



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
CAMPUS DE CUITÉ

THÉCIA VIVIANE DE OLIVEIRA SANTOS SILVA

**AVALIAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE
GLICOSE E CLORETO DE SÓDIO EM SOROS**

CUITÉ - PB
2013

THÉCIA VIVANE DE OLIVEIRA SANTOS SILVA

**AVALIAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE
GLICOSE E CLORETO DE SÓDIO EM SOROS**

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Graduação em Farmácia da
Universidade Federal de Campina Grande,
como requisito parcial para obtenção do título
de Bacharelado em Farmácia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Denise Domingos da Silva

CUITÉ-PB

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE

Responsabilidade Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

S586a Silva, Thécia Viviane de Oliveira Santos.

Avaliação de metodologia analítica para determinação de glicose e cloreto de sódio em soros. / Thécia Viviane de Oliveira Santos Silva. – Cuité: CES, 2013.

44 fl.

**Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) –
Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2013.**

Orientadora: Denise Domingos da Silva

1. Soro - avaliação. 2. Glicose – soro. 3. Cloreto de sódio - soro. I.
Título.

CDU 615.1

FICHA CATALOGRÁFICA

A ser elaborada pela Biblioteca do Centro de Educação e Saúde (CES), *Campus Cuité*.

THÉCIA VIVANE DE OLIVEIRA SANTOS SILVA

**AVALIAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE
GLICOSE E CLORETO DE SÓDIO EM SOROS**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia do Centro de Educação e Saúde (CES), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), como requisito parcial para obtenção do título de Bacharelado em Farmácia.

Aprovada em 17/04/2013

BANCA EXAMINADORA

Prof^a.Dr^a. Denise Domingos da Silva (Orientadora)

Prof^aDr^a. Marta Maria da Conceição - UFCG

Prof^o. Dr^o. Wylly Araújo de Oliveira - UFCG

DEDICO

De modo especial, á minha mãe, com dedicação e amor, por me ensinar os valores como honestidade, respeito e confiança em Deus, atuando de forma fundamental para que pudesse concluir este curso. Ao meu esposo, por me encorajar sempre, mostrando que a educação é a base fundamental para a realização de nossos objetivos e as minhas filhas Ester Maria Pereira de Oliveira e Maria Eloá Pereira de Oliveiras por serem minha maior inspiração durante todo o curso.

AGRADECIMENTOS

À Deus em primeiro lugar por proporcionar-me o dom da vida e a capacidade intelectual de compreender a ciência como parte da sua criação divina, e por vencer em meu lugar todos os obstáculos durante todo o curso.

À minha mãe Maria José Flora de Oliveira pela ajuda indispensável ao cuidar das minhas filhas para poder me deslocar à Universidade todos os dias. Muito Obrigada.

Ao meu pai Rosinaldo Pereira dos Santos por estar sempre disposto a me levar a Universidade nos momentos em que precisei.

Ao meu esposo Edigar Pereira da Silva pela paciência, compreensão e apoio nas horas em que precisei de tempo disponível para a realização de meus trabalhos acadêmicos.

À Prof^a. Dr^a. Denise Domingos da Silva, pela honrosa orientação, as quais foram cheias de idéias preciosas. Pela dedicação, compreensão, amizade e estímulos indispensáveis nos momentos difíceis de desenvolvimento da pesquisa e elaboração desse trabalho.

À Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) pelo apoio para a realização do Trabalho.

À coordenação do curso de Farmácia na pessoa do Prof^o. Dr^o. Egberto, e seu corpo docente por transmitirem o conteúdo do curso de Farmácia de maneira coerente e admirável, os quais contribuíram na realização do curso.

Ao meu amigo Jetro Lopes da Cruz pela paciência na ajuda da construção estrutural de todo Trabalho.

Enfim, a todas as pessoas que, de uma forma ou de outra contribuíram para meu sucesso profissional e pessoal, manifesto aqui minha gratidão.

“Até aqui me ajudou o Senhor”.

Bíblia Sagrada

I Samuel 7.12b

RESUMO

O presente estudo visou avaliar uma metodologia para quantificar o teor de glicose e cloreto de sódio em soros para maior segurança dos pacientes e, principalmente, para fins de controle de qualidade dos mesmos. O soro fisiológico e o soro glicosado são os soros mais conhecidos pela população, apesar de existir outros tipos de soros. A glicose solução injetável contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_6H_{12}O_6$, sendo uma solução estéril e incolor de glicose anidra ou de glicose monoidratada em água para injetáveis. Não contém agentes antimicrobianos. O soro fisiológico é constituído de cloreto de sódio 0,9% e utiliza como veículo a água destilada. Possui uma concentração de sais em água igual a das células, por isso denomina-se isotônica. O presente estudo visa determinar o teor de glicose nos soros glicosados 5% utilizando um *Kit* laboratorial enzimático, e cloreto nos soros fisiológicos utilizados no município de Cuité-PB através da técnica de espectrofotometria de absorção molecular e da Volumetria de Precipitação, respectivamente. A metodologia envolveu a coleta de amostras de soros glicosado e fisiológico utilizados pelo Hospital Central e pelas principais farmácias na cidade de Cuité e a quantificação do teor de glicose das amostras foi realizada por Espectrofotometria de Absorção Molecular por Padrão Externo e a quantificação do teor de cloreto de sódio por meio da Volumetria de Precipitação, aplicando parâmetros estatísticos sobre os dados coletados. O desenvolvimento deste estudo contribui para verificar se os teores de glicose em soro glicosado e cloreto de sódio em soro fisiológico estudados estão realmente condizentes com os valores nos rótulos nas embalagens. No decorrer de todo o estudo foi constatado concentrações bem próximos das expressas pelos fabricantes nos rótulos dos frascos de cada marca.

Palavras Chaves: soros, metodologia, quantificação.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate a methodology to quantify the amount of glucose and sodium chloride in serum for greater patient safety and especially for control of quality. The saline and dextrose sera are best known by the population, although there are other types of serum. The glucose solution for injection contains at least 95.0% and not more than 105.0% of the declared amount of $C_6H_{12}O_6$, as a colorless sterile solution of anhydrous glucose or glucose monohydrate in water for injection. It contains no antimicrobial agents. The saline solution consists of sodium chloride and 0.9% using distilled water as a vehicle. Has a salt concentration in water equal to the cells, so called isotonic. This study aims to determine the glucose content in the serum glycosylated 5% using an enzymatic kit laboratory, and chloride in physiological serum used in the municipality of Cuité - PB using the technique of Molecular absorption spectrophotometry and Volumetry of rainfall, respectively. The methodology involved collecting samples of serum glucose and physiological used by Central Hospital and major pharmacies in the city of Cuité and quantification of the glucose content of the samples was performed by Molecular Absorption Spectrometry by Default External and quantification of the amount of sodium chloride by Volumetry Precipitation applying statistical parameters of the data collected. The development of this study contributes to verify that the levels of glucose in dextrose and sodium chloride in physiological saline study are consistent with the values actually labels on packages. During the entire study it was found very close to concentrations of expressed by manufacturers on the labels of bottles of each brand.

