



ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA DO CORANTE VIOLETA DE GENCIANA

SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS OF THE GENTIAN VIOLET DYE

Nascimento, J. F. S.; Melo, M. L.; Junior, H. S.; Lima, F. J. S.;
Silva, A.O., Pereira, F. C.*

Universidade Federal do Rio Grande do Norte UFRN, Brasil.
Centro de Ciências Exatas e da Terra - Instituto de Química
C P 1524, CEP: 59072-970, Natal - RN, Brasil.

(*) e-mail: claudece@ufrnet.br

Received 29 June 2014; received in revised form 01 August 2014; accepted 05 August 2014

RESUMO

Violeta de genciana é uma formulação farmacêutica com propriedades antisséptica e antimicótica. É um corante usado no processo de coloração de Gram e muito empregado na identificação de bactérias. O comportamento espectrofotométrico do corante foi investigado em amplo intervalo de pH, em solução tampão B-R. Curvas analíticas foram obtidas em distintos valores de pH, e apresentaram linearidade em amplo intervalo de concentração. Seu coeficiente de absorvidade molar (ϵ) mostrou dependência com o pH. O limite de detecção foi de $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e a aplicação da metodologia, em formulações farmacêuticas, revelou resultados compatíveis com aqueles descritos pelos fabricantes.

Palavras-chave: *Violeta de Genciana, Cristal Violeta; Violeta Básica 3, Metil Violeta 10B.*

ABSTRACT

Gentian violet is a known antiseptic and antifungal agent. A dye used in the Gram's method, and one agents to differentiating bacterial species used nowadays. The gentian's spectrophotometric behavior has been studied in a wide range of pH interval, within B-R buffer solution. The analytical behavior has been observed in several values of pH and they shown linearity as a function of the concentration. The dye's molar absorption coefficient has shown pH-dependence. The detection limit is about 3.0×10^{-6} mol L⁻¹ and has been applied in samples of pharmaceutical formulations in which is found agreement between the results and those described by the manufacturers.

Key words: *Gentian violet, Crystal violet; Hexamethyl pararosaniline, Methyl, Violet 10B*

INTRODUÇÃO

Corantes sintéticos são extensivamente utilizados nas indústrias de papéis, têxteis, alimentícias, cosméticas, farmacêuticas, dentre outras. Cerca de 10^6 toneladas destes pigmentos são produzidos anualmente no planeta para emprego nos mais distintos setores industriais. Estima-se que 15% deste total, seja perdido durante suas sínteses e demais processos nos quais são submetidos (Huan-Jung *et al.*, 2009, Sahoo, *et al.*, 2005).

Continuamente, os dejetos das indústrias que operam com os corantes, são descartados nos cursos das águas sem qualquer tratamento prévio (Filipkowska, *et al.*, 2002). O descarte de resíduos industriais destes pigmentos provoca uma grande agressão ao meio ambiente, uma vez que, altera as características estéticas dos corpos d'água, interferindo na penetração da luz na água, e ocasionando distúrbio no ecossistema presente (Weisburger, 2002). Muitos dos corantes utilizados por estes setores são extremamente resistentes e de difícil extinção. Esta dificuldade reside em suas complexas fórmulas moleculares, enquanto a sua maioria, apresentam anéis aromáticos em suas moléculas. Estas estruturas aromáticas, quase sempre, são carcinogênicas e mutagênicas (Robinson, *et al.*, 2001).

Dentre todos os corantes existentes, os pertencentes à família dos triarilmetanos são os mais numerosos já registrados, e apresentam um espectro de aplicação industrial que abrange o mais diversificado uso. Dentre as mais destacadas, encontra-se a pigmentação do náilon, algodão, seda, madeira, óleos, lubrificantes, graxas, vernizes, plásticos, alimentos, etc., (Docampo, *et al.*, 1983; Chih-Hung, *et al.*, 2008). A literatura destaca que esta categoria de corantes é extremamente recalcitrante e tóxica às células mamárias, e pode causar mutações (Chih-Hung, *et al.*, 2008).

Violeta de genciana (VG), cuja fórmula estrutural é mostrada na Figura 1, também é conhecida como violeta básica, cristal violeta e metil violeta 10B. De acordo com as regras estabelecidas pela IUPAC (união internacional da química pura e aplicada), seu nome oficial é: cloreto de N-[4-[bis[4-dimetilamino)-fenil]-

metileno]-2,5-ciclohexadieno-1-ilidino]-N-metilmetanamônio, (CI 42555). Apresenta fórmula molecular $C_{25}H_{30}N_3Cl$, e massa molar de $407,98 \text{ g.mol}^{-1}$. Pertence a classe dos corantes triarilmetanos. Foi sintetizado pela primeira vez pelo químico Frances, Charles Lauth em 1861, e recebeu o nome preliminar de violeta de Paris (Berrios, *et al.*, 2011).

