



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**Centro de Ciências Físicas e Matemáticas**  
**Departamento de Química**  
**Estágio Supervisionado**

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE**  
**ÁCIDO SALICÍLICO EM PRODUTOS**  
**DERMATOLÓGICOS**

**Acadêmico:** Éder da Silva e Sá  
**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Iolanda da Cruz Vieira  
**Coorientadora:** Inês Rosane Welter Zwirtes de Oliveira

**Florianópolis, agosto de 2006.**

ÉDER DA SILVA E SÁ

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE ÁCIDO  
SALICÍLICO EM PRODUTOS DERMATOLÓGICOS**

Monografia apresentada ao  
Curso de Química, da  
Universidade Federal de  
Santa Catarina, como  
requisito para obtenção do  
grau de Bacharel em  
Química.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Iolanda da Cruz Vieira

Florianópolis, agosto de 2006.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a força divina por guiar meus passos nesta caminhada.

A Camila pelo carinho, afetividade e amor.

Aos meus familiares pelo apoio, confiança e por acreditarem neste sonho.

À professora Iolanda pela orientação, dedicação e confiança depositada.

Aos colegas Alexandre, Murilo, Rogério e Suellen do laboratório Quitech pela ajuda prestada, em especial a Inês pela co-orientação, apoio e incentivo.

Aos colegas pela amizade e contribuição psicológica ao longo do curso.

As escolas que acreditaram no meu trabalho como educador impulsionando a minha paixão pela educação e aos estudantes destas que através da curiosidade e dos questionamentos aumentou o meu interesse pela ciência química.

À Universidade Federal de Santa Catarina pela oportunidade de cursar uma graduação.

# SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS .....	ii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	iii
ÍNDICE DE TABELAS .....	iv
<b>RESUMO</b> .....	v
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	01
1.1. ÁCIDO SALICÍLICO .....	01
1.2. MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO .....	04
1.3. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR .....	06
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	08
2.1. OBJETIVOS GERAIS .....	08
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	08
<b>3. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	09
3.1. EQUIPAMENTOS .....	09
3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES .....	10
3.2.1. Espectros de absorção molecular .....	11
3.2.2. Estudo da concentração de ferro (III) .....	11
3.2.3. Estudo do tempo de reação .....	11
3.2.4. Curva analítica para o AS .....	12
3.2.5. Estudo de adição e recuperação de AS .....	12
3.2.6. Determinação do AS nas amostras A e B pelo método proposto .....	13
3.2.6.1. Determinação do AS na amostra A .....	13
3.2.6.2. Determinação do AS na amostra B .....	13
3.2.7. Determinação do AS em amostras dermatológicas pelo método oficial .....	13
3.2.7.1. Determinação do AS na amostra A pelo método oficial .....	13
3.2.7.1.1. Estudo da interferência do ácido bórico na determinação para amostra A ..	14
3.2.7.1.2. Determinação do AS na amostra B pelo método oficial .....	14
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	15
4.1. FORMAÇÃO DO COMPLEXO .....	15
4.2. ESPECTRO DA ABSORÇÃO MOLECULAR .....	17
4.3. ESTUDO DA CONCENTRAÇÃO DE FERRO (III) .....	18
4.4. ESTUDO DO TEMPO DE REAÇÃO .....	19
4.5. CURVA ANALÍTICA .....	20
4.6. ESTUDO DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO .....	22
4.7. ESTUDO DE REPETITIVIDADE PELO MÉTODO PROPOSTO .....	23
4.8. DETERMINAÇÃO DE AS EM PRODUTOS DERMATOLÓGICOS .....	24
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	26
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	27

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AAS:</b>	Ácido acetilsalicílico
<b>ANVISA:</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>AS:</b>	Ácido salicílico
<b>CLAE:</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>DPV:</b>	Voltametria de pulso diferencial
<b>EC:</b>	Eletroforese capilar
<b>E<sub>R</sub>:</b>	Erro relativo
<b>LD:</b>	Limite de detecção
<b>LQ:</b>	Limite de quantificação
<b>r:</b>	Coefficiente de correlação
<b>RSD:</b>	Desvio padrão relativo
<b>USP:</b>	United States Pharmacopoeia

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b>	Fórmula estrutural do ácido salicílico ( $C_7H_6O_3$ ) .....	02
<b>Figura 2:</b>	Ação quelante do ácido salicílico, em decorrência da posição adequada dos seus grupos funcionais .....	02
<b>Figura 3:</b>	Esquema da luz passando na amostra em uma célula de espessura $b$ .....	06
<b>Figura 4:</b>	Espectrofotômetro UV-Visível Shimadzu modelo UV-1203 .....	09
<b>Figura 5:</b>	Espectrofotômetro visível modelo Micronal B-572 .....	09
<b>Figura 6:</b>	Coloração da (1) solução de AS $2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , (2) solução de cloreto de ferro (III) $8,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e (3) solução do complexo ácido salicílico-Fe(III) $4,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .....	15
<b>Figura 7:</b>	Mecanismo proposto para a formação do Complexo I .....	16
<b>Figura 8:</b>	Espectro de absorção molecular (a) do complexo ácido salicílico-Fe(III) e (b) da solução de Fe(III) $8,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .....	17
<b>Figura 9:</b>	Estudo da concentração de Fe (III) de $2,0 \cdot 10^{-5}$ a $1,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , em solução de AS $4,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em 530 nm .....	18
<b>Figura 10:</b>	Estudo do tempo de reação de 0 a 10 min do complexo ácido salicílico-Fe(III), formado com solução de ácido salicílico $4,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e solução de Fe(III) $8,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .....	19
<b>Figura 11:</b>	Soluções utilizadas para a construção da curva analítica para o AS com solução de Fe(III) $8,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e soluções de AS de $2,0 \cdot 10^{-5}$ , $4,0 \cdot 10^{-5}$ , $6,0 \cdot 10^{-5}$ , $8,0 \cdot 10^{-5}$ , $1,0 \cdot 10^{-4}$ , $2,0 \cdot 10^{-4}$ , $3,0 \cdot 10^{-4}$ , $4,0 \cdot 10^{-4}$ , $5,0 \cdot 10^{-4}$ , $6,0 \cdot 10^{-4}$ e $7,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .....	20
<b>Figura 12:</b>	Curva analítica para o AS de $2,0 \cdot 10^{-5}$ a $6,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com solução de Fe(III) $8,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em 530 nm .....	21

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>TABELA 1 –</b>	Estudo de adição e recuperação de AS para as amostras A e B.....	22
<b>TABELA 2 –</b>	Estudo da repetitividade pelo método proposto em produtos dermatológicos .....	23
<b>TABELA 3 –</b>	Determinação de AS nas amostras A e B .....	24
<b>TABELA 4 –</b>	Estudo da interferência do ácido bórico na determinação de AS na amostra A pelo método oficial .....	24

## RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvida uma metodologia analítica para a determinação de ácido salicílico (AS) utilizando espectroscopia de absorção molecular no visível. O método é baseado na formação do complexo formado a partir da reação entre o ácido salicílico e íons Fe(III). O comprimento de onda máximo do complexo ácido salicílico-Fe(III) foi em 530 nm, e as melhores medidas espectrofotométricas foram obtidas utilizando solução de Fe(III)  $8,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. A curva analítica apresentou uma relação linear entre absorbância e as concentrações de AS no intervalo de concentração de  $2,0 \times 10^{-5}$  a  $6,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> (2,8 a 80,0 µg mL<sup>-1</sup>). A equação da reta foi de  $ABS = 5,7 \times 10^{-3} + 1,6 \times 10^3 [AS]$ . Os limites de detecção e quantificação encontrados são, respectivamente,  $2,7 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> (0,4 µg mL<sup>-1</sup>) e  $8,1 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> (1,1 µg mL<sup>-1</sup>). Foi realizada análise de adição e recuperação de AS, indicando que não há interferência da matriz neste procedimento. As análises feitas utilizando o método proposto foram comparadas com procedimento recomendado pela Farmacopéia Brasileira, demonstrando que o método oficial sofre interferência da matriz da mostra. Os valores encontrados para o RSD foram menores de 1,5 %, indicando uma boa precisão do método proposto. O procedimento proposto permite a análise de produtos dermatológicos contendo AS de forma fácil e simples.

