondentes ao planejamento experimental. Os números dos gráficos correspondem aos números dos experimentos .....	45
Figura 20: Influência da concentração de bromato de potássio na amplitude de oscilação do sistema BZ .....	47
Figura 21: Variação da amplitude de oscilação com a concentração de sulfato de cério (IV) no sistema BZ .....	48
Figura 22: Estudo da influência da concentração de ácido malônico no sistema BZ .....	49
Figura 23: Variação da amplitude de oscilação do sistema BZ com a concentração de ácido sulfúrico .....	50
Figura 24: Variação da amplitude de oscilação do sistema BZ com a temperatura .....	51
Figura 25: Influência da temperatura na frequência de oscilação do sistema BZ .....	52
Figura 26: Gráfico de oscilação do sistema BZ com injeção de ácido ascórbico .....	53
Figura 27: Gráfico de oscilação do sistema BZ para diferentes concentrações de ácido ascórbico .....	54
Figura 28: Curva analítica da determinação de ácido ascórbico utilizando o sistema BZ .....	55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores mínimos e máximos das variáveis estudadas no planejamento .....	37
Tabela 2: Planejamento fatorial $2^4$ realizado para a otimização das concentrações dos reagentes no sistema oscilante.....	38
Tabela 3: Planejamento fatorial $2^4$ realizado para a otimização das concentrações dos reagentes no sistema oscilante .....	42
Tabela 4: Amplitude, frequência média e desvio padrão na janela analítica, para as misturas que oscilaram regularmente ....	46
Tabela 5. Variáveis otimizadas para a determinação de ácido ascórbico.....	52
Tabela 6: Características analíticas da determinação de ácido ascórbico utilizando o sistema BZ. $\Delta A$ , variação na amplitude, mV; C, concentração de ácido ascórbico, molL <sup>-1</sup> .....	55
Tabela 7: Influência de outras espécies na determinação de ácido ascórbico utilizando o sistema BZ.....	56
Tabela 8: Resultados determinação de ácido ascórbico em amostras de medicamentos utilizando o sistema BZ ....	57
Tabela 9: Comparação entre os valores descritos pelos fabricantes e os resultados da determinação de ácido ascórbico em amostras de medicamentos utilizando o sistema BZ .....	58

## RESUMO

BALIZA, Patrícia Xavier, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2006. **Estudo potenciométrico de reações oscilantes para a determinação de ácido ascórbico, por perturbação do padrão de oscilação.** Orientador: Efraim Lázaro Reis. Co-orientadores: César Reis e Antônio Augusto Neves.

Neste trabalho, é proposta a determinação de ácido ascórbico em amostras de medicamentos, utilizando-se um sistema potenciométrico, desenvolvido no laboratório que permitiu o estudo de reações oscilantes. Esse método baseia-se na determinação de ácido ascórbico utilizando como princípio o efeito desta substância no padrão de oscilação da reação de Belousov-Zhabotinskii. As condições experimentais como temperatura e concentrações dos reagentes, foram otimizadas. O sistema era constituído de um microcomputador interfaceado a um potenciômetro, e uma cela de parede dupla, para a termostatização, utilizando-se eletrodos de platina como indicador e referência de Ag/AgCl. Os reagentes foram adicionados à cela através de tubos de polietileno, propulsionados por uma bomba peristáltica, e o ácido ascórbico foi injetado com uma micro-pipeta de 100  $\mu\text{L}$ . Um planejamento fatorial  $2^4$ , onde as concentrações dos reagentes bromato de potássio, sulfato de cério(IV), ácido malônico e ácido sulfúrico foram as variáveis estudadas no planejamento montado para o estudo das condições experimentais a serem otimizadas. Em seguida foi feito um estudo de variação de concentração para cada reagente separadamente, estabelecendo-se as melhores concentrações de trabalho. Foi feito também um estudo da temperatura adequada para se obter o melhor padrão de oscilação caracterizado pela maior amplitude. Após estabelecido as melhores condições de trabalho, foi realizado o estudo de substâncias interferentes no sistema oscilante. A metodologia para a determinação de ácido ascórbico resultou em um procedimento simples, onde a montagem do sistema pode ser reutilizada em outros estudos, e de baixo custo, pois a

quantidade de reagentes utilizada é mínima. O método foi aplicado com sucesso para a determinação de ácido ascórbico em medicamentos.

## ABSTRACT

BALIZA, Patrícia Xavier, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July of 2006. **Potentiometric investigation of oscillating reaction for the determination of ascorbic acid by perturbation of the oscillation pattern.** Adviser: Efraim Lázaro Reis. Co-advisers: César Reis and Antônio Augusto Neves.

The purpose of this investigation was to propose the determination of ascorbic acid in pharmaceutical drug samples, by means of a laboratory-made potentiometric system that allowed the study of oscillating reactions. The method is based in the effect of ascorbic acid in oscillation pattern of Belousov-Zhabotinskii reaction. The experimental conditions such as temperature and concentrations of reactants were optimized. A system was assembled consisting of a microcomputer interfaced to an potentiometer and a double walled cell, for thermostatzation, using platine electrodes as indicators and Ag/AgCl reference electrode. The reactants were added to cell by means of polyethylene tubes, propelled by a peristaltic pump, and the ascorbic acid injected with a 100  $\mu$ L micropipette. A 2<sup>4</sup> factorial research design was established for the investigation of the experimental conditions to be optimized. In this design, the studied variables were the concentrations of reactants potassium bromide, cerium (IV) sulfate, malonic acid and sulfuric acid. Afterwards a study of variation of concentrations for each reactant separately was carried out, establishing in this way the best working concentrations. An investigation was also carried out to find the adequate temperature to obtain the best oscillating pattern characterized by the largest amplitude. An investigation about interfering substances in the oscillating system was carried out after the establishment of the best working conditions. The methodology for the determination of ascorbic acid

resulted in a simple procedure, where the experimental system setup can be used for other investigations, and at low cost, since the amount of reactants used is minimal. The method was successfully carried out for the determination of ascorbic acid in pharmaceutical drugs.

# Introdução

## 1. INTRODUÇÃO

Ácido ascórbico, também conhecido como vitamina C, é encontrado em frutas cítricas, produtos vegetais e diferentes formulações farmacêuticas. Esta substância é, também, uma das mais importantes vitaminas na dieta humana porque auxilia o corpo na formação do tecido conjuntivo, ossos, dentes, paredes dos vasos sanguíneos e na assimilação de ferro e aminoácidos. Uma dieta deficiente em vitamina C pode causar o desenvolvimento do escorbuto. Esta vitamina diminui a incidência de doenças cardiovasculares e câncer [1]. Plantas e alguns animais sintetizam sua própria vitamina C, mas humanos não. Por esta razão, seres humanos necessitam absorvê-la de outras fontes. Devido à grande importância e ampla utilização de ácido ascórbico, é fundamental o desenvolvimento de novas técnicas para a sua determinação em diferentes matrizes e diferentes níveis [2]. A determinação de ácido ascórbico com base em reação oscilante tem sido descrita na literatura [3].

Sistemas químicos oscilantes têm sido o foco de muitas pesquisas em cinética química experimental e teórica. O sistema químico que tem recebido maior atenção e investigação é o que se denomina Belousov-Zhabotinskii (BZ). Neste sistema, a reação envolve a oxidação de um composto orgânico, como o ácido malônico ou cítrico, por íons bromato em meio de ácido sulfúrico, com o íon cério(IV) usado como catalisador [3]. A reação de Belousov-Zhabotinskii tem sido utilizada no desenvolvimento de métodos de análise [4]. O princípio do uso analítico da reação de Belousov-Zhabotinskii é a perturbação promovida por diferentes espécies (analitos) no padrão de oscilação. Tanto os intervalos de tempo entre as oscilações, como a amplitude, são usados como parâmetros analíticos. Por exemplo, hexacianoferrato pode decrescer substancialmente a amplitude da oscilação, enquanto a frequência permanece inalterada. O decréscimo na amplitude é linearmente proporcional à concentração de hexacianoferrato [5]. Os efeitos inibidores de íons cloreto e iodeto nesta reação podem também ser explorado para desenvolver métodos analíticos.

Ácido ascórbico também pode promover a diminuição do potencial, aumentando a amplitude na reação de Belousov-Zhabotinskii quando esta substância é injetada no meio reacional. O sistema químico é perturbado com quantidades variáveis de ácido ascórbico, o que resulta em um aumento da amplitude que é linearmente proporcional à concentração de ácido ascórbico. Esta perturbação do ácido ascórbico neste sistema é única. A maioria dos íons comumente encontrados em amostras de medicamentos não interfere na determinação. A medida da diminuição ou aumento na concentração de algum componente da reação oscilante geralmente é realizada por medidas espectrofotométricas ou potenciométricas [6].

Potenciometria é um dos métodos eletroanalíticos mais utilizados para a determinação de substâncias orgânicas e inorgânicas. Essa técnica é uma das que estão menos sujeitas a interferências da matriz e que requerem equipamentos mais simples [7].

Para o gerenciamento do instrumento potenciométrico e aquisição dos dados, pode ser utilizada uma interface, que é um conjunto de normas que definem a comunicação entre dois dispositivos. A comunicação pode ser estabelecida de várias formas, sendo a mais comumente utilizada, a comunicação serial, via padrão RS232. A norma RS232 define os níveis de tensão, a temporização, o protocolo de troca de dados e a disposição mecânica dos conectores.

Desta forma, o desenvolvimento de um procedimento para a determinação de ácido ascórbico utilizando como princípio o seu efeito na oscilação da reação de Belousov-Zhabotinskii constitui a proposta deste trabalho. O monitoramento potenciométrico da amplitude da reação e a introdução dos reagentes em fluxo são outras características do procedimento, utilizado para a análise de ácido ascórbico em matrizes, como formulações farmacêuticas.

# **Revisão Bibliográfica**

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Reações Oscilantes

Reações oscilantes são sistemas dinâmicos complexos que envolvem mudanças periódicas na concentração de algum componente (reagente, intermediário ou produto) com o tempo. O primeiro modelo para uma reação oscilante foi desenvolvido no início do século passado [8]. Apesar de serem estudadas há relativamente muito tempo, os mecanismos que governam as reações oscilantes, ainda não são satisfatoriamente explicados. O sistema oscilante que tem recebido maior atenção é a chamada reação de Belousov-Zhabotinskii. Em 1951, Boris Pavlovich Belousov observou o fenômeno oscilatório em uma mistura de bromato de potássio, sulfato de cério(IV), ácido cítrico e ácido sulfúrico. Os resultados deste trabalho foram publicados em 1958, mas não tiveram o seu valor devidamente reconhecido pela comunidade científica [9].

O químico russo Anatol M. Zhabotinskii aprofundou os estudos sobre a reação de Belousov, substituindo o ácido cítrico pelo ácido malônico, estudou o efeito da adição dos íons  $\text{Br}^-$ ,  $\text{Ag}^+$  e  $\text{Ce}^{3+}$ . Além disso, propôs também, as bases mecanísticas que explicavam as oscilações observadas.

Este fenômeno é também observado em outros campos, além da química. Um exemplo é a excitabilidade, um dos mais interessantes fenômenos em sistemas biológicos. Há muitas referências na literatura sobre fenômenos elétricos acompanhando excitação em membranas biológicas. Apesar de extensos estudos sobre o que se denomina bio-oscilação, os mecanismos físico-químicos destes fenômenos não são totalmente claros [10].

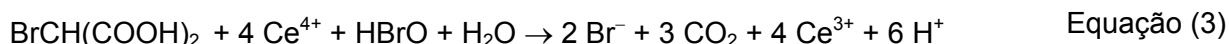
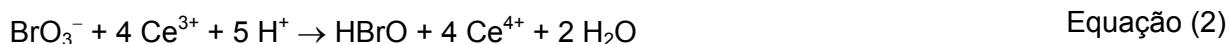
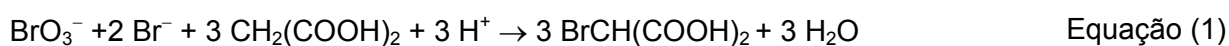
Em membranas excitáveis é bem estabelecido que a diferença na composição dos eletrólitos, especialmente íons potássio e sódio, através da membrana é importante. Assim a investigação de membranas auto-excitáveis é importante na compreensão do mecanismo de excitação e ou oscilação em sistemas biológicos.

Atualmente ainda são poucos os sistemas químicos oscilantes conhecidos, sendo o principal deles o BZ, que tem como formulação básica o bromato oxidando a matéria orgânica, tendo um íon metálico como catalisador.

É possível obter-se oscilações utilizando-se outros catalisadores além do par Ce(III)/Ce(IV), tais como Mn(II)/Mn(III), Fe(II)/Fe(III), Ru(II)/Ru(III), Cr(II)/Cr(III) e Co(II)/Co(III), os quatro últimos, geralmente complexados com fenantrolina ou bipyridina, produzindo oscilações diferentes [11].

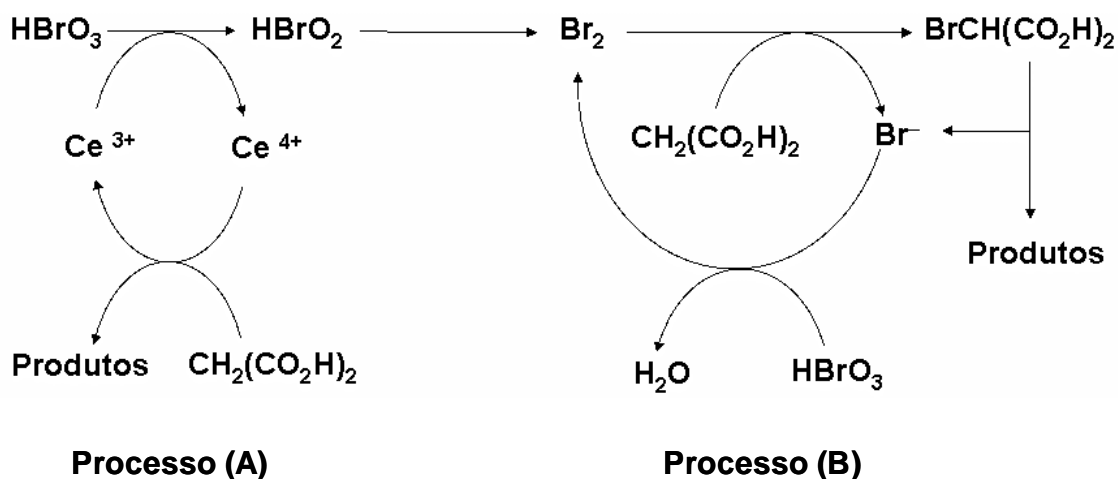
Com relação ao meio reacional, observa-se que a utilização do par Ce(III)/Ce(IV) como catalisador do sistema BZ, só permite que se observem oscilações em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> com concentração próxima de 1,0 mol L<sup>-1</sup>.

O sistema BZ de reações oscilantes envolve três reações globais:



Os processos **1** e **2** são os principais, pois alternadamente controlam a reação de BZ e então resulta em oscilações na concentração da espécie intermediária. O processo **3** é o vínculo entre os dois processos anteriores. No processo **1**, os íons bromato, brometo e o ácido malônico reagem para formar o ácido bromomalônico (BrCH(COOH)<sub>2</sub>). Quando a concentração de brometo diminui, ficando abaixo do ponto crítico, o controle da reação muda para o processo **2**, no qual o Ce(III) é oxidado por bromato e ácido brômico (HBrO<sub>2</sub>). O Ce(IV) é reduzido a Ce(III) pelo ácido malônico e bromomalônico no processo **3**. Quando uma quantidade suficiente de brometo é formada no processo **3**, o controle da reação é devolvido para o processo **1**. A reação continua até a concentração de um dos reagentes diminuir, ficando abaixo do nível necessário para sustentar o ciclo.

O processo global da reação de Belousov-Zhabotinskii é apresentado no esquema da figura 2.



**Figura 1.** Representação esquemática da reação de Belousov-Zhabotinskii.

No processo global observa-se um período de indução onde ocorre uma lenta oxidação do ácido malônico através do íon bromato, catalisada por cério. Quando é atingida uma concentração crítica do bromato, ele reage com o cério(IV) formando o íon brometo, parando a oxidação e levando a reação de volta ao processo A; a oscilação então se inicia. Se o ácido bromomalônico for adicionado diretamente as oscilações são observadas imediatamente.

O método mais utilizado para experimentação com reações oscilantes faz uso do reator de fluxo contínuo com agitação (RFCA). Neste método as soluções e reagentes são continuamente alimentadas ao reator por meio de uma bomba peristáltica ou por um conjunto de seringas impulsionadas conjuntamente por um mesmo sistema propulsor. O volume da solução é mantido constante fazendo-se com que o excesso transborde por uma saída ou ainda retirado pelo uso de uma conexão a uma trompa de vácuo. A principal vantagem deste método é o estudo do formato das oscilações por longo tempo e também a facilidade de verificar modificações nas oscilações provocadas pelas condições experimentais, tais como a concentração dos reagentes ou a vazão dos reagentes através do reator.