Keywords: serum, methodology, quantification.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Exemplo de soro glicosado 5%.....	13
Figura 2 - Exemplo de soro fisiológico 0,9%.....	14
Figura 3 - Estrutura da fluoresceína	20
Figura 4 – Rotaevaporador usado como banho-maria.....	26
Figura 5 - Espectrofotômetro SP-220 (Biospectro) e cubetas de quartzo de 10 mm de caminho óptico.....	26
Figura 6 -.Solução fisiológica após titulação. Observa-se o ponto de viragem.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Volume x densidade calórica.....	8
Tabela 2 - Sugestão para administração de eletrólitos em crianças.....	9
Tabela 3 - Absorbâncias e concentrações do padrão da glicose.....	25
Tabela 4 - Tipos de soro glicosado, médias e desvio padrão de cada amostra.....	29
Tabela 5 - Tipos de soros glicosados, suas devidas concentrações em mg e % e os valores de recuperação.....	29
Tabela 6 – Absorbâncias das amostras de soros glicosados obtidas em dia diferente da curva.	20
Tabela 7 - Concentrações das amostras de soro glicosado medidas em dia diferente da curva.....	31
Tabela 8 - Tipos de soros fisiológicos e suas devidas concentrações.....	31

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Exemplo de Curva de Calibração por Padrão Externo.....	22
Gráfico 2 - Curva de Calibração por Padrão Externo com os devidos valores de absorbância e concentrações do Padrão da glicose:	28
Gráfico 3 - Concentrações dos soros glicosados	33
Gráfico 4 - Concentrações dos soros fisiológicos.....	33

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	Erro! Indicador não definido.
2.1 Objetivo Geral	10
2.2 Objetivos Específicos	10
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
3.1 Glicose.....	11
3.2 Soro Glicosado	13
3.3 Soro Fisiológico	14
3.4 Metodologias para determinação da glicose:	15
3.4.1 Espectroscopia de Absorção Molecular (E.A.M).....	16
3.4.1.1 Aplicação da Lei de Beer	17
3.4.1.2 Limitações da Lei de Beer.....	18
3.5 Metodologia para Determinação de cloreto de sódio (NaCl).....	18
3.5.1 Titulometria.....	18
3.5.2 Titulometria de Precipitação	18
3.5.2.1 Método de Mohr: Íon Cromato - formação de um precipitado colorido.....	19
3.5.2.2 Método de Fajans: Indicadores de adsorção.....	20
3.5.2.3 Método de Volhard : Íons Ferro (III)	21
3.5.3 Curva de Calibração por Padrão Externo	21
3.6 Controle de Qualidade.....	22
4. METODOLOGIA	24
4.1 Processo de Amostragem	24
4.2 Determinação do teor da glicose no soro glicosado	24
4.2.1 Construção da curva de Calibração por Padrão Externo	25
4.3 Determinação do teor de cloreto de sódio nos soros fisiológicos	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
5.1 Soro Glicosado	28
5.1.1 Determinação do Soro Glicosado considerando a análise das amostras em dias diferentes da Curva de Calibração	30
5.2 Soro Fisiológico	31
6. CONCLUSÃO	34
7. REFERÊNCIAS	35

1. INTRODUÇÃO

Desde a internação hospitalar para esclarecer diagnóstico até o momento da alta, o soro está presente em todos os procedimentos - sempre na forma injetável. Estima-se que 85% da população internada em um hospital esteja ligada a um soro. O uso disseminado do soro faz com que a cada dia se torne mais rigoroso seu processo de produção. Os próprios fabricantes, reunidos na Associação Brasileira de Produtores de Soluções Parenterais (ABRASP), participaram ativamente da elaboração da Portaria nº 500, de 9 de outubro de 1997, que estabelece as normas e procedimentos para a produção de Soluções Parenterais. Desde que a portaria entrou em vigor, o setor investiu cerca de 40 milhões de dólares para se adequar às novas exigências. São vários e diferentes tipos de soro, embora os mais conhecidos do público leigo sejam o soro fisiológico e o soro glicosado. Os fabricantes de Soluções Parenterais do país, que produzem cerca de 25 milhões de litros de soro por mês, são orientados pela Portaria nº 500 em toda etapa da produção de cada tipo de soro. A introdução da matéria prima nos almoxarifados da empresa é acompanhada da aplicação rigorosa das cGMPs (Boas Práticas de Fabricação e Controle- Legislação Oficial). A fábrica passa por uma inspeção anual do Sistema de Vigilância Sanitária, que concede o alvará para seu funcionamento (HALEXISTAR, 2012).

Segundo Gastaldi *et al*, (2009), frente a necessidade de se fornecer alimentos para pacientes com dificuldade de ingestão pelas vias fisiológicas, foram feitas, ao longo da história, várias tentativas desta complementação. Houve tentativas de se infundir alimentos preparados por via retal, a infusão de alimentos por via parenteral (em especial, com leite materno ou de vaca). Porém todas estas tentativas apresentaram alguma forma de complicação, ou mostraram-se inviáveis. No Brasil, a Portaria 272/98 regulamenta a Terapia de Nutrição Parenteral (TNP). Esta Portaria estabelece a necessidade da atividade em equipe, definindo responsabilidades, âmbitos de atuação e as Boas Práticas em TNP. Recomendamos sua detalhada leitura, para que se cumpram os itens exigidos por ela. A nutrição parenteral é necessária nos casos em que a alimentação oral normal não é possível, quando a absorção de nutrientes é incompleta, quando a alimentação oral é indesejável e, principalmente, quando as condições mencionadas estão associadas, ou podem evoluir para um estado de desnutrição. A nutrição parenteral total (NPT) consiste em: Solução ou emulsão composta basicamente de carboidratos, aminoácidos, lipídios, vitaminas e minerais, estéril e apirogênica, acondicionada

em recipiente de vidro ou plástico, destinada a administração intravenosa em pacientes desnutridos ou não, em regime hospitalar, ambulatorial ou domiciliar, visando à síntese ou manutenção dos tecidos, órgãos ou sistemas (Portaria-272 – abril 98). Temos vários tipos de soluções para a nutrição parenteral, mas enfocaremos as soluções de glicose e cloreto de sódio:

- **Soluções de glicose:** As soluções contendo glicose são uma excelente opção, por ser uma fonte calórica pronta para utilização (independe de prévia metabolização) e é a única que pode ser utilizada de forma exclusiva. As soluções de glicose possuem uma densidade calórica de cerca e 3,4 Kcal/g de glicose monohidratada. Outra vantagem da solução de glicose é a de ser facilmente encontrada e ser barata. Para se infundir a necessidade diária calórica para um paciente, temos de empregar soluções de elevada concentração (50 – 70%), a fim de se evitar um excesso de volume hídrico das soluções de baixa concentração provocaria. Isto se aplica a pacientes em estado intermediário a grave, que ficará internado por tempo considerável. Na tabela 1 observa – se a relação: volume X densidade calórica:

Tabela 1 - Volume X densidade de calórica.

GLICOSE (%)	Kcal/L
5	170
10	340
20	680
30	1020
40	1360
50	1700
60	2040
70	2380

Fonte: Gastaldi *et al* ,2009.

- **Soluções de eletrólitos:** A adição dos eletrólitos deve atender as necessidades diárias para manter íntegros os processos fisiológicos intra e extracelulares. Na tabela 2 uma indicação de recomendação de eletrólitos. Recomenda-se a consulta a tabelas apropriadas, tais como da American Medical Association (AMA) para cada faixa etária e patologia associada, para certificar-se da necessidade de que cada paciente possa ter.