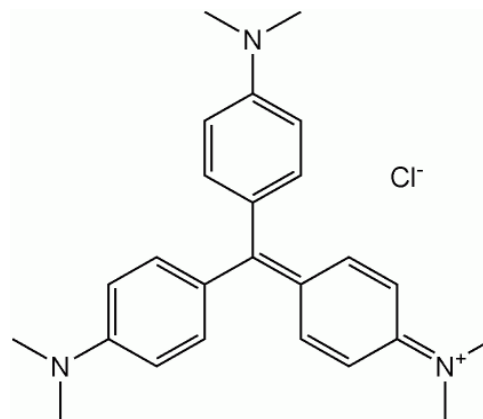


Figura 1 - Fórmula estrutural do corante violeta de genciana.

A fototoxicidade desta categoria de corantes baseia-se em sua reação com espécies oxigenadas. Portanto, sua interação com as enzimas nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatase e com a tireóide peroxidase, é capaz de catalisar sua oxidação e gerar produtos carcinogênicos, tais como, aminas aromáticas primárias e secundárias (Cho, *et al.*, 2003; Bhasikuttan, *et al.*, 2002). Também apresenta a capacidade de estimular a glândula pituitária, causando uma replicação de células da tireóide e hipotireoidismo (Arbiser, *et al.*, 2009). Dados da literatura relatam que VG é capaz de provocar alterações na permeabilidade das membranas, e danos na estrutura do DNA. Estes efeitos são provocados, após a administração de VG e sua posterior conversão a forma leuco-violeta de genciana (incolor). O produto desta metabolização altera a composição celular e afeta funções essenciais de importantes proteínas (Tácal, *et al.*, 2007).

Estudos envolvendo a biodegradação de VG têm mostrado que sua função leuco, pode ser identificada como sendo o N-óxido, leuco-corante, N – dimetilado. Este maior produto da degradação de VG é gerado pela ação da enzima peroxidase e sistemas metabólicos microssomais, e mostrou envolvimento do co-

fator NADH (Tacal, *et al.*, 2007).

VG foi introduzida na dermatologia, como agente antisséptico em 1890, e vem sendo usada como preparação aquosa a 1% e 2%, o que corresponde a obtenção de soluções do composto, com proporções de 10 e 20 mg mL⁻¹, respectivamente. A formulação comercial deste corante triarilmetano é realizada através da mistura de três outros corantes: hexa, penta, e tetrametilpararosnilina. Vários outros processos de manufatura deste corante podem ser realizados. Contudo, todos os sistemas existentes, envolvem a oxidação de uma mistura de anilina e p-toluidina, empregando ácido arsênico como agente oxidante. Outra metodologia emprega o uso do cloreto de carbonila em N,N-dimetil anilina. A composição usual de VG é uma preparação envolvendo 96% cloreto de hexametilpararosnilina, 4% cloreto de pentametilpararosnilina e cloreto de tetrametilpararosnilina. A substância se apresenta com características inodoras e de cor bronze esverdeado. Sua solubilidade é 1 parte do corante para 200 partes de água. Em glicerol, esta relação cai para 1:30. Também é solúvel em álcool (Balabanova, *et al.*, 2003).

Na oftalmologia, VG foi aplicada pela primeira vez, pelo médico alemão Jakob Stilling. Em 1890, Stilling publica uma breve monografia relatando os efeitos bactericidas de VG e, com o apoio do laboratório Merck & Cia., manufaturam a primeira formulação farmacêutica deste pigmento, chamada de "pyoktanin". Violeta de genciana foi amplamente utilizada no tratamento médico até os anos de 1950, quando surgiram novas drogas, desenvolvidas através da descoberta da penicilina e dos antibióticos (Berrios, *et al.*, 2011).

A ação bactericida do pigmento VG é mais eficiente em valores elevados de pH (Docampo, *et al.*, 1990). Seu mecanismo de ação ocorre através da inibição na replicação do DNA, em microrganismos do tipo *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* e *Micrococcus lysodeitricus*. De acordo com a literatura (Docampo, *et al.*, 1990), a ação tóxica de VG nas bactérias, se dá através dos seguintes caminhos:

- Alteração no potencial redox das células provocada pelo corante;

- Formação de um complexo entre o corante e elementos existentes na bactéria;
- Inibição na síntese de proteínas, devido à ligação do corante com os ribossomos no patógeno;
- Inibição na síntese da glutamina, através do bloqueio no metabolismo do ácido glutâmico no microorganismo;
- Inibição da formação de paredes celulares nas bactérias;
- A ação fotodinâmica de VG tem sido descrita em bactérias. A toxidez de VG na polimerase, de espécies do tipo *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* e *Trypanosoma cruzi*.

As potencialidades de aplicação tópica de VG na dermatologia incluem tratamento de eczemas, furúnculos superficiais e úlceras crônicas. Apresenta ação contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Combinada com outras formulações, exibe papel importante, na redução de colônias de *estafilococcus* no cordão umbilical de recém-nascidos, bem como, no tratamento neonatal de infecções do tipo *estreptococcal*. Sua aplicação tópica combate infecções por cândida e outras micoses, assim como, moléstias vaginais. Seu leque de atuação inclui ação contra parasitas intestinais do tipo *tripomastigote do T. cruzi* (Balabanova, *et al.*, 2003).

