



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**ESTUDO SOBRE A UTILIZAÇÃO DE ELETRODO IMPRESSO  
DE CARBONO PRÉ-AATIVADO PARA O POTENCIAL  
MONITORAMENTO *IN LOCO* DE NIFEDIPINO**

**GABRIEL CHITOLINA RODRIGUES**

Florianópolis  
Junho/2023

**Gabriel Chitolina Rodrigues**

**ESTUDO SOBRE A UTILIZAÇÃO DE ELETRODO IMPRESSO DE  
CARBONO PRÉ-ATIVADO PARA O POTENCIAL MONITORAMENTO  
*IN LOCO* DE NIFEDIPINO**

Relatório apresentado ao Departamento de  
Química da Universidade Federal de Santa  
Catarina, como requisito parcial da  
disciplina de Estágio II (QMC 5512).

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cristiane Luisa Jost**  
**Orientador**

---

**Me. Adriano Rogério Silva Lima**  
**Coorientador**

---

**Me. Caio Raphael Vanoni Forcinitti**  
**Coorientador**

Florianópolis  
Junho/2023

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente gostaria de agradecer à minha mãe, Neusa, pelo seu amor e carinho durante todos esses anos, onde sem ela e todo seu esforço eu não conseguiria superar todos os desafios. Não tenho como colocar em palavras a sorte que tenho de ser seu filho, obrigado por tudo.

Aos meus amigos que estão traçando junto comigo essa trajetória há quase 9 anos, em especial Damasceno, Mendes e Indianara, por proporcionarem uma das melhores amizades que eu poderia ter.

À minha orientadora professora Cristiane Jost, pelos ensinamentos dados durante as suas aulas e principalmente no laboratório de pesquisa.

A todos do grupo AMPERE que durante todo o projeto me acolheram e me ensinaram tanto, que fazem do ambiente de pesquisa mais descontraído e divertido. Um agradecimento especial ao Caio e Adriano que compartilharam seus conhecimentos e trabalharam comigo na construção deste TCC.

Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão desta etapa tão importante da minha vida.

E por fim aos órgãos de fomento CNPq e FAPESC (Chamada pública FAPESC N° 03/2022, 2022TR001391, CLJ) pelas bolsas concedidas e apoio financeiro. E a UFSC pela bolsa de graduação (PIBIC-UFSC/CNPq 2022-2023).

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	13
2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES .....	13
2.1.1 Compostos orgânicos.....	14
2.1.2 Nifedipino.....	15
2.2 TÉCNICAS DE QUANTIFICAÇÃO PARA NIF .....	16
2.2.1 Técnicas eletroanalíticas .....	17
2.2.1.1 Eletrodos impressos.....	18
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	21
3.1 OBJETIVO GERAL.....	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	21
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	22
4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES.....	22
4.1.1 Reagentes.....	22
4.1.2 Soluções .....	22
4.2 INSTRUMENTAÇÃO .....	23
4.2.1 Sistema eletroquímico .....	23
4.2.2 Equipamentos .....	23
4.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAIS .....	24
4.3.1 Ativação dos eletrodos impressos.....	24
4.3.2 Caracterização por espectroscopia de impedância eletroquímica .....	24
4.3.3 Desenvolvimento e aplicação do método eletroanalítico .....	24
4.3.4 Segurança no laboratório .....	25
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	26
5.1 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE NIF EM ELETRODOS IMPRESSOS DE CARBONO, OURO E PLATINA .....	26
5.2 ESTUDO DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA .....	27
5.3 OTIMIZAÇÃO DOS VALORES DE PH.....	29
5.4 ESTUDO DO ELETRÓLITO SUPORTE .....	30
5.5 ESTUDO DE VELOCIDADE DE VARREDURA .....	33
5.6 ESCOLHA DA TÉCNICA ELETROANALÍTICA PARA A DETERMINAÇÃO DE NIF .....	37
5.7 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA SWV .....	38
5.8 CURVA DE CALIBRAÇÃO.....	40

<b>5.8.1 Sem Ativação.....</b>	<b>40</b>
<b>5.8.2 Com Ativação.....</b>	<b>41</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>43</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>44</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estrutura química de Nifedipino.....	15
<b>Figura 2.</b> Esquema representativo de uma célula eletroquímica. ....	18
<b>Figura 3.</b> Imagem de um SPCE comercial. ....	19
<b>Figura 4.</b> Voltamogramas cíclicos para o NIF $2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e NIF $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0) para os eletrodos impressos de trabalho, <b>(a)</b> carbono, <b>(b)</b> ouro e <b>(c)</b> platina; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . ....	27
<b>Figura 5.</b> Diagramas de Nyquist obtidos por EIS para as plataformas eletroquímicas SPCE e aSPCE, utilizando a solução sonda $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ a um concentração de $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ em quantidade equimolares em solução de KCl de $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ . ....	28
<b>Figura 6.</b> Circuito equivalente compatível com o diagrama de Nyquist. ....	29
<b>Figura 7.</b> Estudo de pH em voltametria cíclica para a NIF $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ ; <b>(a)</b> pH 2,0 a 6,0, <b>(b)</b> pH 6,0 a 12,0 e <b>(c)</b> corrente anódica e valores de potencial versus pH no eletrodo impresso de carbono; velocidade fixa em $50 \text{ mV s}^{-1}$ . ....	30
<b>Figura 8.</b> Voltamogramas para os tampões <b>(a)</b> Britton-Robison, <b>(b)</b> McIlvaine, <b>(c)</b> HEPES e <b>(d)</b> PBS e todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) por voltametria cíclica utilizando NIF a $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em SPCE; velocidade de varredura de $50 \text{ mV s}^{-1}$ e faixa de potencial de $-1,0$ a $0,6 \text{ V}$ . ....	31
<b>Figura 9.</b> Intensidade de corrente anódica e catódica para os tampões McIlvaine, PBS, HEPES e Britton-Robison todos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) por voltametria cíclica utilizando NIF a $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em SPCE; velocidade de varredura de $50 \text{ mV s}^{-1}$ e faixa de potencial entre $-1,0$ a $0,6 \text{ V}$ . ....	32
<b>Figura 10.</b> <b>(a)</b> Voltamogramas para as concentrações de $0,10$ , $0,15$ e $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ de Britton-Robison (pH 7,0) por voltametria cíclica utilizando NIF a $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em SPCE; velocidade de varredura de $50 \text{ mV s}^{-1}$ e faixa de potencial de $-1,0$ a $0,6 \text{ V}$ . <b>(b)</b> Intensidade de corrente anódica e catódica para as concentrações entre $0,025$ a $0,30 \text{ mol L}^{-1}$ de Britton-Robison (pH 7,0) obtidas a partir dos voltamogramas anteriores. ....	32
<b>Figura 11.</b> <b>(a)</b> Estudo de velocidade de varredura em voltamogramas cíclicos para a NIF $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) no eletrodo impresso de carbono; velocidade entre $10 - 200 \text{ mV s}^{-1}$ <b>(b)</b> $i_{pa}$ e $i_{pc}$ versus $v$ , <b>(c)</b> $i_{pa}$ e $i_{pc}$ versus $v^{1/2}$ , <b>(d)</b> $\log v$ versus $\log i$ . ....	35
<b>Figura 12.</b> <b>(a)</b> Voltamogramas referentes as técnicas de DPV, LSV e SWV, o eletrólito suporte foi o tampão Britton-Robinson a $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) utilizando NIF a $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em SPCE; velocidade de varredura de $20 \text{ mV s}^{-1}$ ; <b>(b)</b> Intensidade de corrente catódica para as técnicas aplicadas. ....	37
<b>Figura 13.</b> Os voltamogramas são referentes as variações dos parâmetros experimentais para a técnica de voltametria de onda quadrada, onde <b>(a)</b> é a frequência, <b>(c)</b> amplitude de pulso e <b>(e)</b> incremento de potencial; nos gráficos à direita temos as intensidades de corrente para cada parâmetro, onde são destacados em vermelho os pontos onde se teve um melhor comportamento de sinal. ....	39
<b>Figura 14.</b> <b>(a)</b> Voltamogramas em onda quadrada para diferentes concentrações de nifedipino com a <b>(b)</b> construção da curva de calibração, utilizando valores de concentração entre $4$ a $42 \mu\text{mol L}^{-1}$ em SPCE sem ativação. ....	39

**Figura 15. (a)** Voltamogramas em onda quadrada para diferentes concentrações de nifedipino com a **(b)** construção da curva de calibração, utilizando valores de concentração entre 4 a 42 mmol L<sup>-1</sup> em SPCE com ativação em carbonato de sódio. .... 40

## LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

**AE** - (do inglês *auxiliary electrode*) - Eletrodo auxiliar

**ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**aSPCE** - (do inglês *activated screen printed carbon electrode*) - Eletrodo impresso de carbono ativado

**B-R** - (do inglês *Britton-Robinson buffer solution*) - Solução tampão Britton-Robinson

**CV** - (do inglês *cyclic voltammetry*) - Voltametria cíclica

**CPE** - (do inglês *constant phase element*) - Elemento de fase constante

**DPV** - (do inglês *differential pulse voltammetry*) - Voltametria pulso diferencial

**EIS** - (do inglês *electrochemical impedance spectroscopy*) - Espectroscopia de impedância eletroquímica

**EOC** - (do inglês *emerging organic compounds*) - Contaminantes orgânicos emergentes

**ETE** - Estação de tratamento de efluentes

**GC** - (do inglês *gas chromatography*) - Cromatografia gasosa

**HPLC** - (do inglês *high-performance liquid chromatography*) - Cromatografia líquida de alta eficiência

**LC** - (do inglês *liquid chromatography*) - Cromatografia líquida

**LOD** - (do inglês *limit of detection*) - Limite de detecção

**LOQ** - (do inglês *limit of quantification*) - Limite de quantificação

**LSV** - (do inglês *linear sweep voltammetry*) - Voltametria de varredura linear

**MS** - (do inglês *mass spectrometry*) - Espectrometria de massa

**NIF** - Nifedipino

**PBS** - (do inglês *phosphate buffer solution*) - Solução tampão fosfato

**POC** - (do inglês *point of care*) - Teste no ponto de atendimento

**R<sub>s</sub>** - (do inglês *solution resistance*) - Resistência da Solução

**R<sub>tc</sub>** - (do inglês *charge transfer resistance*) - Resistência a transferência de carga

**RE** - (do inglês *reference electrode*) - Eletrodo de referência

**RENAME** - Relação Nacional de Medicamentos Essenciais

**SPCE** - (do inglês *screen printed carbon electrode*) - Eletrodo impresso de carbono



**SWV** - (do inglês *square wave voltammetry*) - Voltametria de onda quadrada

**WE** - (do inglês *working electrode*) - Eletrodo de trabalho

## RESUMO

Nifedipino (NIF) é um fármaco amplamente aplicado no tratamento de doenças cardiovasculares, bem como a prevenção de partos prematuros. No presente trabalho temos a utilização de eletrodos impressos de carbono (SPCE, do inglês *screen printed carbon electrode*) com o intuito de desenvolver uma metodologia para a detecção *in loco* de NIF, levando como adendo o comportamento das ativações químicas em relação a sensibilidade analítica. As aplicações *in loco* abrangem uma parcela no meio científico por permitir a preservação da natureza do analito e da amostra. A pré-ativação química, realizada no SPCE, com  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , mostrou fortes indícios do potencial de recuperação destes eletrodos comerciais, onde a comparação se deu através de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) e por voltametria de onda quadrada (SWV). NIF mostrou em voltametria cíclica (CV) dois processos eletroquímicos, um de oxidação outro de redução,  $-0,25\text{ V}$  e  $-0,32\text{ V}$  (*vs.* Ag), respectivamente. O comportamento com base na intensidade de pico semelhante e a distância entre os potenciais indica uma reação *quasi*- reversível. O melhor sinal de corrente foi otimizado em solução tampão Britton-Robinson  $0,15\text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) e a técnica aplicada foi o de onda quadrada (SWV) devido à sua maior sensibilidade frente ao analito. Os parâmetros e valores otimizados foram: frequência = 2 Hz, incremento de potencial = 8 mV e amplitude de pulso = 40 mV. Dentro destes parâmetros duas curvas de calibração foram construídas, a fim averiguar o efeito da pré-ativação pelo emprego de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . A faixa de concentração investigada na curva de calibração foi de  $4,0$  a  $42\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$  ( $R^2 = 0,99481$ ). Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para o eletrodo sem ativação foram de  $0,925\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$  e  $2,804\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Para o eletrodo impresso de carbono ativado (aSPCE, do inglês *activated screen printed carbon electrode*), foram obtidas duas faixas lineares, sendo a primeira entre  $4$  a  $8\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$  ( $R^2 = 0,99907$ ) e a segunda de  $12$  a  $28\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$  ( $R^2 = 0,99980$ ). Para a primeira faixa linear, o LOD =  $0,442\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$  e o LOQ =  $1,340\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ . Para a segundo, LOD =  $0,699\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$  e LOQ =  $2,121\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ . A avaliação do método eletroanalítico proposto ressalta o uso da pré-ativação para a determinação de NIF em monitoramento *in loco*. Resultados mostraram grande potencial por abordagens simples de pré-ativação de superfícies com o intuito de melhorar a *performance* de eletrodos impressos comerciais.

**Palavras chaves:** Aplicação *in loco*. Eletrodo impresso de carbono. Contaminantes orgânicos emergentes. Nifedipino. Pré-ativação.

## 1. INTRODUÇÃO

A contínua evolução da sociedade e o desenvolvimento tecnológico têm trazido diversos benefícios para a humanidade. No entanto, esse progresso também acarreta desafios ambientais, especialmente quando se trata da presença de contaminantes emergentes no meio ambiente. São considerados produtos tóxicos que acabam não tendo a remoção devida pelos processos tradicionais de tratamento de água para consumo humano. Entre esses contaminantes, destacam-se os compostos orgânicos emergentes (EOCs, do inglês *Emerging Organic Compounds*), estes que incluem substâncias farmacêuticas e os seus metabólitos, por exemplo. O uso excessivo de remédios pelas pessoas e a falta de legislações e fiscalizações necessárias em estações de tratamento de efluentes são pilares que suportam tal problemática. Dentro dos principais problemas ocasionados na parcela da sociedade que usufrui das águas contaminadas, são desencadeadas doenças crônicas tais como infertilidade, resistência aos antibióticos e alteração da pressão arterial.