Tabela 2: Sugestão para administração de eletrólitos em crianças

ELETRÓLITOS	NECESSIDADES BASAIS (mEq/Kg)
Sódio	2 a 4
Potássio	2 a 3
Cloro	2 a 3
Magnésio	0,3 a 2
Cálcio	0,5 a 2
Fósforo	0,5 a 2

Fonte: Gastaldi *et al*, 2009.

O presente estudo objetivou determinar o teor de glicose em soro glicosado 5% e de cloreto de sódio em soro fisiológico utilizados no município de Cuité através da técnica de espectrofotometria de absorção molecular e volumetria de precipitação para maior segurança dos pacientes e, principalmente, para fins de controle de qualidade dos mesmos. Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Química Analítica da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Cuité-PB.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Identificar o teor de glicose em soros glicosados e o teor de NaCl em soros fisiológicos utilizados no município de Cuité-PB para averiguar a concentração presente utilizando as técnicas de Espectrofotometria de Absorção Molecular (E.A.M) e Volumetria;

2.2 Objetivos Específicos

- Selecionar amostras de soros glicosados e fisiológicos utilizados no Hospital Nossa Senhora das Mercês farmácias centrais do Município de Cuité;
- Avaliar metodologias analíticas para as determinações dos soros;
- Utilizar testes analíticos quantitativos para a identificação da glicose e do cloreto de sódio por meio da Espectrofotometria de Absorção molecular (EAM) e da Volumetria de Precipitação, respectivamente;
- Construir uma curva de calibração por padrão externo para se obter as concentrações das amostras dos soros glicosados;
- Quantificar o teor de glicose dos soros glicosados e de cloreto de sódio dos soros fisiológicos consumidos pela população do município de Cuité.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Glicose

Os carboidratos são as moléculas orgânicas mais abundantes na natureza. Eles possuem uma grande variedade de funções, as quais incluem o fornecimento de uma fração significativa da energia na dieta da maioria dos organismos e a atuação como uma forma de armazenamento de energia no corpo e como componentes da membrana celular, mediante algumas formas de comunicação intracelular. Sua fórmula mais simples é $(\text{CH}_2\text{O})_n$. Os monossacarídeos (açúcares simples) podem ser classificados de acordo com o número de átomos de carbono que contém. A glicose é um exemplo deste grupo de monossacarídeos, contendo seis carbonos em sua estrutura (hexose). Os monossacarídeos podem ligar-se por ligações glicosídicas, criando estruturas maiores como os dissacarídeos, que contém duas unidades de monossacarídeos; os oligossacarídeos contêm cerca de 3 a 12 unidades de monossacarídeos e os polissacarídeos contêm mais de 12 unidades de monossacarídeos, podendo chegar a centenas de unidades de açúcares em sua estrutura (CHAMPE, 2006).

Segundo Motta (2009), a glicose é a aldo-hexose mais importante para a manutenção energética do organismo. Em condições normais, a glicemia é mantida em teores apropriados por meio de vários mecanismos regulatórios. Após uma refeição contendo carboidratos, a elevação da glicose circulante provoca:

- Remoção pelo fígado de 70% da glicose transportada via circulação porta. Parte da glicose é oxidada e parte é convertida em glicogênio para ser utilizada como combustível no jejum. O excesso de glicose é parcialmente convertido em ácidos graxos e triglicerídeos incorporados às VLDL (lipoproteínas de densidade muito baixa) e transportado para os estoques do tecido adiposo.
- Secreção de insulina pelas células beta do pâncreas. Entre os tecidos insulino-dependentes estão os tecidos muscular e adiposo, o diafragma, a aorta, a

hipófise anterior, as glândulas mamárias e a lente dos olhos. Outras células, como aquelas do fígado, cérebro, eritrócitos e nervos, não necessitam insulina para captação de glicose (insulino independentes).

- Aumento da captação de glicose pelos tecidos periféricos.
- Inibição da liberação de glucagon.
- Outros hormônios (adrenalina, hormônio do crescimento, glicocorticóides, hormônios da tireóide) e enzimas, além de vários mecanismos de controle, também atuam na regulação da glicemia.

Essas atividades metabólicas levam a redução da glicemia em direção aos teores encontrados em jejum. Quando os níveis de glicose no sangue em jejum estão acima dos valores referência, denomina-se hiperglicemia, quando abaixo desses valores, hipoglicemia.

A glicose é normalmente filtrada pelos glomérulos e quase totalmente reabsorvida pelos túbulos renais. Entretanto, quando os teores sanguíneos atingem a faixa de 160 a 180 mg/ dL, a glicose aparece na urina, com o surgimento de glicosúria.

Em todas as células, a glicose é metabolizada para produzir ATP e fornecer intermediários metabólicos necessários em vários processos biossintéticos. (MOTTA, 2009)

Segundo Pereira (2008), a glicose é o único hidrato de carbono circulante no sangue. Outros monossacarídeos (frutose e galactose) podem ser encontrados transitoriamente no sangue após a alimentação, sendo transformados em glicose no fígado. A glicose sanguínea é oriunda praticamente de:

- Digestão de polissacarídeos (amido) e de dissacarídeos (lactose, sacarose);
- Conversão dos ácidos aminados e do glicerol das gorduras em glicose;
- Hidrolise do glicogênio hepático, etc.

De maneira geral, podemos dizer que os carboidratos representam a principal fonte de energia da dieta animal; uma vez ingeridos, sofrem a ação de enzimas digestivas, transformando-se em monossacarídeos, sendo a glicose o principal. (PEREIRA, 2008).

3.2 Soro Glicosado

O soro glicosado é uma solução aquosa contendo 5% em massa de glicose $C_6H_{12}O_6$ e isotônica em relação ao sangue, apresentando densidade aproximadamente igual a 1gmL^{-1} (VUNESP, 2004).

Segundo a Farmacopéia Brasileira (2010), a glicose solução injetável contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_6H_{12}O_6$. É uma solução estéril e incolor de glicose anidra ou de glicose monoidratada em água para injetáveis. Não contém agentes antimicrobianos (Figura 1).

Figura 1 – Exemplo de soro glicosado 5%.



Fonte: Dados da pesquisa

3.3 Soro Fisiológico

O soro fisiológico é constituído do composto cloreto de sódio 0,9% e utiliza como veículo a água destilada. É uma solução de concentração de sais em água igual das células, por isso denomina-se isotônica. As soluções de cloreto de sódio 0,9% são indicadas, tanto para uso oral, parenteral ou tópico (Figura 2). Sendo que é utilizada oralmente ou parenteralmente no tratamento ou profilaxia da deficiência dos íons sódio e/ou cloreto, na reposição do fluido em desidratação e veículo isotônico ou diluente para administração parenteral de drogas compatíveis. Já topicamente destina-se ao cuidado de lesões da pele ou membranas mucosas, alívio da congestão nasal, redução do edema córneo, limpeza de cavidades na odontologia, e ainda como complementação da higienização de lentes de contato (RATTI, 2011).

