

DOSEAMENTO DO FÓSFORO EM MEDICAMENTOS REIDRATANTES

Alnei Ramos Prochnow, Francisco Xavier Pillar e Glauca Ustra Soares
Departamento de Física. Centro de Ciências Naturais e Exatas. UFSM.
Santa Maria, RS.

João Fernandes Magalhães e Maria Inês Rocha Miritello Santoro
Departamento de Farmácia. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. USP.
São Paulo. SP.

RESUMO

O teor do fósforo em soluções reidratantes foi determinado pelo método do azul de molibdênio, usando o sulfato de hidrazina como agente redutor. Além dos parâmetros espectrofotométricos foi verificada a interferência de íons que, em geral, estão presentes neste tipo de formulação farmacêutica.

SUMMARY

PROCHNOW, A.R.; PILLAR, F.X.; SOARES, G.U.; MAGALHÃES, J.F. and SANTORO, M.I.R.M., 1980. Determination of phosphorus in rehydrant medicaments. *Ciência e Natura* (2): 19-27.

The phosphor content in rehydrating solutions it was determined through of the molybdenium blue method, using hydrazine sulfate as a reducing agent. Besides the spectrophotometric parameters it was studied the ions interference that generally are present in this kind of pharmaceutical formulation.

INTRODUÇÃO

A desidratação freqüente é um dos problemas sanitários, particularmente, nas regiões de clima tropical. Entre as medidas terapêuticas para o tratamento deste quadro clínico destacam-se os reidratantes constituídos de soluções, contendo diversos íons. Normalmente, as soluções são fornecidas prontas ou são preparadas no momento do uso, isso a partir de uma solução concentrada, como também de uma amostra da mistura de sais na forma de pó.

Nesses medicamentos, devido à natureza dos compostos, é comum ocorrer incompatibilidades químicas que ocasionam problemas de ordem farmacotécnica ou de estabilidade.

Devemos considerar, também, que os problemas são acrescidos de carência de métodos analíticos, suficientemente seletivos e acessíveis. A reatividade química dos diversos íons provoca interferência múltipla no andamento dos processos quantitativos. Assim, é freqüente o impedimento das operações analíticas ou nítida influência

nos resultados.

Em vista disso, passamos a estudar os problemas inerentes ao controle de qualidade destes produtos, iniciando pela determinação do fósforo que, em razão de sua capacidade de complexação, atua como um dos principais obstáculos.

REVISÃO DA LITERATURA

Os medicamentos reidratantes são formulados com o objetivo de restituir ao organismo a água e alguns íons inorgânicos, que são eliminados no processo de desidratação.

Os principais métodos para determinação do fósforo baseiam-se em reações do íon ortofosfato. Para amostras, contendo grande proporção do elemento, são empregados métodos gravimétricos e volumétricos com molibdato de amônio (8,12).

As amostras com pequenas quantidades de fósforo são analisadas por métodos colorimétricos e espectrofotométricos. Os tratamentos analíticos variam muito em função da natureza das amostras e dos objetivos visados. Quase sempre são necessárias adaptações para resolver casos específicos. DONALD et alii (6) empregaram a reação do íon ortofosfato com o ácido molíbdico, contendo vanádio. O produto da reação tem coloração amarela, sendo a leitura espectrofotométrica das soluções realizadas entre 420 a 480 nm.

A determinação do arsênico pelo ácido molíbdico e posterior redução com sulfato de hidrazina seguiu o método indicado por MORRIS e CALVERY (11).

Posteriormente, a mesma reação foi sugerida por OHLWEILLER (12) para análise fotométrica do fósforo. A redução seletiva do ácido fosfomolíbdico, formado na reação, resulta em um produto de composição indefinida de intensa coloração azul, proporcional à concentração de fósforo.

Entretanto, uma das limitações do método é a interferência provocada por diversos íons orgânicos e inorgânicos.