A preocupação com a presença dos contaminantes emergentes na água potável e no meio ambiente tem impulsionado a pesquisa científica em busca de métodos eficientes para a quantificação dessas substâncias. Dentre as técnicas usualmente utilizadas, destacam as eletroquímicas, que abrange, por exemplo, a voltametria, condutimetria e amperometria. Estas técnicas baseiam-se em reações que envolvem a transferência de elétrons e a interconversão de energia química em energia elétrica, promovendo desta forma, estudos analíticos amplamente aplicados no meio científico

Nesse contexto, os eletrodos impressos têm ganhado destaque como uma alternativa promissora para a análise na determinação e quantificação de EOCs, tal como o nifedipino (NIF). Este é um fármaco amplamente aplicado mundialmente pela sua efetividade na prevenção de partos prematuro, além de serem recomendados em casos de hipertensão. Os eletrodos impressos incorporam a cultura de miniaturização, visto que oferecem diversas vantagens para aplicação *in loco*, como alta sensibilidade, seletividade, facilidade de uso e baixo custo. A tendência pela determinação direta nos locais contaminados vem sendo cada vez mais aprofundado, em especial por promover a preservação da natureza das amostras.

Portanto, este trabalho tem como objetivo aplicar técnicas eletroanalíticas utilizando-se dos aSPCE, com foco na determinação de NIF. Buscou-se caracterizar os eletrodos e estudar a resposta

eletroquímica de NIF frente a ele. Por fim, com a otimização das características desejadas, validar o método analítico.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES

O crescimento acelerado das grandes cidades e de suas populações vêm gerando preocupação acerca dos recursos hídricos disponíveis. Muitas das estações de tratamento de efluentes (ETEs), utilizadas na captação e processamento de esgoto, ainda não possuem um rigor sobre a determinação de alguns poluentes encontrados durante seus processos. A grande urbanização promove diversos desafios técnicos, ecológicos e sociais, sendo o fornecimento de água potável um dos maiores problemas encontrados. O descarte das águas residuais contaminadas pelos ECs, acabam entrando em muitas discussões ambientais por comprometerem a saúde de quem a consome diretamente através do lençol freático e indiretamente através da bioacumulação na fauna e flora da região contaminada<sup>1,2</sup>.

Geralmente, os monitoramentos da qualidade de água realizadas nas ETEs são focados nas determinações de nutrientes, bactérias, metais pesados e poluentes prioritários (compostos com efeitos negativos à saúde, tais como pesticidas, produtos químicos industriais e hidrocarbonetos de petróleo). Porém pesquisas recentes mostraram a falta de preocupação com os contaminantes emergentes presentes nas águas residuais e superficiais urbanas<sup>3-6</sup>. Os contaminantes prioritários normalmente são aqueles compostos muito bem conhecidos e protocolados; sabe-se já das suas consequências, limites máximos estabelecidos por regulamentos nacionais e/ou internacionais e efeitos diretos ao ambiente aquático e ao ser humano. Em contrapartida tem-se os poluentes emergentes, onde os seus efeitos adversos à saúde são pouco conhecidos, provocando a contaminação do meio ambiente durante anos. Este processo ocorre até a constatação de suas reais consequências, promovendo assim a criação de legislações exigindo os limites máximos permitidos antes da liberação ao meio ambiente<sup>7</sup>.

Esses novos contaminantes pertencem às diversas classes de compostos e normalmente são detectados em concentrações na faixa de  $1 \text{ ng L}^{-1}$  a  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Entretanto, algumas fontes científicas reportaram concentrações que podem atingir até  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  em alguns casos<sup>1</sup>. Tais compostos são denominados “contaminantes emergentes”, e sua diversidade pode ser bem extensa. Alguns exemplos incluem hormônios, antibióticos, surfactantes, desreguladores endócrinos, produtos

farmacêuticos humanos e veterinários, meios de contraste de raios-x, pesticidas e metabólitos, subprodutos de desinfecção, toxinas de algas e compostos de sabor e odor<sup>1</sup>.

### 2.1.1 Compostos orgânicos

As moléculas orgânicas são consideradas as principais espécies envolvidas em processos metabólicos que ocorrem em seres vivos, sendo as mais importantes para gerar a vida como é conhecida<sup>8,9</sup>. Existem milhões de compostos orgânicos catalogados atualmente, porém um dos seus principais grupos são os hidrocarbonetos. Estes são normalmente constituídos apenas dos dois átomos mais abundantes na terra, o carbono e o hidrogênio, os quais formam as inúmeras estruturas químicas possíveis. Uma das formas de explicar a grande variedade de estruturas orgânicas é a partir das suas ligações químicas do tipo hidrogênio-carbono e carbono-carbono, estas que podem estender suas cadeias principais gerando, assim, sua diversidade.<sup>10</sup>

Além da complexidade envolvida nos hidrocarbonetos, pode-se encontrar nos compostos orgânicos a presença de heteroátomos mais eletronegativos que o carbono, assim como o oxigênio, nitrogênio e halogênios (bromo, cloro, flúor etc.), os quais levam às diversas combinações entre átomos, gerando possibilidades moleculares naturais e sintéticas. Por conseguinte, a polaridade encontrada em tais átomos em comparação ao carbono gera um aumento da solubilidade em meio aquoso dos compostos por eles formados<sup>11</sup>. Por conta desta característica de solubilidade de alguns compostos orgânicos, discussões sobre a falta de legislação específica para seu monitoramento têm entrado em voga.

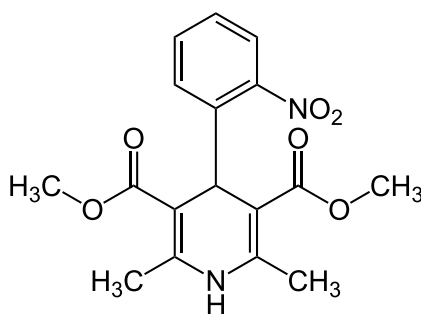
Os EOCs são espécies químicas que apresentam alta estabilidade, baixa biodegradabilidade e na grande maioria elevada solubilidade em água, propriedades que geram grandes preocupações vindo da comunidade científica e dos órgãos legisladores nacionais e internacionais<sup>12</sup>. Acredita-se que estas substâncias possuem efeitos endócrinos em organismos vivos, atuando, possivelmente, a longos prazos<sup>13</sup>. Nesta categoria, os produtos farmacêuticos acabam por ter elevada contribuição. Um dos motivos é por serem consumidos por extensa parcela da sociedade e, muitas vezes, serem vendidos sem prescrição médica. Dentre estes, existem várias classes, como antibióticos, anti-inflamatórios e analgésicos, reguladores lipídicos, betabloqueadores, esteroides e hormônios, antiepiléticos, diuréticos e terapêuticos contra o câncer<sup>14</sup>.

Não se tem conhecimento total das causas prejudiciais nas faunas e floras dos locais contaminados, nem de doenças que podem aparecer a longo prazo em pessoas que usufruem destes recursos hídricos. No entanto, alguns trabalhos já reportam efeitos adversos à saúde humana, tais como lesões celulares, desregulação endócrina, infertilidade, alteração comportamental, resistência aos antibióticos e alteração da pressão arterial<sup>15,16</sup>. Logo, percebe-se a necessidade do monitoramento dos EOCs em amostras ambientais, especialmente no que se diz respeito à exposição prolongada aos tais contaminantes<sup>15,16</sup>.

### 2.1.2 Nifedipino

Dentro do que constitui os EOCs, tem-se o fármaco nifedipino (NIF), nome IUPAC: dimetil 2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-1,4-di-hidropiridina-3,5-dicarboxilato (Fig. 1). Este pertence a uma classe denominada bloqueadores dos canais de cálcio (BBCs), os quais promovem diminuição da resistência vascular periférica, com conseqüente redução na pressão arterial, além da diminuição da concentração de cálcio nas células da musculatura lisa vascular<sup>17,18</sup>, sendo amplamente aplicados às doenças cardiovascular, como hipertensão primária, insuficiência cardíaca e isquemia cerebral<sup>19,20</sup>.

**Figura 1.** Estrutura química de Nifedipino.



**Fonte.** O autor.

A aplicação desta classe BBCs, principalmente o nifedipino, vem sendo responsável por uma diminuição significativa na morbidade neonatal, levando em consideração outros agentes disponíveis para a realização da tocolise (recurso para adiar o parto prematuro). Seu baixo custo, poucos efeitos colaterais e fácil administração no consumo tornam este medicamento um dos

principais utilizados em diversos países desenvolvidos<sup>21</sup>. No Brasil o NIF está entre os fármacos considerados essenciais pertencendo ao RENAME - Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (2022), lista elaborada pelo Ministério da Saúde, evidenciando a sua importância<sup>22</sup>.

Segundo recomendação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) o NIF deve ser consumido via oral, pois são nestas condições que o fármaco pode chegar a 90% de sua liberação de maneira rápida<sup>23</sup>. Porém após a passagem pelo fígado existe uma diminuição da biodisponibilidade, sendo reduzida para 50 a 70% de seu princípio ativo. O metabolismo hepático (fígado) age de maneira rápida na absorção deste fármaco, levando sua excreção através da urina, onde aproximadamente 5% do fármaco inalterado é liberado<sup>24</sup>.

No Brasil, o NIF é comercialmente apresentado em comprimidos, onde para adultos tem-se um limite máximo de 120 mg/d<sup>24</sup>. Existe algumas contraindicações apresentadas pelo fármaco citado, são elas os casos de infarto agudo, hipotensão arterial, insuficiência cardíaca, transtorno do nodo sinusal, angina instável, porfirias. Sua detecção em águas superficiais já ocorre no meio científico<sup>25-28</sup>. Segundo Heberer<sup>29</sup>, aplicando cromatografia líquida de alta eficiência foram detectados nos efluentes das estações municipais tratamento de esgoto e água superficiais, em Berlim, contaminantes referentes ao NIF. Dentro do atual momento, não existe nenhum levantamento através de legislações e leis que mobilizem as ETEs a fim de detectar e obstruir a passagem de NIF nas águas superficiais.

## 2.2 TÉCNICAS DE QUANTIFICAÇÃO PARA NIF

Algumas técnicas utilizadas na detecção e quantificação de NIF são descritas na literatura e englobam, por exemplo, cromatografia gasosa (GC - *gas chromatography*)<sup>30,31</sup>, cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS - *liquid chromatography -tandem*)<sup>32,33</sup>, espectrometria de massas (MS - *mass spectrometry*)<sup>34</sup>, cromatografia líquida de ultra-alta pressão (UHPLC - *ultra-high pressure liquid chromatography*)<sup>35</sup>, espectrometria de absorção molecular no UV-vis<sup>36,37</sup> e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - *high-performance liquid chromatography*)<sup>38-40</sup>.

Conforme o trabalho de Tadashi et al.<sup>35</sup> a técnica de UHPLC-UV foi aplicada para a determinação simultânea de valsartana e nifedipino, com intuito de desenvolver, validar e aplicar o método utilizado. Ao finalizar o desenvolvimento foram obtidos os valores de limite de detecção



(LOD - do inglês *limit of detection*) e limite de quantificação (LOQ - do inglês *limit of quantification*) para NIF de  $10,9 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $33,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Os resultados obtidos foram promissores, pois mostraram baixos limites de LOD e LOQ para ambos os fármacos juntamente com boa seletividade.

Sobre o trabalho realizado por Zendelovska et al.<sup>38</sup> foi desenvolvido um método seletivo, sensível e preciso através do HPLC, validado e aplicado para determinação de nifedipino em amostras de plasma humano. Uma série de estudos foi conduzida para investigar os efeitos da composição da fase móvel, concentração do tampão, pH da fase móvel e concentração de modificadores orgânicos, e para desenvolver um método conveniente e fácil de usar para análise quantitativa de nifedipino. O limite de detecção alcançado pelo método aplicado foi de  $0,01 \text{ nmol L}^{-1}$ .

Os equipamentos descritos acima são de grande valia no desenvolvimento de métodos analíticos, entretanto existe um grande esforço nos processos de pré-tratamento de amostras, os quais costumam ser extensos e complexos (etapas de digestão ou limpeza), com operações detalhadas, treinamento para o seu uso e reagentes específicos, onde além de prolongar o processo de detecção levam à possível perda do analito<sup>41</sup>. Além disso, o transporte de amostras também é necessário, já que os equipamentos não costumam ser deslocalizados dos laboratórios de origem<sup>42</sup>. Com esses pontos foi fundamental criar, dentro do meio científico, a cultura de miniaturização dos equipamentos dispostos à análise, por englobar vantagens de portabilidade e baixo custo, além de amplamente serem empregues para aplicações *in loco* e superar em alguns limites dos procedimentos analíticos convencionais<sup>43</sup>.

A utilização de métodos eletroanalíticos para a determinação deste fármaco já são relatadas na literatura, na qual se tem uma gama de aplicações com inúmeros benefícios<sup>44-51</sup>. Estes métodos, além possuírem baixo custo do ponto de vista operacional, apresentam facilidade em melhorar a sensibilidade a partir de modificações ou ativações das superfícies dos eletrodos, gerando aumento de sensibilidade da técnica aplicada<sup>52,53</sup>.

### 2.2.1 Técnicas eletroanalíticas

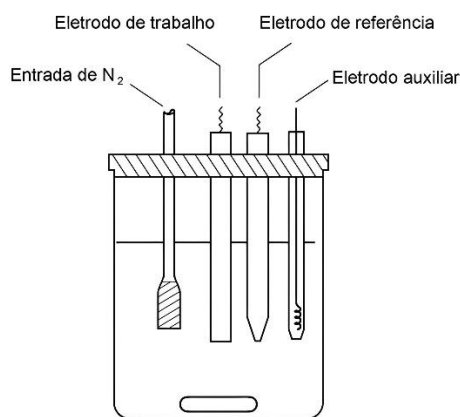
Dentre as inúmeras técnicas que são aplicadas para a determinação de EOCs, as eletroanalíticas vem tomando espaço no cenário científico e industrial, com a utilização da

potenciometria, condutimetria, amperometria e voltametria aplicadas ao monitoramento ambiental<sup>54,55</sup>.

A voltametria teve seus primórdios em 1922 por dois cientistas, Heyrovsky e Kuceras. Naquela época, a técnica foi aplicada na forma de polarografia, em referência ao modo de operação gotejante do eletrodo de trabalho de mercúrio<sup>56</sup>. Com o passar dos anos, houve direcionamento do foco para a adoção de eletrodos de trabalho e dispositivos “ambientalmente amigáveis” (*eco-friendly*), propiciando uma forma mais segura de aplicar a eletroanálise.