---

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. ÁCIDO SALICÍLICO

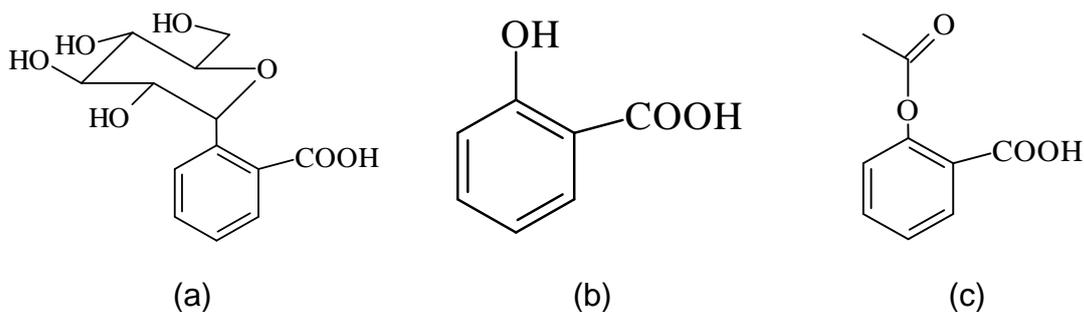
No século V antes de Cristo, Hipócrates, médico grego e pai da Medicina científica, escreveu que o pó ácido da casca do Salgueiro ou Chorão (que contém salicilatos mas é potencialmente tóxico) aliviava dores e diminuía a febre. Este remédio também é mencionado em textos das civilizações antigas do Oriente Médio, Suméria, Egito e Assíria.<sup>1</sup>

Os nativos americanos usaram por longos anos na medicina popular para indicações similares, como dores de cabeça, febre, reumatismo e tremores. Em 1763, o reverendo Edmund Stone, de Chipping Norton no condado de Oxford, Reino Unido, em uma carta para o presidente da Sociedade Real, descreveu o sucesso e o poder do tratamento para febre (propriedades antipiréticas) da poderosa casca do *salgueiro*. O princípio ativo da casca, a salicina (do nome latino do Salgueiro *Salix alba*) representada na Figura 1, quando hidrolisada resulta no ácido salicílico, foi mais tarde encontrada em outras fontes.<sup>2</sup>

O ácido salicílico foi isolado na sua forma cristalina em 1828 pelo farmacêutico francês Henri Leroux e pelo químico italiano Raffaele Piria. Em 1897 a firma farmacêutica alemã Bayer conjugou quimicamente o ácido salicílico com acetato, obtendo-se o ácido acetilsalicílico (aspirina), que descobriram ser menos tóxico.<sup>1</sup>

O nome aspirina teve procedência de uma palavra de origem Germânica para o composto acetilspersäure (*Spirea*, o gênero da planta na qual o princípio é obtido, e *Säure*, a palavra Germânica para ácido).<sup>2</sup>

O ácido salicílico (ácido 2-hidroxi-benzóico) é um beta-hidróxi ácido que possui fórmula molecular  $C_6H_4(OH)COOH$  e massa molar de  $138,12 \text{ g mol}^{-1}$ . Sua fórmula estrutural está representada na Figura 1. Ele é encontrado na forma de pó cristalino de cor branca, é pouco solúvel em água e muito solúvel em etanol e éter.

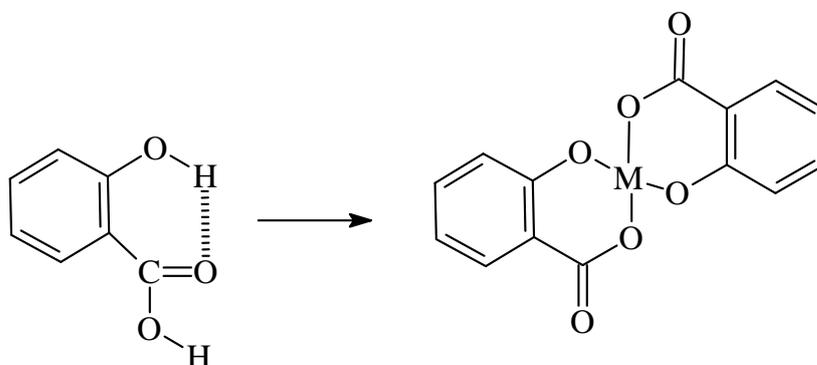


**Figura 1:** Fórmula estrutural da salicina (a), do ácido salicílico (b) e do ácido acetilsalicílico (c).

O ácido salicílico (AS) é hidrolisado para salicilatos no estômago e desta forma é incorporado na circulação sanguínea. O ácido e seus sais derivados (salicilatos) ocorrem naturalmente em muitas plantas, entre os quais, a casca do salgueiro e o óleo de “wintergreen” são fontes concentradas destas substâncias.<sup>3</sup>

O AS é um ácido orgânico com  $pK_a = 3,0$ , enquanto que, o ácido acetilsalicílico (AAS) possui  $pK_a = 3,5$ . O salicilatos de sódio e AAS são drogas anti-inflamatórias de igual efeito, embora o AAS seja mais efetivo como um analgésico.<sup>2</sup>

A ação biológica de alguns fármacos é devida parcial ou totalmente a propriedade destes em formar quelatos. Dos três isômeros do ácido hidróxibenzóico, somente o o-hidróxi é ativo, porque pode formar ponte de hidrogênio intramolecular e, deste modo, agir como quelante, representado na Figura 2. Agentes quelantes são as substâncias que possuem a propriedade de combinar-se com um íon metálico através da doação de pares eletrônicos e assim formar compostos anelares, ou quelatos, geralmente de cinco ou seis membros.<sup>4</sup>



**Figura 2:** Ação quelante do AS em um íon metálico, em decorrência da posição adequada dos seus grupos funcionais.

---

O ácido salicílico tem atividade antipirética e anti-reumática, mas não é administrado por via oral por causar problemas gastrintestinais. Derivados do ácido salicílico menos irritantes e também menos desagradáveis ao paladar podem ser preparados. Um dos fármacos mais populares, a ASPIRINA<sup>®</sup>, usada como uma droga analgésica e administrada por via oral, tem como componente ativo o AAS, um derivado obtido via substituição do grupo hidroxila do AS. O AAS deve ser mantido seco, pois em presença de água hidrolisa, liberando AS e ácido acético.<sup>4</sup>

O AS é muito usado como agente de terapia externa (agente queratolítico) em tratamentos dermatológicos, sendo um dos princípios ativos empregados em formulações esfoliantes que têm como objetivo produzir uma lesão controlada na pele, para a remoção de rugas, verrugas, calos e acnes.<sup>5-7</sup> O AS também é eficiente no tratamento de infecções fúngicas superficiais.<sup>4</sup>

---

## 1.2. MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO

Vários métodos têm sido usados para a determinação do AS em formulações dermatológicas, farmacêuticas, plasma humano, alimentos ou efluentes (residenciais ou indústrias). Alguns métodos são baseados em separação por cromatografia gasosa<sup>8</sup> e cromatografia de camada delgada<sup>9</sup>.

O método para a determinação do AS em produtos dermatológicos relatado na Farmacopéia Brasileira<sup>10</sup>, Americana (USP)<sup>11</sup> e Britânica<sup>12</sup> é a volumetria de neutralização, usada como método oficial. A USP também utiliza o método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)<sup>14-16</sup>.

Foi desenvolvida uma metodologia para a determinação direta de AS por CLAE empregando um gradiente de fase reversa em amostras de plasma e urina de humanos. O método apresentou limite de detecção (LD) de 0,2 e 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , no plasma e na urina, respectivamente.<sup>17</sup>

Torriero e colaboradores<sup>18</sup> determinam AS, como um produto da hidrólise de formulações farmacêuticas que contêm AAS, a partir de medidas de voltametria de pulso diferencial (DVP) com um eletrodo de carbono vítreo. O AS apresenta uma onda de oxidação irreversível na faixa de pH de 2 e 11. A DPV para o AS apresentou uma resposta voltamétrica bem definida em pH 2,37 e potencial de 1,088V (eletrodo de referência Ag/AgCl). A faixa linear para à concentração de AS variou de 1 a 60  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

A eletroforese capilar<sup>19</sup> (EC) foi utilizada para determinação de AS em soro humano, resultado do metabolismo do AAS. A curva analítica foi linear na faixa de 5 a 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  com coeficiente de correlação entre 0,997 a 0,998 e o limite de detecção de 1  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Gomez e colaboradores<sup>20</sup> estudaram a separação de ingredientes ativos em formulações de acne (ácido salicílico, resorcinol, entre outros) por EC em pH = 9,0. A curva de calibração para o AS foi linear na faixa de 10 a 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . O parâmetros de LD, LQ e r, foram de 0,42  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , 1,42  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e 0,999, respectivamente.

