

Utilização dos métodos automáticos em fluxos com detecção espectrofotométrica na determinação de diclofenaco de sódio em formulações farmacêuticas e fluidos corporais

Paulo Roberto Barros Gomes^{1*}, Victor Elias Mouchrek Filho², Rayone Wesly Santos de Oliveira², Adriana Pereira Everton², Jonas Batista Reis², Hilton Costa Louzeiro³, Wellington da Silva Lyra⁴, Maria Alves Fontenele⁵, Danila Teresa Valeriano Alves⁶

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Campus Abaetetuba, Pará, Brasil.

* Correio eletrônico: prbgomes@yahoo.com.br

²Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleo Essenciais, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil.

³Coordenação de Licenciatura em Ciências Naturais, Universidade Federal do Maranhão, Pinheiro, Maranhão, Brasil.

⁴Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

⁵Laboratório de Cereais, Coordenação de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Maranhão-Campus Avançado, Imperatriz, Maranhão, Brasil.

⁶Universidade Federal do Pará, Campus Cametá, Pará, Brasil.

Recebido em: 2 de abril de 2018

Aceito em: 21 de novembro de 2018

RESUMO

Este trabalho descreveu e comparou quatro estudos entre si que utilizaram métodos automáticos em fluxo com detecção espectrofotométrica e a reação de oxidação do diclofenaco para determinar diclofenaco em formulações farmacêuticas e fluidos corporais. Para isso, utilizamos os seguintes artigos: *Versatility of a multicommutated flow system in the spectrometric determination of three analytes*, *Sequential injection spectrophotometric method for the assay of anti-inflammatory diclofenac sodium in pharmaceutical preparations*, *Screening of conditions controlling spectrophotometric sequential injection analysis* e *Sequential injection spectrophotometric determination of diclofenac in urine and pharmaceutical formulations* e detalhamos as metodologias empregadas, os resultados, conclusões obtidas e comparamos entre eles os limites de detecção, desvio padrão relativo e a frequência analítica. Os resultados mostraram diferenças significativas entre métodos empregados e a utilização do Sistema automático do tipo Análise por Injeção Sequencial, apesar deste possuir menor frequência analítica.

Palavras-chave: FIA-multicomutação, análise por injeção sequencial, espectrofotometria, diclofenaco de sódio, oxidação.

SUMMARY

Use of automatic methods in fluxes with spectrophotometric detection in the determination of diclofenac sodium in pharmaceutical formulations and body fluids

This study described and compared four studies that used automatic flow methods with spectrophotometric detection and the oxidation reaction of diclofenac to determine diclofenac in pharmaceutical formulations and body fluids. For this, the following articles were used: *Versatility of a multicommutated flow system in the spectrometric determination of three analytes*, *Sequential injection spectrophotometric method for the assay of anti-inflammatory diclofenac sodium in pharmaceutical preparations*, *Screening of conditions controlling spectrophotometric sequential injection analysis* and *Sequential injection spectrophotometric determination of diclofenac in urine and pharmaceutical formulations* and we detail the methodologies used, the results, the conclusions obtained and compare the limits of detection, relative standard deviation and analytical frequency. The results showed significant differences between the employed methods and the use of the Automatic System of the Sequential Injection Analysis type, although this one has a lower analytical frequency.

Key words: FIA-Multicomutation, sequential injection analysis, spectrophotometry, sodium diclofenac, oxidation.

INTRODUÇÃO

A inflamação é um processo biológico no qual o organismo libera substâncias químicas frente a uma lesão celular física (trauma ou queimadura), biológica (invasão por microrganismos ou mesmo quando o próprio organismo reconhece suas próprias células como invasoras) ou química (decorrentes de substâncias ácidas ou básicas) [1].

Um dos fármacos mais prescritos no combate à dor e a inflamação é o diclofenaco de sódio, cujo nome oficial é 2 - [(2,6-diclorofenil) amino] benzeno acetato de sódio. Este fármaco pertence à classe farmacológica dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), onde atua no organismo inibindo a enzima ciclo-oxigenase, no qual é responsável pela transformação do ácido araquidônico em Prostaglandina G2 [2]. Quanto a forma de administração no organismo, este fármaco é administrado por via oral (com-

primidos e cápsulas), parenteral (injetável), oftálmica, retal (supositório) e dermatológica (gel) [1].

Como todo medicamento, o diclofenaco ao ser administrado no organismo apresenta uma série de efeitos colaterais, dentre os mais relatados são: os efeitos gastrointestinais, dor de cabeça, tontura, edema e lesão que pode ser hepática ou renal, sendo em alguns casos, as úlceras gástricas ou intestinais, úlceras hemorrágicas, insuficiência cardíaca e problemas de visão [2-4].

Dessa forma, levando-se em consideração aos efeitos colaterais desse medicamento e sua prescrição no tratamento da dor e inflamação, os laboratórios de análises utilizam os padrões de controle de qualidade para garantir a eficácia e a eficiência do uso desse medicamento pelos consumidores. Dessa maneira, para garantir isso, estes utilizam metodologias analíticas utilizados nas farmacopeias (metodologias oficiais), que na maioria delas, utiliza a titulação potenciométrica [1]. Entretanto, esta metodologia apresenta algumas desvantagens, tais como: resposta rápida e limitada que o eletrodo deve fornecer mediante as mudanças do potencial elétrico, homogeneização constante da solução, consumo excessivo de reagentes e uso de equipamentos especializados.