Figura 2: Exemplo de soro fisiológico 0,9%



Fonte: Dados da pesquisa

3.4 Metodologias para determinação da glicose:

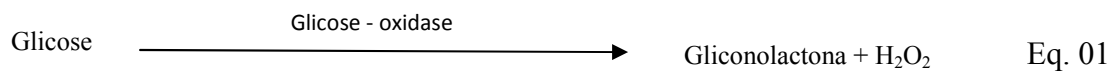
Basicamente os métodos existentes para determinação da glicose estão incluídos em duas categorias (PEREIRA, 2008):

- Métodos Químicos – Espectrofotometria de Absorção Molecular e Infravermelho;
- Métodos Enzimáticos – (GOD e POD) e (G-6-PD)

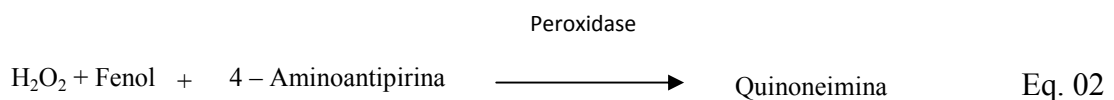
Métodos enzimáticos: são hoje os mais utilizados. Temos atualmente dois métodos enzimáticos para determinação da glicose.

- Método da glicose – oxidase e peroxidase (GOD – POD)

É específica para a glicose, com uma única exceção que é sua ação sobre a 2 – desoxi-D-glicose. A glicose – oxidase oxida a glicose segundo a reação:



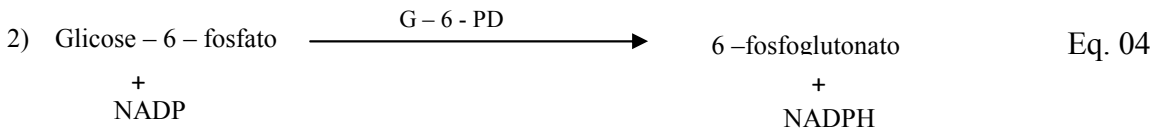
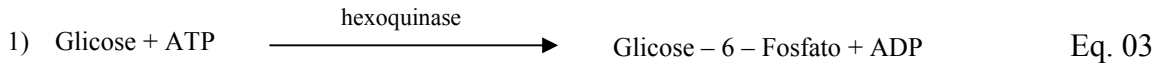
O peróxido de hidrogênio formado é determinado usando-se a reação de Trinder:



Este método é conhecido como GOD – POD porque utiliza as enzimas glicose – oxidase e peroxidase. É importante salientar que a glicose – oxidase tem pequena ação sobre a Alfa – glicose, tornando-se necessária a presença da enzima mutarrotase para transformá-la em B-glicose; esta rotação é afetada pelo pH e pelo aumento da temperatura.

- Método da hexoquinase e da glicose – 6 P – desidrogenase(G-6-PD)

Estas enzimas transformam a glicose em 6 – fosfogluconato segundo as reações:



Esse método fornece resultados semelhantes ao método da glicose – oxidase

3.4.1 Espectroscopia de Absorção Molecular (E.A.M)

Segundo Harris (2005), a Espectrofotometria de Absorção Molecular é um método instrumental analítico usado para diversas determinações, inclusive na caracterização de compostos orgânicos e inorgânicos. O espectrofotômetro faz uma leitura dos níveis de frequência absorvido pela substância analisada (absorbância), podendo determinar grupos funcionais, concentração de metais e estruturas moleculares.

A espectrofotometria pode ser dividida em duas técnicas principais:

- *Espectrometria de Absorção Molecular*: baseia-se na medida de transmitância (T) ou de absorbância (A) de uma solução. É importante para a determinação quantitativa de compostos contendo grupos absorventes, seja na região do ultravioleta (200 a 400 nm), seja na região do espectro visível (400 a 780 nm). Para os compostos inorgânicos, as absorções de energia deformam a estrutura eletrônica dos compostos em consequência da excitação de elétrons que transitam em seus orbitais. Quando retornam aos seus orbitais de origem, os elétrons liberam um fóton de energia, absorvido em alguma região do espectro. O sinal é detectado pelo aparelho em termos de absorbância ou transmitância.
- *Espectrofotometria do Infra-Vermelho*: Estudam compostos que absorvem radiação na região do espectro invisível (infravermelho). Por não ter energia

suficiente para excitar elétrons, a radiação IV faz com que átomos ou grupos de átomos vibrem com maior rapidez e amplitude. Compreende, principalmente, o estudo dos compostos orgânicos.

A espectrometria de absorção molecular é baseada Lei de Beer-Lambert, que se trata de uma relação empírica que, na óptica, relaciona a absorção de luz com as propriedades de material analisado.

Após uma série de cálculos, agrupando todas as constantes, temos a Lei de Beer na seguinte equação:

$$\text{Log}(P_0/P) = \epsilon bc = A$$

Onde:

A= absorbância;

ϵ = absortividade da molécula;

c= concentração da substância;

P= radiação incidente

P₀ = radiação transmitida

3.4.1.1 Aplicação da Lei de Beer

A lei de Beer também aplica-se a um meio contendo mais de uma espécie de substâncias absorventes. Pressupondo – se que não haja interações entre as várias espécies, a absorbância total para um sistema com múltiplos componentes é dada por: $A_{\text{total}} = A_1 + A_2 + \dots + A_n$, onde os subscritos se referem aos absorventes 1, 2, ...n.(SKOOG, 2002)

3.4.1.2 Limitações da Lei de Beer

Poucas exceções são encontradas para a generalização de que a absorvância está relacionada linearmente com o caminho óptico. Por outro lado, desvios da proporcionalidade entre a absorvância medida e a concentração quando b é constante são encontrados freqüentemente. Alguns desses desvios são fundamentais e representam limitações reais da lei. Outros ocorrem como consequência da maneira como as medidas de absorvância são feitas ou como resultado de mudanças químicas associadas com variações de concentração; estas duas últimas são conhecidas, respectivamente, como desvios instrumentais e desvios químicos. (SKOOG, 2002)

3.5 Metodologia para Determinação de cloreto de sódio (NaCl)

3.5.1 Titulometria

As titulações são amplamente utilizadas para determinar ácidos, bases, oxidantes, redutores, íons metálicos, proteínas e muitas outras espécies. As titulações são baseadas em uma reação entre o analito e um reagente padrão conhecido como titulante. O volume, ou a massa, do titulante, necessário para reagir essencial e completamente com o analito, é determinado e usado para obter a quantidade do analito. Em uma titulação, a solução padrão é adicionada de uma bureta e a reação ocorre em um frasco Erlenmeyer. Em qualquer titulação, o ponto de equivalência química, experimentalmente chamado ponto final, é assinalado pela variação da cor de um indicador ou da resposta de instrumento (SKOOG, 2006)

3.5.2 Titulometria de Precipitação

Esse método analítico fundamenta-se em reações químicas em que, no ponto de equivalência, se formam quantitativamente produtos pouco solúveis. A argentometria é o principal método titulométrico de precipitação que tem por objetivo dosear substâncias

precipitáveis pelo nitrato de prata, utilizado como titulante, solução padrão desse composto. A argentometria se distingue em direto; onde a substância dosável é titulada com solução padrão de nitrato de prata até o ponto de equivalência que se identifica ou pelo uso de indicadores ou pela adição de nitrato de prata até não mais observar formação de precipitado, e indireto; que consiste em precipitar o haleto com excesso de nitrato e titular esse excesso em meio ácido com solução titulante auxiliar de tiocianato de amônio, usando Fe^{3+} como indicador (GIL, 2010).

A análise volumétrica refere-se a todo procedimento em que se mede o volume de um reagente usado para reagir com um analito (HARRIS, 2005).