Os efeitos adversos registrados, no uso prolongado de VG, incluem irritação nas membranas da mucosa, causando conjuntivites; distúrbios gastrointestinais; cistites hemorrágicas (infecção na bexiga); necrose de tecidos epiteliais; mutações em sequências específicas no DNA e na mitose celular, bem como, desequilíbrios nas funções de determinados cromossomos. Em adição, existem relatos de que VG é capaz de alterar arranjos de tecidos e culturas celulares, induzindo a carcinomas hepatocelular e sarcomas em células reticulares. Também há evidências de necroses em glândulas penianas, irritação gastrointestinal, náuseas, vômitos, diarreias, dores abdominais, etc., (Balabanova, *et al.*, 2003).

O corante apresenta uma larga variedade de aplicações, incluindo seu uso como marcador

de colágeno, bem como, na erradicação de bactérias do tipo Gram positiva, *micrococcus luteus*, estafilococos e infecções por cândida. Em adição, também é ativa contra leveduras patogênicas, bactérias do tipo *clostridium perfringens* (bactérias em forma de bastão; anaeróbica e formadoras de esporos), *escherichia coli*, cocos anaeróbicos, Gram-positivos e candidiasis oral (Bhandarkar et al., 2008; Chen et al., 2009).

Deste os anos de 1930, que VG vem sendo largamente empregada na indústria da aquicultura, para o tratamento de enfermidades em peixes e combate a parasitas, protozoários e controle de fungos. Embora suas atividades terapêuticas tenham comprovada eficácia; jamais recebeu registro como droga veterinária, pela união européia e do U.S. Food and Drug Administration (FDA), devido as suas as propriedades carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas (Wu, et al., 2007; Dowling, et al., 2007; Lee., et al., 2006).

Pouquíssimos métodos analíticos para o monitoramento de VG são reportados na literatura. Os escassos registros apontam o uso das seguintes técnicas: cromatografia líquida (Wu, et al., 2007; Dowling, et al., 2007; Lee., et al., 2006; Mitrowska et al., 2005; Tao, et al., 2011; Andersen et al., 2009) e cromatografia líquida de alta performance (Sagar, et al., 1995; Long et al., 2009) e espectrofotometria (Safarik, et al., 2002; Deng, et al., 2010; Zhang, et al., 1994; Ramachandran, et al., 1994; Burns, et al., 1991; Balcerzak, 1991; Sato et al., 1982; Tbei et al., 1979; Fogg et al., 1977; Markham, et al., 1967; Junior et al., 2010).

Considerando a importância no emprego industrial e na aplicação terapêutica do corante VG, bem como, as suas propriedades danosas aos seres vivos, quando do uso inadequado deste pigmento, o presente trabalho tem como finalidade, investigar o comportamento espectrofotométrico do corante violeta de genciana em meio aquoso, em amplo intervalo de pH. Estabelecer as melhores condições experimentais para a sua determinação e extrair o seu coeficiente de absorvidade molar (ϵ). Após a realização destas etapas, pretende-se aplicar as condições ótimas de trabalho, a fim de determinar o corante em formulações

farmacêuticas.

PARTE EXPERIMENTAL

EQUIPAMENTOS

Foi utilizado um espectrofotômetro UV-VIS 1650 PC da marca Shimadzu com interface a um computador. Todos os experimentos foram conduzidos com cubetas de quartzo com 1 cm de caminho ótico. Para a preparação de todas as soluções de trabalho foi empregada uma balança analítica da marca Marte Mict. Todos os valores de pH das soluções utilizadas foram ajustados com um pHmetro da marca Marconi PA200. Antes de seu uso, o eletrodo combinando de vidro foi previamente calibrado com as soluções fornecidas pelo fabricante.

REAGENTES

Corante violeta de genciana (Merck), ácido acético (Vtec), ácido fosfórico (Merck), ácido bórico (Merck) e hidróxido de sódio (Merck). Todos os reagentes apresentavam grau analítico.

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

As soluções tampão Britton e Robinson (B-R) foram obtidas através da mistura dos ácidos acético, fosfórico e bórico. O pH das soluções, no intervalo de 2 a 12, foi ajustado pela adição de hidróxido de sódio. Soluções do corante foram obtidas através da dissolução do sal diretamente em água destilada. As amostras farmacêuticas analisadas foram solução de violeta de genciana a 1%, solução tópica de uso adulto e pediátrico (laboratório ADV) e solução de violeta de genciana a 2% (laboratório Lafare).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comportamento Espectrofotométrico Do Corante Violeta De Genciana

O comportamento espectrofotométrico de violeta de genciana foi inicialmente investigado para concentração de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R pH 3,0, mostrado na Figura 2.