Surgiram muitas variações desse método, mas na maioria das vezes referem-se à substituição do agente redutor. O cloretoestano foi usado por SCHAFFER e colaboradores (13), DICKMAN e BRAY (5) e por SHAW (15). O ácido 1-amino-2-naftol-4sulfônico foi empregado por BARTLETT (2) e por KIRK, PATRICK & BISHOP (9). O sulfato de p-metilaminofenol foi escolhido por DREWES (7) e por SEE & FITT (14) e a o-fenilenodiamina foi indicada por MORIN & PROX (10).

A determinação espectrofotométrica no ultravioleta do ácido molíbdico fosfórico, sem a etapa da redução, foi proposta por DALY & ERTINGSHAUSEN (4) e por AMADOR & URBAN (1).

Nos medicamentos reidratantes, normalmente, estão presentes alguns íons que interferem no método do azul de molibdênio, como o cloreto, acetato, citrato, cálcio, magnésio e outros. Mesmo assim, como as características do método são muito favoráveis para aplicação rotineira, procuramos estudar quais as possibilidades de seu aproveitamento na análise do fósforo.

O trabalho foi desenvolvido com o objetivo de verificarmos a relação entre concentração e absorvância, a interferência dos íons presentes numa preparação farmacêutica líquida e a aplicação do método nessa preparação.

MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes

Os reagentes empregados foram: Hidrogenofosfato de potássio (Esta solução contém 0,05 mg de fósforo por ml). Solução de molibdato de sódio: 2,5% em ácido sulfúrico 10N. Solução de citrato de sódio: 5 mg por ml. Solução de sulfato de hidrazina: 0,15% em água deionizada.

Preparação Farmacêutica

A amostra utilizada contém:

Cloreto de sódio	351,0 mg
Cloreto de potássio	242,0 mg
Fosfato dissódico	177,5 mg
Citrato de sódio	343,0 mg
Citrato de magnésio	152,0 mg
Ácido cítrico	87,5 mg
Lactato de cálcio	154,0 mg
Dextrose	6,5 g
Água destilada q.s.q	25 ml

Método

Foi estudado o método colorimétrico utilizando um espectrofotômetro para o visível e ultravioleta. Observamos as indicações de OHLWEILLER (12) com algumas modificações na concentração de leitura, usando água destilada como solvente. O espectro foi obtido a partir de uma solução padrão de fosfato a 1 µg/ml.

Reta de Calibração

Inicialmente, determinou-se a curva de Ringbom, partindo de 20 (vinte) soluções cujas concentrações variavam de 0,4 a 4,2 µg/ml de fósforo; foram utilizados 20 (vinte) balões volumétricos de 50 ml de capacidade, para os quais foram transferidas quantidades crescentes de uma solução mãe de fosfato a 4 µg/ml de fósforo. A seguir foram adicionados aos balões 5 ml da solução de molibdato de sódio,

2 ml da solução de sulfato de hidrazina, completando-se o volume com água deionizada.

As leituras foram efetuadas a 830 nm, usando-se como branco uma solução de sulfato de hidrazina, molibdato de sódio e água deionizada. Com os resultados obtidos foi traçada a curva de Ringbom (absorvência versus log da concentração). Partindo dos dados obtidos, selecionaram-se 10 (dez) concentrações com as respectivas absorvâncias e foi calculada a reta de calibração pelo método dos mínimos quadrados, com as considerações estatísticas necessárias.

Aplicação do método na Análise do Medicamento

Da amostra do medicamento foram retiradas alíquotas de 10ml com 2 µg/ml de fósforo (concentração ideal da curva de Ringbom) e transferida para balões de 50 ml. Foram adicionados a cada balão 5ml de molibdato de sódio, 2 ml de sulfato de hidrazina, completando-se o volume com água deionizada. A seguir, as misturas foram aquecidas em banho-maria durante 10 minutos. Foram realizadas 10 análises da amostra do medicamento. As leituras foram efetuadas a 830 nm, usando-se como branco uma solução, contendo sulfato de hidrazina, molibdato de sódio e água deionizada.

Os resultados foram comparados com um padrão tratado da mesma maneira e analisado estatisticamente.

Influência do íon Cítrato

Para verificar a influência do íon cítrato, foram feitas 5 (cinco) preparações, tomando-se para cada uma delas uma alíquota de 10 ml da solução padrão de fosfato 2 µg/ml, adicionando-se em cada uma 2 ml de sulfato de hidrazina, 5 ml de molibdato de sódio e, colocando-se 1 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, respectivamente, de citrato de sódio a 100 µg/ml, completando-se o volume para 50 ml de água.