Karim e colaboradores<sup>4</sup> determinaram espectrofluorimetricamente ( $\lambda_{\text{ex}} = 315 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 408 \text{ nm}$ ) AS em soro humano. Nessa metodologia foi usado As(III) como reagente para medir o aumento da intensidade da fluorescência do complexo ácido salicílico-As(III) na presença do dodecil sulfato

---

de sódio  $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . A curva de calibração foi linear na faixa de 13,8 a 13812  $\mu\text{g L}^{-1}$ ,  $r$  de 0,99985 e o LQ igual a 4,2  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Um procedimento espectrofotométrico no UV pela segunda derivada foi desenvolvido para análise simultânea de AAS e AS em tabletes de aspirina. O AS foi medido em 328 nm, e a curva analítica foi linear na faixa de 0,5 a 40  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $r$  de 0,999 e desvio padrão relativo (RSD) de 1,56%.<sup>21</sup>

A técnica de espectrofotometria ( $\lambda = 297 \text{ nm}$ ) em fase sólida foi aplicada para a determinação de AS em análise por injeção em fluxo. A curva analítica apresentou linearidade na faixa de concentração de AS de 1 a 20  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , com LD de 0,064  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e RSD de 0,52%.<sup>22</sup>

Ahmed e colaboradores<sup>23</sup> determinaram o AS em amostras de soro humano por um método espectrofotométrico de absorção molecular no visível ( $\lambda = 540 \text{ nm}$ ), baseado na formação de um complexo entre a reação do AS com uma solução reagente contendo Fe(III) e Hg(II). A curva analítica foi linear na faixa de 0 a 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

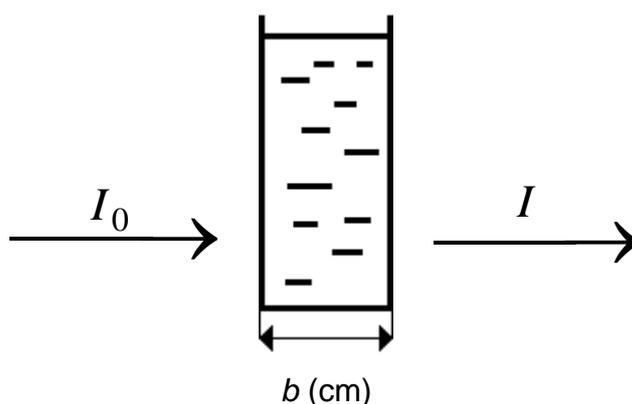
---

### 1.3. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR

A espectrofotometria UV-vis é, provavelmente, a técnica analítica mais empregada a análises de rotina em função de seu relativo baixo custo, da facilidade de operação e da sensibilidade atingida.<sup>24</sup>

Os métodos espectrofotométricos se baseiam na medida da intensidade de radiação luminosa, num espectro de emissão ou de absorção. A espectrofotometria de absorção molecular no visível é uma análise colorimétrica realizada numa faixa de luz visível, entre o ultravioleta e o infravermelho, com comprimento de onda entre 380 e 780 nm.<sup>25</sup>

A Figura 3 mostra um feixe de radiação luminosa, antes ( $I_0$ ) e depois ( $I$ ) de atravessar uma cubeta transparente tendo um caminho óptico de  $b$  (cm), contendo uma solução com concentração  $C_x$  (mol L<sup>-1</sup>) de uma espécie absorvente. A solução é constituída pelo solvente e pelo analito.



**Figura 3:** Esquema da luz passando na amostra em uma célula de espessura  $b$ .

Em decorrência das interações entre fótons e átomos ou moléculas absorventes, a intensidade de luz incidente ( $I_0$ ) é maior do que a intensidade final ( $I$ ) da luz.

A absorção da radiação luminosa, no visível, pelas moléculas resulta em uma transição eletrônica da matéria, no estado excitado, com o acompanhamento de mudanças rotacionais e vibracionais destas, na qual rapidamente, retorna ao estado fundamental, através da perda de energia na forma de calor ou ruídos.<sup>26</sup>

---

A absorvância  $A$  de um meio é definida pela equação 1.

$$A = \log \frac{I_0}{I} \quad (1)$$

A região linear de medidas de absorção pode ser descrita pela Lei Beer-Lambert, conforme a equação 2, onde  $\varepsilon$  é a absorvidade molar ( $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ),  $b$  é o comprimento de caminho óptico da cubeta (cm), e  $C$  é a concentração ( $\text{mol L}^{-1}$ ).<sup>26</sup>

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot C \quad (2)$$

A medida da absorvância é geralmente preferida porque ela está diretamente relacionada com a concentração. Para que um analito seja determinado espectrofotometricamente, a absorvância deve ser medida em um comprimento de onda nos quais os outros componentes da amostra não absorvam. Na ausência de substâncias interferentes, a medida da absorvância deve ser feita no maior pico de absorvância porque este é o ponto no qual a absorvância é mais sensível às mudanças de concentração. Poucos analitos absorvem suficientemente para serem determinados diretamente sem um prévio tratamento químico. Este problema pode ser superado com a adição de uma substância que reage com o analito para produzir uma espécie que absorve no visível. Tais substâncias são chamadas de cromóforos. A reação entre o analito e o cromóforo pode ser quantificada por métodos espectrofotométricos, para baixas concentrações do analito, sendo que o composto deve ser estável por um tempo suficiente para que a absorvância seja medida.<sup>24</sup>

---

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma metodologia analítica para determinação de AS em produtos dermatológicos, utilizando a espectrofotometria de absorção molecular no visível, a partir do complexo ácido salicílico-Fe(III). Otimizar esta metodologia e comparar os resultados obtidos com o método oficial da Farmacopéia Brasileira.

### 2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

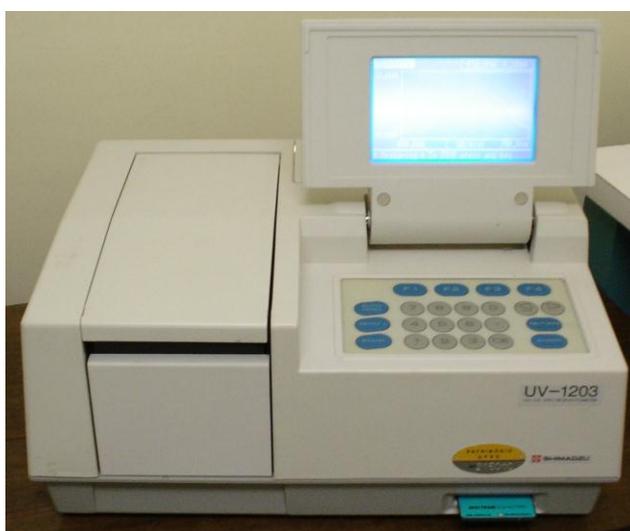
- Obter o comprimento de onda de absorção máxima para o complexo ácido salicílico-Fe(III);
- Estudar o tempo de reação para a formação do complexo ácido salicílico-Fe(III);
- Construir a curva analítica para o AS;
- Estudar os possíveis interferentes pelo método de adição e recuperação de ácido salicílico nas amostras dermatológicas;
- Determinar e comparar o teor de AS em amostras dermatológicas usando o método proposto e o método oficial;

---

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. EQUIPAMENTOS

Para obter o espectro de absorção molecular utilizou-se o espectrofotômetro UV-vis Shimadzu modelo UV-1203 apresentado na Figura 4. Para as medidas da absorbâncias no comprimento de onda fixo de 530 nm utilizou-se o espectrofotômetro visível Micronal modelo B-572 mostrado na Figura 5.