O sistema eletroquímico é formado por três eletrodos, sendo eles o de trabalho (WE - do inglês *working electrode*), o de referência (RE - do inglês *reference electrode*) e o auxiliar (AE - do inglês *auxiliary electrode*)<sup>55,57</sup>. A **Figura 2** exemplifica uma célula eletrolítica com a inserção dos três eletrodos, além de uma entrada de gás nitrogênio, este normalmente utilizado como gás de purga quando são monitorados sinais de redução em que o oxigênio sobrepõe o sinal do analito<sup>56</sup>. Comparado com os equipamentos de grande porte como HPLC e GC-MS, tem-se um sistema pequeno e versátil. No entanto, com o avanço da tecnologia de impressão, atualmente já se é possível obter dispositivos miniaturizados, compactos e com mínima geração de resíduos.

**Figura 2.** Esquema representativo de uma célula eletroquímica.



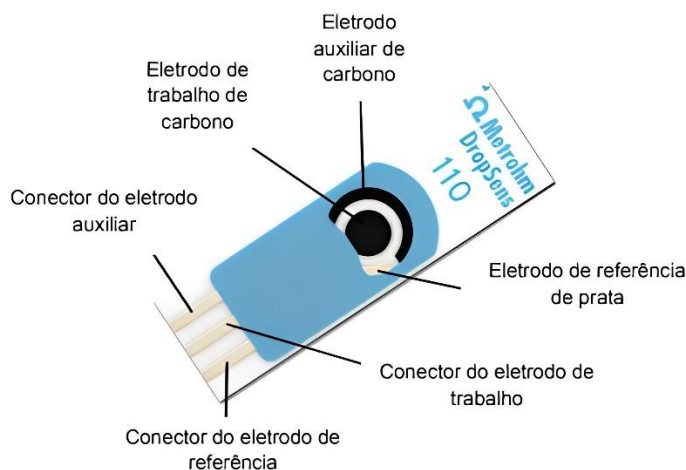
**Fonte.** Aleixo et al., 2003<sup>57</sup>.

### 2.2.1.1 Eletrodos impressos

Com o avanço tecnológico teve-se a necessidade de expandir e melhorar as formas de análise *in loco*, sem a necessidade de grandes aparatos. Assim, foi no ano de 1990, que se deu início à construção dos primeiros eletrodos impressos, o que gerou o barateamento nos custos de

produção e execução de análises eletroanalíticas sem desmerecer a confiabilidade e nem na replicabilidade dos resultados<sup>58</sup>. A **Figura 3** apresenta um exemplo de um eletrodo de carbono impresso (SPCE - do inglês *screen printed carbon electrode*) constituído pelo conjunto de três eletrodos, a dimensão da estrutura de cerâmica é de 3,4 x 1,0 cm. Neste caso, a célula eletrolítica que normalmente levaria 10 mL de solução, é reduzida para uma gota de somente 50  $\mu\text{L}$  que é depositado sobre o sistema dos eletrodos.

**Figura 3.** Imagem de um SPCE comercial.



**Fonte.** *Screen-Printed Carbon Electrode*. Metrohm, 2023.

Essas pequenas funcionalidades visando o seu valor de custo, tamanho e portabilidade dos eletrodos, menores quantidades de resíduo formado por análise e a utilização direta sem a necessidade de modificações mostram uma grande aplicação para o seguimento *point-of-care* (POC), o qual propicia melhor acessibilidade às análises qualitativas em locais com falta de infraestrutura laboratorial. Estes testes realizados geralmente são focados para as áreas ambientais e hospitalares, por necessitarem da rapidez e facilidade de análise<sup>59</sup>.

Os eletrodos impressos são versáteis em relação as suas próprias composições e as modificações superficiais. Os mais facilmente encontrados comercialmente são os de carbono, por terem boa condutividade e principalmente pelo seu valor acessível. No entanto, ainda se tem disponíveis os eletrodos de ouro, platina, alguns revestidos com nanomateriais e em casos específicos existe a disponibilidade de serem fabricados feito sob medida, podendo ter variações de dimensões, por exemplo<sup>60</sup>.

Os eletrodos impressos são normalmente vendidos como descartáveis, e suas recuperações, normalmente, passam despercebidos por alguns artigos que o utilizam. Contudo existem alguns meios de se realizar estas recuperações aplicando soluções químicas, onde normalmente reativam a superfície de contato do eletrodo de trabalho, facilitando assim a transferência de elétrons nos processos de oxirredução<sup>61</sup>. Geralmente, os tratamentos são elaborados com a adição de soluções ácido ou base, que auxiliam na redução do efeito de memória do analito. As ciclagens voltamétricas em solvente ou simplesmente polindo com alumina utilizando um algodão, são algumas alternativas para reabilitar o SPE<sup>62,63</sup>. A grande versatilidade e vantagens da utilização dos processos de pré-ativação vem sendo cada vez mais estudados por conta da praticidade de seu uso.

As aplicações de modificadores em superfícies dos eletrodos impressos são levadas em consideração na academia por promoverem o aumento de sensibilidade. Há uma vasta gama de artigos que reportam tais procedimentos<sup>64-67</sup>. Entretanto, com o intuito de aplicação no seguimento POC, é interessante que modificações complexas realizadas sobre o eletrodo de trabalho sejam minimizadas ou até mesmo não ocorram. Pois demandam um tempo necessário para que se perca o solvente da modificação e crie-se o filme em contato com a superfície do eletrodo de trabalho. Em geral, as modificações são executadas através do revestimento com gota, por praticidade na execução<sup>68</sup>.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um método eletroanalítico utilizando-se de eletrodos impressos de carbono, quimicamente ativados, para a determinação de nifedipino. Além da proposta da aplicação em amostras de águas oriundas da Lagoa da Conceição em Florianópolis - Santa Catarina.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar o comportamento eletroquímico de nifedipino frente aos SPCE e aSPCE;
- Avaliar os parâmetros de análise, tais como valores de pH, natureza e concentração do eletrólito suporte. Adicionalmente, escolher o melhor tipo de modo de operação voltamétrico de pulso (onda quadrada ou pulso diferencial);
- Otimizar os parâmetros voltamétricos da técnica escolhida, assim como incremento de potencial, amplitude, tempo e frequência de pulso;
- Avaliar as características do método proposto a partir da construção da curva de calibração e posterior obtenção dos valores dos limites de detecção e quantificação, com comparação direta aos eletrodos com ativação;
- Proposta para a quantificação de NIF em amostras de águas provindas da Lagoa da Conceição em Florianópolis - Santa Catarina.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

#### 4.1.1 Reagentes

Os reagentes químicos que foram utilizados para a execução do projeto em questão são listados no **Quadro 1**.

**Quadro 1.** Especificações dos reagentes empregados.

REAGENTES	FÓRMULAS	MARCA	PUREZA
Ácido acético	$C_2H_4O_2$	Vetec	$\geq 99,7\%$
Ácido bórico	$H_3BO_3$	Acros Organics	$\geq 99,5\%$
Ácido cítrico	$C_6H_8O_7$	Sigma Aldrich	99,5%
Ácido fosfórico	$H_3PO_4$	Grupo Química	$\geq 85,0\%$
Alumina (0,05 micron)	$Al_2O_3$	Arotec	-----
Carbonato de sódio	$Na_2CO_3$	Merch	-----
Cloreto de potássio	KCl	Isofar	$\geq 99,0\%$
Etanol	$C_2H_5OH$	Meta Química	$\geq 99,3\%$
Ferricianeto de potássio	$K_3Fe(CN)_6$	Vetec	$\geq 99,0\%$
Ferrocianeto de potássio	$K_4Fe(CN)_6$	Vetec	$\geq 98,5\%$
Fosfato de sódio monohidratado	$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$	Neon	$\geq 98,7\%$
HEPES	$C_8H_{18}N_2O_4S$	Neon	99,0%
Hidróxido de sódio	NaOH	Vetec	$\geq 99,0\%$
Nifedipino	$C_{17}H_{18}N_2O_6$	Bayer	$\geq 98,0\%$

#### 4.1.2 Soluções

Todas as soluções preparadas com os reagentes descritos no **Quadro 1** foram solubilizadas utilizando de água ultrapura do sistema Milli-Q da empresa Millipore (Bedford, MA, USA) com resistividade de 18,2 M $\Omega$  cm a 25 °C.

A sonda preparada com os sais de  $K_3[Fe(CN)_6]$  e de  $K_4[Fe(CN)_6]$  a uma concentração de 0,005 mol L<sup>-1</sup> cada uma, foram preparadas em solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Já a solução tampão Britton-Robinson (B-R), utilizada para o estudo do comportamento dos analitos frente às variações

de pH, foi preparada com a adição dos ácidos acético, bórico e fosfórico ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), onde através do ajuste de pH utilizando NaOH  $7,0 \text{ mol L}^{-1}$  foi possível abranger uma faixa entre 2,0 e 12,0. Utilizou-se também a solução tampão fosfato (PBS, do inglês *phosphate buffer solution*), compostas por ácido fosfórico, solução tampão HEPES e McIlvaine, composta por ácido cítrico e fosfato de sódio, todas em pH 7,0. O armazenamento das soluções deu-se sob refrigeração à  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  com prazo máximo de utilização em 90 dias.

Todas as soluções partindo de nifedipino, foram armazenadas através de uma solução estoque com concentração de  $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  solubilizada em etanol, onde diariamente foram diluídas para concentrações menores e assim utilizadas em análise.

## 4.2 INSTRUMENTAÇÃO

### 4.2.1 Sistema eletroquímico

As leituras voltamétricas foram realizadas sobre o eletrodo impresso de carbono, ouro e platina, estes que consistem em uma única peça dividida em três eletrodos: eletrodo de trabalho de carbono (diâmetro = 4 mm), eletrodo auxiliar de carbono e eletrodo de referência de prata. Todos os eletrodos são serigrafados em uma peça de cerâmica com dimensões de  $3,4 \times 1,0 \times 0,05 \text{ cm}$ . Este conjunto foi nomeado de sistema eletroquímico e suporta um volume máximo de  $50 \text{ } \mu\text{L}$ .

### 4.2.2 Equipamentos

As análises voltamétricas foram realizadas com o auxílio de dois potenciostato/galvanostato portátil, o DropSens modelo  $\mu\text{Stat-i 400s}$  (Metrohm DropSens – Espanha) e PalmSens (Palm Instruments BV – Holanda) conectados a um computador contendo o *software* DropView (versão 3.78) e PSTrace (versão 5.5), a partir do qual foram obtidos os voltamogramas. Os eletrodos impressos são inseridos em um conector responsável por transmitir os dados gerados ao sistema computacional, estes que foram tratados em programa gráfico.

As medições de pH foram realizadas com o uso de um conjunto medidor de eletrodo combinado Ohaus (Modelo ST3100-F), após calibração.

## 4.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAIS

### 4.3.1 Ativação dos eletrodos impressos

Para a ativação foram utilizados uma solução de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) saturada em água ultrapura, onde através de 50  $\mu\text{L}$  em contato com os três pontos do eletrodo impresso foi aplicado um potencial fixo de 1,2 V na superfície do eletrodo durante um tempo de 5 minutos.

### 4.3.2 Caracterização por espectroscopia de impedância eletroquímica

Inicialmente os sensores SPCE e aSPCE foram avaliados a partir da espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, do inglês *electrochemical impedance spectroscopy*), utilizando o mesmo aparato instrumental descrito no subtópico 4.2.2. Os experimentos de EIS foram realizados em intervalos de frequência de 0,1 a 100.000 Hz aplicando no sistema eletrolítico, com a solução sonda de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  (0,005 mol  $\text{L}^{-1}$  em quantidade equimolar) preparadas em KCl 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  sobre o eletrodo impresso. Para tais estudos, foi usado o *software* DropView.

### 4.3.3 Desenvolvimento e aplicação do método eletroanalítico

Estudos sobre os eletrodos impressos de carbono sem e com ativações químicas foram realizados com o intuito de obter um melhor compromisso entre intensidade de corrente e perfil voltamétrico para o NIF. Sendo assim, foi avaliado a resposta para este analito aplicando a pré-ativação com carbonato de sódio e comparando os limites de detecção e quantificação.

Os perfis voltamétricos de cada analito foram estudados em diferentes valores de pH e este valor otimizado, alterando a sua natureza tamponante e sua concentração. Concomitantemente, estudos de mecanismo e processo eletroquímico predominante (difusional ou adsorptivo) sobre a superfície do eletrodo foram realizados a partir da variação da velocidade de varredura. O estudo de variação de pH também foi feito para estimar a relação entre prótons e elétrons envolvidos nos processos de oxirredução dos analitos.



O modo operacional da voltametria de pulso foi avaliado entre onda quadrada, pulso diferencial e voltametria linear, com a realização das otimizações de parâmetros. Por fim, a comparação do método foi dada pela construção da curva de calibração.

Amostras de água de origem natural serão coletadas em diferentes regiões da Lagoa da Conceição com a análise aplicada *in loco*. Medidas comparativas poderão ser conduzidas tomando-se como base a Lagoa do Peri, conhecido ambiente isento do efeito antropogênico. Etapas de pré-tratamento, filtração ou extração não serão aplicadas às amostras coletadas.

#### **4.3.4 Segurança no laboratório**

Em todos os experimentos foram utilizados equipamento de proteção individual (EPI) adequados ao laboratório, tais como, jaleco, luvas e óculos de proteção quando necessário. O manuseio de soluções voláteis foi feito em capela com exaustão, para prevenir algum acidente que possa ocorrer devido aos vapores.