Uma reação tende sempre para posição de equilíbrio final e a medida que se aproxima dessa posição de equilíbrio sua velocidade vai diminuindo. Quando a reação estiver bastante próxima da sua posição de equilíbrio final, a sua velocidade será muito pequena e quando o equilíbrio final tiver sido atingido a velocidade da reação será zero e nada mais ocorrerá a partir daí. Antes, porém da reação atingir a sua posição de equilíbrio final é que poderemos ter variações periódicas das concentrações de quaisquer intermediários, desde que esse intermediário sofra decomposição através de um processo autocatalítico. Em outras palavras, as oscilações acontecem à medida que a reação caminha rumo ao equilíbrio e não em torno da posição de equilíbrio. Para melhor visualização da necessidade da presença de uma etapa autocatalítica faz-se uso de uma representação bastante simples proposta por Lotka em 1920, com o propósito de modelar o comportamento de populações.



O mecanismo mostrado acima contém duas etapas autocatalíticas, equações 4 e 5. Se a concentração do precursor A for constante e se ignorarmos o produto P verifica-se que, inicialmente, a concentração de X aumenta exponencialmente. A medida que a reação 5 começa a ocorrer, esta aumenta de velocidade exponencialmente, de tal forma que esgota total ou quase totalmente o intermediário X. Uma vez que A está sempre disponível, X torna a se formar exponencialmente até que novamente a reação 5 faça a sua concentração se reduzir a valores próximos a zero. Dessa forma, a concentração do intermediário X oscila, mas não a concentração de P, que aumenta sem cessar. No caso de um sistema fechado, a concentração de A vai decrescendo o que torna as oscilações mais espaçadas no tempo e cada vez de menor amplitude, até que o sistema para de oscilar. No caso do sistema com fluxo contínuo, A é alimentado continuamente ao reator, ao mesmo tempo,

que P é continuamente retirado e o fenômeno oscilatório pode ser observado continuamente [9].

### **2.1.1. Aplicações de reações oscilantes em determinações analíticas**

A reação de Belousov-Zhabotinskii tem sido utilizada para a determinação analítica de espécies orgânicas e inorgânicas, baseando-se na perturbação causada por algumas substâncias no sistema oscilante. O primeiro trabalho que descreve a determinação de substâncias orgânicas com base no seu efeito na reação de Belousov-Zhabotinskii foi empregado na determinação cinética de vários polifenóis (hidroquinona, catecol, resorcinol, pirogalol e ácido gálico) [12]. Neste sistema, operado em um reator de fluxo contínuo, a reação é perturbada com quantidades variáveis dos analitos orgânicos, o que resulta em mudanças substanciais na amplitude de oscilação, que são proporcionais à concentração do polifenol.

A determinação de heroína baseada no seu efeito sobre o sistema Belousov-Zhabotinskii foi também estudada. A heroína pode perturbar a amplitude e a frequência do sistema oscilante, na faixa de concentrações de  $1.8 \times 10^{-8}$  a  $2.1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> deste analito [13]. Em outro trabalho, um eletrodo de platina foi utilizado para monitorar a mudança no potencial do sistema Belousov-Zhabotinskii, causada pelo íon As (III) [14]. A resposta foi proporcional à concentração de As(III), então o sistema foi empregado na determinação analítica deste íon. Um método para a determinação de hexacianoferrato em soluções fotográficas foi desenvolvido, tendo como princípio o decréscimo nas oscilações potenciométricas num sistema Belousov-Zhabotinskii causado pelos íons  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  ou  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  [5]. Outras substâncias, como prata [6] ou manganês [15], também têm sido determinadas com base no seu efeito sobre este sistema oscilante.

## 2.2. Determinação de Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico, mais conhecido como vitamina C, é uma substância solúvel em água que participa de numerosos processos biológicos. Ocorre em uma variedade de alimentos naturais, como frutas, verduras e hortaliças. Este ácido é adicionado a vários produtos farmacêuticos como anti-oxidante, ingrediente essencial, ou um estabilizante para complexos da vitamina B. O ácido ascórbico é utilizado no tratamento de várias doenças, como escorbuto, febre e anemia, entre outras. O grande uso de produtos naturais e farmacêuticos contendo vitamina C tem levado os químicos a desenvolver procedimentos analíticos para a sua determinação. Estes procedimentos tendem a ser cada vez mais simples de operar, precisos, rápidos, exatos, seletivos e sensíveis, empregados para a determinação de ácido ascórbico em diferentes níveis e matrizes. A busca por métodos com características ideais tem resultados em numerosos procedimentos, com variadas aplicações.

Análises de ácido ascórbico envolvendo técnicas analíticas como: volumetria [16], fluorimetria [17], espectrofotometria [18] e potenciometria [19] têm sido descritas na literatura. No entanto, os métodos convencionais permitem o manuseio de um número limitado de amostras, exigindo um consumo excessivo de tempo [16]. Assim, existe uma necessidade em desenvolver métodos analíticos rápidos e automatizados para a determinação de ácido ascórbico, principalmente para uso em análises de rotina. Análise por injeção em fluxo (FIA) tem sido largamente usada como uma ferramenta para resolver os problemas de consumo de tempo. Essa análise consiste de um sistema segmentado com aspiração de amostras-teste ou reagentes, utilizando uma bomba peristáltica como unidade propulsora. Além disso, métodos FIA apresentam as vantagens de alta frequência de amostras, alta reprodutibilidade, operação simples, baixo consumo de reagentes e amostra, baixo risco de contaminação e pouco espaço e materiais são requeridos [20]. Os métodos de análise por injeção em fluxo para determinação de

ácido ascórbico envolvem detecção espectrofotométrica, eletroanalítica, quimioluminescente e fluorimétrica [16].

A grande maioria dos métodos propostos para determinação de ácido ascórbico é aplicada a amostras que incluem medicamentos, sucos, bebidas não-alcóolicas, soro sangüíneo e alimentos. Devido ao grande número de substâncias interferentes em potencial nestas amostras, é essencial o estudo de seletividade do método. Em geral, procedimentos com detecção espectrofotométrica apresentam as mais sérias interferências, principalmente quando analisadas amostras coloridas contendo corantes que absorvem a luz na mesma região de comprimento de onda que o produto medido. Ainda, muitos compostos presentes em amostras podem causar interferências, pois absorvem fortemente na região do ultravioleta. Para remover estes interferentes, geralmente são necessários pré-tratamentos tediosos e demorados [16]. Métodos de titulação visual também não são satisfatoriamente aplicados, pois freqüentemente resultam amostras coloridas ou opacas, que dificultam a detecção do ponto final. Além disso, estes métodos demandam uma grande quantidade de amostra [21].

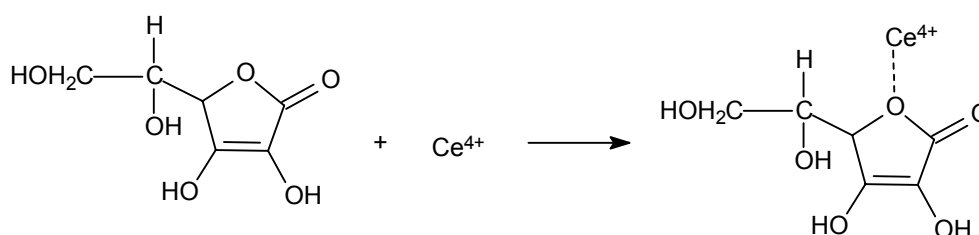
Uma vantagem inerente da maioria dos métodos espectrofotométricos para determinação de ácido ascórbico é a fácil aplicabilidade a análises de rotina. A absorvidade molar de boa parte das espécies coloridas situa-se na faixa de  $10^3$  a  $10^4$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>. Isso viabiliza a determinação precisa de vitamina C em uma grande variedade de amostras.

Vários corantes, como o 2,6-diclorofenolindofenol (DCIP) [22], dimetoxidiquinona [23], azul de metileno [24] e 1,10-fenantrolina [18], entre outros, têm sido usados na determinação espectrofotométrica de ácido ascórbico. Dentre estes, DCIP é o reagente que tem sido mais largamente estudado. Este reagente é incluído em muitos métodos oficiais para determinação de ácido ascórbico, e também serve de base para muitos métodos colorimétricos. O DCIP é uma substância azul que é reduzida à sua forma incolor em presença de ácido ascórbico, mas apresenta-se rósea em meio ácido. Este corante foi aplicado na determinação de vitamina C nos mais variados tipos de amostras, desde urina humana até batatas processadas [24].

---

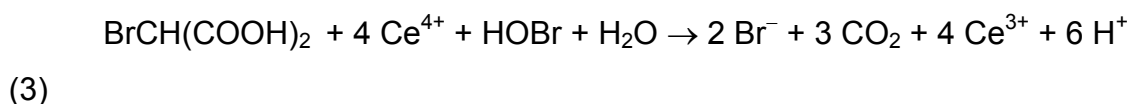
Métodos quimioluminescentes para a determinação de ácido ascórbico envolvem a oxidação do ácido ascórbico com ferro(III), hexacianoferrato ou permanganato, seguida pela interação com um reagente como luminol ou lucigenina [16,24]. Determinações de vitamina C envolvendo detecção fluorimétrica são baseadas na formação de espécies fluorescentes em reações redox, nas quais é promovida a oxidação do ácido ascórbico. Entre estas espécies, encontram-se quinoxalina e azul de leucotonia [17, 25].

Um método potenciométrico para a determinação de ácido ascórbico foi desenvolvido baseado no efeito deste ácido na reação de Belousov-Zhabotinskii [3]. O ácido ascórbico é bastante conhecido pelo seu poder antioxidante. Em determinadas faixas de concentração, este ácido pode reagir com cério(IV) para formar um complexo. O processo pode ser assim ilustrado:



**Figura 2.** Equação da reação de cério(IV) com ácido ascórbico

Assim, o ácido ascórbico inibe a oxidação auto-catalítica de Ce(III) a Ce(IV), o que resulta em um decréscimo na concentração de brometo, de acordo com a equação 3. O aumento da amplitude resulta do decréscimo da razão Ce(IV)/Ce(III), enquanto o período decresceu devido a uma baixa taxa de geração de íons brometo.



### 2.3. Potenciometria

A potenciometria é uma técnica bem conhecida, que se baseia na medida do potencial de células eletroquímicas, sem o consumo apreciável de corrente, utilizando-se para isto de sistemas eletrônicos de alta resistência de entrada.

A base da potenciometria foi estabelecida por Nernst, em 1888, descrevendo a origem do potencial de eletrodo entre um metal e uma solução contendo íons deste metal, e o potencial redox entre um metal inerte e uma solução contendo um sistema redox. No início do século XX, era grande a necessidade de quantificar o grau de acidez de substâncias, o que fez com que houvesse uma corrida para a pesquisa nesta área. O primeiro sensor potenciométrico usado para medir a acidez de uma solução aquosa foi o eletrodo de hidrogênio, proposto por Nernst, em 1897, mas que devido à sua complexidade não tinha finalidade prática. Em 1906, Cremer desenvolveu o eletrodo de vidro para as medidas de acidez, sendo posteriormente aperfeiçoado por Haber e Klemensiewicz. No entanto, havia dois problemas a serem superados na medida de acidez: definir as unidades e melhorar a instrumentação de modo a ter uma leitura mais reprodutível. Curiosamente, o aperfeiçoamento tecnológico do eletrodo de vidro se originou na comunidade acadêmica, enquanto que a fundamentação teórica, sobre as unidades de medida de acidez, surgiu da indústria. Sørensen, trabalhando para a cervejaria Carlsberg, foi quem propôs a escala de pH, devido a necessidade de definir a influência da acidez sobre uma série de reações enzimáticas. Quase ao mesmo tempo, as empresas Beckman e Radiometer comercializaram, o primeiro medidor de pH, em 1935, provavelmente, inspiradas no trabalho pioneiro de Elder e Wright sobre medidas de pH com eletrodo de vidro e potenciômetro de tubo à vácuo. Assim, a cooperação entre indústria e academia contribuiu para o desenvolvimento da potenciometria, tornando-a uma técnica consagrada e focada na medida de pH [26].

A definição da técnica potenciométrica pode ser resumida como o conjunto

de métodos instrumentais que visam à determinação de concentrações e atividades de espécies iônicas em solução. Essa determinação é realizada utilizando-se medidas de diferenças de potenciais ( $E$ ) entre dois eletrodos. Um destes eletrodos é o de referência e o outro é chamado de indicador, sendo ambos imersos na solução em estudo. O potencial do eletrodo indicador é dependente da concentração do íon cuja atividade deve ser determinada. A obtenção do potencial desse indicador é conseguida combinando-o com o eletrodo de referência, o que resulta em uma pilha cuja força eletromotriz ( $E$ ) pode ser medida. O potencial de uma célula eletroquímica reversível está diretamente relacionado com a atividade dos íons envolvidos na reação da célula, pela equação de Nernst:

$$E = E^{\circ} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{red}}{a_{oxi}} \quad \text{Equação 7}$$

Onde,  $E^{\circ}$  é o potencial-padrão do eletrodo, que depende do íon em questão e da temperatura;  $R$  é a constante universal dos gases;  $T$  é a temperatura absoluta;  $n$  o número de mol de elétrons envolvidos;  $\ln$  é o logaritmo neperiano;  $F$  é a constante de Faraday, e  $a_{red}$  é a atividade da espécie que sofreu redução e  $a_{oxi}$  a atividade de espécie que oxidou.

Esta equação fornece uma relação simples entre o potencial relativo de um eletrodo e a atividade das espécies iônicas correspondentes em solução. Desta forma, a medida do potencial de um eletrodo reversível permite calcular a atividade de um componente da solução [26].

A potenciometria indireta ou titulação potenciométrica é geralmente utilizada para a obtenção de dados experimentais utilizados para estimar concentrações ou constantes de equilíbrio desconhecidas. Para o caso de determinação de constantes de equilíbrio o processo consiste no ajuste de uma curva de titulação teórica aos dados experimentais gerados. Na determinação de constantes de formação são freqüentemente realizadas titulações potenciométricas automáticas, onde o eletrodo de referência mais utilizado, devido à sua simplicidade de preparação e constância de potencial é o eletrodo de calomelano.

Entre as vantagens da potenciometria, incluem-se: simplicidade, rapidez, precisão, e facilidade de automação e controle por microcomputadores, possibilitando o armazenamento de uma maior quantidade de dados gerados nas análises. O equipamento requerido para os métodos potenciométricos é simples e de baixo custo. Os principais componentes da potenciometria são os eletrodos, pois são eles os responsáveis pela conversão da atividade iônica em potencial de cela.

### **2.3.1. Aplicações da potenciometria para a determinação de ácido ascórbico**

Os procedimentos que empregam detectores eletroanalíticos são baseados principalmente na inerente característica redox do ácido ascórbico e dos reagentes, como ferro ou cério. Vários autores têm proposto procedimentos baseados em medidas potenciométricas para detecção de ácido ascórbico. Um sensor potenciométrico para detecção de ácido ascórbico em complexos vitamínicos foi construído utilizando-se um eletrodo quimicamente modificado por incorporação de ftalocianina ferro(II) em pasta de carbono [27].

Outro método potenciométrico rápido, preciso e simples foi desenvolvido empregando-se eletrodos de cobre e mercúrio [22]. Esses eletrodos indicadores foram aplicados na determinação de ácido ascórbico em medicamentos e os dados experimentais foram analisados estatisticamente para validar o método proposto. Os resultados obtidos na análise de ácido ascórbico em medicamentos foram comparados com um método volumétrico pela aplicação dos testes F e t. Os autores usaram os mesmos eletrodos para a titulação direta de ácido ascórbico com sulfato de cobre em presença de tiocianato de amônio [19].

A determinação de ácido ascórbico em medicamentos foi realizada empregando-se um método cujo princípio é a reação da vitamina C com excesso de triiodeto e subsequente medida potenciométrica do triiodeto residual [28]. Foi utilizado um eletrodo contendo uma membrana de cloreto de polivinila (PVC) plastificada com éter 2-nitrofeniloctílico (NPOE), que apresenta uma resposta rápida e sensível a triiodeto. A titulação potenciométrica automática do excesso de triiodeto foi realizada contra tiosulfato. Um outro trabalho descreve um procedimento envolvendo o uso de eletrodos para resposta potenciométrica ao ácido ascórbico empregando-se um eletrodo de platina modificado com iodo e outro de carbono impregnado com azul da Prússia [29]. O método foi usado para a rápida determinação de vitamina C em plantas medicinais e sucos; por este motivo, os autores propõem que o mesmo seja empregado em análises de rotina.

O teor de ácido ascórbico em sucos e medicamentos sob a forma de tabletes e cápsulas foi determinado, utilizando-se potenciometria com corrente eletrolítica diferencial direta [30]. Sulfato de cério e amônio foi usado como titulante e eletrodos de platina foram empregados como sistema indicador. Esta técnica potenciométrica consiste da polarização de dois eletrodos idênticos com uma pequena corrente estabilizada, com a medida da diferença de potencial entre eles. O uso dos eletrodos polarizados viabiliza uma resposta mais rápida e a aparelhagem envolvida é simples. A reação do ácido ascórbico com Ce(IV) é suficientemente rápida para permitir a titulação direta em meio de ácido sulfúrico.

### **2.3.2. Aplicação da potenciometria em sistemas em fluxo para a determinação de ácido ascórbico**

Os principais problemas no uso de um método eletroanalítico para detecção em fluxo são a limitada seletividade e a variação da corrente sob diferentes condições de vazão. Ainda assim, é interessante a combinação das vantagens da potenciometria com a injeção em fluxo para a determinação de ácido ascórbico.