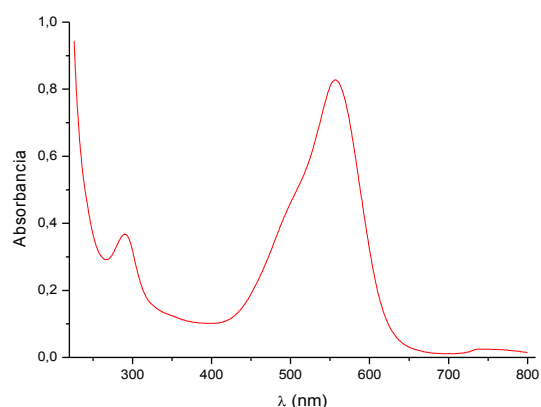


Figura 2: Espectro UV-Vis de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de VG em tampão B-R pH 3,0.

Os espectros são bem caracterizados, apresentando duas bandas de absorção. Em $\lambda_{\text{max}} = 557$ nm observa-se um intenso pico de absorção. De acordo com a literatura (Junior et al., 2010), esta banda de absorção é característica de toda a família desta classe de corantes e, este evento, é atribuído a absorção, proveniente da conjugação das duplas ligações (cis e trans) nos anéis aromáticos e da hiperconjugação dos grupos $-\text{NR}_2$, existente nos cromóforos. Em $\lambda = 291$ nm é possível constatar a ocorrência de um pico de menor intensidade, evento atribuído a uma absorção secundária pelos grupos substituintes ativantes $-\text{NR}_2$, ligados às funções aromáticas do pigmento.

A influência da variação de pH, nos sinais espectrofotométricos de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do corante VG, foi realizada em amplo intervalo, na faixa de 2,0 a 12,0 em um sistema tamponante B-R. A Figura 3 mostra os resultados desta avaliação.

O sinal de absorção, observado em $\lambda_{\text{max}} = 557$ nm, apresenta um comportamento dependente da concentração hidrogeniônica. O pico decresce em função no aumento nos valores de pH, e tende a extinção em pH > 12,0. O pico observado em 291 nm sofre rebaixamento, à medida que os valores de pH aumentam, e extingue-se em pH superior a 7,0. Por outro lado, em valores de pH $\geq 10,0$ é possível observar a geração de um novo pico de absorção em λ_{max} de 244 nm. Este novo pico é

atribuído a formação de um isômero do corante (Tacal et al., 2007; Junior et al., 2010).

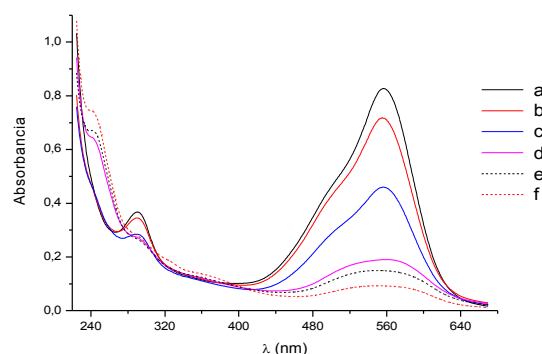


Figura 3: Espectros de absorção UV-Vis obtidos de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de VG em sistema tampão B-R. Curvas; (a) pH 3,0; (b) pH 6,0; (c) pH 7,0; (d) pH 10,0; (e) pH 11,0 e (f) pH 12,0.

O gráfico da relação de absorbância, nos três comprimentos de onda citados, em função das variações de pH são mostradas na Figura 4.

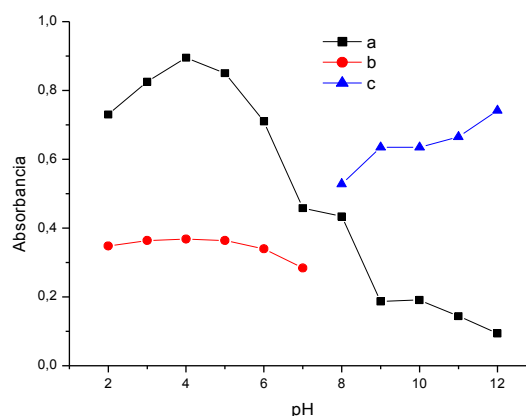


Figura 4: Gráfico representativo dos valores de absorbância versus a variação de pH obtidos de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de VG em sistema tampão B-R. Curvas: (a) pico a 557 nm; (b) pico a 291 nm e (c) pico a 244 nm.

A curva, referente ao pico em $\lambda_{\text{max}} = 557$ nm, apresenta um comportamento de decaimento dos sinais com um perfil sigmoidal, enquanto o pico em $\lambda_{\text{max}} = 291$ nm apresenta independência em valores de $2,0 \leq \text{pH} \leq 7,0$. Em valores superiores observava-se a sua supressão. Por outro lado, o pico atribuído ao isômero do

corante pode ser observado a partir de pH 8,0.