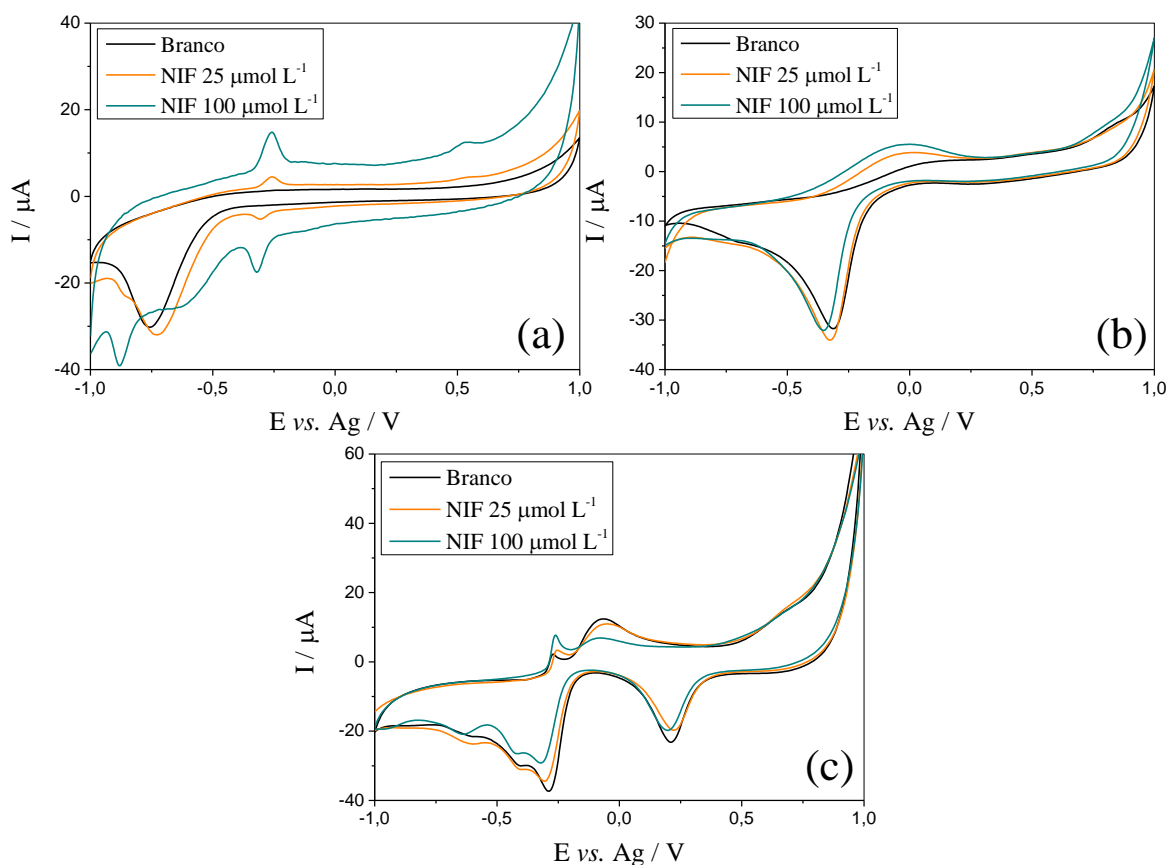
As soluções tampão residuais foram neutralizadas até o pH 7,0 e descartadas na pia. Já as soluções do NIF foram mantidas em bombonas de descarte até o recolhimento adequado por empresas que prestam serviço para a UFSC.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE NIF EM ELETRODOS IMPRESSOS DE CARBONO, OURO E PLATINA

Inicialmente, estudos com intuito de averiguar o comportamento dos eletrodos impressos que possuem melhor resposta frente ao analito nifedipino (NIF) foram realizadas. Os eletrodos impressos de carbono, ouro e platina, foram aplicados através da voltametria cíclica, onde duas soluções com concentrações de 25 e 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de NIF são consideradas. Os analitos foram preparados em solução tampão Britton-Robinson 0,1  $\text{mol L}^{-1}$  com pH 9,0. Analisando a **Figura 4**, tem-se que os eletrodos de platina e ouro não apresentaram qualquer resposta ao analito, mesmo com o aumento de concentração. Entretanto o eletrodo de carbono, está sujeito ao aumento da intensidade de corrente com o acréscimo do analito no sistema eletroquímico. O SPCE mostrou, para o NIF, um sinal de oxidação e redução, com potenciais de -0,26 V e -0,32 V (*vs* Ag), respectivamente. O valor de corrente para o pico anódico, na concentração de 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , foi de 8,03  $\mu\text{A}$  e para o catódico -6,95  $\mu\text{A}$ . Com base na comparação entre os equipamentos deu-se a escolha ao eletrodo impresso de carbono para prosseguir com os demais estudos.

**Figura 4.** Voltamogramas cíclicos para o NIF  $2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e NIF  $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em solução tampão B-R  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 9,0) para os eletrodos impressos de trabalho, (a) carbono, (b) ouro e (c) platina;  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .



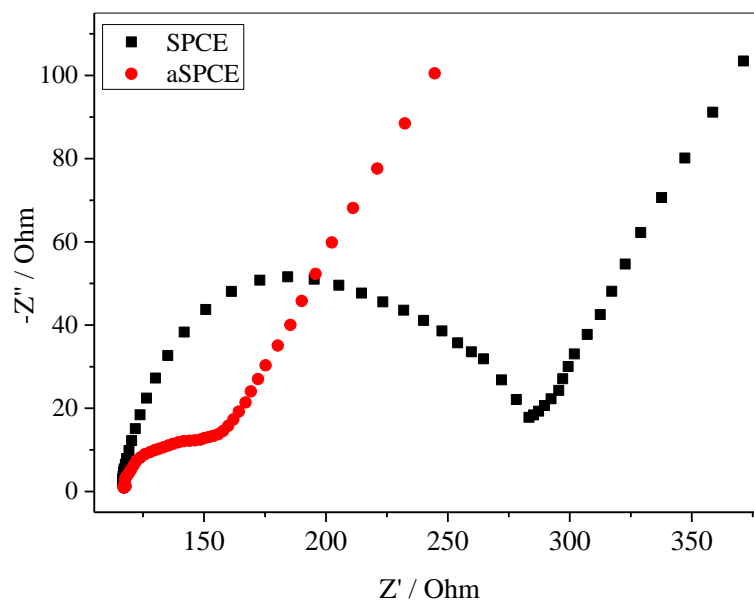
## 5.2 ESTUDO DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA

A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, do inglês *Electrochemical Impedance Spectroscopy*) é uma técnica que permite a caracterização de forma detalhada das propriedades de interface do eletrodo e das soluções estudadas, resultando no estudo da resistência à transferência de carga entre as plataformas eletroquímicas<sup>69</sup>.

O diagrama resultante é chamado de Nyquist e consiste em duas partes: um semicírculo e uma linha. O diâmetro do semicírculo representa a resistência à transferência de carga ( $R_{ct}$ ) e a parte linear representa o processo de difusão do produto em solução. Portanto, quanto menor o semicírculo, menor a resistência da transferência de carga entre a superfície do eletrodo e a solução<sup>70</sup>.

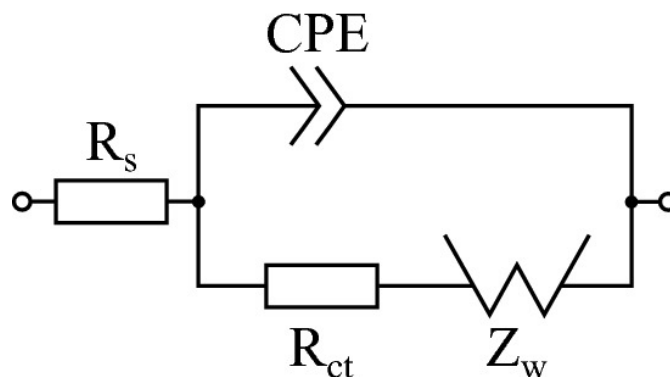
A **Figura 5** mostra os gráficos de Nyquist para um SPCE e um aSPCE. A resistência de transferência de carga ( $R_{ct}$ ) na interface eletrodo solução foi calculada a partir da largura dos semicírculos. A ativação por solução saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  reduziu significativamente os valores de resistência à transferência de carga ( $R_{ct}$ ) para  $26,5 \Omega$  no aSPCE em comparação com SPCE ( $137,0 \Omega$ ). Isso mostra que após a ativação houve uma facilitação da transferência de carga da sonda ferri/ferro para a superfície do eletrodo. Resultado que corrobora com a escolha da ativação nos eletrodos impressos de carbono.

**Figura 5.** Diagramas de Nyquist obtidos por EIS para as plataformas eletroquímicas SPCE e aSPCE, utilizando a solução sonda  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  a uma concentração de  $0,005 \text{ mol L}^{-1}$  em quantidade equimolares em solução de KCl de  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ .



O circuito equivalente compatível com o diagrama de Nyquist registrado é representado na **Figura 6**. Neste circuito,  $R_s$ , CPE e  $R_{ct}$  representam a resistência da solução, um elemento de fase constante correspondente à capacitância de camada dupla e à resistência de transferência de carga, respectivamente<sup>71</sup>. Segundo relatos na literatura, essa mudança está atrelada ao aumento da superfície de contato, visto que algumas ativações degradam parcialmente as camadas do grafite em superfície, acelerando assim a transferência eletrônica<sup>61,72</sup>.

**Figura 6.** Circuito equivalente compatível com o diagrama de Nyquist.

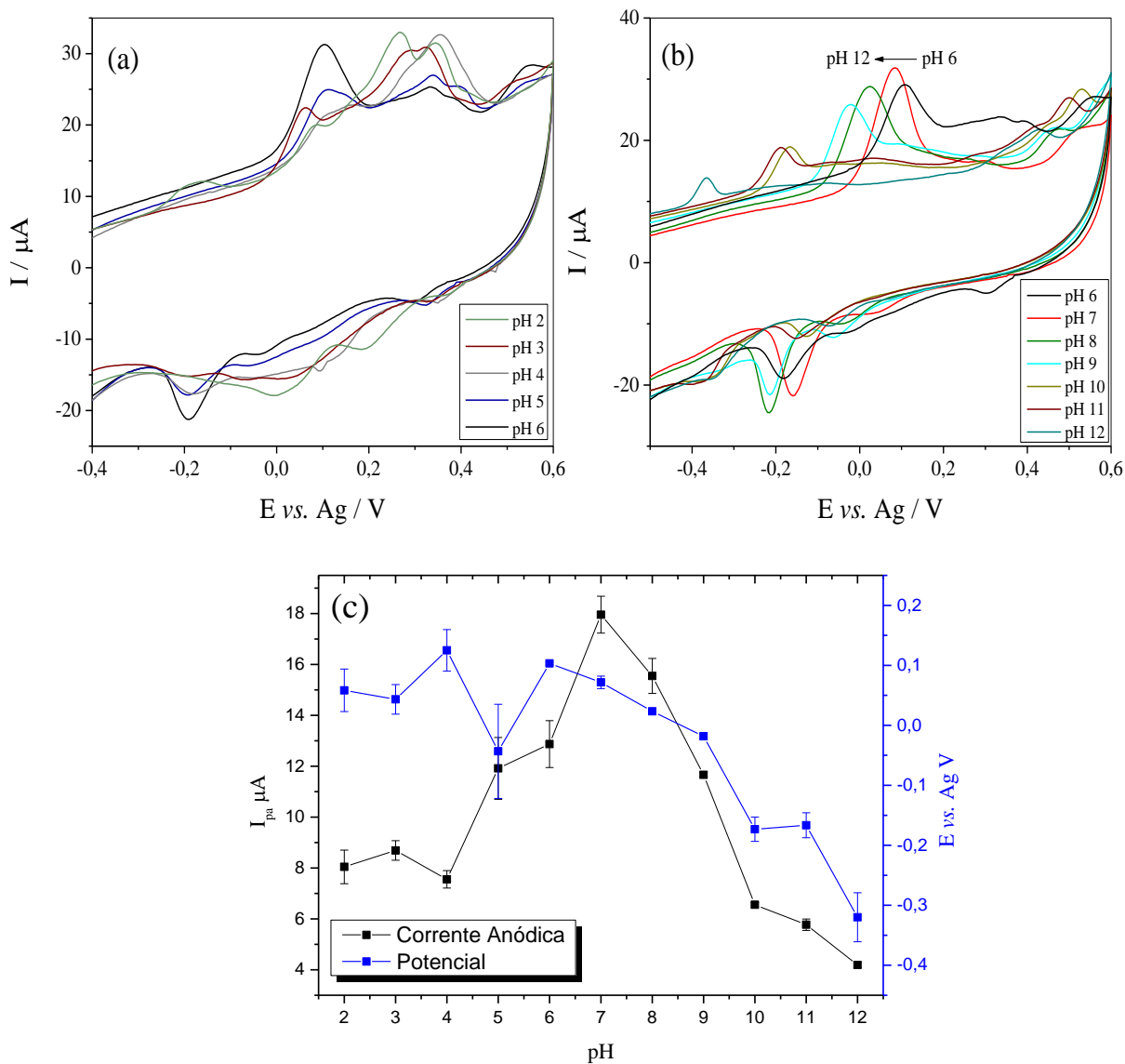


**Fonte.** Adaptado de Pfeiffer, N. et. al., 2021<sup>86</sup>.

### 5.3 OTIMIZAÇÃO DOS VALORES DE PH

Realizou-se o estudo da otimização de pH com o intuito de avaliar os efeitos acerca do analito em questão sob o eletrodo aplicado. Através da solução tampão Britton-Robinson foram realizadas medições voltamétricas em diferentes pHs. Assim, utilizou-se desta solução para averiguar em qual situação tem-se um melhor perfil e intensidade de corrente para o nifedipino. A faixa de pH aplicada neste teste foi de 2,0 a 12,0, sob concentração de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e velocidade de varredura padronizada a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . A **Figura 7** mostra o perfil encontrado para o NIF, utilizando o SPCE, nas variações de pHs aplicadas. Observou que neste estudo houve um deslocamento de potencial ao decorrer das análises à medida que sucedeu o aumento de pH. Em vista, considerando perfil e intensidade de corrente, foi escolhido o valor de do pH 7,0.