No primeiro trabalho para determinação de ácido ascórbico por injeção em fluxo descrito na literatura, foram empregados eletrodos de platina ou grafite para medidas do potencial redox do ácido ascórbico [31]. Um volume de 0,30 mL de solução de ácido ascórbico foi injetado em um fluxo não-segmentado de solução de Ce(IV). Outro procedimento envolvendo análise por injeção em fluxo foi desenvolvido para a dosagem de vitamina C em sucos de frutas e bebidas [32]. O método baseia-se na reação do ácido ascórbico com Cu(II) seguida por detecção eletroquímica a um potencial aplicado de +20 mV. Os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos empregando-se HPLC.

Um eletrodo construído por meio de pré-tratamento químico de um tubo de prata com soluções de cloreto de mercúrio e iodeto foi utilizado como sensor potenciométrico de vitamina C [33]. Utilizando-se um sistema em linha, foi realizada a determinação de ácido ascórbico com um sensor de prata em fluxo. O sistema FIA é simples, e consiste de uma bomba peristáltica, uma válvula de injeção, um eletrodo tubular de prata e um eletrodo de referência. Foi desenvolvido um outro método utilizando-se análise por injeção em fluxo com titulação automática e multi-comutação, para determinação de ácido ascórbico em medicamentos [34]. O procedimento baseia-se na reação entre ácido ascórbico e iodato, seguido por detecção potenciométrica usando um sensor de prata e um eletrodo íon-seletivo. Observou-se que o procedimento é simples, robusto e apresenta habilidade em processar amostras sem tratamento prévio.

Em um outro trabalho foi construído um eletrodo tubular baseado nas propriedades redox de íons cobre(II) oclusos em membrana de EVA (polietileno co-vinil acetato) que mostrou resposta a ácido ascórbico. Na construção, a matriz de polietileno foi dopada com íons Cu(II) e dispersa na superfície de um eletrodo de grafite. Foi avaliado o desempenho do sensor em um sistema de análise por injeção em fluxo, para aplicação na determinação de vitamina C em amostras farmacêuticas sem tratamento prévio [35].

## 2.4. Planejamento Fatorial

O termo quimiometria foi proposto há mais de 20 anos para descrever as técnicas e operações associadas às manipulações matemáticas e interpretações de dados químicos. Esta técnica consiste na aplicação de métodos matemáticos e estatísticos ao planejamento e otimização de métodos analíticos e na obtenção de informações químicas através da análise de resultados relevantes.

O planejamento para um experimento pode ser do tipo simultâneo, em que todos os experimentos são feitos antes da análise dos resultados, e do tipo seqüencial, em que o resultado do experimento anterior determina as condições a serem usadas no experimento seguinte. Um planejamento fatorial do tipo seqüencial é executado quando se tem conhecimento limitado sobre a região de domínio experimental. Este tipo de planejamento é utilizado para indicar uma direção em experimentos subseqüentes. Na otimização de métodos analíticos o objetivo principal é obter a melhor resposta (máxima ou mínima) em função das variáveis que afetam o procedimento [36]. A otimização pode ser feita monitorando a influência de uma das variáveis por vez sobre a resposta experimental, denominada então otimização univariada. Sua principal desvantagem é o tempo gasto e a falta de interpretação acerca das interações entre a variável em estudo e as demais variáveis que afetam o procedimento, resultando numa otimização ineficiente.

Técnicas envolvendo otimização multivariada, atualmente vêm sendo preferencialmente aplicadas no desenvolvimento de procedimentos analíticos por permitir, dentre outras vantagens, a otimização simultânea de todas as variáveis com números menores de experimentos, menor tempo e maior eficiência. Apesar de apresentar muitas vantagens em relação à otimização tradicional, somente nas últimas décadas houve uma utilização efetiva e crescente das técnicas multivariadas na otimização de métodos analíticos.

O planejamento fatorial completo é o planejamento simultâneo mais comum que pode ser aplicado para investigar as influências de todas as variáveis experimentais e os efeitos de interação entre elas sobre uma resposta analítica. Em um planejamento fatorial cada variável é denominada de fator e cada fator varia em dois ou mais níveis. Preferencialmente os planejamentos são estudados em dois níveis porque a depender da quantidade de fatores, o número de experimentos é grande, e o planejamento torna-se ineficiente. O número de experimentos é calculado pela expressão  $n^k$ , onde  $n$  é o número de níveis a serem estudados e  $k$  o número de fatores. Como exemplo, um planejamento fatorial em dois níveis com três fatores terá um número de experimentos igual a 8. Embora o planejamento fatorial completo não indique os valores ótimos para os fatores e conseqüentemente para as variáveis, ele é muito importante para a análise dos efeitos individuais e das interações. Uma desvantagem para a aplicação do planejamento fatorial completo é que o número de experimentos aumenta bastante com o aumento de fatores a serem avaliados [37].

## **2.5. Comunicação de Sinais**

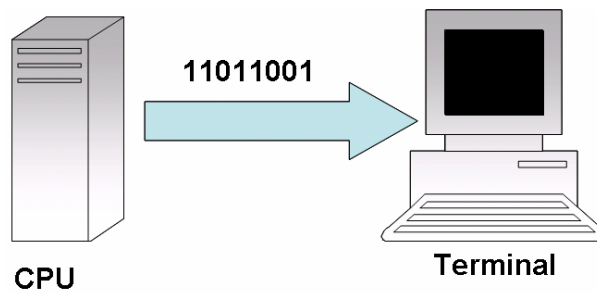
A distância que um dado sinal percorre em um computador varia de alguns milímetros, como no caso de conexões de um simples circuito integrado (CI), até vários centímetros quando a conexão de sinais envolve, por exemplo, uma placa mãe com conectores para diversos circuitos. Para estas distâncias, o dado digital pode ser transmitido diretamente. Exceto em computadores muito rápidos, os projetistas não se preocupam com o formato e espessura dos condutores, ou com as características analógicas dos sinais de transmissão. Frequentemente, no entanto, os dados devem ser enviados para fora dos circuitos que constituem o computador. Nesses casos, as distâncias envolvidas podem ser enormes. Infelizmente, com o aumento das distâncias entre a fonte e o destino, aumenta também a dificuldade de estabelecer uma transmissão de dados precisa. Isso é resultado de distorções elétricas dos sinais que trafegam

através de condutores longos, e de ruídos adicionados ao sinal que se propagam através do meio de transmissão. Embora alguns cuidados devam ser tomados na troca de dados dentro de um computador, o grande problema ocorre quando dados são transferidos para dispositivos fora dos circuitos do computador. Nesse caso a distorção e o ruído podem tornar-se tão severos que a informação é perdida.

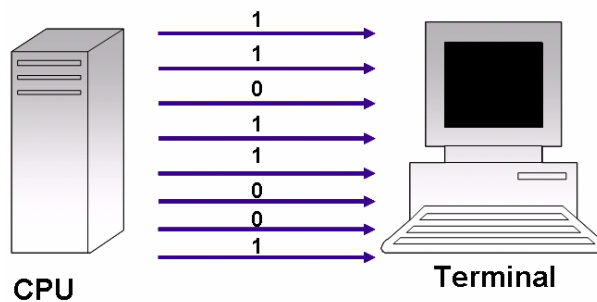
A comunicação de dados estuda os meios de transmissão de mensagens digitais para dispositivos externos ao circuito originador da mensagem. Dispositivos externos são geralmente circuitos com fonte de alimentação independente dos circuitos relativos a um computador ou outra fonte de mensagens digitais. Como regra, a taxa de transmissão máxima permissível de uma mensagem é diretamente proporcional à potência do sinal, e inversamente proporcional ao ruído. A função de qualquer sistema de comunicação é fornecer a maior taxa de transmissão possível, com a menor potência e com o menor ruído possível [38].

### **2.5.1. Comunicação serial e paralela**

A maioria das mensagens digitais é mais longa que alguns poucos bits. Por não ser prático nem econômico transferir todos os bits de uma mensagem simultaneamente, a mensagem é quebrada em partes menores e transmitida seqüencialmente. A transmissão byte-serial converte a mensagem em um byte por vez através de um canal, como mostrado na figura 1. Cada bit representa uma parte da mensagem. Os bits individuais são então rearranjados no destino para compor a mensagem original. A transmissão byte-serial é normalmente chamada de transmissão serial, e é o método de comunicação escolhido por diversos periféricos de computadores. Outro tipo de comunicação utilizada é a transmissão paralela, onde ocorre o envio simultâneo de um conjunto de bits, havendo necessidade de tantas vias quantos forem os bits utilizados (figura 2). Embora a taxa de transferência seja mais rápida que na transmissão bit-serial, são necessários muitos canais, e o custo poderá ser maior.



**Figura 3.** Comunicação serial

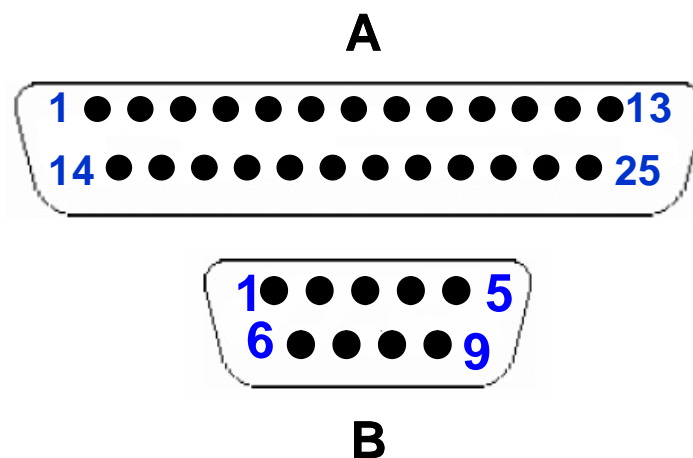


**Figura 4.** Comunicação Paralela

### 2.5.2. Comunicação serial RS232C

RS é uma abreviação de “Recommended Standard”. Ela relata uma padronização de uma interface comum para comunicação de dados entre equipamentos, criada no início dos anos 60, por um comitê conhecido atualmente como “Electronic Industries Association” (EIA). Naquele tempo, a comunicação de dados compreendia a troca de dados digitais entre um computador central (mainframe) e terminais de computador remotos, ou entre dois terminais sem o envolvimento do computador. Estes dispositivos poderiam ser conectados através de linha telefônica, logo necessitavam de modem em cada lado para fazer a decodificação dos sinais. Dessas idéias nasceu o padrão RS232. Ele especifica as tensões, temporizações e funções dos sinais, um protocolo para troca de informações, e as conexões mecânicas [38].

Há mais de 30 anos desde que essa padronização foi desenvolvida, a EIA publicou três modificações. O padrão que se tornou mais usado é chamado de RS-232C. As portas seriais geralmente utilizam conectores de 25 pinos ou conectores de 9 pinos, chamados de conectores do tipo “D” e muitas vezes referenciados como DB9 ou DB25 (figura 5) . Uma porta serial transmite bits individuais um após os outros sobre uma conexão simples (2 fios basicamente). A RS-232C possui alguns problemas de ordem prática, como por exemplo, a distância máxima limitada em 15 metros e a velocidade em 20 Kbps. Um dos motivos principais desta limitação é por causa da transmissão desbalanceada, ou seja, todas as linhas dependem de um terra lógico único, o que provoca interferência e cria estas limitações na interface [39]. Para que a comunicação seja completa (sem erros) é necessário que os equipamentos estejam na mesma velocidade, e com o mesmo tipo de protocolo de comunicação; caso contrário deverá ocorrer algum erro de comunicação ou a comunicação não será completada.



**Figura 5.** A,conectores DB25 e DB9 usados na interface serial RS232C

### 2.5.3. Linguagens de programação

Os computadores da primeira geração eram programados em linguagem de máquina, e acessíveis a pequeno número de pessoas. As máquinas de segunda geração utilizavam a linguagem Assembler, em que as instruções em binário são substituídas por mnemônicos [40].

Verificou-se que era necessário escrever seqüências iguais de instruções para executar operações do tipo leitura de dados em cartão perfurado, impressão de resultados, etc. O conjunto de instruções necessárias para executar essas operações repetitivas recebeu um nome, e tornou-se nova instrução chamada macroinstrução. Desenvolvida técnica das macroinstruções, não foi difícil escrever programas inteiros compostos de macros. Criaram-se dessa forma as linguagens de alto nível [40].

Hoje, no mercado, existem diversas linguagens de programação de alto nível, ou seja, que possuem uma linguagem mais próxima à do ser humano.

**Compiladores:** essas linguagens são digitadas em forma de texto e gravadas em um arquivo de computador (os programas). São responsáveis pela “tradução” destes programas em linguagem de máquina, ou seja, a partir de um arquivo texto contendo um programa elaborado em determinada linguagem, eles geram um outro arquivo de maneira que o computador “entenda” instruções nele contidas e as execute.

**Interpretadores:** são programas que não geram um novo arquivo de forma que o computador possa entender as instruções. Eles lêem, interpretam e executam as instruções contidas no programa, comando por comando, o que os torna mais lentos do que os compiladores, uma vez que nestes últimos não existe a necessidade da interpretação, pois as instruções já estão codificadas. Existem várias linguagens de programação nos dias de hoje, estas são algumas mais conhecidas: Pascal for Windows; Microsoft Qbasic; Microsoft Fortran; Microsoft Cobol; Mumps; CA-Cipper; Macro Assembler (linguagem de máquina); Microsoft Visual C++ e Microsoft Visual Basic [41].

#### 2.5.4. Linguagem Quick-Basic

A linguagem Basic “Beginners All-Purpose Symbolic Instruction Code”, criada por J. Kemeny e T. Kurtz em 1963 no Dartmouth College, foi elaborada com o intuito de tornar claro o ensino dos conceitos da programação. As linguagens FORTRAN e Assembler empregavam rotinas de baixo nível para alguns controles e compilação, a linguagem Basic vinha então facilitar ao programador sua tarefa, não precisando se preocupar com métodos e algoritmos exigidos para construir e depurar programas.

Em 1982, a Microsoft revoluciona a linguagem com seu Quick-Basic. Os números de linha foram eliminados, foram adicionados novos recursos, subprogramas e dados estruturados agora eram definidos pelo usuário, novas capacidades gráficas e de som, e velocidade aumentada. A maior vantagem consistia em que seus programas podiam ser executados nos modos interativo e interpretado, ou serem compilados em executáveis [40].

O Quick-Basic é uma linguagem universal simbólica, de instruções codificadas e de fácil aprendizado para iniciantes de programação. Seu ambiente inclui um editor de textos que oferece uma série de facilidades na digitação das instruções Quick-Basic. O programa é um arquivo-texto que é composto de um grupo de comandos. Cada comando é uma instrução para que o computador execute uma determinada tarefa. Quando se executa um programa, o ambiente QuickBasic interpreta cada comando no arquivo-texto; como resultado, o computador executa sequencialmente uma série de instruções [42].

# **Parte Experimental**

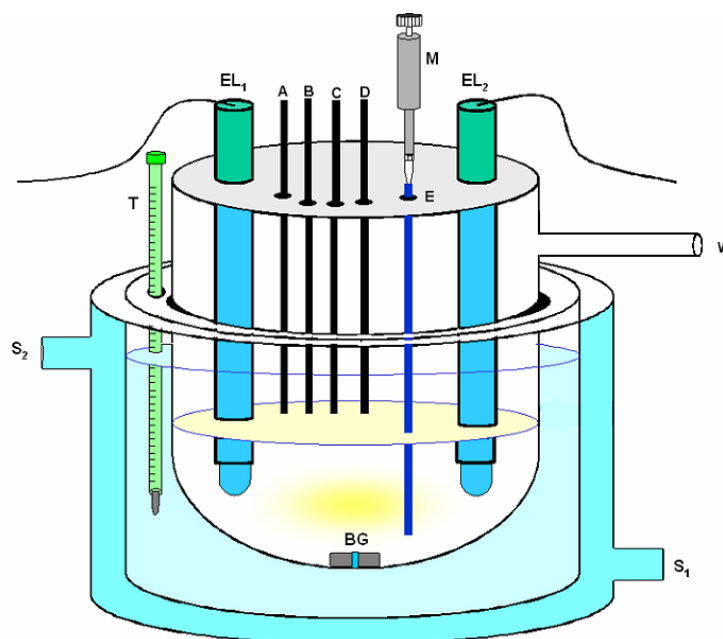
### 3. Parte Experimental

#### 3.1. Montagem do Sistema

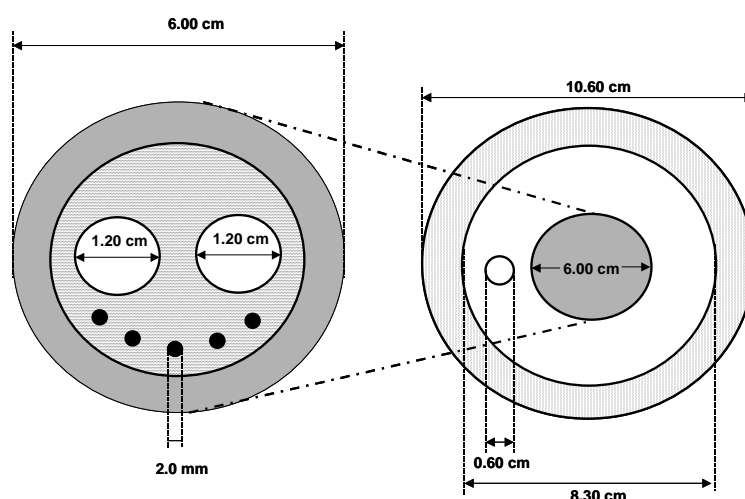
Foi montado um sistema com uma cela contendo eletrodos para a determinação de ácido ascórbico (figura 6). Para a construção da cela, foi utilizado um recipiente com parede dupla, possibilitando a circulação de água com temperatura controlada, para a termostatização da solução. Dentro deste recipiente foi colocada uma cela de reação. Tanto o recipiente quanto a cela possuem tampas de acrílico. A tampa do recipiente de vidro possui furos, uma para a cela e outra para o termômetro. A tampa da cela, por sua vez, possui sete furos: dois para os eletrodos, quatro para os tubos de polietileno que transportam os reagentes e um para a micropipeta manual que viabiliza a injeção de ácido ascórbico. Foram utilizados dois eletrodos para detecção, um de referência de prata-cloreto de prata com dupla junção, da marca Orion modelo 90020, tendo o compartimento externo preenchido com uma solução de  $\text{KNO}_3$  10% m/v, para evitar o contato dos íons  $\text{Cl}^-$  com a solução sob análise e outro de platina da marca Beckman. Os eletrodos foram acoplados a um potenciômetro Tecnopar, modelo mPA210. Detalhes da construção das tampas do recipiente e da cela, são mostrados na figura 7. Detalhes da cela real podem ser visualizados na figura 8.