Considerando que a banda de absorção do corante, observada na região visível (Vis), apresenta um sinal com boa resolução e sensibilidade, escolheu-se, desta forma, o pico em λ_{max} 557 nm para estudos posteriores.

A influência da variação na concentração do corante, sobre o sinal de absorbância, foi investigada em amplo intervalo de concentração, entre $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, em distintos valores de pH em sistema tampão B-R. Os espectros de absorção obtidos deste ensaio, para pH 3,0, são mostrados na Figura 5.

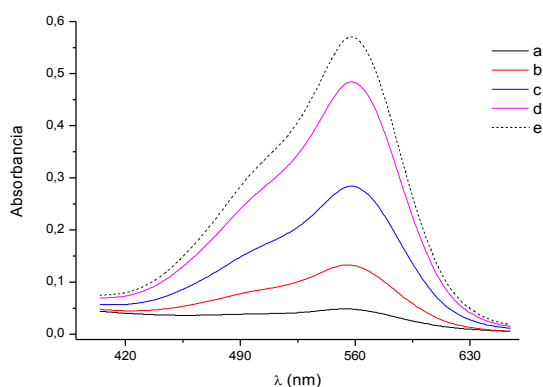


Figura 5: Espectros de absorção molecular obtidos em solução tampão B-R pH 3,0 para concentrações crescentes do corante. Curvas: (a) $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; (b) $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; (c) $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; (d) $8,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e (e) $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹.

A relação entre o sinal espectrofotométrico, em função dos incrementos na concentração do corante, é mostrada na Figura 6.

A curva mostrada na Figura 6 apresenta linearidade no intervalo de concentração de VG entre 1×10^{-5} mol L⁻¹ a 1×10^{-4} mol L⁻¹. A equação é representada pelos parâmetros: $Y = a + bx$; $Y = -0,076 + 6,93 \times 10^3 [VG]$, $R = 0,998$ e $n = 7$; onde: -0,076 é o coeficiente linear; $6,93 \times 10^3$ o coeficiente angular e [VG] concentração molar (mol L⁻¹) do corante VG; R é o coeficiente de correlação e n o número de medidas.

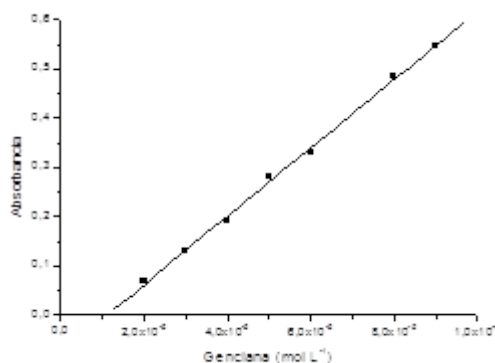


Figura 6: Curva analítica para o corante VG obtida em solução tampão B-R pH 3,0, para $\lambda = 557$ nm.

De acordo com a literatura (Skoog, *et al.*, 1997; Skoog *et al.*, 2002; Harris, 2001), a relação entre concentração e absorbância segue a lei de Lambert e Beer através de uma função linear.

Com o objetivo de otimizar as melhores condições experimentais para o monitoramento de VG, foi avaliado o efeito da variação na concentração do corante em solução tampão B-R pH 4,0. Os resultados são mostrados na Figura 7.

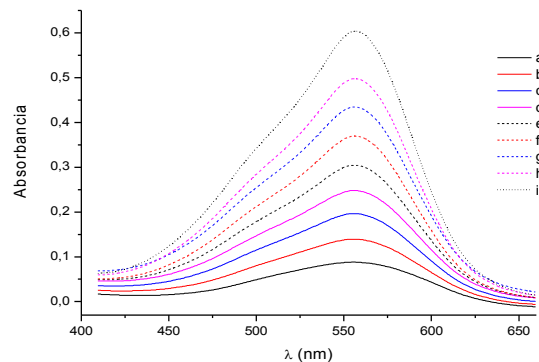


Figura 7: Influência na variação da concentração de VG sobre os sinais de absorbância obtidos em solução tampão B-R pH 4,0. Curvas: (a) $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; (b) $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; (c) $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; (d) $4,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; (e) $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; (f) $6,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; (g) $7,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; (h) $8,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e (i) $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹.

Conforme observado previamente, o sinal espectrofotométrico do corante, aumenta em função do aumento na concentração de VG. Esta relação pode ser melhor visualizada na Figura 8.

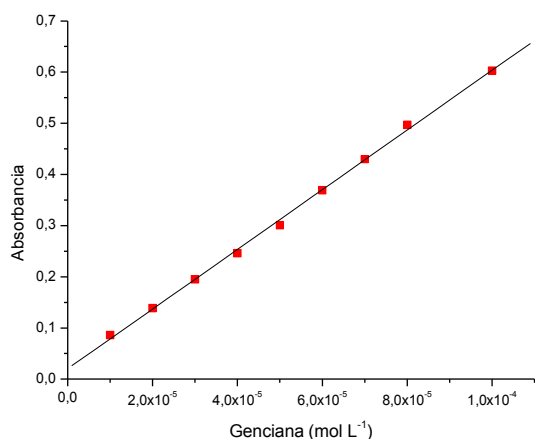


Figura 8: Gráfico da relação da absorbância versus a concentração de VG em solução tampão B-R pH 4,0.