Os resultados obtidos foram comparados, espectrofotometricamente, com uma solução que não continha citrato e tratada da mesma maneira. Experiências idênticas foram realizadas com os íons cloreto e lactato.

RESULTADOS

O espectro de absorção do fosfato pelo método do azul de molibdênio apresentou pico de máximo em 830 nm.

Na Tabela I estão reunidos os valores referentes às experiências para a determinação da Curva de Ringbom, ilustrada na Figura 1.

Na Tabela II, podem ser vistos os valores empregados para o cálculo da reta de calibração; esta pode ser observada na Figura 2.

A Tabela III, apresenta o resumo da análise estatística dos

TABELA I. RESULTADOS DA EXPERIÊNCIA PARA A DETERMINAÇÃO DA CURVA DE RINGBOM.

TUBO	PADRÃO REAGENTE		I - T	A	T	CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO µg/ml
	EM ml	EM ml				
1	1,0	7,0	11,5	0,053	88,5	0,4
2	1,5	7,0	18,0	0,086	82,0	0,6
3	2,0	7,0	23,5	0,116	76,5	0,8
4	2,5	7,0	32,0	0,167	68,0	1,0
5	3,0	7,0	34,0	0,180	66,0	1,2
6	3,5	7,0	41,5	0,232	58,5	1,4
7	4,0	7,0	45,0	0,259	55,0	1,6
8	4,5	7,0	47,5	0,279	52,5	1,8
9	5,0	7,0	52,0	0,318	48,0	2,0
10	5,5	7,0	55,5	0,351	44,5	2,2
11	6,0	7,0	58,0	0,376	42,0	2,4
12	6,5	7,0	62,0	0,420	38,0	2,6
13	7,0	7,0	64,5	0,449	35,5	2,8
14	7,5	7,0	67,5	0,488	32,5	3,0
15	8,0	7,0	70,5	0,530	29,5	3,2
16	8,5	7,0	71,5	0,545	28,5	3,4
17	9,0	7,0	75,5	0,610	24,5	3,6
18	9,5	7,0	77,0	0,638	23,0	3,8
19	10,0	7,0	78,5	0,667	21,5	4,0
20	7,0	80,5	0,709	19,5	...

I-T: Absorvência
A : Absorbância
T : Transmitância

valores obtidos para a reta de calibração.

Os resultados do doseamento do medicamento constam na Tabela IV.

A Tabela V apresenta o resumo da análise estatística dos dados obtidos no doseamento do medicamento, através do método colorimétrico.

Nas experiências para verificar a interferência dos íons citrato, lactato e cloreto, não foram observadas diferenças significativas nos resultados encontrados.

O tratamento estatístico para os resultados do doseamento do medicamento estudado foi o seguinte:

$$\text{cálculo do desvio padrão: } s(\bar{\Delta}) = \sqrt{s^2(\bar{\Delta})}$$

TABELA II. VALORES PARA O CÁLCULO DA RETA DE CALIBRAÇÃO.

X ABSORBÂNCIA	Y µg/ml	x ²	y ²	xy
0,232	1,4	0,053824	1,96	0,3248
0,259	1,6	0,067081	2,56	0,4144
0,279	1,8	0,077841	3,24	0,5022
0,318	2,0	0,101124	4,00	0,6360
0,351	2,2	0,123201	4,48	0,7722
0,376	2,4	0,141376	5,76	0,9024
0,420	2,6	0,176400	6,76	1,0920
0,449	2,8	0,201601	7,84	1,2572
0,488	3,0	0,238144	9,00	1,4640
0,530	3,2	0,280900	10,24	1,6960
Σ 3,702	23,00	1,461492	56,20	9,0612

TABELA III. RESUMO DOS VALORES OBTIDOS PARA A RETA DE CALIBRAÇÃO PELO MÉTODO DOS MÍNIMOS QUADRADOS.