Por causa dessas limitações observados na metodologia oficial, os laboratórios de análises estão recorrendo aos métodos espectrofotométricos, devido ao baixo custo, rapidez e simplicidade [5]. O trabalho de revisão realizado por Gouda e colaboradores, no período de 1985 a 2008, descreveram a utilização dos métodos espectrofotométricos e espectrofluorimétrico na determinação de alguns AINEs e concluíram que esses métodos são regulares e muito utilizados na confirmação ou quantificação das substâncias de interesse [6].

Como os métodos espectrofotométricos são de baixo custo quando comparado a outros métodos, tais como cromatografia líquida de alta eficiência ou eletroquímicos, a utilização deles com os analisadores automáticos em fluxo tem suas vantagens, que são: redução dos custos analíticos por via da diminuição do número de operadores envolvido e o consumo mínimo de reagentes e amostra [7], o que acaba gerando menos impacto ambiental, no que tange ao descarte desse fármaco. Dentre os analisadores automáticos em fluxo, o mais utilizado em escala industrial é o analisador por injeção sequencial [8].

Na determinação de diclofenaco em formulações farmacêuticas, as reações mais utilizadas são as de oxidação. Isso acontece devido as colorações que há entre o reagente e fármaco. Assim, observamos na literatura que os principais oxidantes utilizados na reação com o diclofenaco foram $Ce(IV)$, BrO_3^- , $Fe(III)$ e MnO_4^- [9-14].

Portanto, diante do exposto e devido as vantagens do método espectrofotométrico e dos analisadores automáticos em fluxo, este trabalho descreveu quatro estudos que utilizaram, respectivamente, as reações oxidação do diclofenaco com permanganato em diferentes meios e sistemas automáticos em fluxo com detecção espectrofotométrica na determinação de diclofenaco em formulações farmacêuticas e fluidos corporais. Além disso, comparamos esses estudos entre si com a finalidade de mostramos qual deles foi mais vantajoso e o mais empregado.

METODOLOGIA

Para a realização deste trabalho, utilizamos dois critérios: métodos automáticos em fluxo e a reação de oxidação do diclofenaco com permanganato. Desses critérios, selecionamos os seguintes artigos: *Versatility of a multicommutated flow system in the spectrometric determination of three analytes*, *Sequential injection spectrophotometric method for the assay of anti-inflammatory diclofenac sodium in pharmaceutical preparations*, *Screening of conditions controlling spectrophotometric sequential injection analysis* e *Sequential injection spectrophotometric determination of diclofenac in urine and pharmaceutical formulations*. Desses estudos, descrevemos a metodologia utilizada em cada, os resultados e as conclusões obtidas. Em seguida, comparamos os sistemas automáticos a partir do limite de detecção, desvio padrão relativo e frequência analítica com a finalidade de verificar qual destes foi mais vantajoso. Portanto, antes da apresentação dos estudos, apresentaremos de forma breve e simples os conceitos de sistemas automáticos e sua importância nas análises farmacêuticas.

Métodos automáticos e a utilização destes nas análises farmacêuticas determinação de diclofenaco de sódio em formulações farmacêuticas e fluidos corporais

Atualmente, os laboratórios de análises estão interessados no desenvolvimento de metodologias que utilizam sistemas automáticos. As razões para a utilização desses sistemas estão: maior segurança do analista no manuseio de substâncias que oferecem riscos à saúde, redução de custos, baixo consumo de reagentes e amostras, execução de procedimentos em um menor intervalo de tempo, diminuição do esforço humano, melhora na precisão das análises etc. [15].

Contudo, os analisadores automáticos são classificados em três grupos: analisadores automáticos discretos ou em batelada, automáticos robotizados e automáticos em fluxo. Os analisadores automáticos discretos, ou em batelada, são versões mecanizadas de métodos clássicos manuais. Nestes, um sistema mecânico transporta a mistura reacional de amostra individualizada para o detector, onde as medidas são realizadas após o estabelecimento do equilíbrio físico e químico da reação de interesse, afim de alcançar a máxima sensibilidade analítica [16].

Já os automáticos robotizados são mimetizações robóticas dos procedimentos executados por um operacionalizador. Ou seja, este método automático utiliza um braço mecânico, controlado por um computador para executar as operações analíticas. No entanto, a desvantagem desse sistema está no custo elevado, alta complexidade mecânica e diversas limitações na realização de análises automáticas [17].