Um banho termostatizado marca Typ: Frigomix B foi utilizado para controle da temperatura reacional. O transporte dos reagentes pelos capilares de polietileno foi realizado com o auxílio de uma bomba peristáltica Minipuls 3, modelo três MP com 8 canais e tubos de bombeamento de tygon<sup>®</sup>. Um agitador magnético da marca Corning, modelo PC-320 foi empregado para a homogeneização do meio reacional. A aquisição de dados foi realizada através do programa computacional comercial ASPM (Advanced Serial Port Monitor), desenvolvido pela AGG Software, e a visualização dos dados em tempo real foi feita com um programa desenvolvido em Quick-Basic.

O sistema real utilizado na determinação de ácido ascórbico é mostrado na figura 9.



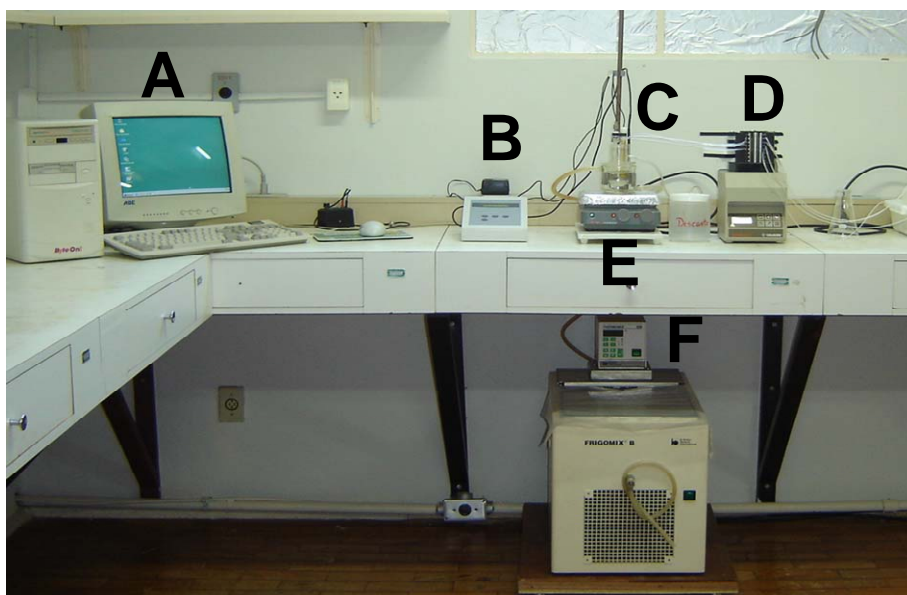
**Figura 6.** Esquema da cela com os eletrodos para a determinação de ácido ascórbico. EL<sub>1</sub>, eletrodo de platina; EL<sub>2</sub>, eletrodo de referência de Ag/AgCl com dupla junção; A, B, C e D, tubos capilares para introdução das soluções de KBrO<sub>3</sub>, Ce (SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 4 H<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>(COOH)<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, respectivamente; M, micropipeta; E, orifício para injeção da amostra; T, termômetro eletrônico; S<sub>1</sub> e S<sub>2</sub>, entrada e saída de água, respectivamente; W, descarte; BG, barra magnética.



**Figura 7.** Detalhes da construção das tampas do recipiente e da cela.



**Figura 8.** Cella utilizada na determinação de ácido ascórbico.



**Figura 9.** Sistema empregado para o monitoramento do sinal da reação oscilante. A, computador utilizado na aquisição de dados; B, potenciômetro; C, cela reacional; D, bomba peristáltica; E, banho termostático.

### 3.2. Aquisição de Dados

O sistema utilizado para aquisição de dados constitui de um microcomputador interfaceado ao medidor de pH, via interface serial padrão RS232C (figura 10).



**Figura 10.** Sistema utilizado no processo de aquisição de dados

Como já adiantado, o programa comercial ASPM (“Advanced Serial Port Monitor”), desenvolvido pela AGG Software, faz a aquisição dos dados, arquivando-os no formato ASCII.. Algumas janelas do programa são mostradas nas figuras 11 a 13. Na figura 14, é apresentada a sua tela principal. Um programa auxiliar desenvolvido em Quick-Basic lê o arquivo de dados seqüencialmente e apresenta o gráfico da oscilação na tela do microcomputador em tempo real (figura 15)

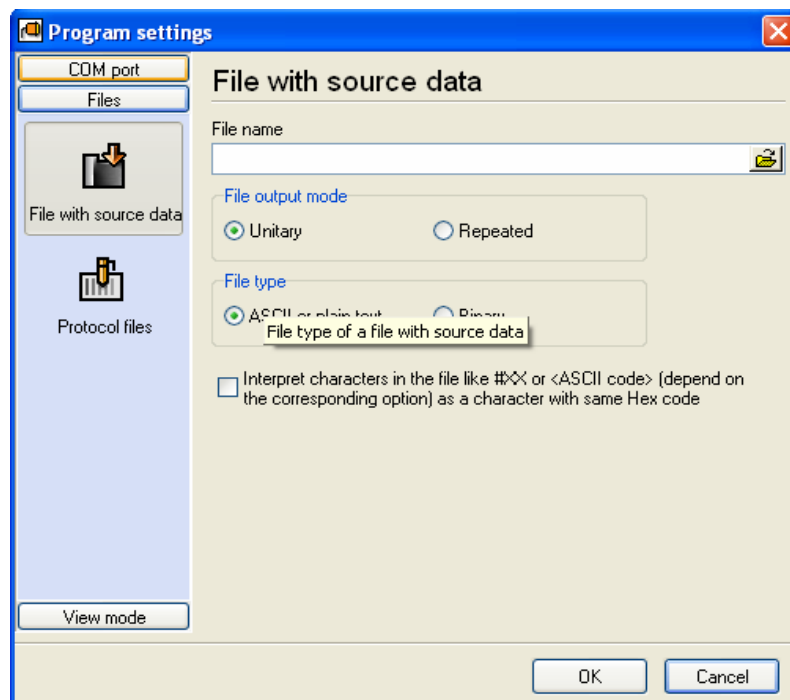


Figura 11. Tela de arquivos de fontes de dados

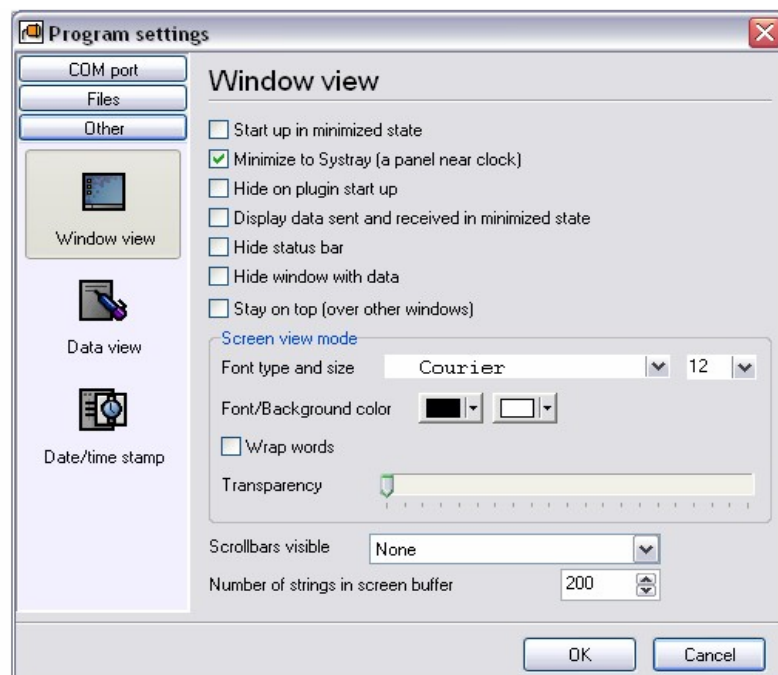


Figura 12. Tela de opções de configuração do programa

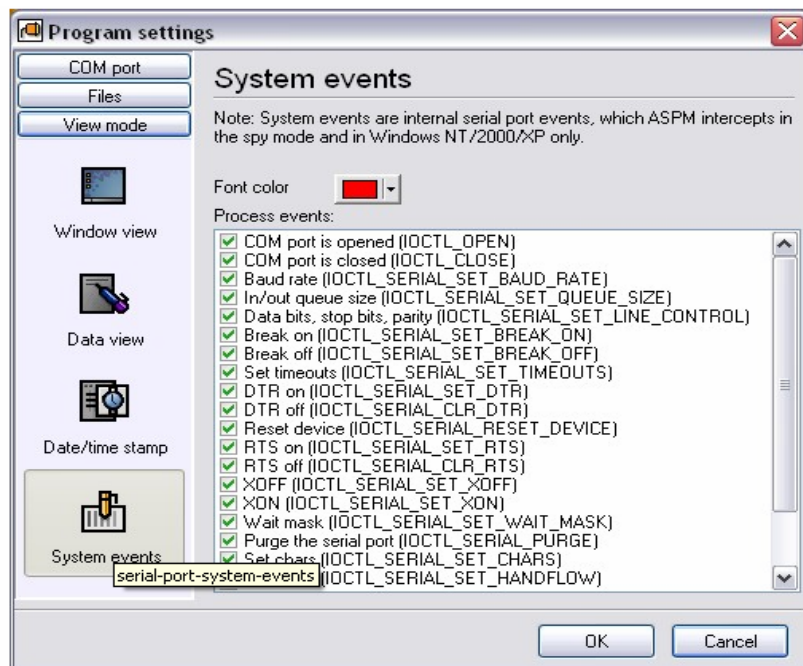


Figura 13. Tela de eventos do programa

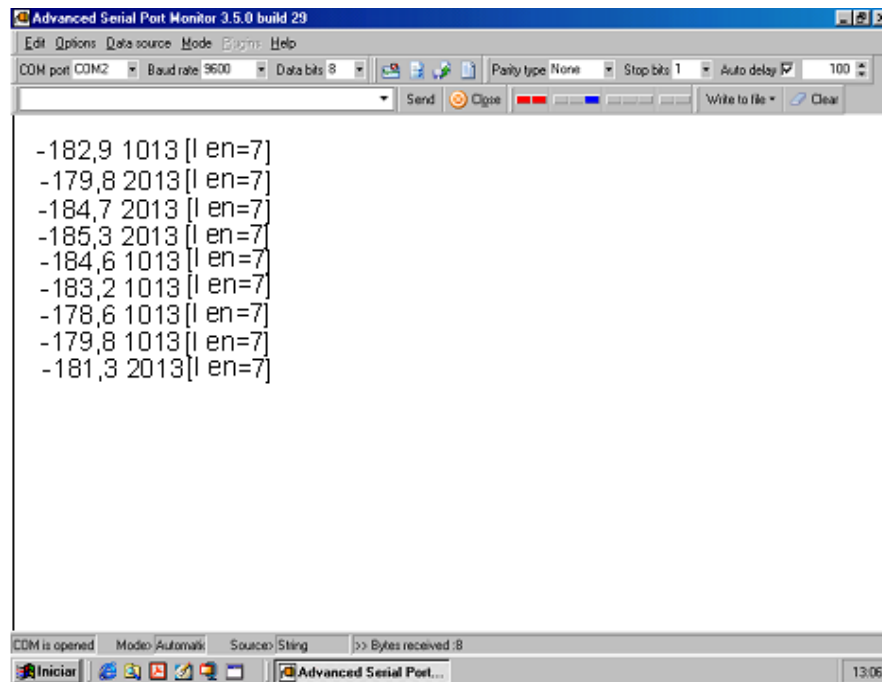
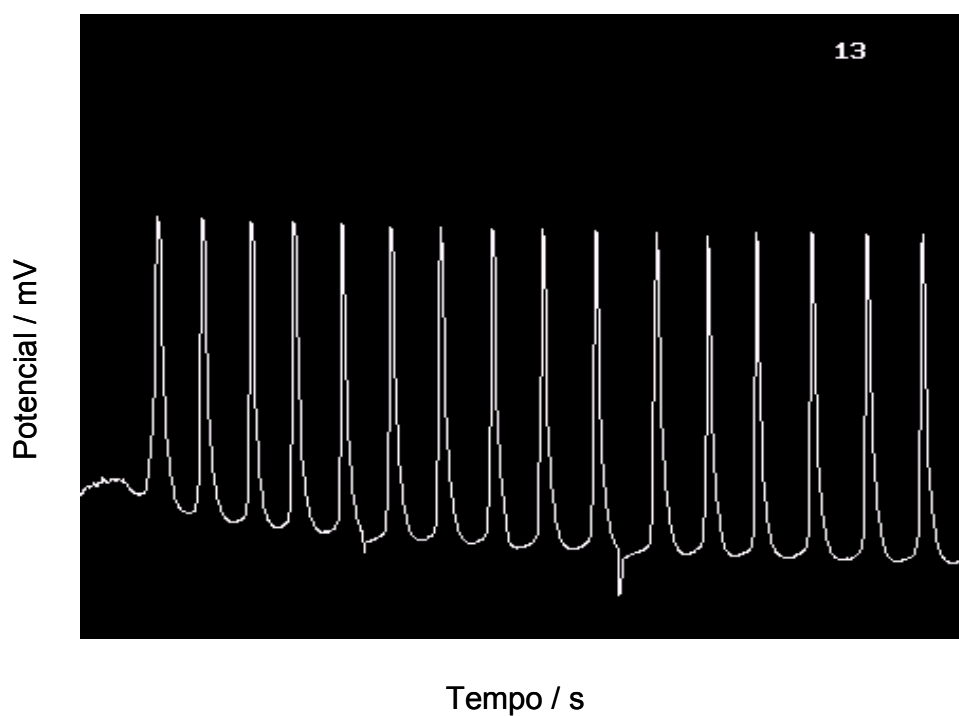


Figura 14. Tela principal do programa comercial ASPM durante aquisição de dados

O ASPM opera no modo manual, viabilizando o monitoramento de todos os dados recebidos do potenciômetro conectado a uma porta serial livre do computador. Este programa pode ser usado também no modo duplex, o que permite o uso a qualquer tempo, sem a necessidade de fechar ou reiniciar o programa, comunicando-se com o equipamento via porta serial. O programa suporta todos as possíveis velocidades de transferência de dados (*baud rates*), número de bits de dados, número de bits de parada, paridade, e tipos de controles de fluxo. Além da configuração flexível, o programa suporta “plugins” usados para monitorar vários equipamentos e expandir a sua funcionalidade. O ASPM permite ainda a transmissão de dados em ambas as direções (do computador e para o computador) no modo duplex (recebe e transmite ao mesmo tempo). Os dados de potencial versus tempo são armazenados em formato ASCII e tratados no programa Origin da Microcal [43].



**Figura 15.** Gráfico da oscilação em tempo real.

### 3.3. Preparo de Soluções

Todos os reagentes utilizados na realização deste trabalho foram de grau analítico, não tendo sido submetidos a qualquer tratamento adicional. As soluções foram preparadas com água deionizada. Toda a vidraria foi devidamente limpa com detergente, água, água destilada e água deionizada, exceto as vidrarias utilizadas no preparo das soluções para o estudo de interferentes, que foram deixadas em ácido nítrico a 5% (m/v) durante 24 horas e posteriormente lavadas com água deionizada.

#### 3.3.1. Solução de sulfato de cério(IV) 0,1000 mol L<sup>-1</sup>

Foram pesados 4,0400g de Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·4 H<sub>2</sub>O (Vetec) e adicionaram-se 20,0 mL de ácido sulfúrico(Merck) 9,0 mol L<sup>-1</sup>, sob agitação constante. Acrescentou-se, então, água deionizada e aqueceu-se lentamente o meio até total dissolução do sal. Em seguida, a solução foi cuidadosamente transferida para um balão volumétrico de 100,0 mL. A solução de sulfato de cério foi padronizada utilizando-se sulfato de ferro amoniacal [44]

#### 3.3.2. Solução de sulfato ferroso amoniacal 0,06000 mol L<sup>-1</sup>

Foram pesados 5,8940 g de Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (Reagen) e dissolveu-se em 30,0 mL de ácido sulfúrico 9,0 mol L<sup>-1</sup>, sob agitação constante. Transferiu-se para um balão de 250,0 mL e completou-se o volume com água deionizada.