3.5.2.1 Método de Mohr: Íon Cromato - formação de um precipitado colorido

Segundo MENDHAN (2008), os processos de precipitação mais importantes na análise titrimétrica utilizam o nitrato de prata como reagente. Este método pode ser ilustrado pelo procedimento de Mohr para a determinação do cloreto e brometo. Na titulação de uma solução neutra de, por exemplo, íons cloreto com nitrato de prata, adicionam-se uma pequena quantidade de solução de cromato de potássio para servir como indicador. Os íons cromato combinam-se com os íons prata para formar cromato de prata, de cor vermelha e pouco solúvel. As reações envolvidas são as seguintes:



Então, após a precipitação do Cl^- (íon cloreto) como AgCl (cloreto de prata) ocorre a precipitação do Ag_2CrO_4 (cromato de prata), um precipitado vermelho, que indica o ponto final da reação. Este é o fundamento do método. (BACCAN, 2001).

A concentração do íon cromato (CrO_4^{2-}) requerida para iniciar a formação do cromato de prata sob essas condições pode ser computada a partir da constante de solubilidade para o cromato de prata. Então, a princípio, o íon cromato deve ser adicionado em uma quantidade na qual o precipitado vermelho apareça apenas após o ponto de equivalência. Na verdade, entretanto, uma concentração de íons cromato de $6,6 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ confere à solução uma intensa cor amarela, de maneira que a formação do cromato de prata vermelho não pode ser

prontamente detectada e por, por essa razão, concentrações menores de íons cromato são geralmente utilizadas. Como consequência, um excesso de nitrato de prata é necessário antes que a precipitação se inicie. Um excesso adicional de reagente também deve ser adicionado para produzir cromato de prata suficiente para ser visto. Esses dois fatores geram um erro sistemático positivo no método de Mohr que se torna significativa em concentrações de reagentes menores que $0,1 \text{ mol. L}^{-1}$. A titulação de Mohr deve ser realizada em pH de 7 a 10 porque o íon cromato é a base conjugada do ácido crômico fraco (SKOOG *et al*, 2006).

3.5.2.2 Método de Fajans: Indicadores de adsorção

Um indicador de adsorção é um composto orgânico que tende a ser adsorvido sobre a superfície do sólido em uma titulação de precipitação. Idealmente, a adsorção ocorre próximo do ponto de equivalência e resulta não apenas em uma alteração de cor, como também em uma transferência de cor da solução para o sólido (ou vice-versa). A fluoresceína (Figura 3) é um indicador de adsorção típico, que é útil para a titulação do íon cloreto com nitrato de prata. Em solução aquosa, a fluoresceína se dissocia parcialmente em íons hidrônio e íons fluoresceinato negativamente carregados que são verde – amarelados. O íon fluoresceinato forma um sal de prata de cor vermelha intensa. É importante enfatizar que a alteração da cor é um processo de adsorção (e não uma precipitação), porque o produto de solubilidade do fluoresceinato de prata nunca é excedido. As titulações que envolvem os indicadores de adsorção são rápidas, precisas e seguras, mas sua aplicação é limitada (SKOOG *et al*, 2006).

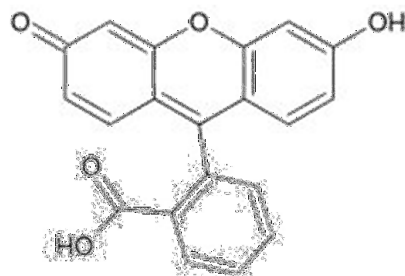


Figura 3: Estrutura da fluoresceína

Fonte: SKOOG *et al*, 2006.

3.5.2.3 Método de Volhard : Íons Ferro (III)

Segundo SKOOG *et al*, (2006), no método de Volhard, os íons prata são titulados com uma solução padrão do íon tiocianato:



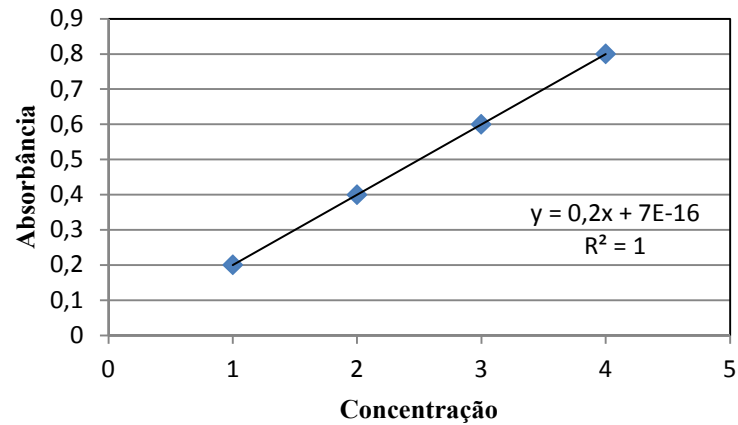
O íon ferro (III) serve como indicador. A solução torna-se vermelha com um leve excesso de íon tiocianato:



A titulação deve ser realizada em solução ácida para prevenir a precipitação dos íons ferro (III) como hidróxido. A mais importante aplicação do método de Volhard é na determinação indireta dos íons haleto. Um excesso medido de solução de nitrato de prata padrão é adicionado a uma amostra, o excesso de prata é determinado por retrotitulação com uma solução padrão de tiocianato.

3.5.3 Curva de Calibração por Padrão Externo

Emprega-se padrão externo para calibrar instrumentos e procedimentos quando não há efeitos interferentes advindos dos componentes da matriz presentes na solução do analito. A calibração é realizada pela obtenção do sinal de resposta (absorbância, área de pico) como função da concentração conhecida do analito. A curva de calibração (curva analítica) é preparada construindo-se um gráfico a partir dos dados ou ajustando-os a uma equação matemática adequada (mínimos quadrados). Com os dados obtidos da curva de calibração é possível obter uma equação de reta e assim fazer previsões de concentração desconhecida do analito a partir de uma resposta do instrumento de medição (PAULA, 2012) como mostra o exemplo a seguir (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Exemplo de Curva de Calibração por Padrão Externo:

Fonte: www.scielo.br

3.6 Controle de Qualidade

Soros glicosados e fisiológicos são Soluções Parenterais de Grande Volume (SPGV), ou seja, são preparações com conteúdo igual ou superior a 100 ml de acordo com a portaria 500/97 e classificadas como Medicamentos Específicos que são medicamentos à base de vitaminas e/ou minerais e/ou aminoácidos, isoladas ou associadas entre si, com pelo menos um dos componentes acima dos limites nutricionais estabelecidos pela RDC 269/05; (MACHADO, 2006/2007).

A Garantia ou Controle de Qualidade é, sem dúvida, uma disciplina rígida e sistemática que tende frequentemente, a causar certa repulsa. Entretanto, tamanha rigidez justifica-se pela inerente importância do tema – afinal, qualidade, para os medicamentos, é um atributo de caráter não apenas comercial, mas, também, legal, ético e moral. Assim, enquanto qualidade para muitos produtos, é uma questão de competitividade, no campo da saúde deve ser obrigatoriamente atendida. As especificações de qualidade consideradas imprescindíveis,

se não cumpridas, podem acarretar em sérias complicações. A evolução dos mecanismos de controle de qualidade passou por três fases:

Era da Inspeção, onde os produtos eram verificados um a um, com a participação do cliente, pois o foco estava na detecção dos defeitos, analisando a tendência de gerar erros ou falhas.

Era do Controle Estatístico, surgiu com o advento da revolução Industrial, durante a qual se deu a produção em larga escala. Nessa era os produtos eram amostrados e inspecionados por um departamento especializado, pois a ênfase estava na localização dos defeitos.