A figura mostra uma relação linear no intervalo de concentração entre $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A equação é representada pela expressão: $Y = 0,020 + 5,83 \times 10^3 [VG]$, $R = 0,999$ e $n = 9$; onde 0,020 é o coeficiente linear; $5,83 \times 10^3$ coeficiente angular; $[VG]$ é a concentração molar do corante (mol L^{-1}); R = coeficiente de correlação e n é o número de pontos do ensaio.

Conforme observado, para o mesmo ensaio realizado em pH 3,0, o sistema apresenta linearidade em amplo intervalo de concentração (Skoog, *et al.*, 1997; Skoog *et al.*, 2002; Harris, 2001).

Com o intuito de avaliar o perfil da resposta espectrofotométrica do corante VG em outro valor de pH, investigou-se o comportamento do pigmento, em amplo intervalo de concentração em sistema tamponado B-R pH 5,0. As curvas espectrofotométricas deste estudo são mostradas na Figura 9.

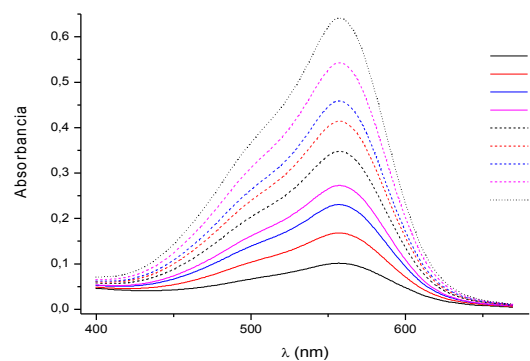


Figura 9: Espectros UV-Vis do corante VG em solução tampão B-R pH 5,0. Curvas: (a) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (b) $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (c) $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (d) $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (e) $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (f) $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (g) $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (h) $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e (i) $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

A relação entre absorbância e concentração do corante VG é mostrada na Figura 10.

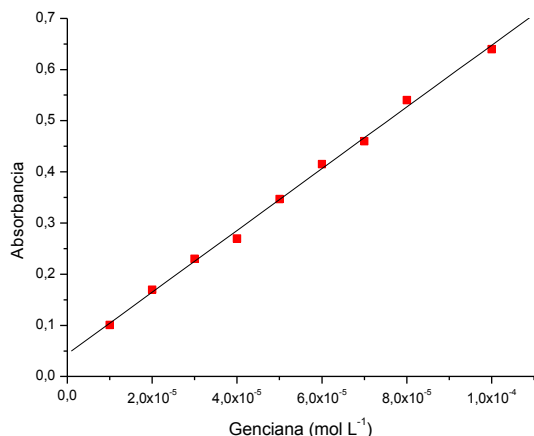


Figura 10: Curva analítica para o pigmento VG obtida em solução tampão B-R pH 5,0.

A curva apresenta linearidade no intervalo de concentração do corante entre $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A expressão da curva é: $0,044 + 6,036 \times 10^3 [VG]$, $R = 0,998$ e $n = 9$; onde 0,044 é o coeficiente linear, $6,036 \times 10^3$ a tangente da curva, $[VG]$ é a concentração molar (mol L^{-1}) do corante e n o número de medidas (Skoog, *et al.*, 1997; Skoog *et al.*, 2002; Harris, 2001).

A sobreposição das regressões lineares obtidas nestes três valores de pH é mostrada na Figura 11.

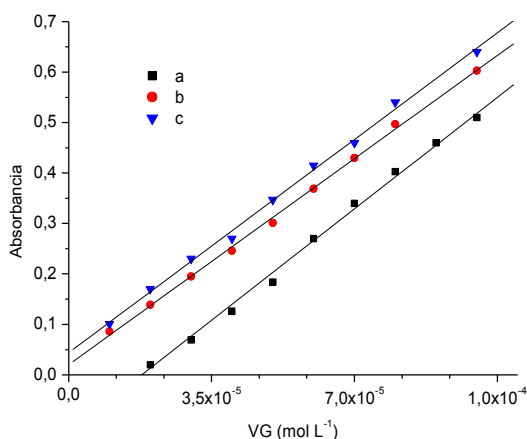


Figura 11: Gráfico das relações entre o aumento na concentração do pigmento VG e o sinal espectrofotométrico obtido em sistema tamponante B-R. Curvas: (a) pH 3,0; (b) pH 4,0 e (c) pH 5,0.

Conforme observado, para os três valores de pH investigados (pH 3,0; pH 4,0 e pH 5,0), as curvas analíticas apresentam excelente linearidade em todos os intervalos de concentração investigados.