**Figura 7.** Estudo de pH em voltametria cíclica para a NIF  $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em solução tampão B-R  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ ; (a) pH 2,0 a 6,0, (b) pH 6,0 a 12,0 e (c) corrente anódica e valores de potencial versus pH no eletrodo impresso de carbono; velocidade fixa em  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

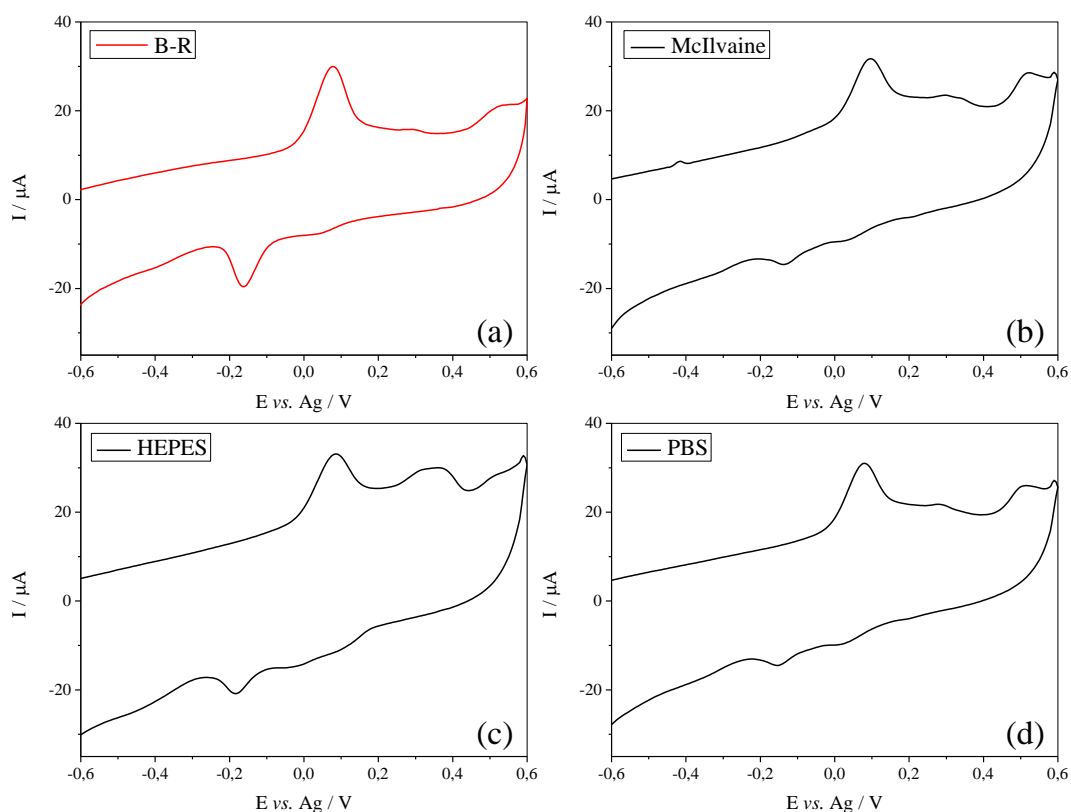


#### 5.4 ESTUDO DO ELETRÓLITO SUPORTE

Após averiguar o melhor pH para o NIF, é de suma importância substituir o eletrólito suporte a fim de otimizar o sistema e aumentar a sensibilidade da técnica. Dentro da literatura há diversos tipos de tampões disponíveis, porém escolheu-se aqueles que incluem o pH 7,0 na sua faixa tamponante. Foram utilizados, além do tampão B-R, às soluções McIlvaine, HEPES e PBS, todos com concentração  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Com os voltamogramas (**Figura 8**) de comparação entre os tampões selecionados para teste, é possível observar que em todas as soluções existe a presença do

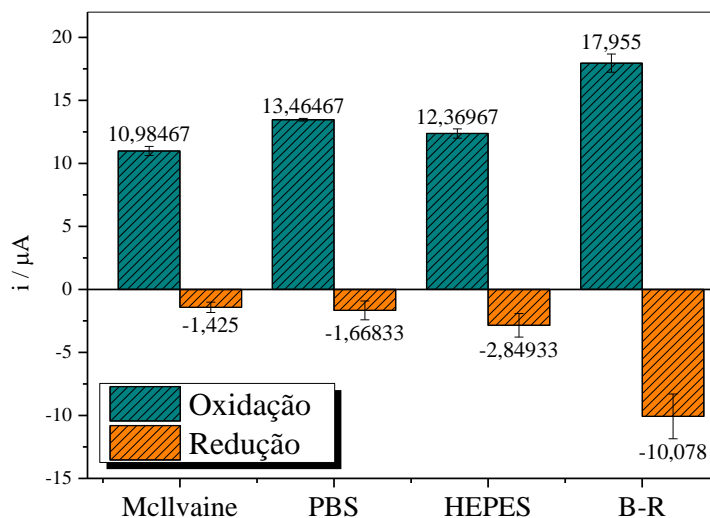
pico de oxidação referente ao NIF (0,07 V), porém o Britton-Robinson além de apresentar uma melhor característica de sinal, mostrou maior intensidade de corrente para o pico anódico, resultado que é apresentado na **Figura 9**. Apenas com estes motivos já seria definido o B-R como eletrólito suporte para o NIF, porém diferente dos outros tampões, apresentou um sinal de redução no potencial -0,16 V, confirmando novamente a escolha.

**Figura 8.** Voltamogramas para os tampões (a) Britton-Robinson, (b) McIlvaine, (c) HEPES e (d) PBS e todos a 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0) por voltametria cíclica utilizando NIF a 1,0x10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> em SPCE; velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup> e faixa de potencial de -1,0 a 0,6 V.



A comparação em relação a intensidade de corrente direta entre os quatro tampões testados, para melhor analogia entre o resultado apresentado nos voltamogramas, é mostrada abaixo.

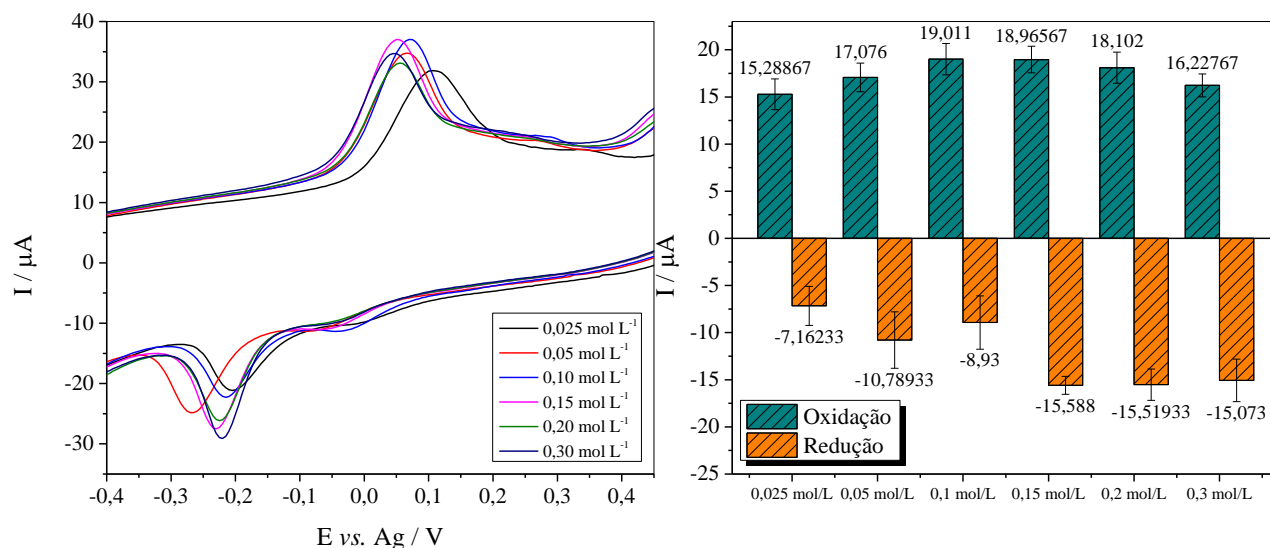
**Figura 9.** Intensidade de corrente anódica e catódica para os tampões McIlvaine, PBS, HEPES e B-R todos a  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) por voltametria cíclica utilizando NIF a  $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em SPCE; velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$  e faixa de potencial entre  $-1,0$  a  $0,6 \text{ V}$ .



Com a escolha do eletrólito suporte foram realizadas em seguida testes empregando diferentes concentrações, com valores entre  $0,025$  a  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$  da solução tampão B-R. A **Figura 10** abaixo apresenta tanto os voltamogramas referentes às concentrações escolhidas quanto a intensidade de pico anódica e catódica de NIF. Através destes resultados podemos afirmar que a concentração com melhor perfil e intensidade de corrente foi de  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ , sendo utilizada nos estudos realizados posteriormente.



**Figura 10.** (a) Voltamogramas para as concentrações de 0,025, 0,05, 0,10, 0,15, 0,20 e 0,30 mol L<sup>-1</sup> de B-R (pH 7,0) por voltametria cíclica utilizando NIF a 1,0.10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> em SPCE; velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup> e faixa de potencial de -1,0 a 0,6 V. (b) Intensidade de corrente anódica e catódica para as concentrações entre 0,025 a 0,30 mol L<sup>-1</sup> de Britton-Robinson (pH 7,0) obtidas a partir dos voltamogramas anteriores.



## 5.5 ESTUDO DE VELOCIDADE DE VARREDURA

Um dos estudos realizados para melhorar a forma que são analisadas as amostras dentro da eletroanalítica é a identificação da principal forma que são transferidas as moléculas da amostra para a superfície do eletrodo. Em todas as análises voltamétricas temos dois processos ocorrendo no momento da leitura, uma é a difusão e outra a adsorção. A difusional é onde se tem a transferência de massa do analito do seio da solução para o eletrodo, a partir de uma diferença de potencial aplicada. Este processo faz com que tenhamos uma diferença de concentração entre a superfície do eletrodo com o restante da solução, gerando assim a transferência de espécie. Logo após a difusão ocorre a adsorção onde o analito se prende no eletrodo até que ocorra a transferência de carga e assim seja feita a leitura da corrente. Esses dois processos formam uma cinética onde em diferentes eletrodos e amostras as respostas são distintas. Ou seja, tanto a difusão quanto a adsorção podem ser a etapa lenta do processo e acabar influenciando em determinados estudos realizados. Portanto é necessário entender melhor qual das duas transferências de massa tem mais influência.

A primeira etapa é analisar a linearidade da corrente anódica e catódica pela velocidade de varredura. Neste gráfico é destinado principalmente para o processo adsorptivo, onde caso se tenha uma linearidade próxima de 1, é um indicativo que a cinética seja majoritariamente pelo processo adsorptivo. Após plotar os dados obtidos no experimento fez-se a regressão linear dos pontos da variação da corrente pela velocidade de varredura (**Figura 11a**). Ao analisar o valor do coeficiente de determinação  $R^2$ , que é referente a linearidade dos dados, podemos insinuar que provavelmente a reação ocorreu com um peso maior para a difusão, já que se obteve uma baixa linearidade, 0,9836 para oxidação e 0,9734 para redução. Porém não podemos afirmar essa colocação sem seguir as próximas etapas.

A segunda etapa é idêntica à anterior, a única modificação é na forma que os valores da velocidade de varredura são apresentados, onde nela é aplicado a raiz quadrada. Neste procedimento, quando a linearidade do gráfico se aproxima de uma reta, podemos prever que o processo de transferência de massa é primordialmente difusional. Os resultados encontrados nesta etapa são penderes ao processo difusional, pois apresentam um  $R^2$  próximo de 1,0, é possível confirmar este resultado observando a diferença entre a os gráficos na **Figura 11b e 11c**.

A última etapa, diferente das anteriores, está focada na inclinação provocada pelo gráfico do logaritmo da corrente e do logaritmo da velocidade de varredura, onde podemos identificar com maior confiança se o processo é controlado por adsorção ou por difusão<sup>73</sup>. As equações abaixo são referentes a cada um dos processos, em que  $i$  é a corrente anódica ou catódica e  $v$  a velocidade de varredura. Para um processo adsorptivo temos que  $[i \propto v]$ :

$$\log(i) = \text{constante} + \log(v)$$

$$\text{Coeficiente angular} = \frac{\Delta \log(i)}{\Delta \log(v)} = 1,0$$

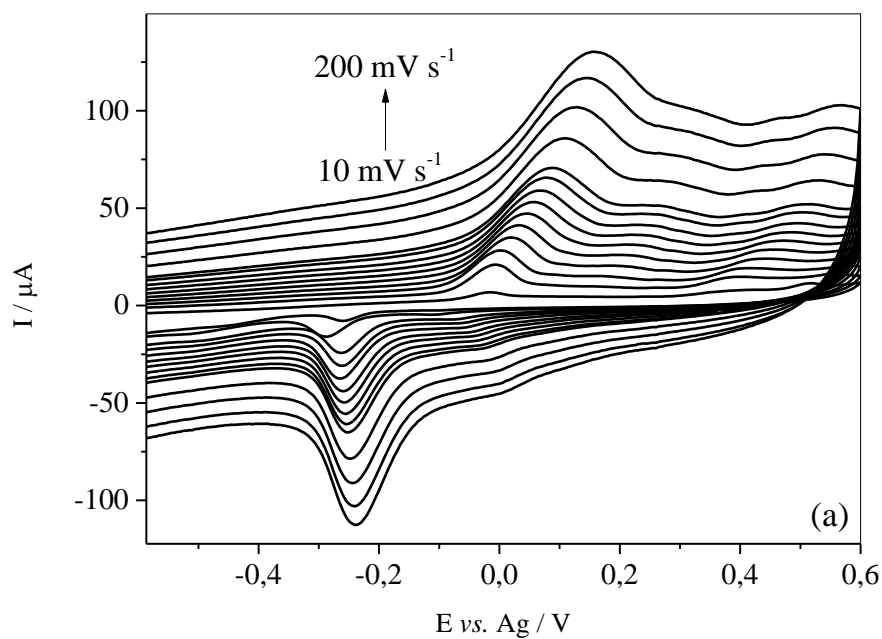
Para um processo controlado por difusão temos que  $[i \propto v^{1/2}]$ :

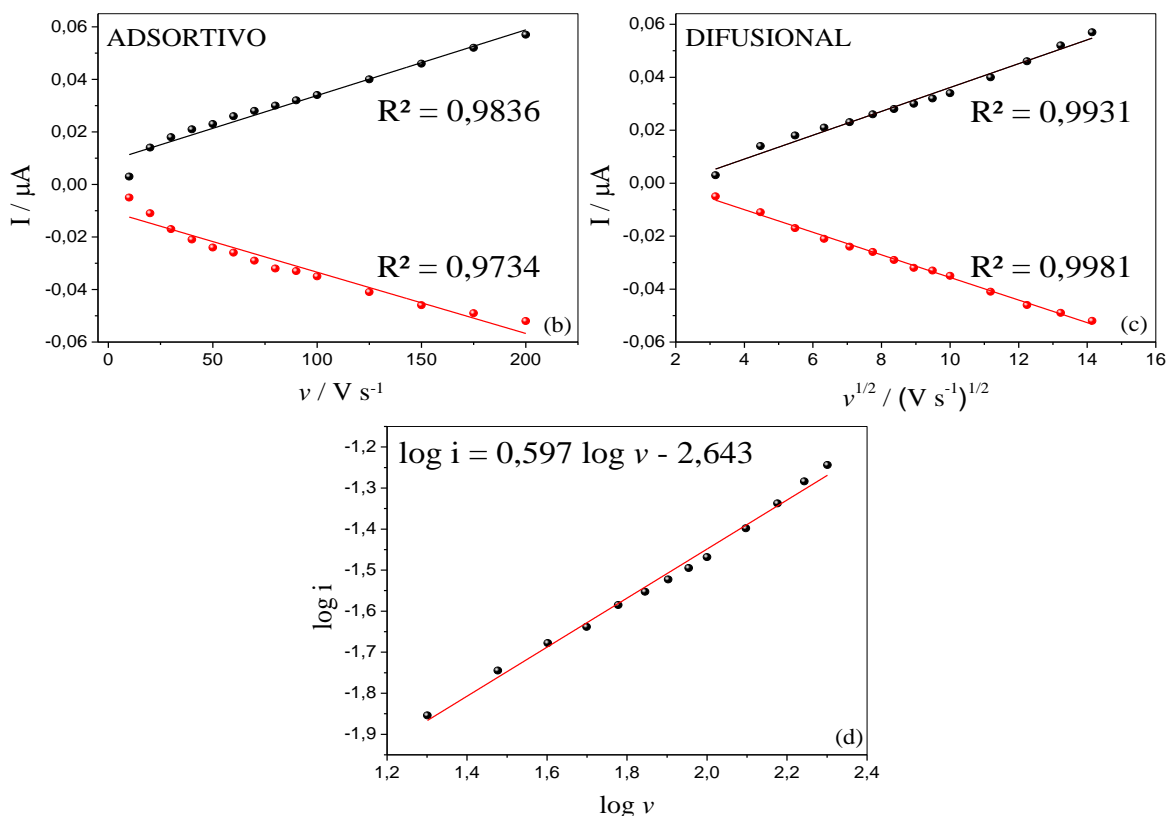
$$\log(i) = \text{constante} + \frac{1}{2} \log(v)$$

$$\text{Coeficiente angular} = \frac{\Delta \log(i)}{\Delta \log(v)} = 0,5$$

Nesta etapa o gráfico logarítmico duplo de corrente *versus* velocidade (**Figura 11d**) fornece informações exatas sobre a natureza e a extensão do processo de transferência de carga, onde a inclinação da reta de 0,5 ou 1,0 corresponde aos processos controlados de difusão e adsorção, respectivamente<sup>74,75</sup>. A inclinação obtida para o NIF utilizando o eletrodo impresso de carbono, foi de 0,597. Com isso podemos afirmar com base neste gráfico, e nos restantes dos resultados, que o analito possui a cinética voltada principalmente para o processo difusional, corroborando com outros trabalhos que já relatam este comportamento para o NIF<sup>71,76,77</sup>.