Por outro lado, os analisadores em fluxo processam amostra e reagente em fluxo contínuo. Dessa maneira, o primeiro sistema em fluxo foi desenvolvido por Leonard Skeggs [18] em 1957. Desde esse ano até os dias de hoje, esse sistema passou por uma série de transformações com objetivo de facilitar as operações analíticas, minimizar a intervenção humana e simplificar o sistema. Dentre estes sistemas temos: *análise em fluxo segmentado*, *análise por injeção em fluxo*, *análise em fluxo monossegmentado*, *análise por injeção sequencial*, *análise em fluxo com multicomutação* e *análise em fluxo-batelada* [9]. Devido ao crescente número de analisadores em fluxo desenvolvidos, a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) [19,20] recomendou uma classificação de acordo com o processamento da amostra ou reagente(s) e da característica básica do sistema.

Apesar da diversidade de sistemas automáticos em fluxo, em 2015 Gomes e colaboradores[9] publicaram um artigo de revisão, descrevendo a origem, as vantagens e desvantagens desses sistemas. Além disso, os sistemas em fluxo mencionados possuem uma configuração básica. Ou seja, todos possuem um sistema de injeção, propulsão, mistura/reacção e detecção. A propulsão dos fluidos é feita através de uma bomba peristáltica, microbombas, bomba pistão ou por ação da gravidade. A injeção pode ser dada através de seringa, válvulas solenoides, válvulas rotatórias ou injetor proporcional. Sendo que esta última é responsável pela diferenciação dos sistemas automáticos citados [9]. A mistura, geralmente, ocorre em reatores que pode ser uma bobina helicoidal ou câmara de mistura. E por fim, a detecção pode ser dada de várias formas: espectrofotometria de absorção e emissão atômica, fotometria, potenciometria, voltametria, etc. [9]. A figura 1 mostra a configuração básica de todo sistema em fluxo.

Devido a evolução ocorrida nos sistemas automáticos em fluxo e as vantagens relacionadas a esses sistemas quanto a automação da manipulação de soluções com fluxo intermitente; minimização do consumo de reagentes e amostras; aumento da frequência de amostragem; simplicidade e baixo custo de instrumentação [22], em 2006 Pimenta e Colaboradores [5] e em 2007 Tzanavaras e colaboradores [8] publicaram um artigo de revisão mostrando a importância e eficiência dos sistemas de Injeção em Fluxo nas análises farmacêuticas. Para Tzanavaras e colaboradores os sistemas de Análise por Injeção em Fluxo (FIA – em inglês) são divididos em três seções, que são: A primeira com sistemas FIA homogêneos e inclui métodos baseados em: medidas de Ultra Violeta diretos, interações dos metais com as drogas e as várias reações com formação de compostos coloridos; a segunda seção aborda os sistemas FIA heterogêneos e especificamente a

utilização de reatores em fase sólida e os sensores ópticos; a terceira parte da revisão é dedicada aos sistemas FIA com pré-tratamento (hidrólise, digestão e fotólise) das amostras [8].

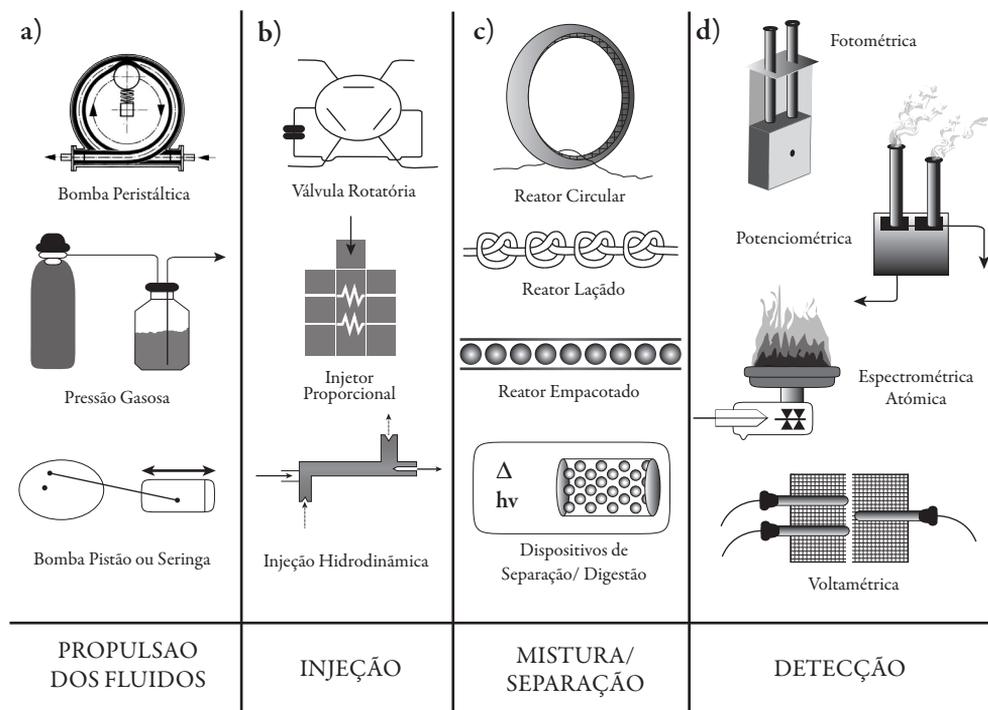


Figura 1. Diagrama esquemático de um sistema de análise em fluxo simples. (a) exemplos de sistemas para propulsão dos fluidos, (b) exemplos de sistemas de injeção, (c) exemplos de sistemas de mistura e (d) exemplos de detectores.