#### 3.3.3. Solução de dicromato de potássio 0,03000 mol L<sup>-1</sup>

Pesaram-se 0,8823 g de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (Merck) e dissolveu-se em água deionizada. Então, transferiu-se a solução para um balão de 100,0 mL. Completou-se o volume com água deionizada. Esta solução foi utilizada para padronização do sulfato ferroso.

#### **3.3.4. Solução de bromato de potássio 0,4000 mol L<sup>-1</sup>**

Foram pesados 33,4000 g de KBrO<sub>3</sub> (Vetec) dissolvendo-se em água deionizada, em seguida transferiu-se para um balão volumétrico de 500,0 mL, completando-se o volume. As demais soluções foram preparadas a partir desta solução estoque.

#### **3.3.5. Solução de ácido malônico 0,8000 mol L<sup>-1</sup>**

Foram pesados 41,6128 g de CH<sub>2</sub>(COOH)<sub>2</sub> (Vetec) e dissolveu-se em água deionizada. Transferiu-se a solução para um balão volumétrico de 500,0 mL e completou-se o volume. As demais soluções foram preparadas a partir desta solução estoque.

#### **3.3.6. Solução de ácido sulfúrico 1,5000 mol L<sup>-1</sup>**

Foram medidos 40,0 mL de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck) para análise e adicionou-se cuidadosamente em água deionizada. Após resfriamento da solução, transferiu-se para um balão volumétrico de 500,0 mL e completou-se o volume com água deionizada. Soluções de menor concentração foram preparadas através de diluição desta solução estoque.

#### **3.3.7. Soluções de ácido ascórbico**

As quantidades de C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> (Merck) 0,3500, 0,0700, 0,0880, 0,1400 e 0,1760 g, correspondentes às concentrações finais de  $2,0 \times 10^{-3}$ ,  $4,0 \times 10^{-3}$ ,  $6,0 \times 10^{-3}$ ,  $8,0 \times 10^{-3}$  e  $10,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente, foram dissolvidas em água deionizada. As soluções foram transferidas para balões volumétricos de 100,0 mL, completando-se o volume com água deionizada.

### 3.3.8. Soluções para estudo de interferentes

Quantidades adequadas das substâncias  $\text{NaNO}_3$  (3,1820 g);  $\text{NaNO}_2$  (2,5870g);  $\text{CuSO}_4$  (9,3631g);  $\text{MnSO}_4$  (6,3375g);  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  (14,0675g);  $\text{NaCl}$  (2,1937g);  $\text{NH}_4\text{SCN}$  (2,8510g); foram pesadas e então dissolvidas em água deionizada. As soluções foram transferidas para balões volumétricos de 25,0 mL e o volume foi completado com água deionizada. A concentração final de todas as soluções foi  $1,5000 \text{ mol L}^{-1}$ . Estas soluções foram utilizadas para o preparo de soluções mais diluídas de interferentes.

### 3.4. Procedimento Geral

O sistema mostrado na figura 9 foi empregado para o monitoramento do sinal da reação oscilante. No início do processo, os eletrodos do potenciômetro foram fixos na tampa da cela. Os reagentes foram adicionados continuamente, empregando-se uma bomba peristáltica e tubos capilares de polietileno. A vazão de todas as soluções dos reagentes foi fixada em  $0,50 \text{ mL min}^{-1}$ . Após o contato dos eletrodos com a parte superior da solução, o programa computacional foi acionado para a aquisição dos dados. Após cerca de cinquenta minutos, o processo foi interrompido. Durante este período de aquisição dos dados, o programa auxiliar construiu o gráfico de tempo versus potencial da reação, como mostrado na figura 12. O excesso da solução na cela reacional foi retirado por um tubo de descarte.

Na determinação de ácido ascórbico, uma micropipeta de  $100 \mu\text{L}$  foi utilizada para a introdução da amostra na cela da figura 6, através do orifício E. Um tubo capilar flexível de polietileno foi adaptado à ponteira da micropipeta, de forma a introduzir a amostra no interior da solução.

### 3.5. Planejamento Fatorial

O sistema oscilante utilizado neste trabalho é altamente dependente de variáveis como temperatura e composição dos reagentes no meio. O efeito destas variáveis foi estudado a fim de estabelecer as condições ótimas de trabalho. A influência da temperatura no sistema foi estudada de forma univariada. A otimização das concentrações dos reagentes foi realizada utilizando-se um planejamento fatorial completo  $2^4$ . As concentrações dos reagentes bromato de potássio, sulfato de cério(IV), ácido malônico e ácido sulfúrico foram as variáveis estudadas no planejamento. Os valores mínimo e máximo destas variáveis são mostrados na tabela 1. A tabela 2 mostra o planejamento simples  $2^4$  realizado.

**Tabela 1.** Valores mínimos e máximos das variáveis estudadas no planejamento  $2^4$ .

Fator	Concentração (mol L <sup>-1</sup> )	
	Valor mínimo	Valor máximo
KBrO <sub>3</sub>	0,1000	0,4000
Ce(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·4 H <sub>2</sub> O	0,004000	0,01000
CH <sub>2</sub> (COOH) <sub>2</sub>	0,3000	0,6000
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,5000	1,000

**Tabela 2.** Planejamento fatorial  $2^4$  realizado para a otimização das concentrações dos reagentes no sistema oscilante

Ensaio	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	KBrO <sub>3</sub>	Ce(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·4 H <sub>2</sub> O	CH <sub>2</sub> (COOH) <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
	Codificadas				mol L <sup>-1</sup>			
1	+	+	+	+	0,4000	0,01000	0,6000	1,000
2	+	+	+	-	0,4000	0,01000	0,6000	0,5000
3	+	+	-	+	0,4000	0,01000	0,3000	1,000
4	+	+	-	-	0,4000	0,01000	0,3000	0,5000
5	+	-	+	+	0,4000	0,004000	0,6000	1,000
6	+	-	+	-	0,4000	0,004000	0,6000	0,5000
7	+	-	-	+	0,4000	0,004000	0,3000	1,000
8	+	-	-	-	0,4000	0,004000	0,3000	0,5000
9	-	+	+	+	0,2000	0,01000	0,6000	1,000
10	-	+	+	-	0,2000	0,01000	0,6000	0,5000
11	-	+	-	+	0,2000	0,01000	0,3000	1,000
12	-	+	-	-	0,2000	0,01000	0,3000	0,5000
13	-	-	+	+	0,2000	0,004000	0,6000	1,000
14	-	-	+	-	0,2000	0,004000	0,6000	0,5000
15	-	-	-	+	0,2000	0,004000	0,3000	1,000
16	-	-	-	-	0,2000	0,004000	0,3000	0,5000

### 3.6. Preparo de Amostras

Foram analisadas duas amostras comerciais de medicamentos. As amostras consistiam de comprimidos e de material sólido pulverizado, ambos solúveis em água. Para a determinação, as amostras foram pesadas (comprimido: 4,0000 g; material pulverizado: 1,0000g) e dissolvidas em água deionizada. Cada solução foi transferida para um balão volumétrico de 100,0 mL e o volume foi completado com água deionizada. Para a amostra do comprimido, foi necessária uma nova diluição, devido à alta concentração de ácido ascórbico. Então, foram medidos 25,0 mL desta solução e diluídos a 100,0 mL.

# **Resultados e discussão**

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

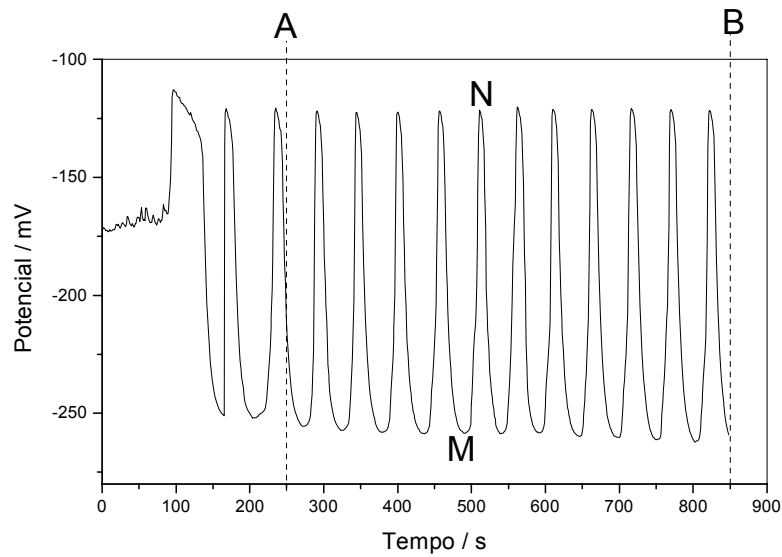
No sistema em linha que utiliza a reação oscilante Belousov-Zhabotinskii, devem ser otimizadas algumas variáveis, como as concentrações das substâncias envolvidas e a temperatura do meio reacional, de forma a obter-se um sinal analítico máximo. Então, deverá ser analisada a perturbação causada por quantidades crescentes de ácido ascórbico no padrão de oscilação deste sistema. A seguir, deverão ser estudados o efeito de substâncias estranhas ao sistema, e a aplicabilidade do mesmo à determinação de vitamina C em amostras reais.

### 4.1. Cálculo da Amplitude e da Frequência no Gráfico das Oscilações

Uma oscilação típica é mostrada na figura 16. Os pontos indicados nesta figura foram utilizados para auxiliar no cálculo da amplitude. Os pontos A e B correspondem aos valores de tempo 250 e 850 s, respectivamente, que representa a janela analítica, convencionou-se que o cálculo da amplitude e da frequência seria realizado entre esses dois valores, para todos os gráficos. A Este espaço de tempo convencionou-se chamar de janela analítica. Os pontos M e N, também mostrados na figura, são os pontos inicial e final, respectivamente, para a tomada de valores em cada ciclo. Para a obtenção dos pontos M e N, foi utilizado o recurso *Peak Picks* no Origin 6.1. A amplitude para cada ciclo, então, foi calculada da seguinte forma:

$$\Delta A = M - N \quad (\text{Equação 9})$$

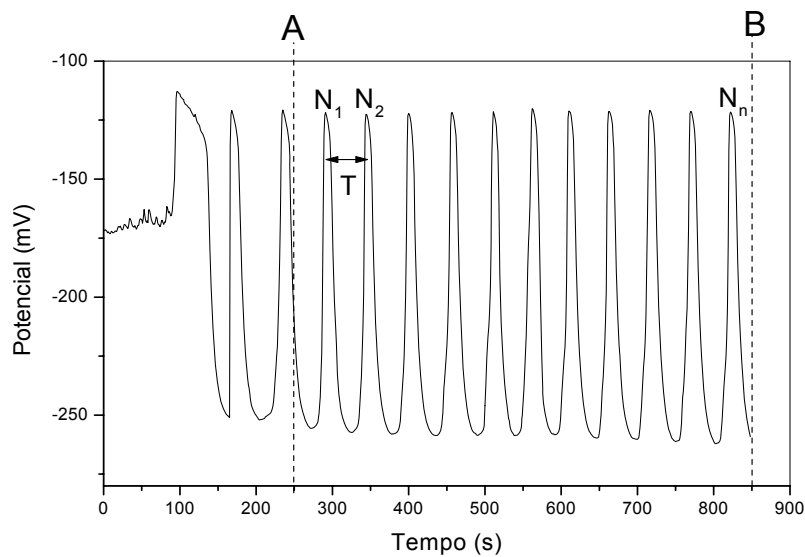
Onde  $\Delta A$  é a amplitude em cada ciclo. Para a obtenção da amplitude média das oscilações, foram utilizadas todas os ciclos oscilatórios dentro da janela analítica.



**Figura 16.** Gráfico de oscilação do potencial no tempo do sistema BZ

Os pontos  $N_1, N_2, \dots, N_n$  mostrados na figura 17 são os máximos de cada ciclo de oscilação. O intervalo  $T$  é o período de oscilação entre dois máximos. O período para cada ciclo foi calculado utilizando-se a Equação 10. A frequência calculada é o inverso do período. A frequência média das oscilações foi obtida com todos os ciclos oscilatórios dentro da janela analítica.

$$T = N_n - N_{n-1} \quad (\text{Equação 10})$$



**Figura 17.** Oscilação do sistema BZ, com pontos para cálculo da frequência

## 4.2. Planejamento Fatorial

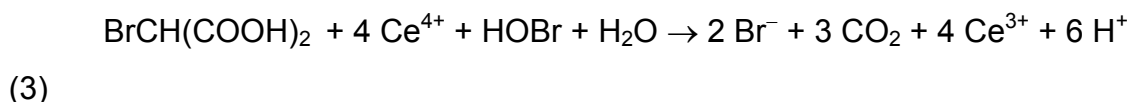
Considerando-se os fatores escolhidos, concentração do bromato de potássio, concentração do sulfato de cério(IV), concentração do ácido malônico e concentração do ácido sulfúrico, um planejamento fatorial em dois níveis ( $2^4$ ) com 16 experimentos (Tabela 3) foi realizado para analisar a influência de cada fator. Para cada experimento, foi construído um gráfico de potencial (mV) vs. tempo (s).

**Tabela 3:** Planejamento fatorial  $2^4$  realizado para a otimização das concentrações dos reagentes no sistema oscilante.

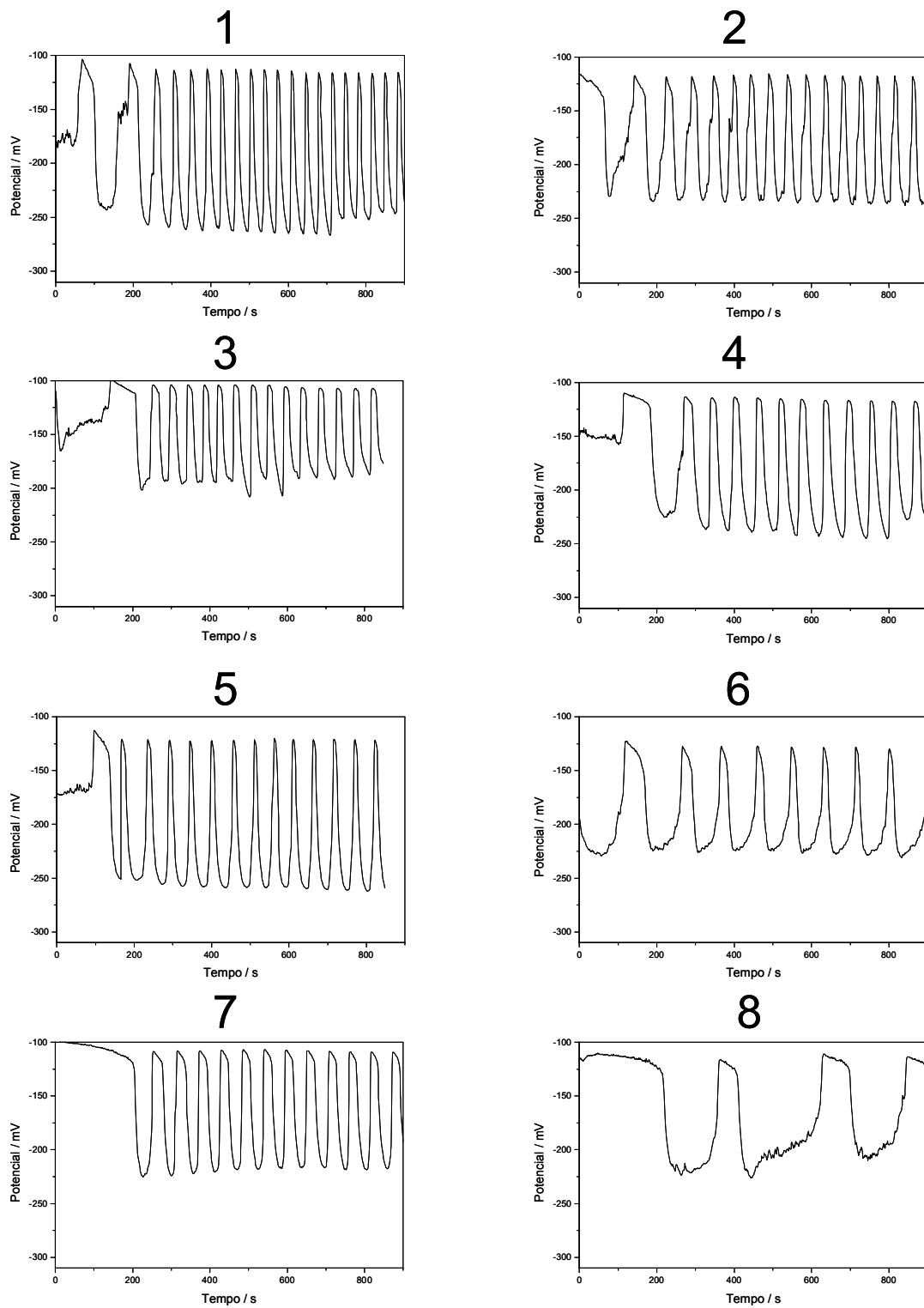
Experimento	$\text{KBrO}_3$ (mol/L <sup>-1</sup> )	$\text{Ce (SO}_4)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (mol/L-1)	$\text{CH}_2(\text{COOH})_2$ (mol/L <sup>-1</sup> )	$\text{H}_2\text{SO}_4$ (mol/L <sup>-1</sup> )
1	0,4000	0,01000	0,6000	1,000
2	0,4000	0,01000	0,6000	0,5000
3	0,4000	0,01000	0,3000	1,000
4	0,4000	0,01000	0,3000	0,5000
5	0,4000	0,004000	0,6000	1,000
6	0,4000	0,004000	0,6000	0,5000
7	0,4000	0,004000	0,3000	1,000
8	0,4000	0,004000	0,3000	0,5000
9	0,2000	0,01000	0,6000	1,000
10	0,2000	0,01000	0,6000	0,5000
11	0,2000	0,01000	0,3000	1,000
12	0,2000	0,01000	0,3000	0,5000
13	0,2000	0,004000	0,6000	1,000
14	0,2000	0,004000	0,6000	0,5000
15	0,2000	0,004000	0,3000	1,000
16	0,2000	0,004000	0,3000	0,5000

De acordo com alguns autores, a concentração de ácido sulfúrico é altamente significativa [45]. Se utilizado o par Ce(III)/Ce(IV) no meio reacional como catalisador do sistema Belousov-Zhabotinsky só ocorrem oscilações em ácido sulfúrico próximo a  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ , provavelmente, porque o íon hidrônio participa de muitas etapas importantes do processo. No entanto, nos gráficos dos experimentos 2, 4 e 6 mostrados na figura 18, onde a concentração do ácido sulfúrico é mínima, as oscilações são constantes. Isso se deve ao fato do sistema ser alimentado continuamente, ou seja, a quantidade de ácido sulfúrico é constante no meio reacional, o que não ocorre em sistemas em batelada.