O limite de detecção para VG foi calculado segundo a Equação 1:

$$LD = ksb / m \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde k= fator de confiança para 98%; sb= desvio-padrão do branco e m é a tangente da curva analítica construída em valor de pH 5,0 (Skoog, *et al.*, 1997; Skoog *et al.*, 2002; Harris, 2001). Este valor é de $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Através deste estudo foi possível estimar o coeficiente de absorvidade molar (ϵ) para o corante VG. Os resultados são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores do coeficiente de absorvidade molar do corante VG, em função das mudanças nos valores de pH, em sistema tampão B-R.

pH	$\epsilon \text{ (mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1} \times \text{L)}$
3,0	$6,9 \times 10^3$
4,0	$5,8 \times 10^3$
5,0	$6,0 \times 10^3$

Os resultados obtidos mostram que a constante de absorvidade molar do corante analisado (ϵ), é função dependente da concentração hidrogeniônica do meio reacional. Em valores de pH muito elevado observa-se a total supressão da banda de absorção na região do visível. Este comportamento é indicativo de processos de desprotonação de sítios amina existentes na estrutura do analito (Junior, *et al.*, 2010). De qualquer forma, os valores encontrados mostram que a substância é capaz de gerar um método analítico, que apresenta uma excelente sensibilidade, uma vez que, os valores médios de ϵ , permitem obter tangentes próximos a 90° . Desta forma, pequenas variações na concentração deste analito, geram boas oscilações nas leituras do sinal espectrofotométrico.

Aplicações em Formulações Farmacêuticas

As aplicações da metodologia desenvolvida foram realizadas nas formulações farmacêuticas (antissépticas), denominadas de solução de violeta de genciana a 1%, produzida pelo laboratório ADS, e solução de violeta de genciana a 2%, produzida pelo laboratório Lafare. Ambas amostras foram analisadas sem o emprego de qualquer tratamento prévio, além de procedimentos de diluição. Os resultados obtidos destas matrizes são mostrados na Tabela 2. O tratamento estatístico, para extração do desvio-padrão, foi realizado de acordo com as orientações da literatura (Skoog, *et al.*, 1997; Skoog *et al.*, 2002; Harris, 2001).

Tabela 2: Resultados obtidos através da aplicação da metodologia desenvolvida para a direta quantificação de VG em amostras farmacêuticas.

Laboratório	Concentração indicada	Concentração encontrada (*)
ADS	1%	0,98% (± 0,01%)
Lafare	2%	1,88% (± 0,11%)

(*): para n = 3 medidas.

Os resultados obtidos da presente aplicação mostram que a metodologia desenvolvida apresenta potencialidades para ser empregada em amostras reais. As formulações farmacêuticas analisadas apresentam concentração de VG em valores próximos àqueles indicados pelos fabricantes.

CONCLUSÕES

O ensaio espectrofotométrico desenvolvido mostrou-se de simples utilização, para o monitoramento do corante violeta de genciana em solução aquosa. Os estudos revelaram, que o seu coeficiente de absorvidade molar (ϵ), é dependente da variação de pH do meio reacional, uma vez que, a molécula apresenta sítios básicos e, o processo de protonação/desprotonação da molécula, envolve o deslocamento de duplas ligações existentes na estrutura do composto. A aplicação da metodologia, para a determinação direta do pigmento em formulações farmacêuticas, é adequada, considerando que, as amostras, apresentaram níveis de concentração da substância ativa, dentro dos limites declarados pelos respectivos fabricantes.