Fonte: Adaptada da referência [21].

Avaliação dos métodos automatizados com detecção espectrofotométrica na determinação de diclofenaco de sódio em formulações farmacêuticas e fluidos corporais

A respeito do emprego dos sistemas automáticos com detecção espectrofotométrica e da reação de oxidação do diclofenaco com permanganato em diferentes meios e de forma direta, há três estudos que utilizaram o sistema em fluxo do tipo Analisador Sequencial e um que utilizou o sistema em fluxo multicomutado.

Em termos da utilização dos sistemas automáticos em fluxo e em escala cronológica, o primeiro estudo foi realizado por Rodriguez e colaboradores [12], publicado pelo periódico *Journal of Flow Injection Analysis* no ano de 2008, cujo título é: *Sequential injection spectrophotometric determination of diclofenac in urine and pharmaceutical for-*

mulations. Nesse estudo, a oxidação do diclofenaco com permanganato, de concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, ocorreu em meio básico. Para isso, os autores prepararam uma solução de hidróxido de sódio com concentração de $1,0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Além disso, os autores utilizaram o método Taguchi para parametrização experimental e o sistema automático do tipo Analisador por Injeção Sequencial (SIA, em inglês).

Nesse tipo de sistema automático, os autores utilizaram uma seringa como injetor e uma válvulas seletora de multiposição ou multiportas, sendo esta controlada pelo computador que utilizou o programa *Autoanalysis 5.0*. A etapa inicial realizada nesse sistema consistiu na injeção de uma alíquota de amostra de 0,5 mL que foi aspirada da porta 2 para dentro da bobina de retenção, ocorrendo em seguida o direcionamento desta mesma alíquota para a porta 4, com a finalidade de limpar o sistema. Essas etapas foram repetidas quando a amostra foi alterada. Uma vez que o tubo de amostra foi preenchido, 0,12 mL do conteúdo foram aspirados em direção ao reator (R1) juntamente com 0,12 mL de solução de permanganato $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (porta 1) (ambas as taxas de aspiração de $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$); a mistura ocorreu no reator 2 (R2). A mistura foi transportada através da porta 3 para o detector a uma taxa de fluxo de $1,0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ durante 2 min. O sinal foi monitorado a 445 nanômetros (nm) no espectrofotômetro UV vis do modelo Lambda 40, marca Perkin-Elmer. Após o dimensionamento do sistema, o método empregado foi comparado com o descrito nas análises farmacêuticas, que empregam a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou HPLC (*High performance liquid chromatography*), para validação dos resultados. A figura 2 mostra o esquema do sistema automático utilizado pelos autores.

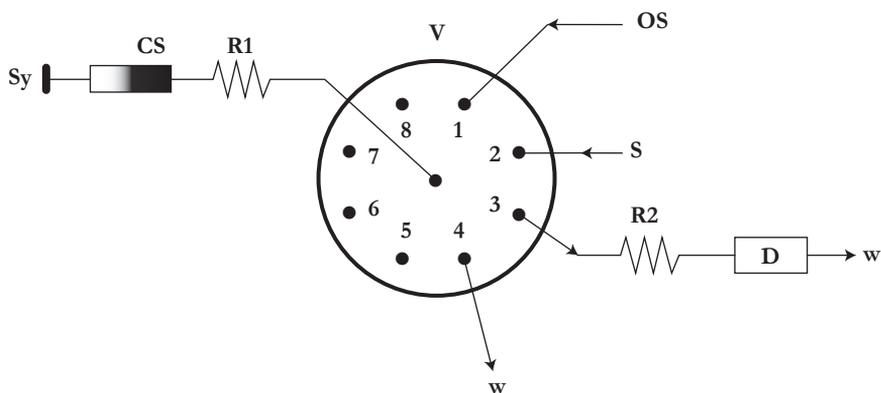


Figura 2. Diagrama esquemático do trabalho realizado por Rodrigues e colaboradores. (Sy) seringa, (CS) solução carregadora, (R1) reator 1, (V) válvula seletora, (OS) oxidação da solução de Permanganato (S) amostra, (R2) reator da mistura, (D) detector espectrofotométrico, 455 nm, (W) descarte. Fonte: adaptada da referência [12].

A partir desse sistema, os parâmetros avaliados foram: a influência sobre o sinal analítico do comprimento do reator (com comprimentos de 60, 90 e 120 cm), o volume aspirado (volume de permanganato e o volume da amostra – com volumes de 60, 90 e 120 microlitros) e a taxa de fluxo (com taxas de 0,50; 0,75 e 1,0 mL·min⁻¹); já a matriz ortogonal (L₉) utilizada foi 3⁴, resultando em 81 experimentos para os três níveis avaliados e as medições realizadas em soluções de diclofenaco, de concentração 50 mg·mL⁻¹ para diferentes tempos de armazenamento.

Os resultados obtidos foram estatisticamente calculados, utilizando-se o programa ANOVA-TM, no qual apresentou um valor de variância 3,17 para um nível de confiança 95% (valor da razão da variância/ valor da razão da variância crítica).