**Figura 11.** (a) Estudo de velocidade de varredura em voltamogramas cíclicos para a NIF  $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em solução tampão B-R  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) no SPCE; velocidade entre  $10 - 200 \text{ mV s}^{-1}$ . (b)  $i_{pa}$  e  $i_{pc}$  versus  $v$ , (c)  $i_{pa}$  e  $i_{pc}$  versus  $v^{1/2}$ , (d)  $\log v$  versus  $\log i$ .





A determinação da reversibilidade de um processo eletroquímico é de extrema importância, pois fornece informações fundamentais para a compreensão dos mecanismos envolvidos e a otimização dos sistemas. Ao investigar se um processo é reversível, irreversível ou *quasi*-reversível, observa-se a relação entre os picos anódicos e catódicos que estão próximos entre si.

Um dos critérios que define se o processo pode ser reversível é a razão entre as intensidades de corrente, onde quanto se aproxima de 1,0 melhor se comporta em relação a sua reversibilidade. A distância entre os potenciais de saída do pico acaba sendo também de suma importância para estabelecer este parâmetro, ela é relacionada a equação de Nernst, assim quando se tem uma diferença de potencial ( $\Delta E_p$ ) próximo de 0,0592 V o processo é dito como reversível<sup>78</sup>. Desta maneira foi possível entender melhor o processo que o analito procede aplicando as seguintes equações: **Equação 1** é a relação entre os potenciais do pico anódico e catódico e a **Equação 2** a razão entre as intensidades de corrente. Onde  $E_p^{ox}$  e  $E_p^{red}$  o potencial de oxidação e redução, respectivamente, e  $i_{pa}$  é a corrente anódica e  $i_{pc}$  a corrente catódica.

$$\Delta E_p = (E_p^{ox} - E_p^{red}) \quad \text{Eq. 1}$$

$$i = \frac{i_{pa}}{i_{pc}} \quad \text{Eq. 2}$$

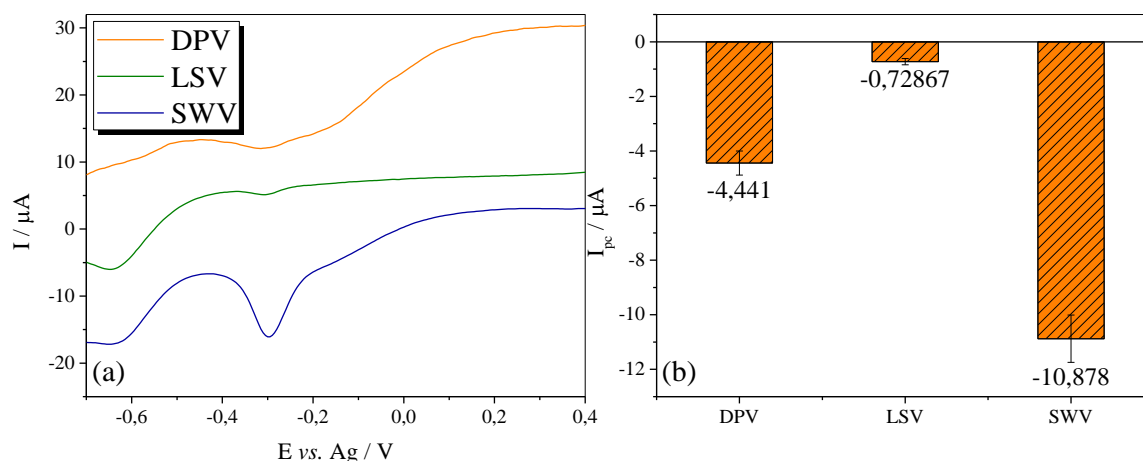
Utilizando-se das equações acima, tem-se como resultado que o  $\Delta E_p = 0,310$  V, está muito distante do valor de Nernst, e a razão entre os picos anódicos e catódicos é  $0,96 \mu\text{A}$ . Esta razão das intensidades de corrente se encaixa num processo reversível, porém a diferença de potencial está discrepante do valor de  $0,0592$  V, mostrando que NIF se comporta por um processo *quasi-reversível*. Este comportamento já foi relatado na literatura<sup>79</sup>.

## 5.6 ESCOLHA DA TÉCNICA ELETROANALÍTICA PARA A DETERMINAÇÃO DE NIF

Ao realizar as varreduras, notou-se que para as técnicas citadas anteriormente o sinal de redução demonstrou melhor perfil seletivo frente ao analito. Sendo assim os resultados a seguir mostram os sinais referentes ao pico catódico de nifedipino.

Com foco analítico no desenvolvimento de um método sensível para a determinação de NIF, três diferentes técnicas de varredura de potencial foram aplicadas, sendo elas voltametria linear (LSV, do inglês *Linear Sweep Voltammetry*), de pulso diferencial (DPV, do inglês *Differential Pulse Voltammetry*) e onda quadrada (SWV, do inglês *Square Wave Voltammetry*). Com os resultados provenientes da **Figura 12a e 12b** temos que a técnica que obteve um melhor desempenho na determinação de NIF foi a técnica de onda quadrada. Esta resposta é coerente pelo fato da minimização da contribuição de corrente capacitiva gerada pelo carregamento da dupla camada elétrica, tornando os sinais mais definidos<sup>80</sup>. Este resultado pode ser explicado observando a reação *quasi-reversível* do analito em questão, já que esta técnica fornece uma corrente resultante a partir da diferença das correntes de oxidação e redução, deste modo gerando um sinal de pico maior em comparação aos valores de  $i_{pc}$  e  $i_{pa}$  separados<sup>80-82</sup>.

**Figura 12.** (a) Voltamogramas referentes as técnicas de DPV, LSV e SWV. Condições experimentais: eletrólito suporte tampão Britton-Robinson  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) utilizando NIF a  $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em SPCE; velocidade de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$ ; (b) Intensidade de corrente catódica para as técnicas aplicadas.



## 5.7 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA SWV

As otimizações dos parâmetros são de suma importância dentro da eletroanalítica, pois permitem que haja uma melhor sensibilidade do método e conseqüentemente uma redução do limite de detecção e quantificação. Os parâmetros otimizados para a voltametria de onda quadrada são a frequência de pulso ( $f$ ), amplitude de pulso ( $a$ ) e incremento de potencial ( $\Delta E_s$ ), respectivamente.

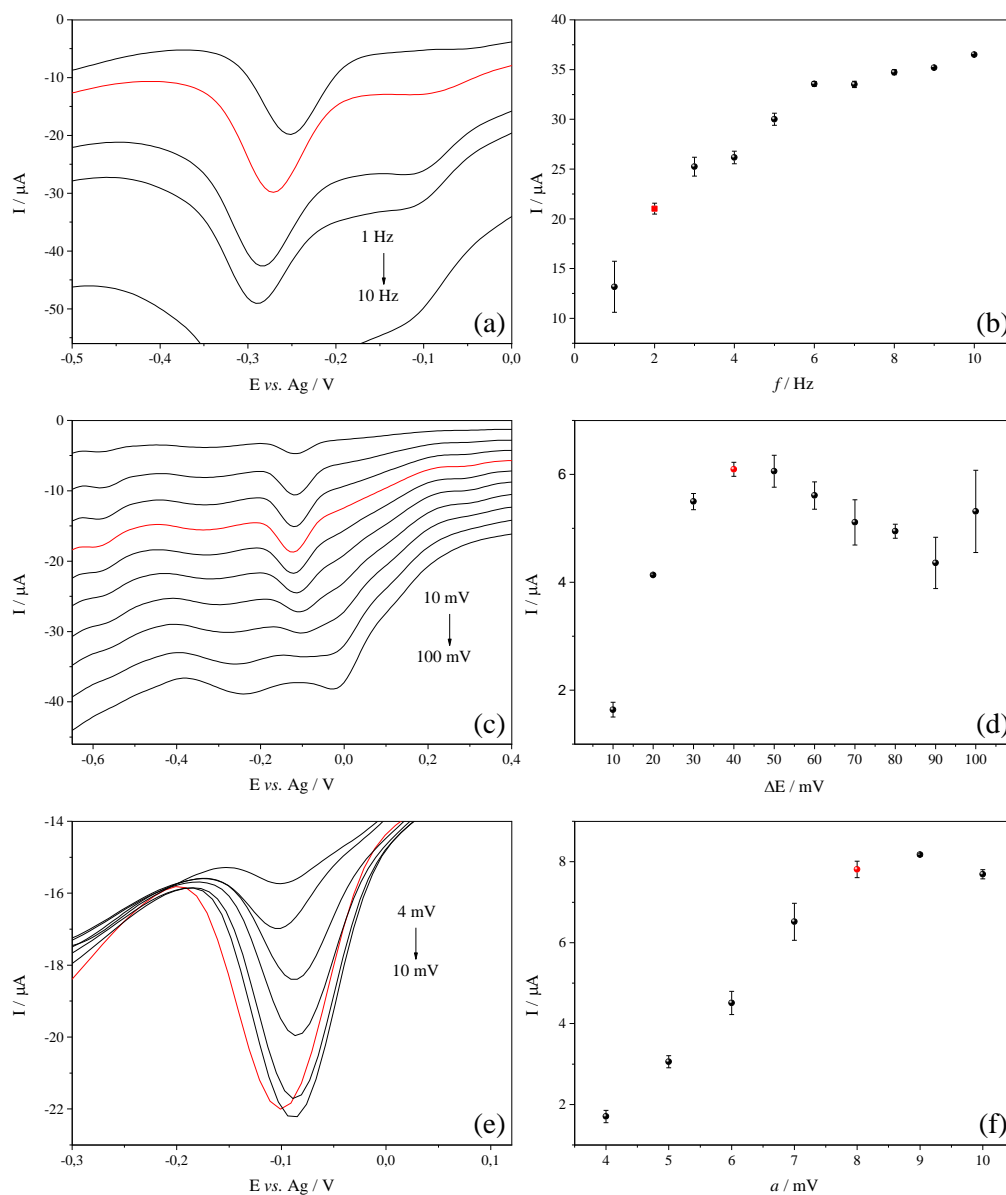
A frequência de pulso é o primeiro parâmetro a ser otimizado em SWV, pois constitui o valor total da velocidade de varredura. Assim, variou-se o seu valor entre 10 a 100 Hz, mantendo-se a amplitude fixada em 50 mV e o incremento de potencial em 5 mV, a amplitude foi variada entre 10 a 100 mV e incremento de potencial 1 a 10 mV. Na **Figura 13**, foram apresentados os voltamogramas e os valores de intensidade de corrente para cada parâmetro, em destaque estão os pontos onde foram definidos a melhor faixa destes parâmetros para o analito.

Para a **Figura 13a** temos o aparecimento de outro sinal com o aumento da frequência, proveniente de outro processo eletroquímico do NIF, o que prejudica a sensibilidade do sinal analisado nesta metodologia. Partindo deste princípio a frequência que houve uma menor interferência em relação a este outro processo foi o de 2 Hz, sendo o escolhido neste parâmetro.

Já na **Figura 13c** é possível observar que com o aumento da amplitude houve a separação do sinal catódico, desaparecendo completamente o sinal do NIF identificado nos estudos anteriores. Com este critério o sinal com melhor perfil e que não apresentou nenhuma interferência foi o de 40 mV.

Para o incremento de potencial, o valor que apresentou melhor intensidade de corrente foi o de 8 mV, sendo o escolhido nesta otimização. É possível perceber na **Figura 13f** que houve a perda da linearidade de corrente ao passar para o valor de 9 e 10 mV, o que exclui estes valores como selecionados.

**Figura 13.** Os voltamogramas são referentes as variações dos parâmetros experimentais para a técnica de voltametria de onda quadrada, onde (a) é a frequência, (c) amplitude de pulso e (e) incremento de potencial; nos gráficos à direita temos as intensidades de corrente para cada parâmetro, onde são destacados em vermelho os pontos onde se teve um melhor comportamento de sinal.



Com o término da otimização, foram selecionados os valores para qual os três parâmetros da SWV apresentaram um melhor perfil voltamétrico e maior intensidade de corrente. A **Tabela 1** apresenta os intervalos de estudos e os valores selecionados que foram aplicados em todos os estudos seguintes.