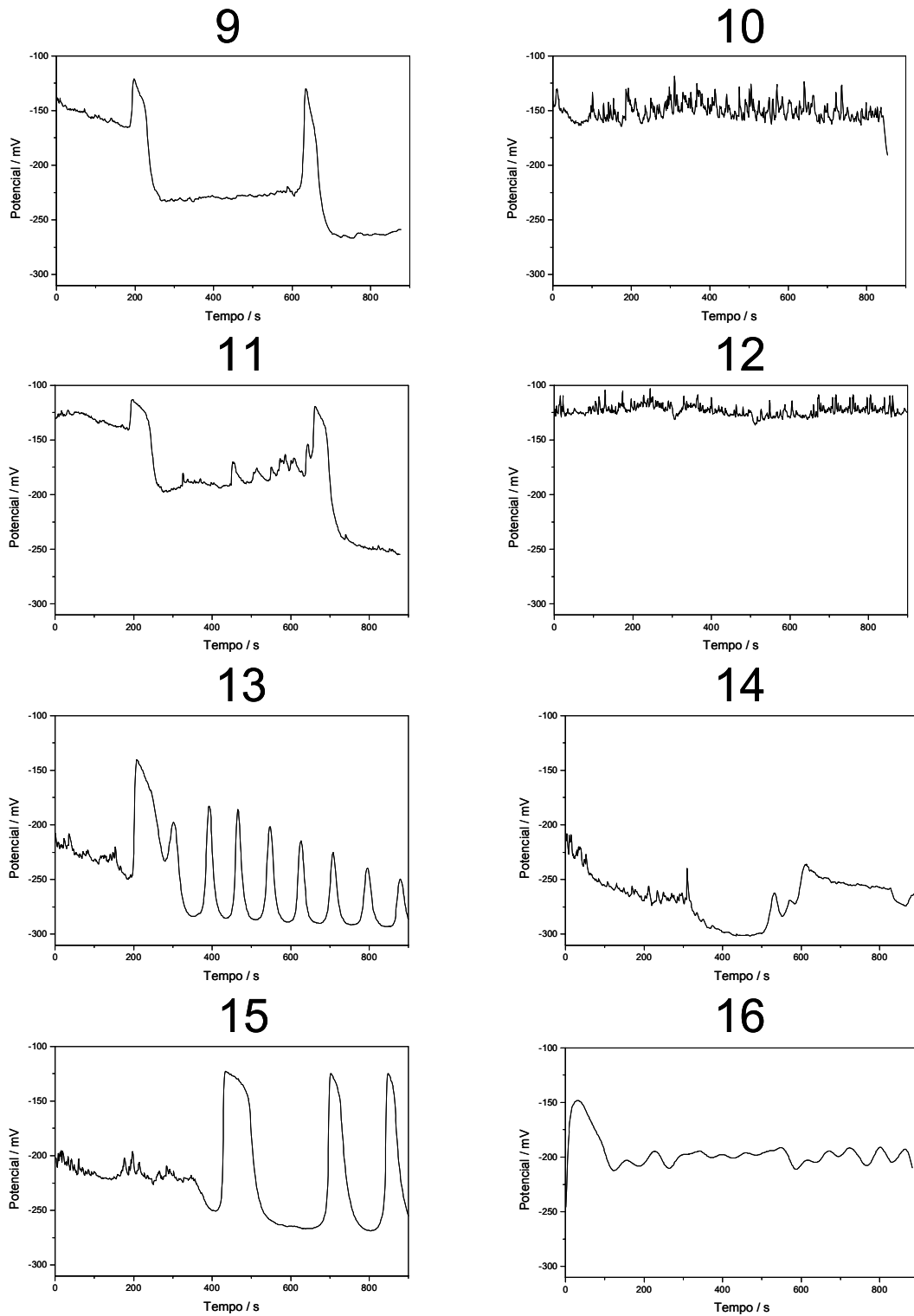
Através dos gráficos dos experimentos mostrados na figura 19, pode ser observada a influência significativa da concentração do bromato de potássio. Quando a sua concentração é mínima o número de oscilações é reduzido ou estas não acontecem. Esse comportamento pode ser explicado pelo fato do bromato ser responsável pela oxidação do cério(III) a cério(IV) e também por sua participação na formação do ácido bromomalônico, que reduz o cério(IV) a cério(III) em uma das etapas do processo:



Para os experimentos nos quais ocorreram oscilações regulares, foram calculadas a amplitude e a frequência, de acordo com o item 4.1. Os resultados destes cálculos são mostrados na Tabela 4. Nos experimentos 1 e 3, obtiveram-se altos valores do desvio-padrão da amplitude, devido à instabilidade facilmente perceptível em alguns pontos da janela analítica. Optou-se pelas condições do experimento 5, por que este apresentou um alto valor de amplitude. Além disso, neste experimento, o desvio-padrão obtido para a amplitude e a frequência foi baixo e concordante para ambas as propriedades.



**Figura 18.** Oscilação do sistema BZ correspondentes ao planejamento experimental. Os números dos gráficos correspondem aos números dos experimentos.



**Figura 19.** Gráficos de oscilação do sistema BZ correspondentes ao planejamento experimental. Os números dos gráficos correspondem aos números dos experimentos.

**Tabela 4.** Amplitude, frequência média e desvio padrão na janela analítica, para as misturas que oscilaram regularmente.

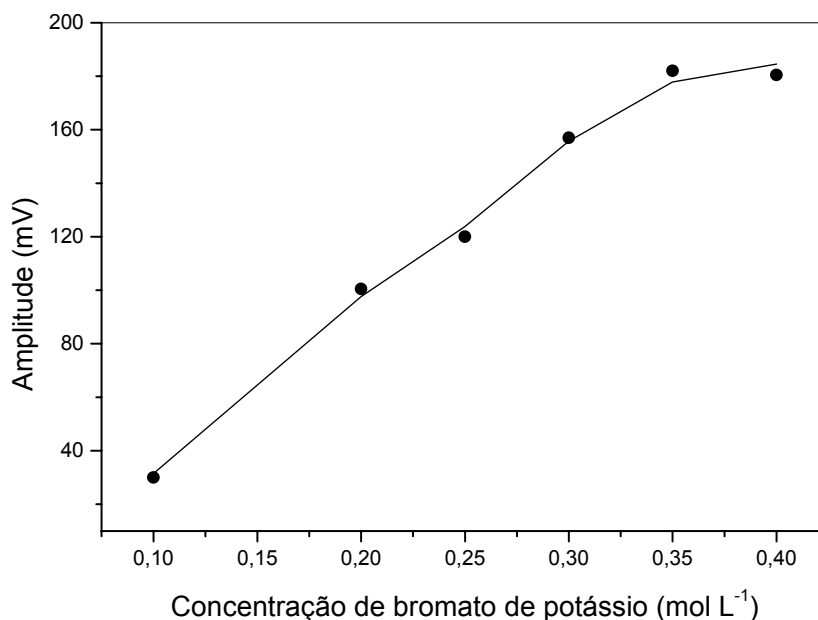
Experimento	Amplitude Média ( $\Delta A$ , mV)	Desvio Padrão da Amplitude	Frequência média ( $s^{-1}$ )	Desvio Padrão da Frequência
1	145,412	7,264	37,000	4,163
2	118,018	1,223	47,636	3,471
3	89,407	7,048	43,916	3,449
4	125,677	2,224	59,555	4,156
5	136,891	2,507	53,100	2,514
6	98,0830	1,371	89,166	6,790
7	110,920	2,678	56,400	2,270

#### 4.3. Estudo Univariado das Concentrações dos Reagentes

Após o estabelecimento das condições experimentais através do planejamento fatorial  $2^4$ , foi realizado o estudo univariado da influência das concentrações dos reagentes no sistema BZ. Esse estudo foi executado com o objetivo de estabelecer condições experimentais otimizadas numa faixa de valores mais estreita. Em cada experimento, variou-se a concentração de um reagente, fixando-se as demais. A influência da concentração de cada reagente no sistema BZ foi avaliada utilizando-se amplitudes de oscilação, calculadas de acordo com o item 4.1.

### 4.3.1. Influência da concentração de bromato de potássio

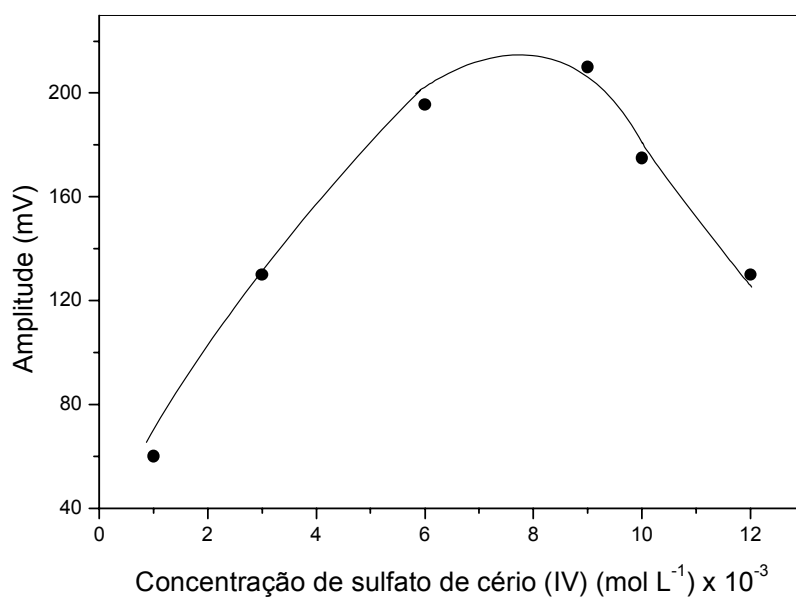
Neste estudo, foi variada a concentração de bromato de potássio, empregando-se os valores: 0,1000; 0,2000; 0,2500; 0,3000; 0,3500 e 0,4000 mol L<sup>-1</sup>. As concentrações de ácido sulfúrico, ácido malônico e sulfato de cério(IV) foram fixadas em 1,0000; 0,6000 e 4,0000 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. A figura 20 mostra a variação da amplitude de oscilação com a concentração de bromato de potássio. De acordo com o gráfico, a amplitude é máxima quando utilizados valores de concentração maiores ou iguais a 0,3500 mol L<sup>-1</sup>. Não foram estudadas concentrações de bromato de potássio maiores que 0,4000 mol L<sup>-1</sup> devido à limitação imposta pela solubilidade do sal bromato de potássio. Desta forma, foi utilizada uma concentração de 0,4000 mol L<sup>-1</sup> nos experimentos posteriores, pois o valor de 0,3500 mol L<sup>-1</sup> ficaria em uma região onde qualquer decréscimo na concentração resultaria em diminuição da amplitude.



**Figura 20.** Influência da concentração de bromato de potássio na amplitude de oscilação do sistema BZ.

### 4.3.2. Influência da concentração de sulfato de cério(IV)

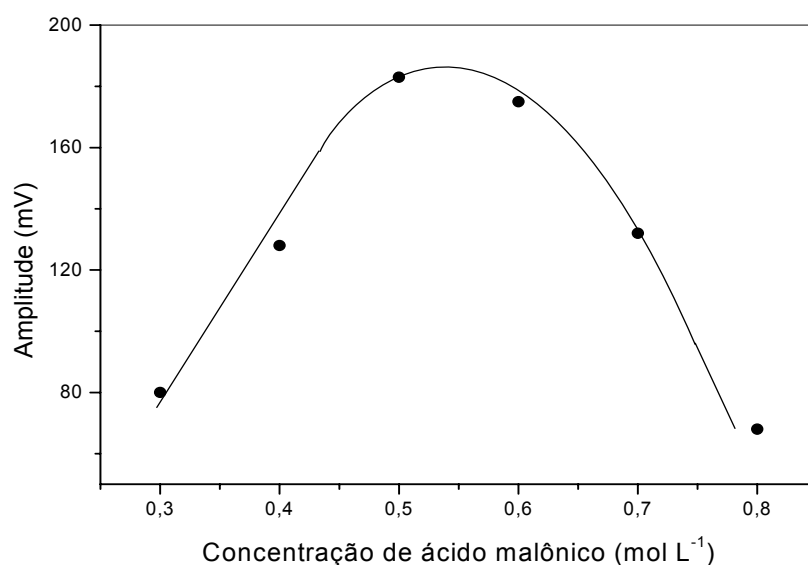
Fixado o valor da concentração de bromato de potássio em  $0,40 \text{ mol L}^{-1}$ , foi estudada a influência da concentração de sulfato de cério(IV) no sistema BZ. As concentrações das soluções de ácido sulfúrico ( $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ ) e malônico ( $0,60 \text{ mol L}^{-1}$ ) foram novamente fixadas. A concentração de sulfato de cério(IV) foi então variada:  $2,0 \times 10^{-3}$ ;  $4,0 \times 10^{-3}$ ;  $6,0 \times 10^{-3}$ ;  $8,0 \times 10^{-3}$ ;  $1,0 \times 10^{-2}$  e  $1,2 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . A influência da concentração de sulfato de cério(IV) no sistema BZ é mostrada na figura 21. Pode ser observado que, melhores resultados são obtidos quando utilizados valores de concentração na faixa de  $6,0$  a  $9,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Em todos os experimentos posteriores foi utilizada, então, solução de sulfato de cério(IV) de concentração  $8,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ .



**Figura 21.** Variação da amplitude de oscilação com a concentração de sulfato de cério(IV) no sistema BZ.

### 4.3.3. Influência da concentração de ácido malônico

Nesta etapa dois reagentes utilizados no sistema BZ já tiveram o seu valor de concentração definido: bromato de potássio ( $0,4000 \text{ mol L}^{-1}$ ) e sulfato de cério(IV) ( $8,000 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ). Efetuou-se, então, o estudo da influência da concentração de ácido malônico no sistema. Foram preparadas soluções do ácido nos seguintes valores de concentração:  $0,3000$ ;  $0,4000$ ;  $0,5000$ ;  $0,6000$ ;  $0,7000$  e  $0,8000 \text{ mol L}^{-1}$ . Os resultados são apresentados na figura 22. Observa-se que a amplitude de oscilação é máxima quando utilizados valores de concentração de ácido malônico na faixa de  $0,5000$  a  $0,6000 \text{ mol L}^{-1}$ . Desta forma, nos estudos subseqüentes, foi empregada solução de ácido malônico de concentração  $0,5500 \text{ mol L}^{-1}$ , para evitar a inconveniência de trabalhar nos

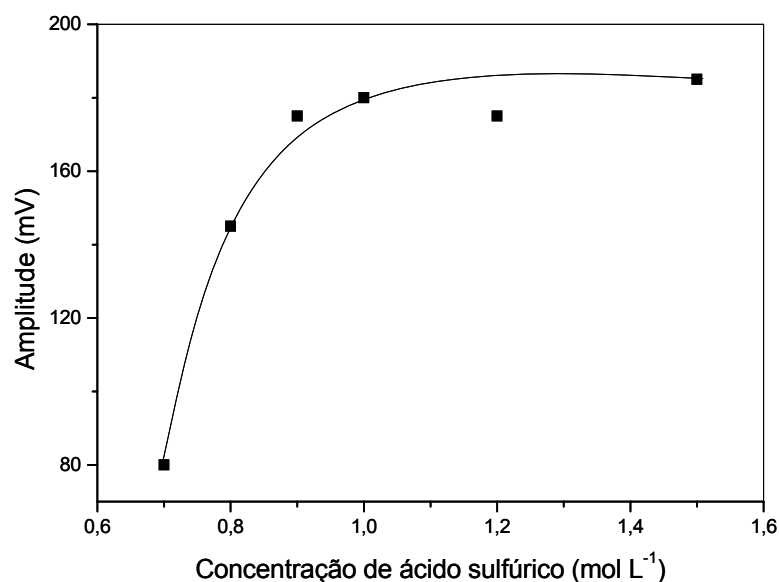


limites da faixa.