Por outro lado, os resultados obtidos a partir do dimensionamento do sistema mostraram que sob condições ideais, o intervalo linear da curva de calibração variou 10,0-100,0 mg·L⁻¹ com um limite de detecção de 5,0 mg·L⁻¹, taxa de amostragem de 15 determinações por h⁻¹, desvio padrão relativo da repetibilidade analítica menor que 3,0%. A partir disso, o estudo das análises da amostra revelaram que não houve diferenças significativas do método proposto pelos autores com o método de referência, isso quando se empregou o teste T, no qual foi obtido um valor de 2,78 a partir da comparação do t calculado com o t tabulado para um nível de confiança de 95%. Logo, segundo os autores o método automático possui uma enorme vantagem em relação ao método de referência, pois este é preciso e menos intensivo de mão-obra.

O segundo estudo foi realizado por Sutan e colaboradores [23] e este foi publicado dois anos após os estudos de Rodriguez e colaboradores. Nesse estudo, os autores realizaram a oxidação do diclofenaco com permanganato, acidificado a pH 6,0 e uma solução de ácido sulfúrico com concentração de 6,0 x 10⁻⁶ mol·L⁻¹. Dessa forma a reação entre o analito e o reagente ocorreu em meio ácido. Além disso, o autor dividiu o procedimento da análise no sistema automático em fluxo em passos, que foram, inicialmente: processo de injeção sequencial, utilizou uma seringa de 5 mL (SP) para realizar operações de aspiração e dispensação. O permanganato de potássio (R) foi ligado à válvula de seleção através da porta 2, as soluções padrão de diclofenaco foram preparadas na faixa de 20 a 250 mg·L⁻¹ e ligadas à válvula seletora através das portas 3, 4, 5, 6 e 7, enquanto a concentração desconhecida do analito, que geralmente é a solução de comprimidos, foi ligada à válvula seletora através da porta 8.

As tubulações foram carregadas com os respectivos reagentes por uma corrida de aspiração. A bomba da seringa foi preenchida com água acidificada como solução transportadora dirigindo a válvula de duas vias para o modo (na posição). Foram dispensadas 500 µL da solução carregadora de água acidificada para lavar a bobina de retenção,

bobina de reação, a célula em fluxo e ajustou-se a absorvância do espectrofotômetro a zero. Após isso, a uma taxa de fluxo de $50 \mu\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$, foram aspirados sequencialmente $50 \mu\text{L}$ de permanganato de potássio, $50 \mu\text{L}$ do fármaco para dentro da bobina de retenção. Dessa maneira foi realizado um curto curso reverso para permitir que todos os reagentes se misturem em um fluxo de $5 \mu\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$, seguido de distribuição contínua em direção ao detector por 30 segundos para ser registrado a absorvância. Assim, esses passos foram repetidos, mas aspirando a amostra do medicamento das outras portas da válvula seletora. Dessa forma, a concentração desconhecida da solução de diclofenaco foi registrada diretamente no software FIA Lab.

Logo, os parâmetros otimizados por esses autores, que incluiu calibração univariada, foram: a concentração do permanganato e a taxa de fluxo. Vale ressaltar que essa reação foi monitorada em 450 nm. Os resultados mostraram que a curva de calibração foi linear no intervalo de 30 a $135 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ com limite de detecção $0,24 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, limite de detecção em $0,7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e sem resultados da frequência analítica. Após esse dimensionamento, os autores realizaram o estudo nas amostras e compararam os resultados obtidos com a metodologia adotada pela *Farmacopeia Britânica*, no qual não mostrou diferenças significativas quando se utilizou o teste t-pareado.

Em 2011, o periódico *Chemistry Central Journal* publicou o estudo realizado por Idris Abubakr [11]. Este estudo baseou-se no planejamento fatorial da reação do diclofenaco com permanganato de potássio em meio ácido. O planejamento fatorial utilizou dois níveis, máximo e mínimo, e seis fatores, que foram: a taxa de fluxo (flow rate), concentração do permanganato, concentração do ácido sulfúrico, volume do permanganato, volume do ácido sulfúrico e volume da amostra, totalizando assim 64 experimentos. Além disso, o autor estudou a sensibilidade, a rapidez e o consumo do reagente. O objetivo do planejamento fatorial utilizado pelo autor consistiu em otimizar o sistema para determinar o diclofenaco em gel, comprimido e soluções injetáveis. Já a reação, baseou-se na oxidação do diclofenaco com permanganato em meio a ácido sulfúrico e monitorado em 450 nm.

De acordo com o autor foi possível determinar esse analito nessas matrizes. Os resultados do estudo mostram que taxa de fluxo de $15 \mu\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$, concentração de permanganato $5,0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, concentração de ácido sulfúrico de $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, volume de permanganato de $50 \mu\text{L}$, o volume ácido de $60 \mu\text{L}$ e o volume da amostra $60 \mu\text{L}$ registraram a maior resposta em 1,87. O autor também comenta que para taxa de fluxo inferior a $15 \mu\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$ há uma diminuição na frequência da amostra e superior a $30 \mu\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$ a diminuição na repetibilidade do sinal analítico.