Era da Qualidade Total: o processo produtivo é controlado desde a etapa do projeto, visando prevenir defeitos e assegurar a qualidade. Na era da Qualidade Total todos os membros da empresa são responsáveis pela qualidade do produto. A Garantia da Qualidade baseia-se nos princípios da Qualidade Total, sendo necessário o controle de toda a cadeia produtiva – desde a qualificação dos fornecedores até os serviços de atendimento ao consumidor (SAC), que a partir da Lei de Defesa do Consumidor nº 8.078/1990 tornam-se obrigatórios. A Garantia da Qualidade é uma estratégia de diferenciação e de sobrevivência. Garantir a qualidade é primar pela prevenção de defeitos, evitando qualquer retrabalho. Deste modo, a manutenção e melhoria contínua da qualidade permeiam a redução de custos, que por sua vez, é essencial em um mercado cada vez mais competitivo (GIL, 2010).

4. METODOLOGIA

4.1 Processo de Amostragem

Para essa avaliação, foram adquiridas nas principais farmácias e drogarias, além do Hospital Nossa Senhora das Mercês, da cidade de Cuité-PB três diferentes marcas de soros glicosados 5% e de soros fisiológicos 0.9% na fórmula industrializada estéril (sistema fechado). De cada marca foi coletado um frasco com mesma data de fabricação e vencimento. As análises foram realizadas logo após a abertura do produto e, em seguida foram armazenadas em refrigerador.

4.2 Determinação do teor da glicose no soro glicosado

Para essas análises, foi utilizado um kit laboratorial de sistema enzimático para a determinação de glicose por método cinético ou de ponto final (GOD-Trinder). Este sistema é utilizado, principalmente, para dosear glicose em sangue. Também é utilizado em líquido ascítico, pleural e sinovial. Foi pipetada uma alíquota de 5,0 mL do soro glicosado 5% e transferido para um balão volumétrico de 100 mL para formação de uma nova solução, para que as concentrações do analito estivessem dentro da faixa de linearidade da curva de calibração (PEREIRA *et al*, 2012). Em seguida, foram pipetados 2,0 mL do reagente 1 (Contém tampão 50 mmol/L; pH 7,5; glicose oxidase ≥ 11.000 U/L; peroxidase ≥ 700 U/L; 4-aminoantipirina ≥ 290 $\mu\text{mol/L}$; fenol ≥ 1 mmol/L e azida sódica 7,5 mmol/L.) e colocados em 4 tubos de ensaio, sendo um para o branco e os demais para as amostras de soros glicosados. Em cada tubo das amostras foram pipetados 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 mL do padrão (.Contém glicose 100 mg/dL e biocida não tóxico.) e incubados em banho-maria a 37 °C durante 10 minutos.

Em seguida, foram determinadas as absorvâncias das amostras de cada tipo de soro em um Espectrofotômetro SP-220 (Biospectro), em cubetas de quartzo de 10 mm de caminho óptico. Esse procedimento foi feito em triplicata para se obter uma média das absorvâncias de cada amostra analisada.

4.2.1 Construção da curva de Calibração por Padrão Externo

Para a obtenção da curva de calibração, foram pipetadas 2,0 mL do reagente 1 em 5 tubos de ensaio, sendo um para o branco e os demais para os padrões. Em cada tubo dos padrões, foram pipetados 0,01; 0,02; 0,03 e 0,04 mL do padrão e incubados em banho-maria (Figura 4) a 37 °C durante 10 minutos. Em seguida, foram determinadas as absorvâncias das amostras de cada tipo de soro em um Espectrofotômetro SP-220 (Biospectro), utilizando cubetas de quartzo de 10 mm de caminho óptico (Figura 6). Esse procedimento foi feito em triplicata para se obter uma média segura das absorvâncias de cada amostra. As absorvâncias estão descritas na Tabela 3 com os devidos valores de absorvância e concentração.

Tabela 3- Absorvâncias e concentrações do padrão da glicose

Absorvâncias	Concentrações (mL)
0,183	0,01
0,330	0,02
0,493	0,03
0,650	0,04

Fonte: Dados da pesquisa

Figura 4: Rotaevaporador usado como banho-maria



Fonte: Dados da pesquisa

Figura 5: Espectrofotômetro SP-220 (Biospectro) e cubetas de quartzo de 10 mm de caminho óptico.

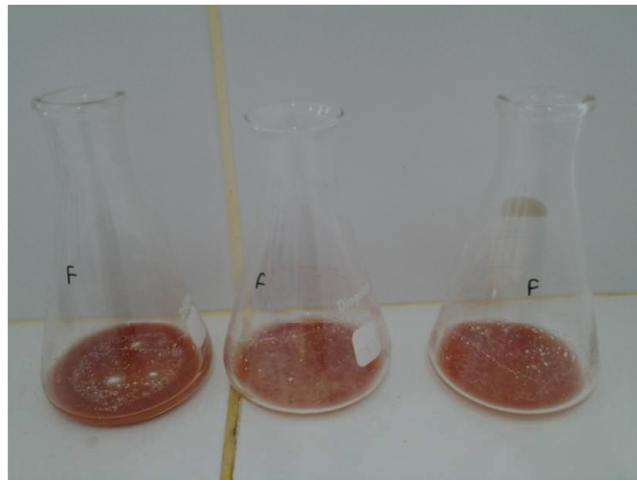


Fonte: Dados pessoais da pesquisa

4.3 Determinação do teor de cloreto de sódio nos soros fisiológicos

Para a determinação do teor de cloreto foram realizados testes baseados no método de Mohr, onde uma alíquota de 5 mL da solução fisiológica 0,9% pipetada de seu frasco original foi adicionada em um Erlenmeyer e em seguida acrescentou-se 2 gotas do indicador cromato de potássio (K_2CrO_4), homogeneizou e titulou-se com uma solução de Nitrato de Prata ($AgNO_3$ 0,1 mol/L⁻¹), agitando vigorosamente durante toda titulação até observar-se o ponto de viragem (Figura 7). Este procedimento foi realizado em triplicata.

Figura 6: Solução Fisiológica após titulação. Observa-se o ponto de viragem.



Fonte: Dados pessoais da pesquisa

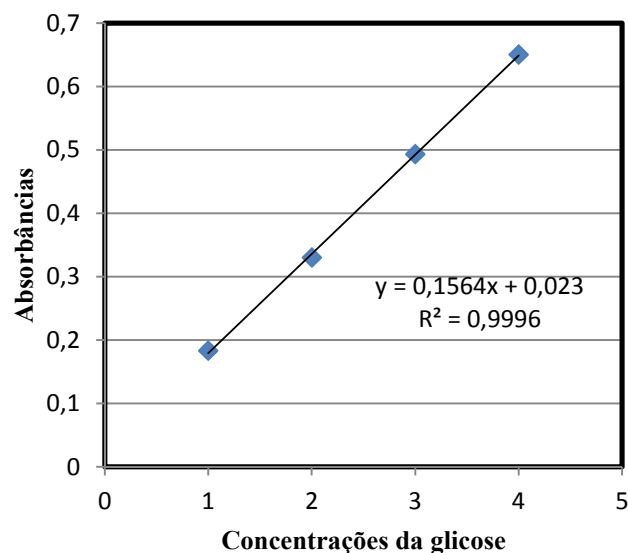
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Soro Glicosado

De acordo com o presente estudo, podemos constatar que o método desenvolvido demonstrou ser capaz de quantificar a glicose em amostras de soro glicosado. Esse método é específico para o analito glicose, pois se trata de um método enzimático, o qual apresenta alta seletividade (PEREIRA *et al*, 2008).