**Figura 4:** Espectrofotômetro UV-vis Shimadzu modelo UV-1203.



**Figura 5:** Espectrofotômetro visível modelo Micronal B-572.

---

Em todas as medidas utilizou-se uma cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico.

### 3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES

Soluções de ácido Salicílico (Reagen), cloreto de ferro (III) anidro (LAFAN), hidróxido de sódio (Nuclear), fenoftaleína (NUCLEAR), biftalato de potássio (Nuclear) e ácido bórico (VETEC) foram preparadas e usadas para desenvolvimento deste trabalho.

Solução de ácido salicílico  $2,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> foi preparada diariamente dissolvendo 0,0138 g dessa substância em 50 mL de água destilada. Solução padrão de Fe(III)  $8,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> foi preparada diariamente dissolvendo 0,0650 g de cloreto de ferro (III) em 50 mL de água destilada.

A fenoftaleína foi preparada a partir da dissolução 1 g dessa substância na proporção de 6:4 de álcool etílico e água destilada, respectivamente, para 100 mL.<sup>27</sup>

Solução de hidróxido de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup> foi preparada pela dissolução de 4,0 g dessa base em 1 L de água destilada. Posteriormente foi padronizada com três amostras de 0,3036 g do padrão primário biftalato de potássio previamente secas em estufa por vinte e quatro horas. As amostras do padrão primário foram dissolvidas em 50 mL de água destilada com gotas de fenoftaleína e tituladas com solução de hidróxido de sódio.<sup>28</sup>

Determinou-se o teor de AS nas seguintes amostras de produtos dermatológicos:

- **amostra A** comercializada em envelope com 4 g e rótulo com composição:

Ácido Salicílico .....	0,160 g
Sulfato de alumínio e amônio .....	0,729 g
Ácido bórico .....	3,106 g

- **amostra B** comercializada em frasco com 30 mL de uma solução viscosa, transparente, incolor, e rótulo de composição:

Ácido salicílico .....	20 mg mL <sup>-1</sup>
Dipropionato de betametasona .....	0,64 mg mL <sup>-1</sup>

---

### 3.2.1. Espectros de absorção molecular

Para a determinação do comprimento de onda do complexo ácido salicílico-Fe(III), foi adicionado 1,25 mL de solução de AS  $2,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>, 1 mL de solução de Fe(III)  $8,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> em um balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com água destilada. Após homogeneização, uma alíquota de 3 mL desta solução foi transferida para a cubeta de quartzo e a leitura da absorbância entre 350 a 800 nm foi efetuada. Também foram realizadas leituras das soluções de AS  $2,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> e Fe(III)  $8,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>.

### 3.2.2. Estudo da concentração de ferro (III)

Para o estudo da concentração de ferro (III) 2 mL de solução de AS  $2,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> e 0,1 mL de solução de Fe(III)  $8,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>, foram transferidos para um balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com água destilada. A leitura da absorbância foi feita imediatamente em 530 nm. Este procedimento foi realizado com alíquotas de 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 e 8,0 mL da solução de Fe(III) e AS  $2,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>.

### 3.2.3. Estudo do tempo de reação

Em um balão volumétrico de 10 mL foi adicionado 2,5 mL de solução de AS  $2,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> e 1,0 mL de solução de Fe(III)  $8,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. Completou-se o volume com água destilada e a leitura da absorbância em 530 nm foi realizada em 0,0, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0 e 10 min.

---

#### 3.2.4. Curva analítica para o AS

A curva analítica do AS foi obtida com volume fixo de 1,0 mL da solução de Fe(III)  $8,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e variou-se o volume (0,2 a 3,0 mL) da solução de AS  $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . As soluções foram preparadas em balão volumétrico de 10 mL. O volume foi completo com água destilada e as medidas de absorvância foram feitas em 530 nm. Esse procedimento foi realizado em triplicata.

#### 3.2.5. Estudo de adição e recuperação de AS

Pesou-se uma massa de 0,35 g da amostra A e transferiu-se para um balão volumétrico de 25 mL e dissolveu-se com água destilada. A partir dessa amostra, foram preparadas quatro soluções, em balão volumétrico de 10 mL, contendo 1 mL da amostra, 1 mL de solução Fe(III)  $8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e as respectivas alíquotas de 0,0, 0,4, 0,8 e 1,2 mL da solução de AS  $2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Essas soluções foram preparadas em balão volumétrico de 10 mL e o volume foi completo com água destilada. As medidas da absorvância foram feitas em 530 nm.

Uma alíquota de 0,7 mL da amostra B foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL e completo com água destilada. A partir dessa amostra, foram preparadas quatro soluções, em balão volumétrico de 10 mL, contendo 1 mL da amostra, 1 mL de solução Fe(III)  $8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e as respectivas alíquotas de 0,0, 0,4, 0,8 e 1,2 mL da solução de AS  $2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Essas soluções foram preparadas em balão volumétrico de 10 mL e o volume foi completo com água destilada. As medidas da absorvância foram feitas em 530 nm.

---

### 3.2.6. Determinação do AS nas amostras A e B pelo método proposto

#### 3.2.6.1. Determinação do AS na amostra A

Foi pesado 0,7 g da amostra A e transferido para um balão volumétrico de 50 mL e o volume foi completo com água destilada. Uma alíquota de 1 mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, contendo 1 mL de solução Fe(III)  $8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e o volume completo com água destilada. Em seqüência, alíquota de 3 mL desta solução foi transferida para uma cubeta e a medida da absorbância foi feita em 530 nm para a determinação do AS na amostra A. Este procedimento foi realizado em triplicata.

#### 3.2.6.2. Determinação do AS na amostra B

Foi transferido 1,4 mL da amostra B para um balão volumétrico de 50 mL e o volume foi completo com água destilada. Uma alíquota de 1 mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, contendo 1 mL de solução Fe(III)  $8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e o volume completo com água destilada. Em seguida, alíquota de 3 mL desta solução foi transferida para uma cubeta e a medida da absorbância foi feita em 530 nm para a determinação do AS na amostra B. Este procedimento foi realizado em triplicata.

### 3.2.7. Determinação do AS em amostras dermatológicas pelo método oficial

A volumetria de neutralização foi usada como método oficial sugerido pela Farmacopéia Brasileira<sup>10</sup>, para a determinação do AS em produtos dermatológicos.

#### 3.2.7.1. Determinação do AS na amostra A pelo método oficial

Foram dissolvidos 70 mg da amostra A em 25 mL de álcool etílico e titulado com hidróxido de sódio  $0,0875 \text{ mol L}^{-1}$  empregando como indicador a fenoftaleína.

---

#### 3.2.7.1.1. Estudo da interferência do ácido bórico na determinação para amostra A

Foram preparadas três soluções contendo, respectivamente, 100 mg de AS, 100 mg de ácido bórico e 100 mg de ácido salicílico com 100 mg de ácido bórico. Estas substâncias foram dissolvidas separadamente em 25 mL de álcool etílico e tituladas com hidróxido de sódio  $0,0875 \text{ mol L}^{-1}$  usando como indicador a fenoftaleína.