Além disso, os resultados mostraram a linearidade na faixa de concentração de 10 a 150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, limites de detecção e quantificação em 1,37 e 4,57 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente, desvio padrão relativo para repetibilidade e precisão em 1,34 e 2,75 %, respectivamente e sem determinação para frequência analítica. Após isso, o método foi aplicado na determinação de diclofenaco em amostras de comprimidos, gel e injetáveis e comparado com a metodologia adotada pela farmacopeia britânica, no qual mostrou que não houve diferenças significativas no método proposto.

Segundo o autor, a justificativa pelo uso do planejamento fatorial na análise desse estudo resultou na insuficiência bibliográfica que utilizaram o mesmo, na incapacidade de avaliar as interações entre as condições que são mantidos constantes e no enorme tempo e consumo de reagentes das análises univariada. Além disso, o autor defende a ideia que este trabalho foi pioneiro nas análises em fluxo na região do espectro eletromagnético visível.

Observando a existência de poucos trabalhos realizados na determinação de diclofenaco em formulações farmacêuticas, Gomes e colaboradores [24] adaptaram a reação de oxidação do íon diclofenaco com permanganato de potássio em meio ácido para o sistema de análise de injeção em fluxo com multicomutação.

Esse sistema foi desenvolvido por Boaventura Reis e permite a inserção de pequenas alíquotas da amostra e do reagente de forma consecutiva e alternada, originando uma amostragem binária. Essa formação de zonas reacionais favorece o processo de homogeneização entre a amostra e o reagente, não influenciando na velocidade analítica [22]. O módulo de análise é constituído por um conjunto de válvulas solenoides que são acionadas por um acionador válvulas ou interface eletrônica que são controladas pelo microcomputador. Com um recurso como este é possível controlar a inserção precisa dos volumes de reagentes e amostra apenas pelo tempo de acionamento e um canal de bombeamento. Outra questão observada está no controle do software de acordo com o procedimento analítico no qual é possível fazer alterações somente no mesmo sem alterar a estrutura física do sistema [22].

Dessa maneira os autores utilizaram um sistema automático em fluxo com três válvulas solenoides do tipo três vias. Os comutadores independentes foram submetidos pela linguagem escrita Quick Basic 4.5, controlando os fluxos de amostra e reagentes permitindo, assim, comutar (redirecionar) os fluxos e, portanto, flexibilizar o sistema para formas totalmente automatizadas. Assim, no início, o sistema estava configurado e todas as válvulas estavam desligadas, permitindo apenas o transporte da solução transportadora (CA) que foi aspirada através da válvula V3 (linha cheia) em direção ao detector, formando a linha de base.

Na sequência, as válvulas V1, V2 e V3 são ligadas, sendo que as duas últimas são acionadas de forma alternadas, permanecendo V3 continuamente acionada, até o fim do número de ciclos de acionamento definidos (ver diagrama de tempo), quando, então, todas as válvulas serão desligadas. Essa sequência de eventos insere alternadamente (na figura 3 corresponde a AB) no percurso analítico as quantidades definidas de soluções de amostra e reagente, as quais são direcionadas à zona de confluência e uma bobina helicoidal (reator). A figura mostra a configuração básica do sistema.

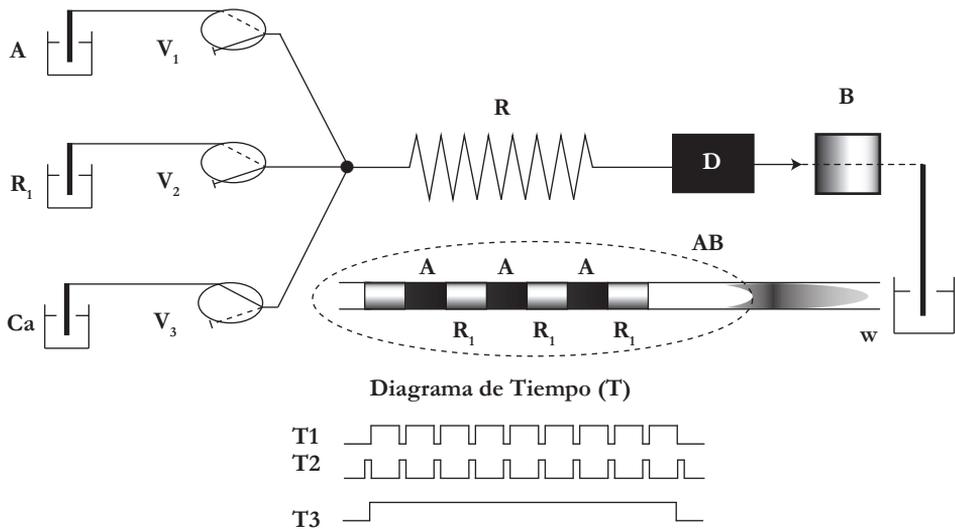


Figura 3. Módulo de análise do sistema em fluxo por multicomutação com válvulas solenoides por aspiração para determinar diclofenaco em formulação injetável. V1, V2, V3: válvulas solenoides; A: amostra (diclofenaco); R1: reagente (permanganato de potássio 4×10^{-4} Mol. L⁻¹); Ca: carregador (água deionizada); B: bomba peristáltica; R: reator; D (detector): espectrofotômetro; AB: amostra binária; T1: tempo de acionamento da válvula V1; T2: tempo de acionamento da válvula V2; T3: tempo de acionamento da válvula V3; W: descarte.