MÉTODO	b	a	teste significância		Precisão		
			t	a	b'	Absoluta	Relativa
Visível	6,0058278	0,0766425	0,07431184	n/signif.	6,1999655	0,0208	0,10078

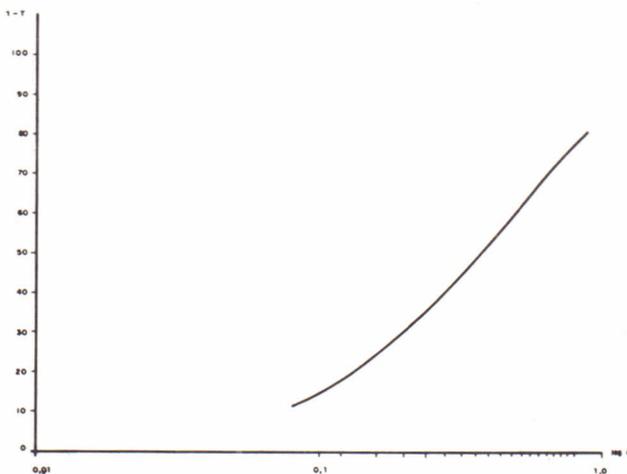


Figura 1. Curva de Ringbom para o fosfato, a 830 nm.

TABELA IV. RESULTADOS DO DOSEAMENTO DO MEDICAMENTO CONTENDO 177,5 mg/25 ml DE FOSFATO DISSÓDICO.

AMOSTRA	T	A	VALORES ENCONTRADOS			
			X mg/25ml	Δ	Δ^2	%
1	23,0	0,638	182,79340	5,2934	28,020084	102,98219
2	23,5	0,628	180,11855	2,61855	6,8568041	101,47523
3	23,0	0,638	182,79340	5,2934	28,020084	102,98219
4	24,5	0,610	174,93544	-2,56456	6,576968	98,555177
5	24,0	0,619	177,50000	0,00000	0,000000	100,00000
6	24,5	0,610	174,93544	-2,56456	6,576968	98,555177
7	25,0	0,602	172,42268	-5,07732	25,779178	97,139538
8	24,5	0,610	174,93544	-2,56456	6,576968	98,555177
9	24,5	0,610	174,93544	-2,56456	6,576968	98,555177
10	24,0	0,619	177,50000	0,00000	0,000000	100,00000
PADRÃO	4,0	0,619	177,50000	0,00000	0,000000	100,00000

T : Transmitância

A : Absorvância

X : Valores das leituras individuais.

Δ : Diferença entre o valor encontrado pelo doseamento e o valor teórico na tomada de ensaio.

TABELA V. RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS OBTIDOS, ATRAVÉS DO DOSEAMENTO DO FOSFATO DISSÓDICO, EM MEDICAMENTOS REHIDRATANTES, PELO MÉTODO COLORIMÉTRICO.

MEDICAMENTO	TESTE	VÍCIO ABSOLUTO		VÍCIO	PRECISÃO
	t	MÉDIA EXPER.	INTERVALO	RELATIVO %	RELATIVA %
REHIDRATANTE	0,1888187 não signif.	-213021	0,213021± 2,5517106	0,120156	2,0121576

$$\text{cálculo de "t" student: } t = \frac{\bar{\Delta}}{s(\bar{\Delta})}$$

vício absoluto: média experimental das diferenças entre os valores esperados e encontrados: $\Delta \frac{\sum \Delta}{n}$

intervalo do vício verdadeiro para probabilidade de 95%:
 $\bar{\Delta} \pm 2,262 s(\bar{\Delta})$

$$\text{cálculo do vício relativo } 100 \cdot \frac{\bar{\Delta}}{\bar{X}}$$

DISCUSSÃO

Embora o método de azul de molibdênio, para doseamento de fósforo, tenha sido descrito há bastante tempo, não encontramos na literatura informações mais detalhadas sobre os principais parâmetros

espectrofotométricos.

Os resultados experimentais mostraram excelente relação entre a absorvância e concentração.

A determinação de Curva Ringbom possibilitou a definição exata do intervalo de concentração no qual o método é válido.