#### 3.2.7.2. Determinação do AS na amostra B pelo método oficial

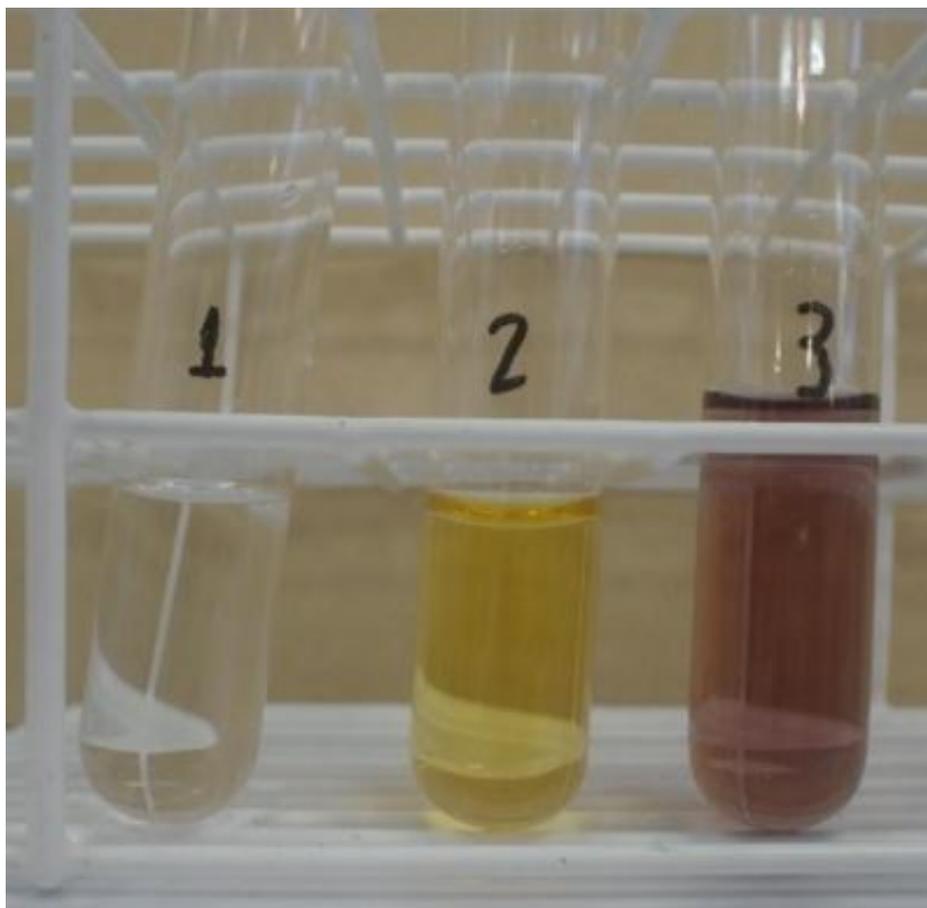
Foram diluídos 5 mL da amostra B em 25 mL de álcool etílico e titulado com hidróxido de sódio  $0,0875 \text{ mol L}^{-1}$  empregando como indicador a fenoftaleína.

---

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 FORMAÇÃO DO COMPLEXO

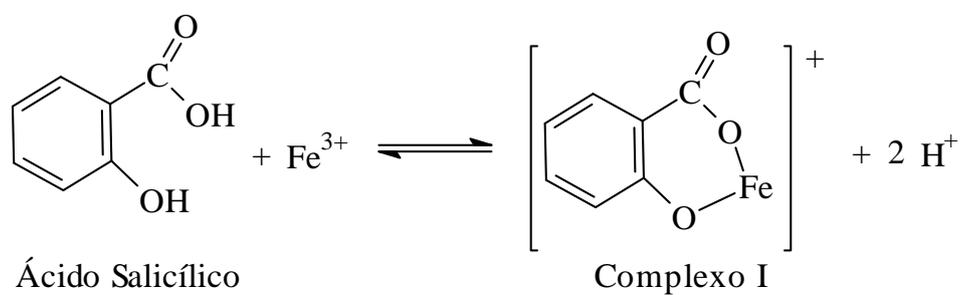
A metodologia analítica proposta no presente trabalho se baseia na formação de um complexo ácido salicílico-Fe(III). A Figura 6 mostra a coloração da (1) solução de AS  $2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , (2) solução de Fe(III)  $8,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e (3) solução do complexo ácido salicílico-Fe(III). Também pode ser observado na Figura 6, que o complexo ácido salicílico-Fe(III) apresenta uma coloração diferente da solução aquosa de AS e da solução de Fe(III), o que torna uma reação seletiva para esta substância e para o desenvolvimento do procedimento proposto.



**Figura 6.** Coloração da (1) solução de AS  $2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , (2) solução de Fe(III)  $8,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e (3) solução do complexo ácido salicílico-Fe(III).

---

A Figura 7 mostra uma proposta para a fórmula estrutural e mecanismo inicial do complexo, formado a partir da reação do AS e Fe(III). Inicialmente, um mol de AS (ligante bidentado) reage com um mol de Fe(III) formando o complexo I, que segundo a literatura absorve em 525 nm.<sup>29</sup>

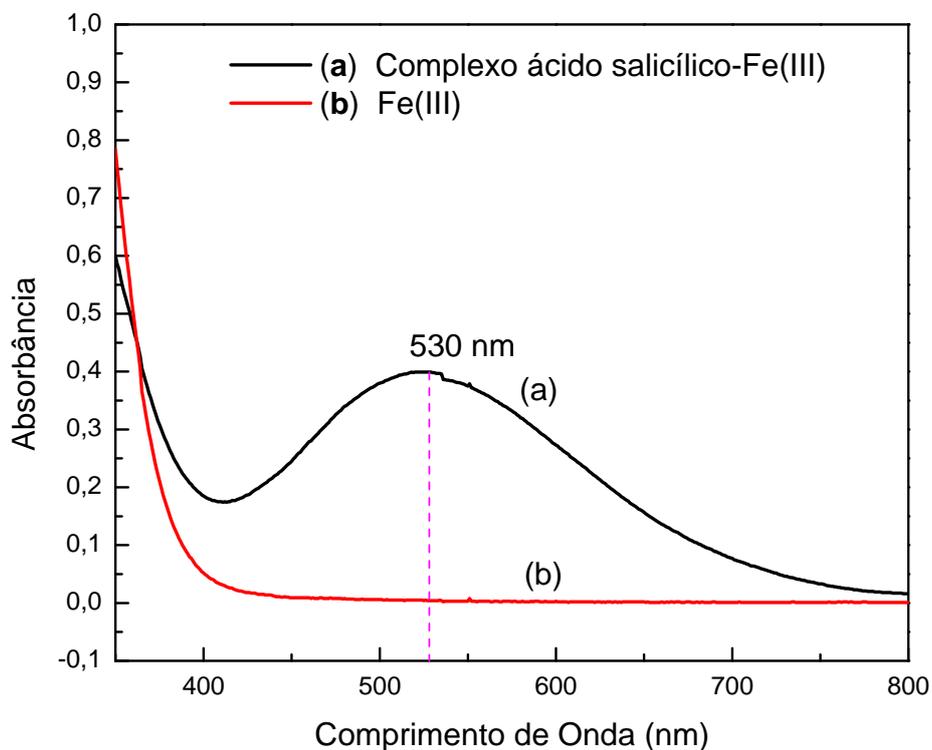


**Figura 7.** Mecanismo proposto para a formação do Complexo I.

## 4.2. ESPECTRO DA ABSORÇÃO MOLECULAR

A Figura 8 mostra os espectros de absorção molecular obtidos em uma varredura realizada entre os comprimentos de onda de 350 a 800 nm para o (a) complexo ácido salicílico-Fe(III) nas concentrações de AS  $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  e Fe(III)  $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  e (b) solução de Fe(III)  $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Como pode ser observado o complexo apresentou absorvância máxima em 530 nm, não apresentando interferência do ferro (III). Portanto, essa reação e comprimento de onda foram selecionados para as medidas de absorvância e desenvolvimento do método espectrofotométrico para determinação de AS em produtos dermatológicos.

O espectro da solução de AS, não mostrado, também foi obtido, e não interfere no método proposto, uma vez que absorve na região do ultravioleta.