Fonte: Adaptado da referência [26]

Dessa forma, a reação foi monitorada em 465 nm, e foram avaliados e otimizados os parâmetros necessários para determinar o diclofenaco de sódio em formulação injetável, empregando-se o método univariado para verificar quais foram os melhores sinais analíticos. Os parâmetros avaliados foram: vazão, o número de ciclos, bobina da reação (reator), estudo da concentração do reagente, tempo de inserção do reagente e o tempo de inserção da amostra.

Os resultados desse estudo mostraram a faixa linear de concentração de 20-80 mg·L⁻¹, limites de detecção e quantificação estimados em 0,10 e 0,33 mg·L⁻¹ respectivamente, desvio padrão de 0,6% (n = 20) e taxa de amostragem de 80 determinações com por hora. A modelagem estatística utilizada foi o teste T pareado. E de acordo com os cálculos realizados, o T calculado (4,02) foi menor que o T crítico (4,30), levando-se em consideração o nível de confiança de 95% para o número de três amostras. Em vista desse resultado, pode-se concluir não houve diferenças significativas entre os métodos. Ressaltando-se que o autor comparou o método proposto com a farmacopeia brasileira, no qual realiza determinações espectrofotométricas do tipo direta.

A tabela 1 mostra o resultado comparativo dos métodos descritos nesse trabalho. E de acordo com essa tabela, pode-se observar que o método FIA multicomutação apresentou limite de detecção e desvio padrão relativo (RSD%), para o estudo de repetibilidade, menor que aqueles que são descritos nos outros trabalhos. Outra questão observada está na elevada frequência analítica do método FIA multicomutação quando comparado com a frequência analítica descrita por Rodrigues e colaboradores. Com esta observação pode-se concluir que o sistema FIA multicomutação possui frequência analítica maior do que o sistema SIA, o que torna esse sistema um pouco desvantajoso.

Embora o sistema SIA tenha uma baixa frequência analítica devido ao sistema de injeção ser dada de forma sequencial, o sistema automático em fluxo do tipo multicomutação apresenta como principal desvantagem as características operacionais das válvulas solenóides, nomeadamente uma inferior robustez. A ativação de uma válvula solenóide durante um período de tempo prolongado leva a um aquecimento da válvula, o que pode conduzir à deformação do teflon das membranas internas, causando assim a sua inutilização [25].

Tabela 1. Resultado comparativo do método proposto em fluxos.

Figuras de mérito	Sultan e colaboradores [23].	Abubakr [11].	Rodriguez e colaboradores [12]	Gomes e colaboradores [24]
Lineradidade (mg·L)	10-150	30-135	10-100	20-80
Limite de Detecção/ (mg·L)	1,37	0,24	5,0	0,100
RSD (%)	1,3	1,5	2,9	0,6
Frequência h ⁻¹	Não determinado	Não determinado	15	80

CONCLUSÃO

A partir desse trabalho, concluímos que o emprego dos métodos automáticos em fluxo do tipo multicomutado e sequencial são eficazes na determinação de diclofenaco em formulações farmacêuticas e fluidos corporais e que embora sejam vantajosos quando comparados com outros métodos analíticos, entre eles há diferenças nos limites de detecção, desvio padrão relativo e frequência analítica. Dos quatro estudos o que apresentou melhores resultados foi o sistema multicomutado para os critérios de limite de detecção, desvio padrão relativo e frequência analítica. Além disso, concluímos também que dentre os métodos automáticos em fluxo citados, o mais utilizado foi o analisador em fluxo por injeção sequencial.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as bolsas concedidas pela FAPEMA e ao CNPQ.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. J.P. Famaey, The interest of intramuscular administration of NSAIDS (Editorial), *Revista Brasileira de Reumatologia*, **34**, 153-154 (1994).
2. R.T. Sane, R.S. Samant, V.G. Nayak, High performance liquid chromatographic determination of diclofenac sodium from pharmaceutical preparation, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **13**, 1307 (1987).
3. B. Golcman, R. Golcman, L.G.M Castro, M. Mizoguchi, Necrose Tecidual após injeção intramuscular de diclofenaco de sódio, *An. Bras. Dermatol.*, **66**, 65-69 (1991).
4. M. Giovannetti, A.C.M. Marcel, J.R.M Borrelli, C.I Ikejiri, N. Alonso, P.D. Bianco, Necrose tecidual: efeito colateral do diclofenaco de sódio, relato de casos e discussão da fisiopatologia, *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med.*, **48**, 39-42 (1993).
5. A.M. Pimenta, M.C.B.S.M. Montenegro, A.N. Araújo, M.J. Calatayud, Application of sequential injection analysis to pharmaceutical analysis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **40**(1), 16-34 (2006).