A aplicação do método no medicamento analisado, não sofreu interferência dos íons cloreto, citrato e lactato. Provavelmente, neste caso, a concentração dos íons não foi suficiente para provocar algum tipo de interferência.

Por outro lado, a grande sensibilidade do método não comprometeu a exatidão e a precisão, ao contrário do que ocorre com outros métodos.

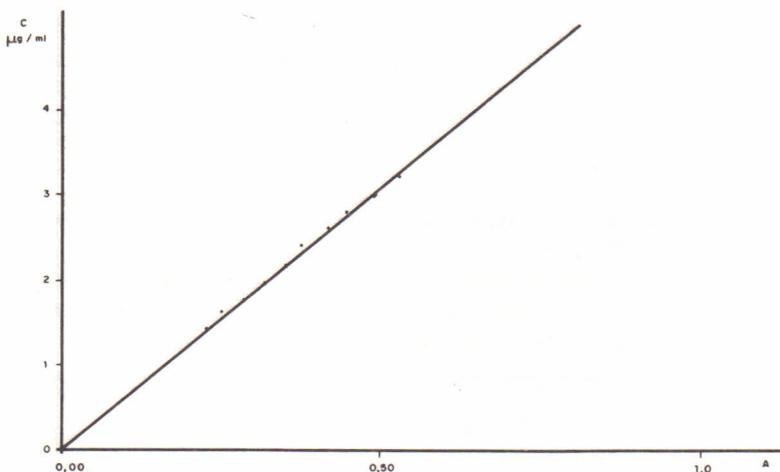


Figura 2. Reta de calibração para o fósforo a 830 nm.

CONCLUSÕES

Nas condições experimentais do presente trabalho, conclui-se que:

no método do azul de molibdênio para doseamento de fósforo, o espectro de absorção apresenta um pico de máxima bem definido em 830 nm;

o intervalo de concentração, no qual o método é válido, está entre 1,4 a 3,2 μg de fósforo;

não houve interferência das concentrações de íons cloreto, lactato e citrato presentes no medicamento analisado;

o método pode ser aplicado para a análise de fósforo em preparações reidratantes, conforme ficou demonstrado ao longo deste trabalho.

BIBLIOGRAFIA CITADA*

1. AMADOR, E. & URBAN, J., *Clin. Chem.*, 18, 601 (1972).
2. BARTLETT, G.R., *J. Biol. Chem.*, 234, 466 (1959).
3. CROUCH, S.R. & MALMSTADT, H.V., *Anal. Chem.*, 39, 1085 (1967).
4. DALY, J.A. & ERTINGSHAUSEN, G., *Clin. Chem.*, 18, 263 (1972).
5. DICKMAN, S.R. & BRAY, R.H., *Ind. Eng. Chem.*, 12, 665 (1940).
6. DONALD, R., SCHWEHR, E.W. & WILSON, H.N., *J. Sci. Food*, 7, 677 (1956).
7. DREWES, P.A., *Clin. Chem Acta*, 39, 81 (1972).
8. GARRAT, D.C. *The Quantitative Analysis of Drugs*, Chapman & Hall, 3rd. ed., London, 1964, p.528.
9. KIRK PATRICK, D.S. & BISHOP, S.H., *Anal. Chem.*, 43, 1707 (1971).
10. MORIN, L.G. & PROX, J., *Clin. Chem. Acta*, 46, 113 (1973).
11. MORRIS, H.J. & CALVARY, H.O., *Ind. Eng. Chem.*, 9, 447 (1937).
12. OHLWEILLER, O.C. *Teoria e Prática de Análise Quantitativa Inorgânica*, Ed. Brasília, Brasília, 1968, p. 1006.
13. SCHAFFER, F.L., FONG, J. & KIRK, P.L., *Anal. Chem.*, 25, 343 (1953).
14. SEE, Y.P. & FITT, P.S. *Anal. Biochem.*, 49, 430 (1972).
15. SHAW, M.C., *Anal. Biochem.*, 44, 288 (1971).
16. WEETMAN, D.A., KENNEDY, J.F., *Anal. Chem. Acta*, 55, 448 (1971).

Recebido em agosto, 1980; aceito em outubro, 1980.

* Normas segundo IUPAC