**Figura 22.** Estudo da influência da concentração de ácido malônico no sistema BZ.

#### 4.3.4. Influência da concentração de ácido sulfúrico

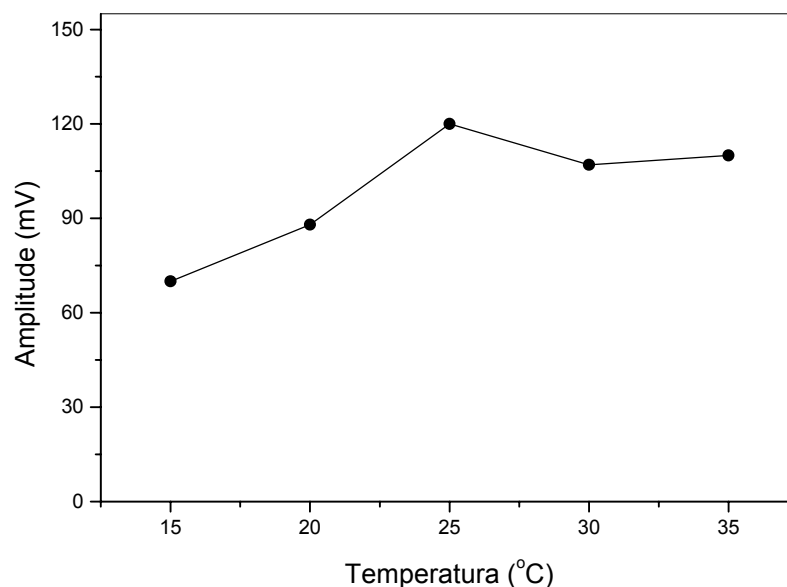
Para finalizar o estudo univariado da influência das concentrações dos reagentes utilizados no sistema BZ, foi variada a concentração do ácido sulfúrico, fixando as os valores de concentração dos reagentes já estudados: bromato de potássio ( $0,4000 \text{ mol L}^{-1}$ ), sulfato de cério(IV) ( $8,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) e ácido malônico ( $0,5500 \text{ mol L}^{-1}$ ). Soluções de ácido sulfúrico  $0,7000$ ;  $0,8000$ ;  $0,9000$ ;  $1,0000$ ;  $1,2000$  e  $1,5000 \text{ mol L}^{-1}$  foram preparadas. Os resultados demonstraram que, para concentrações maiores ou iguais a  $0,90 \text{ mol L}^{-1}$ , a amplitude de oscilação é máxima, como pode ser observado na figura 23. No entanto, quando empregadas soluções do ácido na concentração de  $1,2000 \text{ mol L}^{-1}$ , ou mais concentradas, formaram bolhas de gás nas paredes da cela e na superfície dos eletrodos. Esse fenômeno causou uma alteração na base dos picos, aumentando, assim, a amplitude de oscilação. Desta forma, foi utilizada solução de ácido sulfúrico  $1,00 \text{ mol L}^{-1}$  em todos os experimentos posteriores.



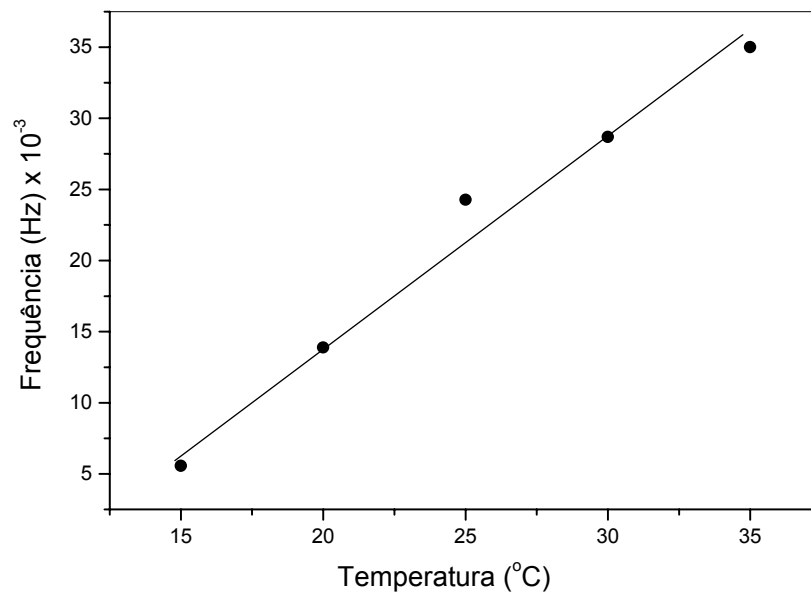
**Figura 23.** Variação da amplitude de oscilação do sistema BZ com a concentração de ácido sulfúrico

#### 4.4. Influência da Temperatura no Sistema BZ

Estabelecidas às concentrações de todos os reagentes no sistema BZ, procedeu-se ao estudo da influência da temperatura. Para este estudo, variou-se a temperatura do meio reacional, através de banho termostatizado. A temperatura foi variada nos valores 15; 20; 25; 30 e 35 °C, sendo monitorada com um termômetro eletrônico, ligado ao potenciômetro, inserido na cela externa. Os resultados destes experimentos são mostrados na figura 24. Observa-se que, utilizando-se uma temperatura de 25 °C, obtém-se um valor de amplitude ligeiramente maior que, para outras temperaturas. Observou-se, também, que a frequência de oscilação é diretamente proporcional à temperatura, de acordo com a figura 25. No entanto, quando foram empregados os valores de 30 e 35 °C, foi observada a formação de bolhas no meio reacional, resultando em picos irregulares. Desta forma, foi estabelecido o valor de temperatura de 25 °C, para os próximos experimentos.



**Figura 24:** Variação da amplitude de oscilação do sistema BZ com a temperatura



**Figura 25.** Influência da temperatura na frequência de oscilação do sistema BZ

Após o estudo da influência das variáveis da reação de Belousov-Zhabotinskii no sistema em fluxo, obtiveram-se os valores ótimos para estes fatores, listados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Variáveis otimizadas para a determinação de ácido ascórbico

<b>Concentração de <math>\text{KBrO}_3</math> (<math>\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	0,3500
<b>Concentração de <math>\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}</math> (<math>\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	0,008000
<b>Concentração de <math>\text{CH}_2(\text{COOH})_2</math> (<math>\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	0,5500
<b>Concentração de <math>\text{H}_2\text{SO}_4</math> (<math>\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	1,0000
<b>Temperatura (°C)</b>	25,0

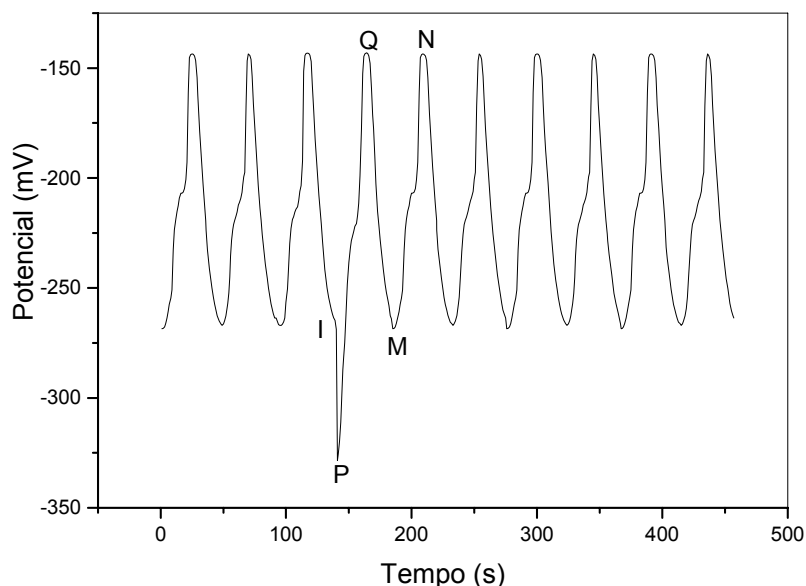
## 4.5. Determinação de Ácido Ascórbico

### 4.5.1. Curva analítica

O ácido ascórbico pode aumentar significativamente a amplitude de oscilação da reação de BZ, quando injetado no sistema. Esse efeito é proporcional à quantidade de ácido ascórbico presente no meio reacional. Assim, é viável a determinação da vitamina C, através da relação da sua concentração com a amplitude do sistema BZ. Então, foram injetadas no sistema as soluções de ácido ascórbico preparadas de acordo com o item 3.3.7. A perturbação promovida pelo ácido ascórbico na resposta analítica pode ser visualizada observando-se o gráfico da figura 26. Quando é injetado ácido ascórbico (ponto I), a amplitude do ciclo de injeção aumenta (ponto P). A fórmula usada para calcular esse aumento é:

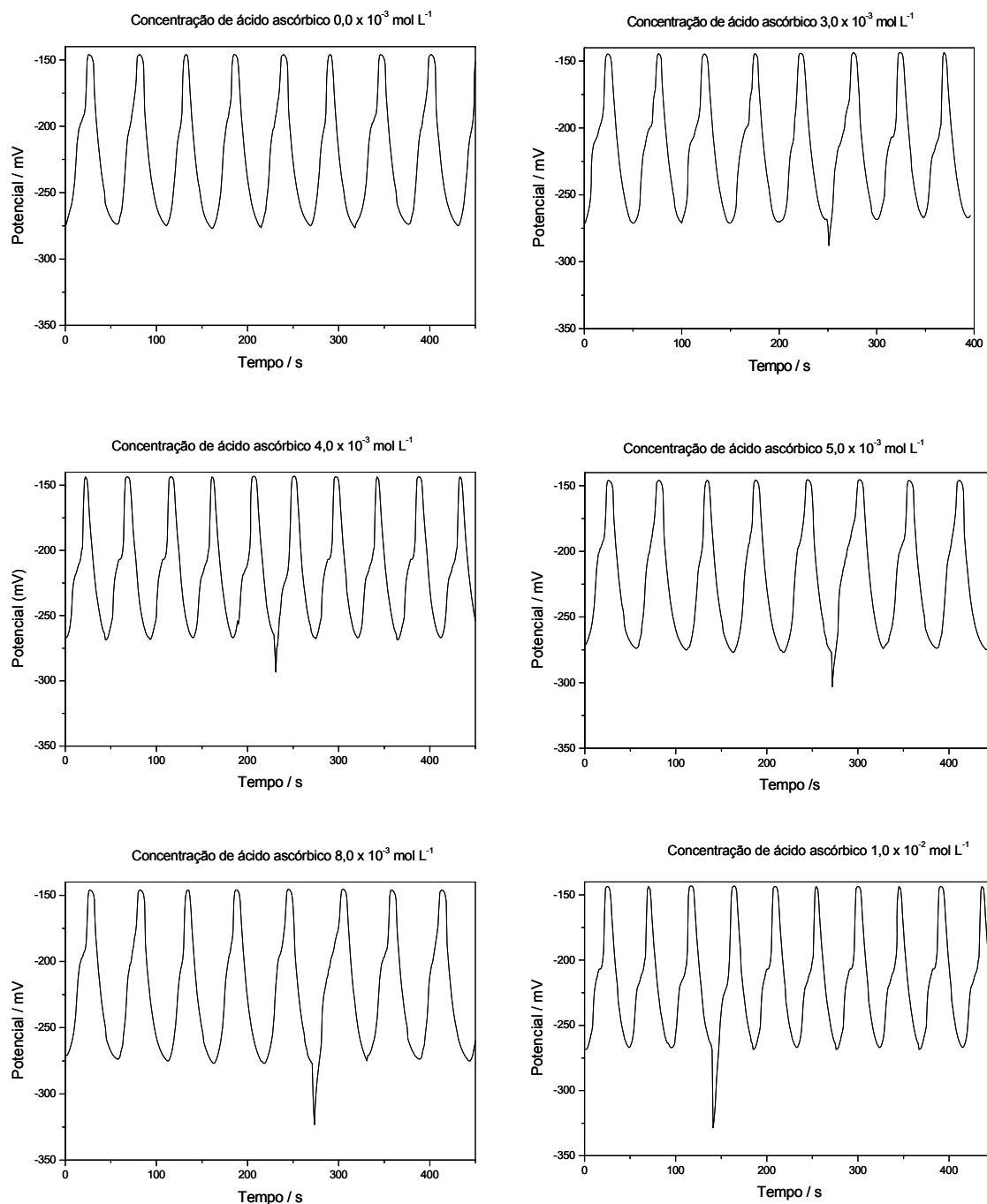
$$\Delta A = (P-Q) - (M-N) \quad \text{Equação: (11)}$$

onde P, Q, M e N são os potenciais nos pontos correspondentes, em mV.



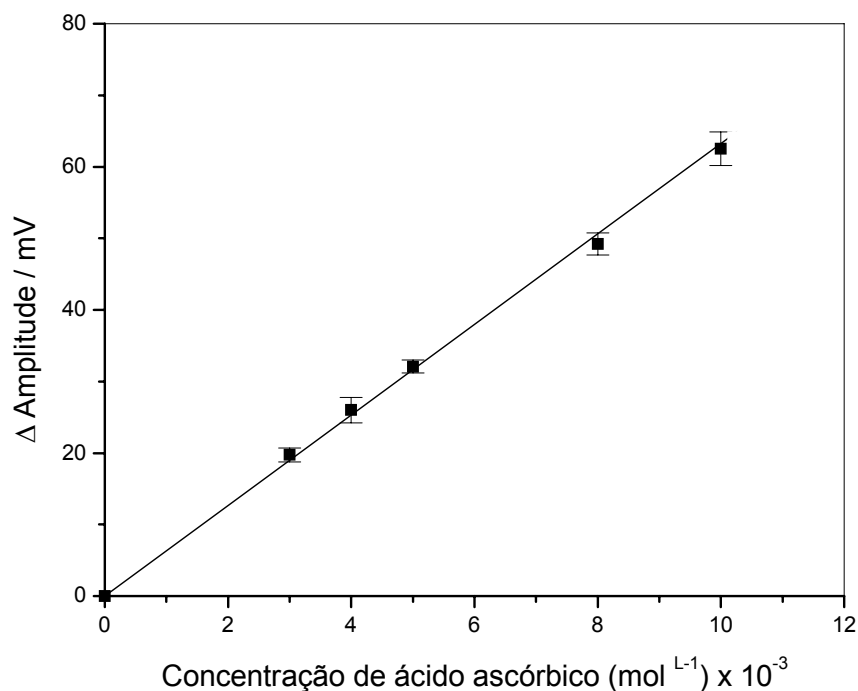
**Figura 26.** Gráfico de oscilação do sistema BZ com injeção de ácido ascórbico

Todos os gráficos da resposta analítica versus tempo para todas as concentrações de ácido ascórbico estudadas são mostrados na figura 27.



**Figura 27.** Gráfico de oscilação do sistema BZ para diferentes concentrações de ácido ascórbico

Relacionando-se os valores de  $\Delta A$  com as correspondentes concentrações de ácido ascórbico, obteve-se o gráfico mostrado na figura 28. As características da curva analítica para determinação de ácido ascórbico são mostradas na tabela 6.



**Figura 28.** Curva analítica da determinação de ácido ascórbico utilizando o sistema BZ

**Tabela 6.** Características analíticas da determinação de ácido ascórbico utilizando o sistema BZ.  $\Delta A$ , variação na amplitude, mV; C, concentração de ácido ascórbico, mol L<sup>-1</sup>.

Equação da curva	$\Delta A = 0,7635 + 6165,625C$
Faixa linear (mol L <sup>-1</sup> )	$1,63 \times 10^{-4} - 1,00 \times 10^{-2}$
Coefficiente de correlação, r (%)	99,96
Limite de detecção (mol L <sup>-1</sup> )	$1,63 \times 10^{-4}$
Precisão, rsd* (%)	2,7

\*desvio-padrão relativo

#### 4.6. Estudo de Interferentes

Os sistemas oscilantes podem ser alterados pela presença de espécies interferentes no meio reacional. Desta forma, investigou-se o efeito de algumas dessas substâncias no sistema BZ. Para isso, foram preparadas soluções contendo uma quantidade fixa de ácido ascórbico ( $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , um ponto central da curva analítica) e quantidades variáveis das soluções preparadas no item 3.3.8. O efeito de cada espécie foi considerado interferência quando ocorreu uma variação acima de 5% em relação ao sinal analítico do ácido ascórbico sem a presença do interferente. As quantidades (relação interferente / ácido ascórbico) máximas de cada substância, que não causaram interferência são apresentadas na tabela 7. De acordo com estes resultados, observa-se que a seletividade do procedimento é aceitável.