6. A. Gouda, I. Mohamed, E. Kotb, A.S. Amin, R. Sheikh, Spectrophotometric and spectrofluorometric methods for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs: A review, *Arabian Journal of Chemistry*, **6**(2), 145-163 (2013).
7. L.H.M.M. Santos, Análise automática de gentamicina por quimiluminescência. Porto: Universidade do Porto, 2008.
8. D.P. Tzanavaras, G.T. Demetrius, Review of recent applications of flow injection spectrophotometry to pharmaceutical analysis, *Analytica Chimica Acta*, **588** (1), 1-9 (2007).
9. P.R.B Gomes, I.S. Barreto, L.L. Carvalho, H.A Pinheiro, H.S. Lima, V.E.F. Moucherek, R.N. Fernandes, An approach of the historical aspects, the advantages and disadvantages of automated analyzers: analysis in segmented flow (SFA) the flow analyzer batch (FBA), *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **7**(10), 901-906 (2015).
10. M.S. Sultan, H.D. Mohamed, J. Abdulmuttalib, A.A., Nawal Sequential injection spectrophotometric method for the assay of anti-inflammatory diclofenac sodium in pharmaceutical preparations, *Journal Flow Injection Analysis*, **27**, 49 (2010).
11. M.I. Abubakr, Screening of conditions controlling spectrophotometric sequential injection analysis, *Chemistry Central Journal*, **5**, 9 (2011).
12. J.A. Rodriguez, G. Islas, M.E.P. Hernandez, E. Barrado, Sequential injection spectrophotometric determination of diclofenac in urine and pharmaceutical formulations, *Journal Flow Injection Analysis*, **25**, 39 (2008).
13. S. Sastry, A.R. Mohana Rao, & T.N.V. Prasad, Spectrophotometric analysis of diclofenac sodium and piroxicam and their pharmaceutical preparations, *Analytical letters*, **20**(2), 349-359 (1987).
14. B.V. Kamath & K. Shivram, Spectrophotometric determination of diclofenac sodium via oxidation reactions, *Analytical Letters*, **26**(5), 903-911 (1993).
15. M. Trojanowicz (Ed), *Advances in flow analysis*, Weinheim: Wiley-VCH, 2008.
16. N.W. Barnett, C.E. Lenehan, S.W. Lewis, Sequential injection analysis: an alternative approach to process analytical chemistry, *Trends in Analytical Chemistry*, **18**(5), 346-353 (1999).
17. I. Facchin, *Extração líquido-líquido em sistema de fluxo monossegmentado*, Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas, 1996.

18. L.T. Skeggs, An automatic method for colorimetric analysis, *Amer. J. Clin. Pathol.*, **28**(3), 311-322 (1957).
19. F.R.P Rocha, B.F. Reis, E.A.G. Zagato, Multicommutation in flow analysis: concepts, applications and trends, *Analytica Chimica Acta*, **468**, 119-131 (2002).
20. J.L. Burguera, M. Burguera, Pretreatment of oily samples for analysis by flow injection - spectrometric methods, *Talanta*, **83**, 691-699 (2011).
21. M.B. Lima, Um Micro Flow-Batch para Determinação Fotométrica e Turbidimétrica de Taninos em Amostras de Chás, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, 2010, pp.14.
22. A.F. Lavorante, M.A. Feres, B.F. Reis, Multi-commutation in flow analysis: a versatile tool for the development of the automatic analytical procedure focused on the reduction of reagent consumption, *Spectroscopy Letters: An International Journal for Rapid Communication*, **39**, 631 (2006).
23. M.S. Sultan, H.D. Mohamed, J. Abdulmuttalib, A.A., Nawal Sequential injection spectrophotometric method for the assay of anti-inflammatory diclofenac sodium in pharmaceutical preparations, *Journal Flow Injection Analysis*, **27**, 49 (2010).
24. P.R. Gomes, H.S. Lima, A.J.D Lima, R.N. Fernandes, W.S. Lyra, F.A. S. Cunha, E.F. Silva, M.L.B. Ferreira, W.S. Lima, Versatility of a multicommutated flow system in the spectrometric determination of three analytes, *Rev. Virtual Quím.*, **9**(2), 563-574 (2017). DOI: 10.21577/1984-6835.20170033.
25. V. Cerdà, Introducción a los métodos de análisis en flujo, SCIWARE, Palma de Maiorca, 2006.
26. C.M.I Córdova, Desenvolvimento de Sistema de Análise em Fluxo por Multicomutação para determinação de poluentes ambientais, Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 2008.

COMO CITAR ESTE ARTIGO

P.R. Barros-Gomes, V.E. Mouchrek-Filho, R.W. Santos de Oliveira, A. Pereira-Everton, J. Batista-Reis, H. Costa-Louzeiro, W. da Silva-Lyra, M. Alves-Fontenele, D.T. Valeriano-Alves, Utilização dos métodos automáticos em fluxos com detecção espectrofotométrica na determinação de diclofenaco de sódio em formulações farmacêuticas e fluidos corporais, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **48**(1), 29-43 (2019).