Quando foi feita a leitura no espectrofotômetro das amostras das soluções de soro glicosado de diferentes fabricantes, verificamos que apenas a de volume igual a 0,01 mL não ultrapassou a faixa de linearidade da curva de calibração (Gráfico 2). Então as análises de todas as soluções de soro glicosado foram feitas com este volume e os resultados estão, a seguir, na tabela 4:

Gráfico 2 – Curva de Calibração por Padrão Externo com os devidos valores de absorbância e concentrações do Padrão da glicose:



Fonte: Dados pessoais da pesquisa

Tabela 4– Tipos de soro glicosado, médias e desvio padrão de cada amostra.

ABSORBÂNCIAS			
	I	II	III
	0,435± 0,001	0,481± 0,019	0,475± 0,030
	0,431± 0,001	0,430± 0,016	0,400± 0,022
	0,432± 0,007	0,450± 0,002	0,420± 0,008
Média (μ)	0,433	0,454	0,432

Fonte: Dados da pesquisa

Pode-se observar que todos os resultados caíram dentro da curva de calibração, mostrando linearidade entre os pontos, ou seja, uma boa regressão linear. As concentrações de glicose dos soros foram encontradas por meio da equação da reta dada pela curva de calibração. Os resultados estão na tabela 5:

Tabela 5: Tipos de soros glicosados, suas devidas concentrações em mg e % e os valores de recuperação.

Soro Glicosado	Concentrações(mg)	Porcentagem(%)	Recuperação(%)
I	0,0131	4,85	97%
II	0,0146	5,41	108,2%
III	0,0135	5,33	106,6%

Fonte: Dados da pesquisa

Com os dados obtidos, verificamos que os resultados não deram os exatos 5% de glicose como diz nos rótulos das embalagens. Atribuímos essas variações nos resultados a erros sistemáticos no procedimento da metodologia empregada.

O fator de recuperação encontrado para a solução padrão variou de 97% a 108,2%, indicando que a recuperação do método encontra-se dentro do intervalo padrão que é de 80 a 120% (BRASIL, 2011).

Os dados obtidos indicam que os soros glicosados analisados encontram-se dentro das especificações estabelecidas, uma vez que os índices de concentrações encontraram-se dentro da faixa de recuperação estabelecida para métodos analíticos.

Essa mesma metodologia foi empregada também por outros pesquisadores para determinação do teor de glicose em tubérculos de batata que mostrou linearidade, seletividade e precisão (PEREIRA *et al*, 2008).

5.1.1 Determinação do Soro Glicosado considerando a análise das amostras em dias diferentes da Curva de Calibração

De acordo com os dados apresentados nas tabelas 6 e 7, foi observado consideráveis flutuações nos valores das absorbâncias e das concentrações das amostras. Isto se deve a análises feitas em dias diferentes para a obtenção da curva analítica e dos pontos das amostras.

Tabela 6: Absorbâncias das amostras de soros glicosados obtidas em dia diferente da curva

ABSORBÂNCIAS			
	I	II	III
	0,293 ± 0,013	0,305 ± 0,017	0,307 ± 0,002
	0,253 ± 0,015	0,253 ± 0,019	0,285 ± 0,013
	0,277 ± 0,002	0,285 ± 0,002	0,317 ± 0,009
Média (μ)	0,274	0,281	0,303

Fonte: Dados pessoais da pesquisa

Tabela 7: Concentrações das amostras de soro glicosado medidas em dia diferente da curva

	Concentrações (mg)	Porcentagem (%)	Recuperação(%)
I	0,00802	2,96	59,41
II	0,00825	3,05	61,11
III	0,00895	3,31	66,30

Fonte: Dados pessoais da pesquisa

Foi observado que as análises devem ser realizadas com amostras, de preferência, logo após serem abertas evitando flutuações nos resultados, e que a Curva de calibração, padrões e amostras devem ser analisadas no mesmo dia, evitando desta forma flutuações diversas que podem ocorrer principalmente devidos a erros aleatórios decorrentes de flutuações do equipamento.

5.2 Soro Fisiológico

O método desenvolvido para análise de cloreto nos mostrou o quanto é eficaz em soros fisiológicos. As concentrações encontradas pela titulometria de precipitação mostraram que este método de doseamento é excelente para quantificar o teor cloreto de sódio em soros fisiológicos de sistema fechado. Os resultados que confirmam esta afirmação estão expostos na tabela 8:

Tabela 8: Tipos de soros fisiológicos e suas devidas concentrações.

	CONCENTRAÇÕES/S		
	I	II	III
	0,946 ± 0,002	0,936 ± 0,000	0,936 ± 0,000
	0,936 ± 0,004	0,936 ± 0,000	0,936 ± 0,000
	0,946 ± 0,002	0,936 ± 0,000	0,936 ± 0,000
Média (X)	0,943	0,936	0,936

Fonte: Dados pessoais da pesquisa

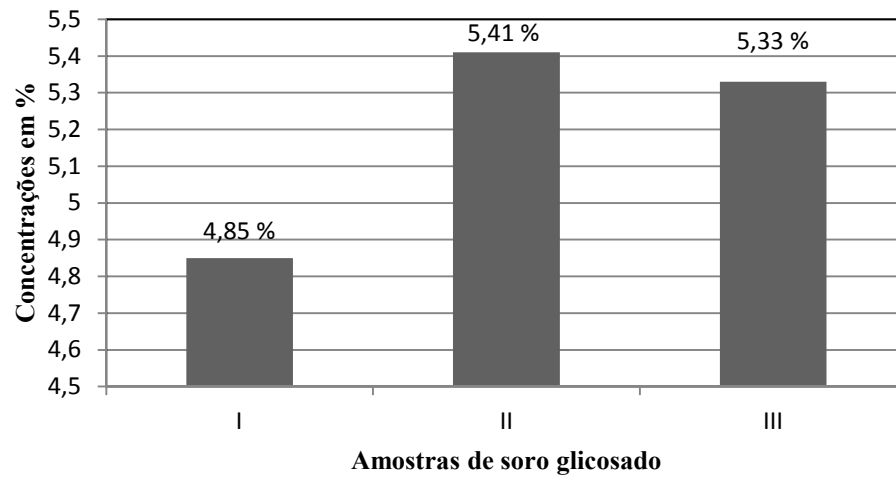
Os resultados das concentrações foram obtidos segundo os cálculos da seguinte equação 2 e 3 (BACCAN *et al*, 2000)

$$\frac{C_{Cl^-} \cdot V_{amostra}}{MM_{Cl^-}} = M_{AgNO_3} \cdot V_{AgNO_3} \Rightarrow C_{Cl^-} = \frac{M_{AgNO_3} \cdot V_{AgNO_3} \cdot MM_{Cl^-}}{V_{amostra}} \quad (Eq. 09)$$