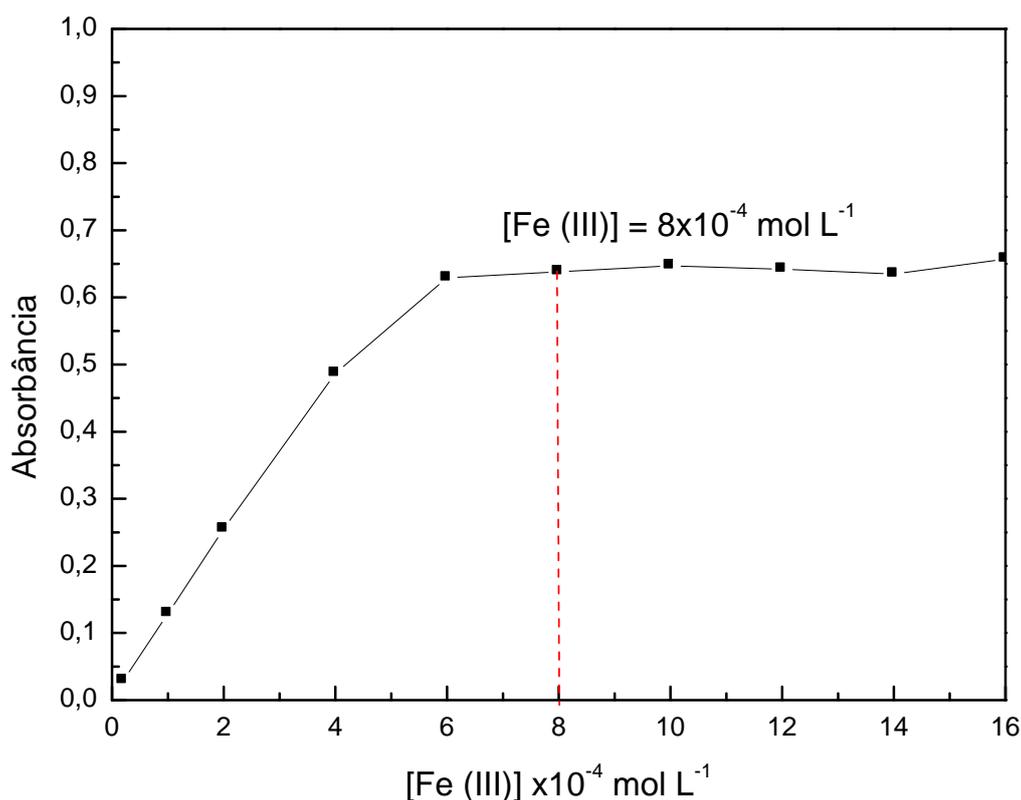


**Figura 8.** Espectro de absorção molecular (a) do complexo ácido salicílico-Fe(III) e (b) da solução de Fe(III)  $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

### 4.3. ESTUDO DA CONCENTRAÇÃO DE FERRO (III)

Foi realizado estudo da concentração de Fe(III) sobre a absorvância do complexo ácido salicílico-Fe(III) para obtenção da melhor resposta espectrofotométrica. Como pode ser observado na Figura 9, há um efeito significativo na absorvância com o aumento da concentração de Fe(III).

Nesse estudo foram adicionadas diferentes concentrações de Fe(III) de  $2,0 \times 10^{-5}$  a  $1,6 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> em solução de AS  $4,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>, sendo observado um aumento na absorvância nas concentrações de  $2,0 \times 10^{-5}$  a  $6,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de Fe(III) e mantendo-se constante em concentrações superiores a  $6,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. Por essa razão, a concentração de  $8,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de Fe(III) foi selecionada para o desenvolvimento deste trabalho.

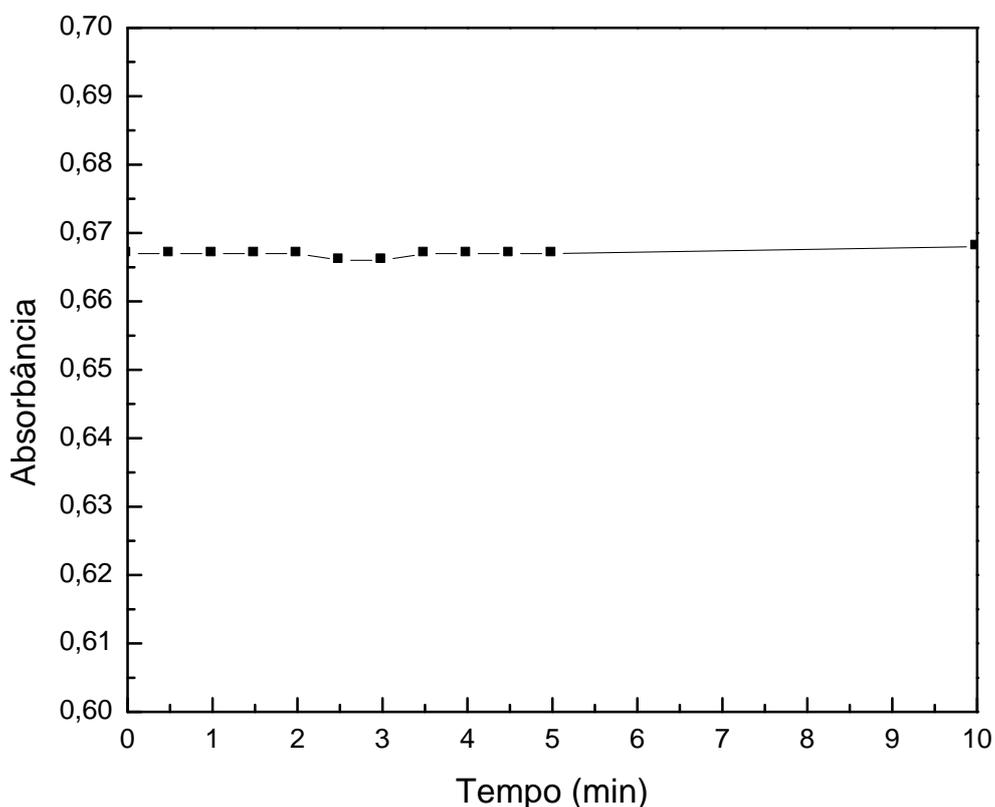


**Figura 9.** Estudo da concentração de Fe(III) de  $2,0 \times 10^{-5}$  a  $1,6 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>, em solução de AS  $4,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> em 530 nm.

---

#### 4.4. ESTUDO DO TEMPO DE REAÇÃO

A formação do complexo ocorre imediatamente a partir da reação do AS com o Fe(III), sendo uma vantagem do método proposto. Entretanto, foi necessário verificar a estabilidade do complexo, e se ocorre variação na intensidade da coloração em relação ao tempo. Foram realizadas medidas de absorvância do complexo, em 530 nm, variando o tempo de reação de 0 a 10 min. Conforme mostra a Figura 10, o valor de absorvância foi constante durante o tempo estudado, indicando assim, que o complexo ácido salicílico-Fe(III) é estável.



**Figura 10.** Estudo do tempo de reação de 0 a 10 min do complexo ácido salicílico-Fe(III), formado com solução de ácido salicílico  $4,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> e solução de Fe(III)  $8,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>.

---

#### 4.5. CURVA ANALÍTICA

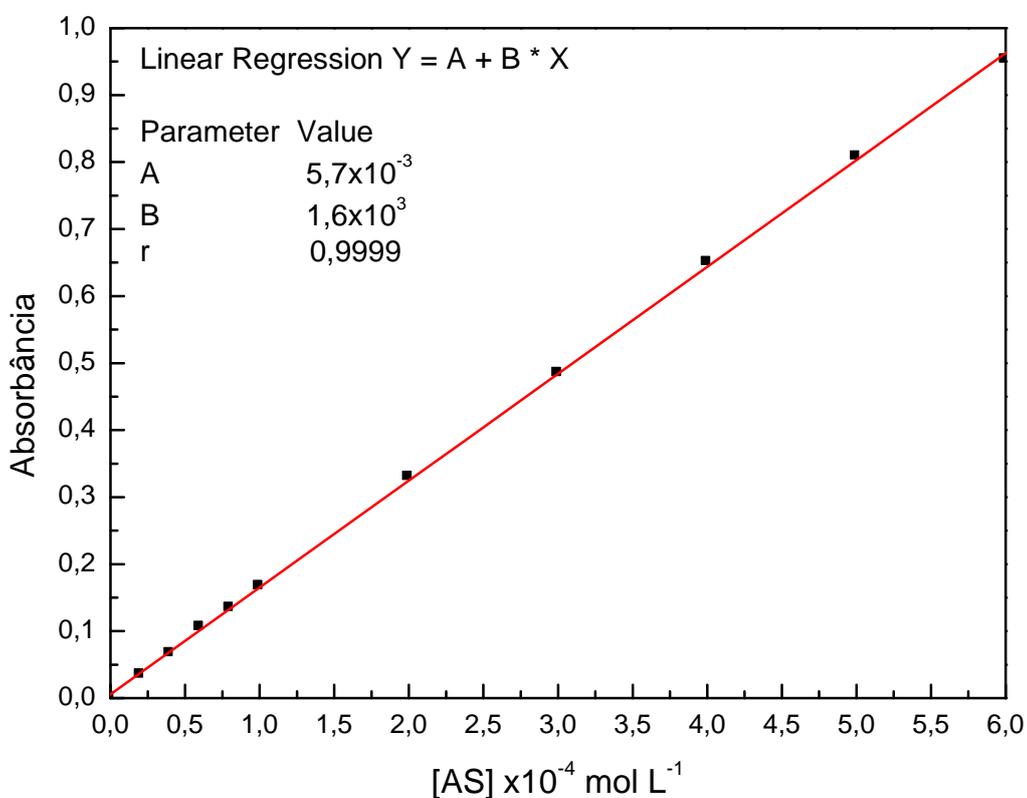
Entre os parâmetros analíticos normalmente encontrados para a validação de um método analítico está a faixa linear. A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância analisada, dentro de uma faixa de aplicação.<sup>30</sup> Para obtenção deste parâmetros foi construída a curva analítica, depois da otimização da metodologia proposta e conseqüentemente da seleção dos melhores parâmetros da formação do complexo ácido salicílico-Fe(III).