**Tabela 7.** Influência de outras espécies na determinação de ácido ascórbico utilizando o sistema BZ.

Substância	Razão máxima tolerada		Amplitude (mV)	Erro (%)**
	Substância: ácido ascórbico			
-----*	-----		32,05	-----
NaNO <sub>3</sub>	300		33,40	4,2
NaNO <sub>2</sub>	300		32,07	2,1
NH <sub>4</sub> SCN	300		30,93	-3,5
MnSO <sub>4</sub>	100		31,02	-3,2
NaCl	100		31,66	-1,2
Al(NO <sub>3</sub> )	50		32,82	2,4
CuSO <sub>4</sub>	50		33,49	4,5

\* Somente ácido ascórbico.

#### 4.7. Aplicação em amostras Reais

Duas amostras comerciais foram preparadas de acordo com o procedimento descrito no item 3.6. Estas amostras foram preparadas em quadruplicata e injetadas na cela, de acordo com o item 3.4. Os resultados são mostrados nas tabelas 8 e 9. Estes resultados demonstram a aplicabilidade do procedimento à determinação de ácido ascórbico em amostras reais de medicamentos.

**Tabela 8:** Resultados das determinações de ácido ascórbico em amostras de medicamentos utilizando o sistema BZ

Amostra	Teor de ácido ascórbico	Média	Desvio-padrão (s)	Número de medidas (N)	Resultado
Vitargyl C (mg / 4g)	961,88	961,88	13,75	4	962,00 ± 22
	945,04				
	961,88				
	978,72				
Cebion (mg / 1g)	100,13	98,25	3,65	4	98,00 ± 6
	96,79				
	102,18				
	93,90				

**Tabela 9:** Comparação entre os valores descritos pelos fabricantes e os resultados da determinação de ácido ascórbico em amostras de medicamentos utilizando o sistema BZ.

Marca	Apresentação	Quantidade de ácido ascórbico	
		Declarada pelo fabricante	Encontrada
Vitargyl C (mg / 4g)	Comprimido	1000	962 ± 22
Cebion (mg / 1g)	Pó	100	98 ± 6

# **Conclusões**

## 5. CONCLUSÕES

O procedimento proposto viabilizou a determinação de ácido ascórbico, baseado na perturbação causada por esta substância na amplitude de oscilação da reação de Belousov-Zhabotinskii. A mudança substancial na amplitude foi relacionada com a concentração de ácido ascórbico. A reação oscilante foi realizada em um sistema dinâmico, com os reagentes sendo introduzidos continuamente. Isso permitiu a obtenção de oscilações regulares, que puderam voltar ao seu estado inicial rapidamente, após a perturbação.

De acordo com o estudo das condições ótimas para as variáveis do sistema, as quantidades de todos os reagentes influenciam fortemente o sinal analítico. Estes resultados concordam com um procedimento descrito na literatura, que utiliza a reação de Belousov-Zhabotinskii para a determinação de ácido ascórbico em um sistema em batelada [3]. Além disso, reações oscilantes são altamente vulneráveis a outras perturbações externas, como a temperatura. Isso também ficou evidenciado com os resultados deste trabalho.

A perturbação causada pelo ácido ascórbico ao sistema Belousov-Zhabotinskii em linha causa um decréscimo proporcional à sua concentração. Essa relação foi utilizada com sucesso na determinação do ácido ascórbico em medicamentos.

Substâncias estranhas também podem perturbar o sistema oscilante. Devido a isto, foi estudado o efeito de várias substâncias na determinação de ácido ascórbico. O sistema apresentou-se relativamente seletivo, pois muitas substâncias só tiveram uma interferência em potencial quando em concentrações muito superiores à quantidade de ácido ascórbico presente.

A determinação de vitamina C nas amostras analisadas mostrou que os resultados encontrados estão em concordância com os valores declarados pelos fabricantes. O método desenvolvido apresenta-se como uma boa alternativa à determinação de ácido ascórbico em produtos farmacêuticos, pois o procedimento é simples e de baixo custo.

Ainda é recente e muito restrita e a determinação indireta de substâncias utilizando sistemas oscilantes. A primeira determinação de substâncias orgânicas com base no seu efeito na reação de Belousov-Zhabotinskii foi realizada somente no ano 2000 [12]. Esta pouca aplicação reside no fato de que os mecanismos que controlam os sistemas oscilantes ainda não foram completamente elucidados. Assim, é bastante pertinente e promissor o estudo da aplicação de sistemas oscilantes em determinações analíticas, visando a dosagem de substâncias orgânicas e inorgânicas. A utilização destas reações oscilantes em sistemas dinâmicos também é um campo de futuras pesquisas.

# **Recomendações Futuras**

## 6. RECOMENDAÇÕES FUTURAS

Para visualização das oscilações em tempo real na tela do microcomputador, recomenda-se o desenvolvimento de um único programa computacional, facilitando assim a aquisição e visualização de dados durante as reações, não sendo necessário a utilização de dois programas como empregado nesse trabalho.

Realizar um estudo mais detalhado, substituindo o ácido malônico por um outro ácido orgânico, como o ácido cítrico, pois este, geralmente é mais facilmente encontrado nos laboratórios.

É recomendável, também, a utilização de outros catalisadores além do par Ce(III)/Ce(IV), tais como, Mn(II)/Mn(III), Fe(II)/Fe(III), Ru(II)/Ru(III), entre outros.

Existe ainda a perspectiva de utilização do sistema em linha com a reação oscilante na determinação de outras substâncias orgânicas. Logicamente, estas substâncias deverão perturbar o padrão de oscilação do sistema Belousov-Zhabotinskii de maneira proporcional à sua concentração.

# **Referências**

# **Bibliográficas**

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] CARR, C.; FERI, B., Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans, **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n.06, p. 1086-1107, 1999.

[2] GÜÇLÜ, K.; SÖZGEN, K.; TÜTEM, E.; ÖZYÜREK, M.; APAK, R., Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper(II)-neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals, **Talanta**, v. 65, n. 05, p. 1226–1232, 2005.

[3] GAO, J; YANG, H.; LIU, X.; REN, J.; LU, X.; HOU, J.; KANG, J.. Kinetic determination of ascorbic acid by the BZ oscillating chemical system. **Talanta**, v. 55, n. 01, p. 99-107, 2001.

[4] JIMÉNEZ-PRIETO, R.; SILVA M.; PÉREZ-BENDITO, D.,. Analyte Pulse Perturbation Technique - A Tool For Analytical Determinations In Far-From-Equilibrium Dynamic-Systems, **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 04, p. 729-734, 1995.

[5] JIANG, M.; LI, Y.; ZHOU, X.; ZHAO, Z.; WANG, J.; MO, J., Kinetic determination of hexacyanoferrates by their inhibition of an oscillating chemical reaction, **Analytica Chimica Acta**, v. 236, n. 01, p. 411-416, 1990.

[6] RAOOF, J.; OJANI, R.; KIANI, A., Kinetic Determination of Silver Ion by Its Perturbation on Belousov-Zhabotinskii Oscillating Chemical Reaction Using Potentiometric Method, **Analytical Sciences**, v. 20, n. 5,p. 883-886, 2004.

[7] CHOW, C. W. K.; KOLEV, S. D.; DAVEY, D. E.; MULCAHY, D. E., Determination of copper in natural waters by batch and oscillating flow injection stripping potentiometry, **Analytica Chimica Acta**, v. 330, n.01, p. 79-87, 1996.

- [8] RAOOF, J.; OJANI, R.; KIANI, A, Effects of Surfactants on the Electroreduction of Dioxygen at an Acetylene Black Electrode, **Analytical Sciences**, v. 20, n. 05, p.883-886, 2004.
- [9] FARIA, R. B., Introdução aos Sistemas Químicos Oscilantes, **Química Nova**, v. 18, n. 03, p. 281-294, 1995.
- [10] KOLEV, S. D; CHOW, C. W. K.; DAVEY, D. E.; MULCAHY, D. E., Oscillating flow injection stripping potentiometry, **Analytica Chimica Acta**, v. 309, n. 01, p.293-299, 1995.
- [11] FIELD, R. J .; Experimental and Mechanistic Characterization of Bromate-Ion-Driven Chemical Oscillating and Traveling Waves in Closed Systems. In: Field, R. J.: Burger, M.: eds. *Oscillations and traveling Waves in Chemical Systems*. John Wiley e Sons, Inc.: Nova Iorque 91985 55-92.
- [12] TOLEDO, R.; SILVA, M.; KHAVRUS, V. O.; STRIZHAK, P. E., Potential of the analyte pulse perturbation technique for the determination of polyphenols based on the Belousov–Zhabotinskii reaction, **Analyst**, v. 125, n. 11, p. 2118-2124, 2000.
- [13] GAO, J. Z.; NAN, S.; WU, Y.; LEI, W.; ZHAO, G. H.; SUN, K. J., Effect of heroin on the Belousov-Zhabotinsky oscillating chemical reaction and its analytical application, **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 32, n.5, p. 611-614, 2004.
- [14] OJANI, R.; RAOOF, J.; MAHDAVI, F., The potentiometric effect of As(III) ion on a Belousov-Zhabotinskii oscillating chemical reaction. Application to the determination of As(III), **Bulletin of the Chemical Society of Japan** v. 76, n. 11, p. 2117-2121, 2003.

- [15] YATSIMIRSKII, K. B.; STRIZHAK, P. E.; IVASHENKO, T. S., Potential of chaotic chemical-systems in nanotrace analysis based on the Belousov-Zhabotinskii reaction (BrO<sub>3</sub><sup>-</sup> malonic-acid ferroin) -determination of manganese(II), **Talanta**, v. 40, n. 08, p. 1227-1232, 1993.
- [16] YEBRA-BIURRUN, M. C., Review Flow injection determination methods of ascorbic acid, **Talanta**, v. 52, n. 03, p. 367-383, 2000.
- [17] H. K. CHUNG, J. D. INGLE, Kinetic fluorometric FIA determination of total ascorbic-acid, based on use of 2 serial injection valves, **Talanta** v. 38, n. 04, p. 355-357, 1991.
- [18] BESADA, A. A facile and sensitive spectrophotometric determination of ascorbic-acid, **Talanta** v. 34, n. 08, p. 731-732, 1987.
- [19] RIYAZUDDIN, P.; ABDUL KAMAL NAZER, M. M., Potentiometric determination of ascorbic acid in pharmaceutical preparations using a copper based mercury film electrode. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.16, n. 03, p. 545-551, 1997.
- [20] RUZICKA, J.; HANSEN, E. Flow Injection Analysis, Wiley, New York, 1988.
- [21] ABDUL KAMAL NAZER, M. M.; HAMEED, A. R. S.; ,RIYAZUDDIN, P., Indirect Potentiometric Titration of Ascorbic Acid in Pharmaceutical Preparations Using Copper Based Mercury Film Electrode, **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 52, n. 01, p. 38-40, 2004.
- [22] ARYA, S. P.; MAHAJAN, M.; JAIN, P., Photometric methods for the determination of Vitamin C, **Analytical Sciences**, v. 14, n.05, p. 889-895, 1998.

[23] ELDAWY, M. A.; TAWFIK, A. S.; ELSHABOURI, S. R., Rapid, sensitive spectrophotometric method for determination of ascorbic-acid, **Analytical Chemistry**, v. 47, n. 03, p. 461-465, 1975.

[24] AGATER, I. B.; JEWSBURY, R. A., Direct chemiluminescence determination of ascorbic acid using flow injection analysis, **Analytica Chimica Acta**, v. 356, n. 2-3, p. 289-294, 1997.

[25] PEREZ-RUIZ, T.; MARTÍNEZ-LOZANO, C. ; TOMÁS, V.; SIDRACH, C., Flow injection fluorimetric determination of ascorbic acid based on its photooxidation by thionine blue, **Analyst**, v. 122, n. 02, p. 115-118, 1997.

[26] Fernandes, J. C. B., Kubota, L. T., Neto, G. De O., Eletrodos íon-seletivos: histórico, mecanismo de resposta, seletividade e revisão dos conceitos, **Quim. Nova**, v. 24, n. 01, p. 120-130, 2001.

[27] AMINI, M.K, SHAHROKHIAN, S, TANGESTANINEJAD S, MIRKHANI V, Iron(II) Phthalocyanine-Modified Carbon-Paste Electrode for Potentiometric Detection of Ascorbic Acid **Analytical Biochemistry**, v. 290, n. 02, p.277–282, 2001.

[28] SANCHEZ-PEDREÑO, C.; ORTUÑO, J. A.; HERNÁNDEZ, J., Determination of chlorine and dissolved oxygen in waters and of ascorbic acid in pharmaceuticals by iodimetric potentiometric titration using a plasticized poly(vinyl chloride) membrane electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 333, n. 01, p. 107-113, 1996.

[29] ABDULLIN, I. F.; TUROVA, E. N.; ZIYATDINOVA, G. K.; BUDNIKOV, G. K., Potentiometric Determination of Ascorbic Acid: Estimation of Its Contribution to the Total Antioxidant Capacity of Plant Materials. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 57, n. 04, p. 353-355. 2002.

[30] AL-GHANNAM, S. M.; AL-OLYAN, A. M., Differential Electrolytic Potentiometric Titration of Vitamin C in Pharmaceutical Preparations. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 13, n. 04, p. 295-300, 2005.

[31] KARLBERG, B.; THELANDER, S., Determination of readily oxidized compounds by flow injection analysis and redox potential detection, **Analyst**, v. 103, n. 1232, p. 1154 – 1159, 1978.

[32] SANO, A.; KUWAYAMA, T.; FURUKAWA, M.; TAKITANI, S.; NAKAMURA, H., Determination of L-ascorbic-acid by a flow-injection analysis with copper(II)-mediated electrochemical detection, **Analytical Sciences**, v. 11, n. 03, p. 405-409.

[33] KOLAR, M.; DOBCNICK, D.; RADIC, N., Potentiometric flow-injection determination of vitamin C and glutathione with a chemically prepared tubular silver electrode, **Pharmazie**, v. 55, n. 12, p. 913-916.

[34] PAIM, A. P. S.; ALMEIDA, C. M. N. V.; REIS, B. F.; LAPA, R. A. S.; ZAGATTO, E. A.G.; LIMA, J. L. F. C., Automatic potentiometric flow titration procedure for ascorbic acid determination in pharmaceutical formulations, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, n. 06, p. 1221–1225, 2002.

[35] FERNANDES, J. C. B.; ROVER JR., L.; KUBOTA, L. T.; NETO, G. O., Potentiometric Determination of L-Ascorbic Acid in Pharmaceutical Samples by FIA Using a Modified Tubular Electrode, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 02, p. 182-186, 2000.

[36] ARAÚJO, P. W.; BRERETON, G., Experimental design II. Optimization, **Trends in Analytical Chemistry**, v. 15, n. 2, p. 63-70, 1996.

[37] MASSART, D. L.; DIJKSTRA, A.; KAUFMAN, L., Evaluation and Optimization of Laboratory Methods and Analytical Produces, a survey of statistical and mathematical techniques, Elsevier Scientific Publishing Company, New York ,1978.

[38] THOM, A.G, **Comunicação de Dados**. [on-line]. Disponível em: <[www.apostilando.com](http://www.apostilando.com)> Acesso em: 18/06/2006

[39] Interface V24 / RS232C. [on-line] Disponível em:<[http://www.md.cefetpr.br/fschutz/comunicacao/materiais\\_web/tp\\_interfaces.pdf](http://www.md.cefetpr.br/fschutz/comunicacao/materiais_web/tp_interfaces.pdf)> Acesso em: 18/06/2006

[40] MAGRI, JOÃO ALEXANDRE. *Programação Basic*, Atlas, São Paulo, p 08, 1952.

[41] Unimonte – Introdução à Informática. [on-line]. Disponível em: <[http://www.unimonte.br/aula/imagens/introducao\\_a\\_informatica.pdf](http://www.unimonte.br/aula/imagens/introducao_a_informatica.pdf)>.Acesso em: 16/06/2006

[42] RESENDE, H. R. Introdução à Informática. Belo Horizonte, 2003.

[43] Advanced Serial Port Monitor. [on-line]. Disponível em: <<http://www.aggsoft.com>> .Acesso em: 12/06/2006

[44] VOGEL, A. I. **Química Analítica Quantitativa**. 5 ed. São Paulo: Mestre Jou, 1981.

[45] MAZALA JR., W.; SCHUCHARDT, U.; DE PAOLI, M. A., Reações Oscilantes: Revisão e Demonstração Experimental, **Química Nova**, v. 01, n. 04, p. 09-15, 1978.

# **Apêndice**

---

## APÊNDICE

Seguem, abaixo, os comandos de um programa auxiliar desenvolvido em linguagem Quick-Basic..Esse foi utilizado para apresentação do o gráfico da oscilação na tela do microcomputador em tempo real através da leitura seqüencial do arquivo no formato ASCII obtido pelo programa comercial

### Programa Desenvolvido em Quick-Basic

```
CLEAR
CLS
LOCATE 10, 10: INPUT "Nome do Arquivo"; A$
DIM E(10000)
inicio:
N = N + 1
OPEN A$ FOR INPUT AS #1

C = 0
DO WHILE NOT EOF(1)
INPUT #1, E(C)
C = C + 1
LOOP
CLOSE #1

SCREEN 9
LINE (1, 1)-(639, 299), 1, BF
LINE (2, 2)-(638, 298), 15, B
PSET (0, 0)
FOR i = 0 TO C - 1

LOCATE 2, 72: PRINT N
LINE -(i / 2.5 - 50, ABS(E(i)) - 50), 15
NEXT i
GOTO inicio
```