**Tabela 1.** Otimização dos parâmetros de SWV para determinação de nifedipino.

Parâmetros	Intervalos de estudo	Valor selecionado
Frequência ( $f$ )	1 a 10 Hz	2 Hz
Amplitude de pulso ( $a$ )	10 a 100 mV	40 mV
Incremento de potencial ( $\Delta E_s$ )	1 a 10 mV	8 mV

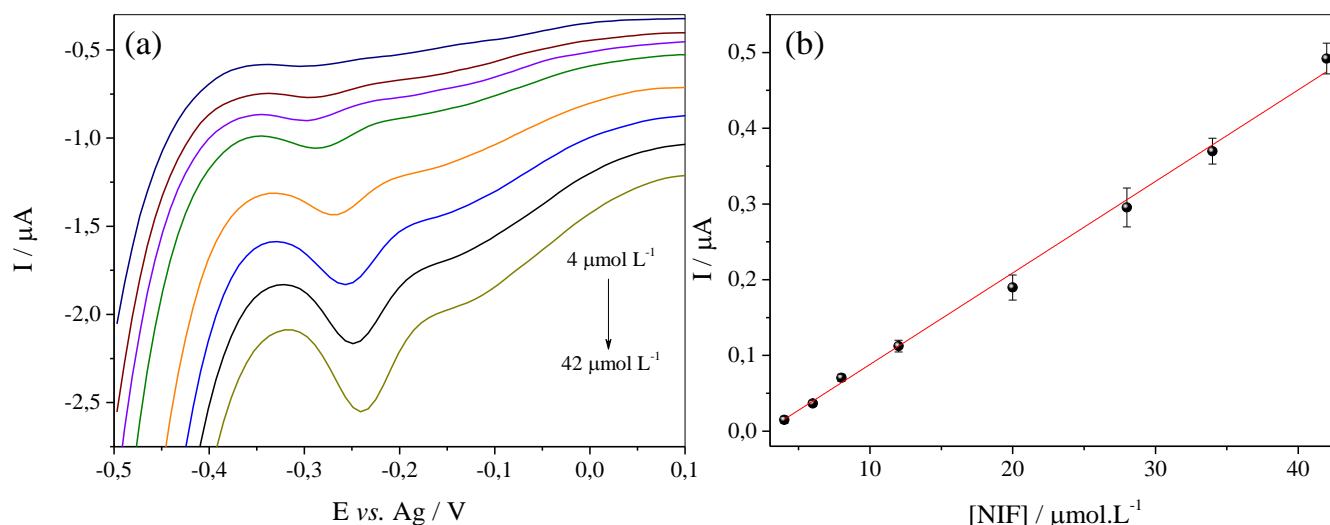
## 5.8 CURVA DE CALIBRAÇÃO

### 5.8.1 Sem Ativação

Empregando os valores experimentais, referentes a otimização da SWV, obteve-se a curva de calibração externa com diferentes concentrações de padrão do fármaco NIF. A **Figura 14** mostra os voltamogramas de onda quadrada relativos à construção desta curva, onde teve-se uma variação de concentração entre  $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $42 \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $R^2 = 0,99481$ ), utilizando como eletrólito suporte a solução Britton-Robinson  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$  com pH neutro de 7,0. O potencial anódico observado para o NIF possui inicialmente mostrou um valor de  $-0,20 \text{ V}$ , que com aumento da concentração deslocasse para potenciais positivos. A **Figura 14** mostra a curva de calibração para NIF para o SPCE, que pode ser expressa pela equação matemática linear que relaciona a concentração do analito e a corrente. Esta expressão é dada por  $i_{pc} = 0,01209 [NIF] - 0,03277$ , onde  $i_{pc}$  é a corrente de pico catódico em  $\mu\text{A}$  e  $[NIF]$  é a concentração de nifedipino em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .



**Figura 14.** (a) Voltamogramas em onda quadrada para diferentes concentrações de nifedipino com a (b) construção da curva de calibração, utilizando valores de concentração entre 4 a 42  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em SPCE.



Com o coeficiente angular e o desvio padrão do coeficiente linear obtidos pela curva de calibração foram calculados os limites de detecção e quantificação seguindo as equações abaixo.<sup>83</sup>

$$LOD = \frac{3,3 DP}{a} \quad \text{Eq. 3}$$

$$LOQ = \frac{10 DP}{a} \quad \text{Eq. 4}$$

onde DP é o desvio padrão do coeficiente angular (0,00339) e  $a$  é a inclinação da reta (0,01209). Os resultados dos limites de detecção e quantificação para o NIF utilizando eletrodo impresso de carbono sem ativação são:  $LOD = 0,9 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $LOQ = 2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

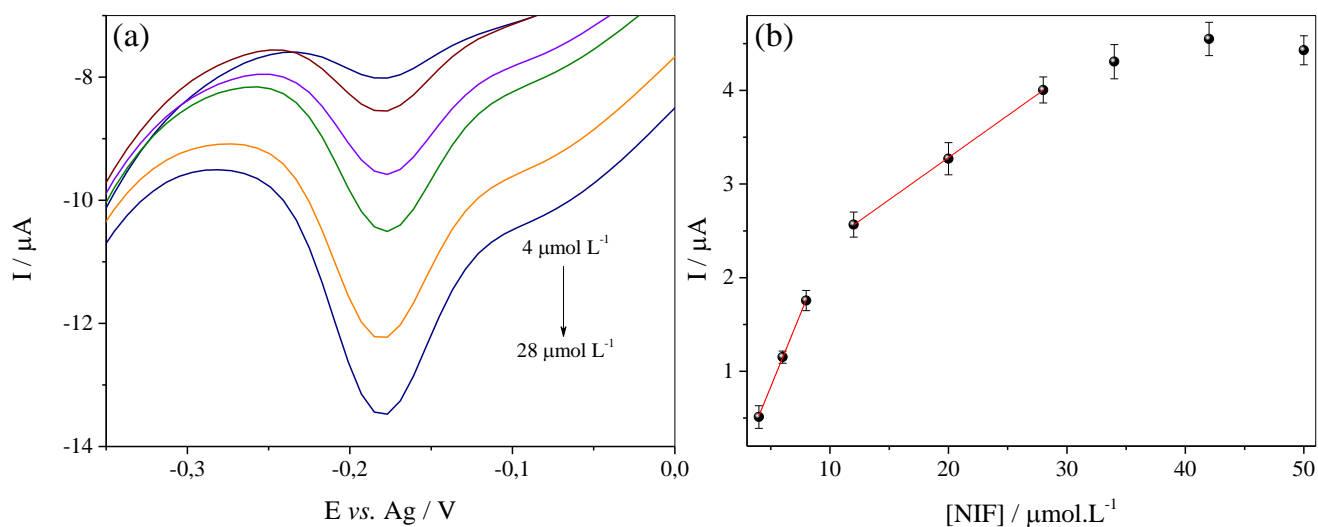
### 5.8.2 Com Ativação

Aplicando as mesmas condições realizadas na curva de calibração no SPCE, tivemos neste resultado a pré-ativação do eletrodo aplicando a metodologia descrita em 4.3.1. A principal mudança em comparação a curva anterior é observada na divisão da faixa linear após a ativação, neste caso obteve-se o aparecimento de duas faixas lineares dentro das mesmas concentrações aplicadas, este resultado é apresentado na **Figura 15**. A primeira equação linear, engloba as

concentrações de 4, 6 e 8  $\mu\text{mol L}^{-1}$  ( $R^2 = 0,99907$ ), apresentou uma equação linear de  $ipc = 0,31046 [NIF] - 0,71873$ , o desvio padrão para o coeficiente linear foi de 0,0416. A segunda faixa linear aplicou os seguintes pontos referentes a sua construção da curva de calibração, 12, 20 e 28  $\mu\text{mol L}^{-1}$  ( $R^2 = 0,99980$ ), sua regressão linear é expressa pela seguinte equação  $ipc = 0,08992 [NIF] - 1,48379$ , com desvio padrão do coeficiente linear de 0,01907. Após o último ponto da segunda faixa linear ocorre a diminuição da intensidade de corrente com o aumento da concentração, isso se dá pela saturação dos sítios ativos presentes na superfície do eletrodo, impedindo a transferência de elétrons e consequentemente a falta de sinal<sup>84,85</sup>.

Aplicando as mesmas **Equações 3 e 4**, utilizadas anteriormente, foi possível chegar aos seguintes resultados: para a primeira faixa linear da curva de calibração obteve-se  $LOD = 0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $LOQ = 1,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ , já para a segunda faixa linear temos que os seus limites são acima do que apresentam os três pontos anteriores, assim seu  $LOD = 0,7 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $LOQ = 2,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Mostrando assim a eficiência da pré-ativação para a determinação de NIF em aSPCE, onde foi possível obter uma diminuição próxima a 50 % nos limites de detecção e quantificação após a metodologia aplicada.

**Figura 15.** (a) Voltamogramas em onda quadrada para diferentes concentrações de nifedipino com a (b) construção da curva de calibração, utilizando valores de concentração entre 4 a 42  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Condições experimentais: aSPCE pré-ativado com carbonato de sódio.



## 6. CONCLUSÃO

A pesquisa desenvolvida abordou o estudo do efeito da pré-ativação de eletrodos impressos para a determinação de nifedipino, comparando efetivamente através do estudo de espectroscopia de impedância eletroquímica e da construção da curva de calibração o SPCE com o aSPCE. O comportamento observado nos voltametria cíclica para o NIF nos estudos do eletrólito suporte foi que apresentou em -0,26 V um pico de oxidação e -0,32 V o de redução, as melhores condições encontradas foram a solução tampão Britton-Robinson com concentração de 0,15 mol L<sup>-1</sup> a pH 7,0. Dentro do comportamento observado é possível concluir que o processo que ocorre entre os picos é *quasi*-reversível. O estudo de velocidade resultou que o NIF apresenta um processo controlado majoritariamente pela difusão. A técnica eletroanalítica de SWV foi a escolhida e posteriormente otimizada, já que exibiu o melhor comprometimento entre intensidade de corrente e qualidade do sinal analítico. A curva de calibração para o SPCE apresentou em concentrações de 4,0 μmol L<sup>-1</sup> a 42,0 μmol L<sup>-1</sup> (R<sup>2</sup> = 0,99481). Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram 0,9 μmol L<sup>-1</sup> e 2,8 μmol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Para o aSPCE a curva de calibração apresentou duas faixas lineares em concentrações de 4,0 μmol L<sup>-1</sup> a 8,0 μmol L<sup>-1</sup> (R<sup>2</sup> = 0,99907) para a primeira e de 12,0 μmol L<sup>-1</sup> a 28,0 μmol L<sup>-1</sup> (R<sup>2</sup> = 0,99980) para a segunda. Os LODs foram de 0,4 μmol L<sup>-1</sup> e 0,7 μmol L<sup>-1</sup> e LODs 1,3 μmol L<sup>-1</sup> e 2,1 μmol L<sup>-1</sup>, para a primeira e segunda faixa, respectivamente. O método eletroanalítico proposto para detecção de NIF juntamente com a etapa de pré-ativação é promissor para monitoramento *in loco* quanto à presença de contaminantes emergentes no ambiente. Os resultados mostraram grande potencial para o desenvolvimento de novas metodologias visando melhorar a resposta eletroquímica de eletrodos impressos em tela comercial.

## 7. REFERÊNCIAS

- (1) Pal, A.; He, Y.; Jekel, M.; Reinhard, M.; Gin, K. Y. H. *Emerging Contaminants of Public Health Significance as Water Quality Indicator Compounds in the Urban Water Cycle*. **Environment International**, Elsevier Ltd, vol. 71, p. 46–62, 2014.
- (2) Armitage, J. M.; Erickson, R. J.; Luckenbach, T.; Ng, C. A.; Prosser, R. S.; Arnot, J. A.; Schirmer, K.; Nichols, J. W. *Assessing the Bioaccumulation Potential of Ionizable Organic Compounds: Current Knowledge and Research Priorities*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Wiley Blackwel, vol. 36, p. 882–897, 2017.
- (3) Houtman, C. J. *Emerging Contaminants in Surface Waters and Their Relevance for the Production of Drinking Water in Europe*. **Journal of Integrative Environmental Sciences**, vol. 7, p. 271–295, 2010.
- (4) Meffe, R.; de Bustamante, I. *Emerging Organic Contaminants in Surface Water and Groundwater: A First Overview of the Situation in Italy*. **Science of the Total Environment**, vol. 481, p. 280–295, 2014.
- (5) Nouri, N.; Khorram, P.; Duman, O.; Sibel, T.; Hassan, S. *Overview of Nanosorbents Used in Solid Phase Extraction Techniques for the Monitoring of Emerging Organic Contaminants in Water and Wastewater Samples*. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, Elsevier B.V., vol. 25, 2020.
- (6) Lapworth, D. J.; Baran, N.; Stuart, M. E.; Ward, R. S. *Emerging Organic Contaminants in Groundwater: A Review of Sources, Fate and Occurrence*. **Environmental Pollution**, vol. 163, p. 287–303, 2012.
- (7) MOREIRA, J. C., GONÇALVES, E. S., BERETA, M. *Contaminantes emergentes*. **Revista Química Industrial**, vol. 81, p. 4-13, 2013.
- (8) Reetz, M. T. *What are the Limitations of Enzymes in Synthetic Organic Chemistry?* **Chemical Record**, vol. 16, p. 2449–2459, 2016.
- (9) Braakman, R. *Mapping Metabolism onto the Prebiotic Organic Chemistry of Hydrothermal Vents*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, vol. 110, p. 13236–13237, 2013.
- (10) Tsuji, Y.; Fujihara, T. *Carbon Dioxide as a Carbon Source in Organic Transformation: Carbon–Carbon Bond Forming Reactions by Transition-Metal Catalysts*. **Chemical Communications**, vol. 48, p. 9956–9964, 2012.
- (11) Martins, C. R.; Lopes, W. A.; Bittencourt De Andrade, J. *Solubilidade das Substâncias Orgânicas*. **Quim. Nova**, vol. 36, p 1248-1255, 2013.