A Figura 11 mostra as soluções utilizadas para a construção da curva analítica. Observa-se um acréscimo na intensidade da coloração na formação do complexo ácido salicílico-Fe(III) com o aumento na concentração do AS.



**Figura 11.** Soluções utilizadas para a construção da curva analítica para o AS com solução de Fe (III)  $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  e soluções de AS de  $2,0 \times 10^{-5}$ ,  $4,0 \times 10^{-5}$ ,  $6,0 \times 10^{-5}$ ,  $8,0 \times 10^{-5}$ ,  $1,0 \times 10^{-4}$ ,  $2,0 \times 10^{-4}$ ,  $3,0 \times 10^{-4}$ ,  $4,0 \times 10^{-4}$ ,  $5,0 \times 10^{-4}$ ,  $6,0 \times 10^{-4}$  e  $7,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

A Figura 12 mostra a curva analítica obtida para o complexo ácido salicílico-Fe(III), que apresentou uma faixa linear entre as concentrações de AS de  $2,0 \times 10^{-5}$  a  $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , em 530 nm. Obteve-se a equação para a reta  $\text{Abs} = 5,7 \times 10^{-3} + 1,6 \times 10^3 [\text{AS}]$  e  $r = 0,9999$ . Os dados obtidos pelo método da regressão linear demonstraram um bom coeficiente de correlação. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram encontrados pelo método baseado em parâmetros da curva analítica.<sup>30</sup> O LD e LQ são  $2,7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  ( $0,4 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e  $8,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  ( $1,1 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), respectivamente.



**Figura 12.** Curva analítica para o AS de  $2,0 \times 10^{-5}$  a  $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  com solução de Fe(III)  $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em 530 nm.

---

#### 4.6. ESTUDO DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos no estudo de adição e recuperação de AS em amostras de produtos dermatológicos pelo método proposto.

**TABELA 1** – Estudo de adição e recuperação de AS para as amostras A e B.

Amostra	Ácido salicílico (mg mL <sup>-1</sup> )		
	Adicionado	Recuperado	Recuperação (%)
A	0,110	0,104 ± 0,001	94,5
	0,221	0,217 ± 0,001	98,2
	0,331	0,323 ± 0,005	97,6
B	0,110	0,108 ± 0,006	98,2
	0,221	0,216 ± 0,005	97,7
	0,331	0,327 ± 0,005	98,8

As amostras apresentaram uma porcentagem de recuperação variando de 94,5 a 98,8%, comprovando que o método proposto possui uma boa exatidão e não sofre influência da matriz sobre o procedimento analítico proposto.

#### 4.7. ESTUDO DE REPETITIVIDADE PELO MÉTODO PROPOSTO

Foram realizadas 8 determinações em triplicata para cada amostra. Os resultados da determinação de AS nas amostras A e B, estão apresentados na Tabelas 2, na qual constam o valor obtido e o desvio padrão pelo método espectrofotométrico em cada determinação para as amostras A e B. Em seguida, foi calculado o erro relativo médio, o desvio padrão e o intervalo de confiança para probabilidade de 95% (n=8) dos dados obtidos.

**TABELA 2** – Estudo da repetitividade pelo método proposto em produtos dermatológicos.

<b>Ácido salicílico</b>	
<b>Amostra A (g / 4 g amostra)</b>	<b>Amostra B (mg mL<sup>-1</sup>)</b>
0,144 ± 0,004	18,6 ± 0,1
0,144 ± 0,008	18,6 ± 0,1
0,144 ± 0,008	18,7 ± 0,1
0,144 ± 0,004	18,9 ± 0,2
0,144 ± 0,012	19,0 ± 0,1
0,144 ± 0,004	19,2 ± 0,1
0,148 ± 0,012	19,2 ± 0,1
0,148 ± 0,004	19,2 ± 0,1
$E_R$ médio = - 9,4 %	$E_R$ médio = - 5,5 %
Desvio padrão: 1,3 %	Desvio padrão: 1,4 %
Intervalo de confiança da média	Intervalo de confiança da média
(95%, n = 8): 0,145 ± 0,002	(95%, n=8): 18,9 ± 0,2

Os valores de referência para o cálculo do erro relativo, aceito como verdadeiro, são encontrados nos rótulos das amostras A e B sendo 0,160 g AS / 4 g e 20,0 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Os valores do  $E_R$  médio para as Amostras A e B, são, - 9,4 e - 5,5 %, respectivamente, sendo aceitáveis e mostrando assim bom desempenho e uma boa exatidão do procedimento proposto.

Os valores de RSD para as amostras A e B são 1,3 e 1,4 %, respectivamente, indicando uma boa precisão, confirmando que o método proposto possui boa repetitividade.

#### 4.8. DETERMINAÇÃO DE AS EM PRODUTOS DERMATOLÓGICOS

Os valores rotulados e os resultados obtidos para as determinações de AS, em triplicata, nas amostras A e B, empregando o método oficial da Farmacopéia e o método proposto, estão representados na Tabela 3.

**TABELA 3** – Determinação de AS nas amostras A e B.

<b>Ácido salicílico</b>				
<b>Amostra</b>	<b>Valor rotulado</b>	<b>Método Proposto</b>	<b>Método Oficial</b>	<b>E<sub>R</sub> (%)</b>
A (g / 4 g)	0,160	0,152 ± 0,008	2,10	- 5,0
	0,160	0,148 ± 0,012	2,06	- 7,5
	0,160	0,156 ± 0,004	2,13	- 2,5
B (mg mL <sup>-1</sup> )	20,00	19,18 ± 0,02	2,66	- 4,1
	20,00	19,22 ± 0,08	2,90	- 3,9
	20,00	19,16 ± 0,13	2,66	- 4,2

E<sub>R</sub> = Método proposto versus valor rotulado

O E<sub>R</sub> para o método proposto é aceitável, indicando boa exatidão.

O método oficial sofreu interferência na matriz de substâncias com caráter ácido ou básico. Um dos componentes da amostra A, o ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), já indicado no item 3.2, está presente na amostra com quantidade superior ao ácido salicílico. Pelo método de volumetria de neutralização, o ácido bórico, por ter caráter ácido e estar na amostra em quantidade significativa, interfere no resultado. Por este motivo foi realizado um estudo da interferência do ácido bórico, em três soluções diferentes, simulando a amostra A: (1) amostra de AS, (2) amostra de ácido bórico e (3) amostra contendo a mistura do AS e ácido bórico. Foi determinado AS nestas três amostras pelo método oficial e os resultados estão apresentados na Tabela 4.

**TABELA 4** – Estudo da interferência do ácido bórico na determinação de AS na amostra A pelo método oficial.

<b>Amostra</b>	<b>Substâncias</b>	<b>Massa (g)*</b>	<b>Massa (g)**</b>
1	Acido salicílico	0,160	0,15
2	Ácido bórico	3,10	2,20
3	AS + Ácido bórico	0,160 + 3,1	2,30

\* massa utilizada na simulação dos produtos dermatológicos.

\*\* massa determinada pelo método oficial.