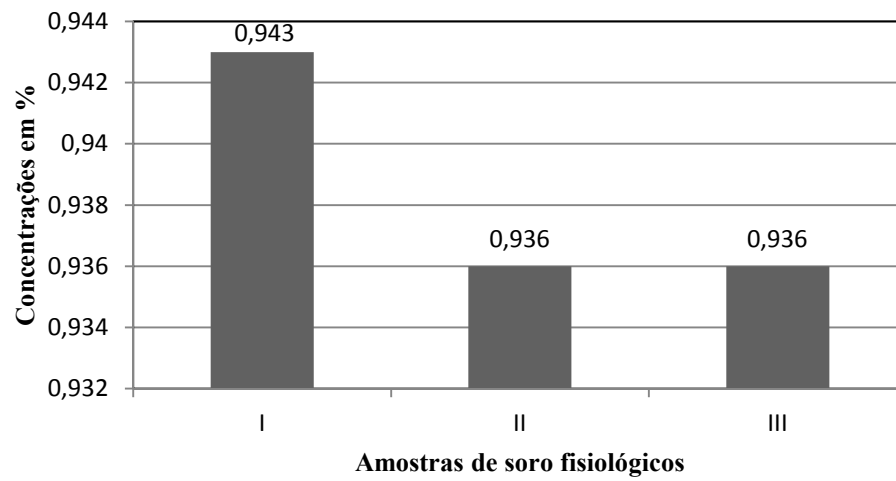
(Eq.10)

Mediante os dados obtidos, constatamos que os soros fisiológicos estudados contêm em seu conteúdo os 0,9% de cloreto de sódio como escrito pelos fabricantes nos rótulos de suas embalagens.

Os gráficos 3 e 4 apresentam as concentrações nos soros glicosados e fisiológicos logo após as análises:

Gráfico 3: Concentrações dos soros glicosados

Fonte: Dados pessoais da pesquisa

Gráfico 4: Concentrações dos soros fisiológicos

Fonte: Dados pessoais da pesquisa

6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos foi observado que os soros glicosados 5% e os soros fisiológicos 0,9% apresentam os teores dos analitos com concentrações bem próximas do valor indicado pelos seus fabricantes nos rótulos de suas embalagens. As variações obtidas estão associadas a erros sistemáticos provenientes dos métodos empregados.

O Método Espectrofotométrico se mostrou eficaz para esta aplicação, porém é importante que a curva de calibração, padrões e amostras sejam obtidas no mesmo dia, evitando erros de flutuações de corrente, calibração de equipamento e variações em aferições das soluções preparadas.

A aplicação deste método pode ser utilizado para outras matrizes, entretanto é necessário a preparação da amostra antes de proceder o método espectrofotométrico, proporcionando uma menor interferência do efeito matriz.

O método volumétrico também se mostrou eficaz nas análises de soros fisiológicos de sistema fechado, fornecendo resultados satisfatórios em relação ao teor de cloreto de sódio em cada amostra.

Essas duas metodologias analíticas são importantes na quantificação/doseamento de soluções em diversas áreas e matrizes, analisando o padrão de qualidade de vários produtos. Por outro lado, trabalhos posteriores poderão ser desenvolvidos avaliando os efeitos destas flutuações por meio de estudos das curvas analíticas de calibração por diferentes parâmetros e também por aplicação de testes estatísticos de validação.

7. REFERÊNCIAS

BACCAN, N.; ANDRADE, J. C. de; GONDINHO, O. E. S.; BARONE, J. S. **Química Analítica Quantitativa Elementar**; 3ª edição rev. ampl. ereestr.; São Paulo: Edgard Blucher e Instituto Mauá de Tecnologia, 2001.

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**, 5ed, volume 1/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2010.

BRASIL. **Guia de Validação e Controle de Qualidade Analítica: Fármacos em Produtos para Alimentação Animal e Medicamentos Veterinários** / Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA/ACS, 2011.

Disponível

em:<http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/RCA/Guia%20de%20valida%C3%A7%C3%A3o%20e%20controle%20de%20qualidade%20analitica.pdf>. Acesso em 27 de março de 2013.

CHAMPE, Pamela C.; HARVEY, Richard A.; FERRIER, Denise R.; **Bioquímica Ilustrada**; 3 ed.; Porto Alegre: Artmed, 2006.

GASTALDI, M.; SIQUELI, A.G.; SILVA, A. C. R.; SILVEIRA, D. F. G. **Farmácia Hospitalar. Nutrição Parenteral Total: da produção a administração**. Pharmacia Brasileira – Setembro/ Outubro, 2009. Disponível em:<www.sbrafh.org.br/site/index/library/id/56>Acesso em 25 de março de 2013.

MENDHAN, j. et al.Vogel: **Análise Química Quantitativa**. Rio de Janeiro. 6ª Edição: LTC, 2002.

PROVA DA VUNESP/ 2004. Disponível em:
<http://www.etapa.com.br/gabaritos/resolucao_pdf/gab_2004/01_vunesp/vunesp2004bq.pdf>.
Acesso em 12 de março de 2013.

GIL, E. S. **Controle Físico-Químico de Qualidade de Medicamentos**. 3ª edição, editora: Pharmabooks, 2010.

HALEXISTAR, Indústria Farmacêutica; **Soro, o medicamento que mais salva vidas**; 2012. Disponível em: <<http://www.halexistar.com.br/imprensa/noticias-e-releases/soro-o-medicamento-que-mais-salva-vidas>>. Acesso em 13 de março de 2013.

HARRIS, C. D. **Análise Química Quantitativa**. Rio de Janeiro, 6ª edição LTC. Editora, 2005.

MACHADO, Rodrigo Balbuena; **II Seminário Nacional de Orientação ao Setor Regulado na Área de Medicamentos**; GMEFH - Prêmio de Inovação em Gestão Pública Federal 2006/2007; Disponível em:
<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/7be4c2004745814b8d72dd3fbc4c6735/apresentacao2_orientacao_regulado.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em 11 março de 2013;

MENDHAN, j et al. Vogel: **Química Analise Quantitativa**. Rio de Janeiro: LTC, 6ª Edição, 2002.

MOTTA, V.T. **Bioquímica Clínica – Princípios e Interpretação**. 5ed – Rio de Janeiro :MedBook, 2009.

PAULA, Vanderlei Inácio de; **Análise Química Instrumental: Calibração de equipamentos/Curva Analítica**; Centro Universitário Padre Anchieta, 2012. Disponível em: <http://aquitemquimica.com.br/AQI/Aula_4_AQI_2012.pdf>. Acesso em 13 de março de 2013.

PEREIRA, J. V. **Bioquímica Clínica**. 2 ed. João Pessoa: Editora Universitária/UFPB, 2008.

PEREIRA, F.K.P. et al. **Construção de curva de calibração por padrão externo para determinação do teor cobre em água potável da cidade Brejo do Cruz– PB por**

Espectrofotometria de Absorção Molecular. In: 5º Congresso Norte – Nordeste de Química – Natal- RN, UFRN, 2012. Disponível em:<<http://annq.org/eventos/upload/1361700670.pdf>>. Acesso em 18 de março de 2013.

PEREIRA, E. I. T. et al. **Otimização e validação de um método enzimático para a determinação de glicose em tubérculos de batata.** *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.5, p.1227-1232, ago, 2008.

RATTI, Bianca Altrão et al. **Soro Fisiológico: Potencial Risco de Perda da Estabilidade após aberto e armazenado por trinta dias em diferentes meios.** *Anais do 7º Encontro Internacional de Produção Científica.* Disponível em: <http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2011/anais/bianca_altrao_ratti%20%282%29.pdf>. Acesso em 10 de março de 2013;

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica.** 8º edição – São Paulo: Thomson, 2006.