REFERÊNCIAS

- 1 - An., L.; Deng, J.; Zhou, L.; Li, F.; Chen; Wang, H.; Liu, Y.; *Journal of Hazardous Materials* - **2010**, 175 883–88.
- 2 - Andersen W. C.; Turnipseed, S. B.; Karbiwnyk, C. M.; Lee, R. H; Clark, S. B.; Rowe, W. D.; Madson, M. R.; Miller, K. E., *Analytica Chimica Acta* ,**2009**, 637, 279–289.
- 3 - Arbiser, J. L., *J. Am. Acad. Dermatol* -**2009**, 03,(29), 359.
- 4 - Balabanova, M.; Popova, L.; Tchipeva, R., *Clinics in Dermatology Y-* **2003**, 21, 2-6.
- 5 - Balcerzak, M. *Analytica Chimica Acta*, **1991**,242,185-90.
- 6 - Berrios, R. L.; Arbiser, J. L., *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **2011**,508 222–226.
- 7 - Bhandarkar, S. S.; MacKelfresh, J.; Fried, L.; Arbiser, J. L- *J. Am. Acad. Dermatol.*, **2008** ,711-712.
- 8 - Bhasikuttan, A. C.; Sapre, A. V.; Shastri, L. V- *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* , **2002** , 150 59–66.
- 9 - Burns, D. T.; Chimpalee, D.; Chimpalee, N.; Ittipornkul, S., 1991 - *Analytica Chimica Acta*, 254, 197-200.
- 10 - Chen, T. M.; Castaneda, M.; Wanitphakdeedecha, R.; Nguyen, T. H.; Tarrand, J. J.; Soares, M. K., - *American Journal of Infection Control*, **2009**, 244-246.
- 11 - Chih-Hung, C.; Chin-Feng, C.; Chuan-Hsin, H.; Tsai-Ling, T.; Shiu-Mei, L., 2008 - *Chemosphere*, 72 1712–1720.
- 12 - Cho, B. P.; Yang, T.; Blankenship, L. R.; Moody, J. D.; Churchwell, M.; Bebland, F. A., - *S. J. Culp, Chem. Res. Toxicol.*, **2003** , 16, 285– 294.
- 13 - Docampo, R.; Muniz; R. P. A. , Cruz, F. S. ; Mason, R. P., - *Science*,**1983**, 200, 1292.
- 14 - Docampo, R.; S. N. J. Moreno, *Drug Metab. Rev.*, **1990** ,22 ,161–6.
- 15 - Dowling, G.; Mulder, P. P. J.; Duffy, C.; Regan, L.; Smyth, M. R., - *Analytica Chimica Acta*, **2007**, 586, 411–419.
- 16 - Filipkowska, U.; Klimiuk, E.; Grabowski, S.; Siedlecka, E., - *Polish J. Environ. Stud.*, **2002**,11, 315–323.
- 17 - Fogg, A. G.; Soleymanloo, S.; Burns, D.

- T., - *Analytica Chimica Acta*. **1977**, 88, 197-200.
- 18 - Harris, D. C., 2001 - *Análise Química Quantitativa*, LTC editora, 5ª edição, Rio de Janeiro.
- 19 - Huan-Jung., F.; Shih-Tsuen, H.; Wen-Hsin, C.; Jeng-Lyan, J.; Wan-Yu, L.; Chiing-Chang, C., - *Journal of Hazardous Materials*, **2009**, 171, 1032-1044.
- 20 - Junior, H. S.; Freitas, G. R. S.; Néri, D. R. F.; Pereira, F. R. S.; Farias, R. F.; Pereira, F. C., - *Ecl. Quím.*, **2010**, 35 (3) 147-156.
- 21 - Lee, K. C.; Wu, J. L.; Cai, Z., - *Journal of Chromatography B*, **2006**, 843, 247-251.
- 22 - Long, C.; Mai, Z.; Yang, Y.; Zhu, B.; Xu, X.; Lu, L.; Zou, X. - *Journal of Chromatography A*, **2009**, 1216, 2275-2281.
- 23 - Markham, J. J. - *Analytical Chemistry*, **1967**, 3(2), 241-2.
- 24 - Mitrowska, K.; Posyniak, A.; Zmudzki, J., *Journal of Chromatography A*, **2005**, 1089, 187-192.
- 25 - Ramachandran, K. N.; Gupta, V. K., - *Microchemical Journal*, **1994**, 49, 48-55.
- 26 - Robinson, T.; McMullan, G.; Marchant, R.; Nigam, P., - *Bioresour. Technol.*, **2001**, 77, 247-255.
- 27 - Safarik, I.; Safarikova, M., - *Water Research*, **2002**, 36, 196-200.
- 28 - Sagar, K. A.; Smyth, I. M. R.; Rodriguez, M.; Blanco, P. T., - *Talanta*, **1995**, 42, (2) 235 - 242.
- 29 - Sahoo, C.; Gupta, A. K., - *A. Pal, Dyes and Pigments*, **2005**, 66, 189-196.
- 30 - Sato, S.; Uchikawa, S., *Analytical Chimica Acta*, **1982**, 143, 283-87.
- 31 - Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J., - *Fundamentals of Analytical Chemistry*, Ed. Harcourt College Publishing, 7ed., **1997**.
- 32 - Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A., - *Princípios de Análise Instrumental*, Bookman editora, Porto Alegre. 2002.
- 33 - Tacal, O. Z.; Zer, I. O., - *Journal of Hazardous Materials*, **2007**, 149, 518-522.
- 34 - Tao, Y.; Chen, D.; Chao, X.; Yu, H.; Yuanhu, P.; Liu, Z.; Huang, L.; Wang, Y.; Yuan, Z., *Food Control*, **2011**, 22, 1246 - 1252.
- 35 - Tbei, K.; Motomizu, S.; Yokosu, H., - *Analytica Chimica Acta*. **1979**, 110, 329-34.
- 36 - Weisburger, J. H., - *Mutat. Res.*, **2002**, 506-507, 9-20.
- 37 - Wu, X.; Zhang, G.; Wu, Y.; Houa, X.; Yuan, Z. - *Journal of Chromatography A*, **2007**, 1172 121-126.
- 38 - Zhang, L. S.; Wong, G. T. F., - *Talanta*, **1994**, 41 (12), 2137-145.