---

Pelos resultados da tabela 4, as amostras analisadas por volumetria de neutralização se somam indicando que o ácido bórico interfere na determinação do AS. Este procedimento sugere que o método oficial sofre interferência por substâncias ácidas ou básicas, dificultando a determinação de AS em produtos dermatológicos pelo método oficial.

A seletividade da reação de formação do complexo ácido salicílico-Fe(III) é uma vantagem para o método espectrofotométrico pois este não sofre interferência por produtos ácidos ou básicos na composição da matriz das amostras.

---

## 5. CONCLUSÃO

O método proposto mostrou-se rápido, simples, preciso, exato e sensível. A instrumentação e a metodologia são simples, economicamente e facilmente adaptável, principalmente por possuir baixo custo, comparado com outros métodos. A desvantagem do método proposto é que as preparações dermatológicas, para espectrofotometria no visível, devem ser soluções incolores para obter melhor exatidão e uma maior precisão. Entretanto, a grande vantagem é a seletividade, pela reação do complexo ácido salicílico-Fe(III), na qual não ocorre interferência por substâncias contidas na matriz de caráter ácido ou básico, obtendo um melhor resultado que o método oficial. O método proposto pode ser empregado para a determinação de AS em produtos dermatológicos.

---

## 6. REFERÊNCIAS

- [1] <http://pt.wikipedia.org/>, acessada em Abril 2006.
- [2] KATZUNG, B. G. **Basic & clinical pharmacology**. 7. ed., Stamford: Appleton & Lange, 1996, p. 580.
- [3] KARIM, M. M., LEE, H. S., KIM, Y.S., BAE, H. S., LEE, S. H. Analysis of salicylic acid base on the fluorescence enhancement of the As(III)-salicylic acid system, **Anal. Chim. Acta**, IN PRESS, 2006.
- [4] KOROLKOVAS, A., BURCKHALTER, J. H. **Química farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1982. 783p.
- [5] SU, Y., TOMASSETTI, M., SAMMARTINO, M. P., CRESCENTINI, G., CAMPANELLA, L. A new salicylate ISFET for the determination of salicylic and acetylsalicylic acid in drugs. **J. Pharm. Biomed. Anal.** v. 13, n. 4/5, p. 449-457, 1995.
- [6] RAMOS, T. R., SANTORO, M. I. R. M., KEDOR-ACKMANN, E. R. M., SINGH, A. K. Validação de um método analítico para a determinação de substâncias ativas em formulações farmacêuticas empregadas em “peelings” químicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 41, n. 2, p. 229-235, 2005.
- [7] GOMEZ, M. R., OLSINA, R. A., MARTINEZ, L. D., SILVA, M. F. Simultaneous determination of cloramphenicol, salicylic acid and resorcinol by capillary zone electrophoresis and its application to pharmaceutical dosage forms. **Talanta**, v. 61, p. 233 – 238, 2003.
- [8] LI, Y. H., REN, Z. H., LI, X. L., CAI, Y. F., ZHAI, Z. X. Determination of salicylic acid in plasma by gas chromatography using steam as carrier gas. **Biomed Chromatogr.** v. 9, n. 3, p. 155 – 156, 1995.
- [9] CHRASTIL, J., WILSON, J. T. Quantitative estimation of salicylic acid and its metabolites by thin-layer densitometry. **J. Chromatogr.** v. 152, n. 1, p. 183 – 189, 1978.
- [10] **FARMACOPÉIA BRASILEIRA**. 3. ed., São Paulo: Organização Andrei Editora, 1977. p. 97 – 99.

- 
- [11] **THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA: THE NATIONAL FORMULARY** Washington: Board of Trustees, v. 23, 1995. p. 1395 – 1396.
- [12] **BRITISH PHARMACOPOEIA** London: HMSO, v. 1, 1993. p. 587 – 588.
- [13] KRIVOSIKOVA, Z., SPUSTOVA, V., DZURIK, R. A highly sensitive HPLC method for the simultaneous determination of acetylsalicylic, salicylic and salicyluric acids in biologic fluids: pharmacokinetic, metabolic and monitoring implications. **Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.** v. 18, n. 8, p. 527 – 532, 1996.
- [14] VENEMA, D. P., HOLLMAN, P. C. H., JANSSEN, K. P. L. T. M., KATAN, M. B. Determination of acetylsalicylic acid and salicylic acid in foods, using HPLC with fluorescence detection. **Agric. Food Chem.**, v. 44, n. 7, p. 1762 – 1767, 1996.
- [15] BAXTER, G. J., LAWRENCE, J. R., GRAHAM, A. B., WILES, D., PATERSON, J. R. Identification and determination of salicylic acid and salicyluric acid in urine of people not taking salicylate drugs. **Ann. of Clin. Biochem.** Vol. 39, n. 1, p. 50 – 56, 2002.
- [16] KEES, F., JEHNICH, D., GROBECKER, H. Simultaneous determination of acetylsalicylic acid and salicylic acid in human plasma by high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.** v. 677, p. 172 – 177, 1996.
- [17] VREE, T. B., KOLMER, E. W. J. V. E. B., WISSEN, C. P. W. G. M. V. V., HEKSTER, Y. A. Direct gradient reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of salicylic acid, with the corresponding glycine and glucuronide conjugates in human plasma and urine. **J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.** v. 652, p. 161 – 170, 1994.
- [18] TORRIERO, A. A. J., LUCO, J. M., SERENO, L., RABA, J. Voltammetric determination of salicylic acid in pharmaceuticals formulations of acetylsalicylic acid. **Talanta** v. 62, p. 247 – 254, 2004.
- [19] GOTO, Y., MAKINO, K., KATAOKA, Y., SHUTO, H., OISHI, R. Determination of salicylic acid in human serum with capillary zone electrophoresis. **J. Pharm. Chromatogr. B** n. 706, p. 329 – 335, 1998.

- 
- [20] CHA, K., PARK, K. Determination of iron(III) with salicylic acid by the fluorescence quenching method. **Talanta** v. 46, p. 1567 – 1571, 1998.
- [21] KOKOT, Z., BURDA, K. Simultaneous determination of salicylic acid and acetylsalicylic acid in aspirin delayed-release tablet formulations by second-derivative UV spectrophotometry. **J. Pharm. Biomed. Anal.** n. 18, p. 871 – 875, 1998.
- [22] RUIZ-MEDINA, A., CÓRDOBA, M. L. F., ORTEGA-BARRALES, P. MOLINA-DÍAZ, A. Flow-trough UV spectrophotometric sensor for determination of (acetyl)salicylic acid in pharmaceutical preparations. **Int. J. Phar.** n. 216, p. 95 – 104, 2001.
- [23] AHMED, M., BISWAS, M. H. U., RAHMAN, M. M., BHUIYAN, M. S. A., KAMAL, M. A. H. M., SADIK, G. Development of a spectrophotometric method for the determination of aspirin in blood sample. **The Sci.** v. 1, n. 2, 2011. p. 61 – 62.
- [24] HARGIS, L. G. **Analytical chemistry**. New Jersey: Prentice-Hall, 1988. p. 407 – 418.
- [25] CHRISTIAN, G. D., O'REILLY, J. E. **Instrumental analysis**. 2.ed. London: Allyn and Bacon, 1986. p. 161 – 176.
- [26] SKOOG, D. A., HOLLER, F. J., NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**, 5. ed., Porto Alegre: Bookman, 2002. cap. 13. p. 276 – 297.
- [27] MORITA, T., ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de soluções: reagentes e solventes**. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, 1968. p. 387.
- [28] VOGEL, A. I. **Análise inorgânica quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1992. p. 239 – 243.
- [29] RAHNI, M., LEGUBE, B. Mécanisme de la précipitation de l'acide salicylique par coagulation par le fer ferrique, **Wat. Res.** v. 30, n. 5, p. 1149 – 1160, 1996.
- [30] RIBANI, M., BOTTOLI, C. B. G., COLLINS, C. H., JARDIM, I. C. S. F., MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova** v. 27, n. 5, p. 771 – 780, 2004.

- 
- [31] BACCAN, N., ANDRADE, J. C., GODINHO, O. E. S., BARONE, J. S.  
**Química analítica elementar**. 2. ed., São Paulo: Edgard Blucher, 1989.  
p. 6 – 18.