- (12) De, V.; Gaffney, J.; Cardoso, V.; Rodrigues, A.; Ferreira, E.; João Benoliel, M.; Almeida, C. M. M. *Análise de Fármacos em Águas por SPE-UPLC-ESI-MS/MS*. **Quim. Nova**; vol. 37, p. 138-179, 2014.
- (13) Vázquez-Tapia, I.; Salazar-Martínez, T.; Acosta-Castro, M.; Meléndez-Castolo, K. A.; Mahlknecht, J.; Cervantes-Avilés, P.; Capparelli, M. V.; Mora, A. *Occurrence of Emerging Organic Contaminants and Endocrine Disruptors in Different Water Compartments in Mexico – A Review*. **Chemosphere**, Elsevier Ltd, vol. 308, 2022.
- (14) Álvarez, S.; Ribeiro, R. S.; Gomes, H. T.; Sotelo, J. L.; García, J. *Synthesis of Carbon Xerogels and Their Application in Adsorption Studies of Caffeine and Diclofenac as Emerging Contaminants*. **Chemical Engineering Research and Design**, vol. 95, p. 229–238, 2015.
- (15) Kasonga, T. K.; Coetzee, M. A. A.; Kamika, I.; Ngole-Jeme, V. M.; Benteke Momba, M. N. *Endocrine-Disruptive Chemicals as Contaminants of Emerging Concern in Wastewater and Surface Water: A Review*. **Journal of Environmental Management**, Academic Press, vol. 277, 2021.
- (16) FERREIRA, P. *Ocorrência e detecção de desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: complicações ao meio ambiente*. **Rev. Bras. Farm**, vol. 93, p. 255-264, 2012.
- (17) Pcbv, J.; Tsv, J.; Wksb, S. *Antagonistas de Cálcio Na Hipertensão*. **Rev Bras Hipertens**, vol. 20, p. 78-82, 2013.
- (18) Maria, A. *Measuring blood pressure: the importance of understanding variation*. **Revista Brasileira de Hipertensão**, vol. 12, p. 75-82, 2005.
- (19) Giannubilo, S. R.; Bezzeccheri, V.; Cecchi, S.; Landi, B.; Battistoni, G. I.; Vitali, P.; Cecchi, L.; Tranquilli, A. L. *Nifedipine versus Labetalol in the Treatment of Hypertensive Disorders of Pregnancy*. **Arch Gynecol Obstet**, vol. 286, p. 637–642, 2012.
- (20) Souza, S. R.; Braga, A. F. A.; Potéiro, G. M. B. *Influência da Nifedipina no Bloqueio Neuromuscular Produzido pelo Atracúrio e pelo Cisatracúrio. Estudo em Preparações Nervo Frênico-Diafragma de Rato*. **Rev Bras de Anesthesiol**, vol. 56, p. 157-167, 2006
- (21) Conde-Agudelo, A.; Romero, R.; Kusanovic, J. P. *Nifedipine in the Management of Preterm Labor: A Systematic Review and Metaanalysis*. **Am J Obstet Gynecol**, vol. 204, p. 1-20, 2011.
- (22) *Relação Nacional de Medicamentos Essenciais*. **Ministério da Saúde**, 2020.
- (23) *Insumos Farmacêuticos e Especialidades*. **Farmacopeia Brasileira**, vol. 2, 2019.
- (24) Alex R. DE SOUZA, Melania R. AMORIM, Aurélio R. COSTA. *Efeitos da Nifedipina no Tratamento Anti-hipertensivo da Pré-Eclâmpsia*. **Acta Med Port**, vol. 28, p.351-358, 2008.

- (25) Al-Rajab, A. J.; Al Bratty, M.; Hakami, O.; Alhazmi, H. A.; Sharma, M.; Reddy, D. N. *Investigation of the Presence of Pharmaceuticals and Personal Care Products (Ppcps) in Groundwater of Jazan Area, Saudi Arabia*. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, vol. 17, p. 2061–2066, 2018.
- (26) Falfushynska, H.; Gnatyshyna, L.; Horyn, O.; Sokolova, I.; Stoliar, O. *Endocrine and Cellular Stress Effects of Zinc Oxide Nanoparticles and Nifedipine in Marsh Frogs Pelophylax Ridibundus*. **Aquatic Toxicology**, vol. 185, p. 171–182, 2017.
- (27) Oluwalana, A. E.; Musvuugwa, T.; Sikwila, S. T.; Sefadi, J. S.; Whata, A.; Nindi, M. M.; Chaukura, N. *The Screening of Emerging Micropollutants in Wastewater in Sol Plaatje Municipality, Northern Cape, South Africa*. **Environmental Pollution**, vol. 314, 2022.
- (28) Zhang, Y.; Duan, L.; Wang, B.; Liu, C. S.; Jia, Y.; Zhai, N.; Blaney, L.; Yu, G. *Efficient Multiresidue Determination Method for 168 Pharmaceuticals and Metabolites: Optimization and Application to Raw Wastewater, Wastewater Effluent, and Surface Water in Beijing, China*. **Environmental Pollution**, vol. 261, 2020.
- (29) Heberer, T. *Occurrence, Fate, and Removal of Pharmaceutical Residues in the Aquatic Environment: A Review of Recent Research Data*. **Toxicology Letters**, vol. 131, p. 5-17, 2002.
- (30) Rosseel, M. T.; Bogaert, M. G. *Determination of Nifedipine in Human Plasma by Capillary Gas Chromatography with Nitrogen Detection*. **Journal of Chromatography**, vol. 279, p. 675-680, 1983.
- (31) Logoyda, L.; Korobko, D.; Ivanusa, I.; Serhii, K. *Development of the Methodology of the Chromatographic Determination of Nifedipine in Medicines*. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, vol. 10, p. 149–152, 2017.
- (32) Streel, B.; Zimmer, C.; Sibenaler, R.; Ceccato, A. *Simultaneous Determination of Nifedipine and Dehydronifedipine in Human Plasma by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry*. **Journal of Chromatography**, vol. 720, p.119-128, 1998.
- (33) Kleinbloesem, C. H.; Van Harten, J.; Van Brummelen, P.; Breimer, D. D. *Liquid Chromatographic Determination of Nifedipine in Plasma and of its Main Metabolite in Urine*. **Journal of Chromatography**, vol.308, p.209-216, 1984.
- (34) Borden, S. A.; Palaty, J.; Termopoli, V.; Famiglini, G.; Cappiello, A.; Gill, C. G.; Palma, P. *Mass Spectrometry Analysis of Drugs of Abuse Challenges and Emerging Strategies*. **Mass Spectrometry Reviews**, John Wiley and Sons Inc., vol. 39, p. 703–744, 2020.
- (35) Rashid, M. A.; Bilani, M.; Shazly, G.; Kazi, M. *Development, Validation and Application of a Novel UHPLC-UV Method for the Simultaneous Determination of Valsartan and Nifedipine in the New Formulation of Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems*. **Separations**, vol. 9, 2022.

- (36) Rahman, N.; Hoda, N. *Spectrophotometric Method for the Determination of Nifedipine with 4-(Methylamino)Phenol and Potassium Dichromate*. **II Farmaco**, vol. 57, p. 435-411, 2002.
- (37) Rahman, N.; Azmi, S. N. H. *New spectrophotometric methods for the determination of nifedipine in pharmaceutical formulations*. **Acta Biochimica Polonica**, vol. 52, p. 915-922, 2005.
- (38) Zendelovska, D.; Simeska, S.; Sibinovska, O.; Kostova, E.; Miloševska, K.; Jakovski, K.; Jovanovska, E.; Kikerkov, I.; Trojačanec, J.; Zafirov, D. *Development of an HPLC Method for the Determination of Nifedipine in Human Plasma by Solid-Phase Extraction*. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, vol. 839, p. 85–88, 2006.
- (39) Ohkubo, T.; Norot, H.; Sugawarai, K. *High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Nifedipine and a Trace Photodegradation Product in Hospital Prescriptions*. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, vol. 10, p. 67-70, 1992.
- (40) Sadanaga, T.; Hidaka, K.; Tameto, K.; Matsushima, Y. *Determination of Nifedipine in Plasma by High-Performance Liquid Chromatography*. **Chem. Pharm. Bull.**, vol. 30, p. 3807-3809, 1982
- (41) Lima, H. R. S.; da Silva, J. S.; de Oliveira Farias, E. A.; Teixeira, P. R. S.; Eiras, C.; Nunes, L. C. C. *Electrochemical Sensors and Biosensors for the Analysis of Antineoplastic Drugs*. **Biosensors and Bioelectronics**, Elsevier Ltd, vol. 108, p. 27–37, 2018.
- (42) Jang, A.; Zou, Z.; Lee, K. K.; Ahn, C. H.; Bishop, P. L. *Potentiometric and Voltammetric Polymer Lab Chip Sensors for Determination of Nitrate, PH and Cd(II) in Water*. **Talanta**, vol. 83, p. 1–8, 2010.
- (43) Zhang, W.; Wang, R.; Luo, F.; Wang, P. *Miniaturized electrochemical sensors and their point-of-care applications*. **Chinese Chemical Letters**, vol. 31, p. 589-600, 2020.
- (44) Wang, Q.; Zhao, R.; Wang, S.; Guo, H.; Li, J.; Zhou, H.; Wang, X.; Wu, X.; Wang, Y.; Chen, W.; Zhang, W. *A Highly Selective Electrochemical Sensor for Nifedipine Based on Layer-by-Layer Assembly Films from Polyaniline and Multiwalled Carbon Nanotube*. **J Appl Polym Sci**, vol. 133, 2016.
- (45) Ma, T.; Ou, G. *Fabrication of a Highly Sensitive Electrochemical Sensor for the Rapid Detection of Nimodipine*. **Int J Electrochem Sci**, vol. 18, 2023.
- (46) Balamurugan, M.; Alagumalai, K.; Chen, T.-W.; Chen, S.-M.; Liu, X.; Selvaganapathy, M. *Simultaneous Electrochemical Determination of Nitrofurantoin and Nifedipine with Assistance of Needle-Shaped Perovskite Structure: Barium Stannate Fabricated Glassy Carbon Electrode*. **Microchimica Acta**, vol. 188, p. 19, 2021.
- (47) Kor, K.; Zarei, K.  *$\beta$ -Cyclodextrin Incorporated Carbon Nanotube Paste Electrode as Electrochemical Sensor for Nifedipine*. **Electroanalysis**, vol. 25, p. 1497–1504, 2013.

- (48) Agrawal, N.; Savalia, R.; Chatterjee, S. *Nanostructured Zinc Oxide Film Amalgamated with Functionalized Carbon Nanotubes for Facile Electrochemical Determination of Nifedipine*. **Colloids Surf B Biointerfaces**, vol. 201, 2021.
- (49) Tian, J.; Huang, M.; Yang, Y.; Wang, D.; Lu, J. *Photoelectrochemically Driven Bioconversion and Determination of Nifedipine Based on a Double Photoelectrode System*. **Biosens Bioelectron**, vol. 135, p. 160–165, 2019.
- (50) Yardimci, C.; Su slui, I. *Determination of Nifedipine in Human Plasma by Square Wave Adsorptive Stripping Voltammetry*. **J Pharm Biomed Anal**, vol. 30, p. 573–582, 2002.
- (51) Baghayeri, M.; Namadchian, M.; Karimi-Maleh, H.; Beitollahi, H. *Determination of Nifedipine Using Nanostructured Electrochemical Sensor Based on Simple Synthesis of Ag Nanoparticles at the Surface of Glassy Carbon Electrode: Application to the Analysis of Some Real Samples*. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, vol. 697, p. 53–59, 2013.
- (52) Baig, N.; Sajid, M.; Saleh, T. A. *Recent Trends in Nanomaterial-Modified Electrodes for Electroanalytical Applications*. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, Elsevier B.V., vol. 111, p. 47–61, 2019.
- (53) Rana, A.; Baig, N.; Saleh, T. A. *Electrochemically Pretreated Carbon Electrodes and Their Electroanalytical Applications – A Review*. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, Elsevier B.V., vol. 833 p. 313–332, 2019.
- (54) Brett, C. M. A.; Brett, A. M. O. *Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications*. **Biomedizinische Technik/Biomedical Engineering**, 1993.
- (55) Scholz, F. *Voltammetric Techniques of Analysis: The Essentials*. **ChemTexts**, vol. 1, 2015.
- (56) Wang, Z.; Tian, W.; Yu, H.; Zhou, T.; Wang, P.; Xu, Y.; Li, X.; Wang, L.; Wang, H. *Phosphorus Modulation of a Mesoporous Rhodium Film for Enhanced Nitrogen Electroreduction*. **Nanoscale**, vol. 13, p. 13809–13815, 2021.
- (57) Skoog, D.A., West, D.M. e Holler, J.F., *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 6th ed., Saunders College Publishing, 1992.
- (58) Arduini, F.; Micheli, L.; Moscone, D.; Palleschi, G.; Piermarini, S.; Ricci, F.; Volpe, G. *Electrochemical Biosensors Based on Nanomodified Screen-Printed Electrodes: Recent Applications in Clinical Analysis*. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, Elsevier B.V., vol. 79, p. 114–126, 2016.
- (59) da Silva, E. T. S. G.; Souto, D. E. P.; Barragan, J. T. C.; de F. Giarola, J.; de Moraes, A. C. M.; Kubota, L. T. *Electrochemical Biosensors in Point-of-Care Devices: Recent Advances and Future Trends*. **ChemElectroChem**, Wiley-VCH Verlag, vol. 4, p. 778–794, 2017.
- (60) Dos Santos, S. M. V.; De Oliveira, P. R.; De Oliveira, M. C.; Bergamini, M. F.; Marcolino, L. H. *Screen-Printed Electrodes Constructed Using Carbon Black as Conductive Material*. **Revista Virtual de Quimica**, vol. 9, p. 626–640, 2017.



- (61) Fabri, J.; Silva, L. R. G.; Stefano, J. S.; Pereira, J. F. S.; Cocco, D. R.; Muñoz, R. A. A.; Rocha, D. P. *In Situ Electrochemical Determination of Resorcinol Using a Fully 3D Printed Apparatus*. **Microchemical Journal**, vol. 191, 2023.
- (62) González-Sánchez, M. I.; Gómez-Monedero, B.; Agrisuelas, J.; Iniesta, J.; Valero, E. *Highly Activated Screen-Printed Carbon Electrodes by Electrochemical Treatment with Hydrogen Peroxide*. **Electrochem commun**, vol. 91, p. 36–40, 2018.
- (63) Cumba, L. R.; Foster, C. W.; Brownson, D. A. C.; Smith, J. P.; Iniesta, J.; Thakur, B.; Do Carmo, D. R.; Banks, C. E. *Can the Mechanical Activation (Polishing) of Screen-Printed Electrodes Enhance Their Electroanalytical Response?* **Analyst**, vol. 141, p. 2791–2799, 2016.
- (64) Foster, C. W.; Pillay, J.; Metters, J. P.; Banks, C. E. *Cobalt Phthalocyanine Modified Electrodes Utilised in Electroanalysis: Nano-Structured Modified Electrodes vs. Bulk Modified Screen-Printed Electrodes*. **Sensors (Switzerland)**, vol. 14, p. 21905–21922, 2014.
- (65) Arduini, F.; Di Nardo, F.; Amine, A.; Micheli, L.; Palleschi, G.; Moscone, D. *Carbon Black-Modified Screen-Printed Electrodes as Electroanalytical Tools*. **Electroanalysis**, vol. 24, p. 743–751, 2012.
- (66) Beitollahi, H.; Mohammadi, S. Z.; Safaei, M.; Tajik, S. *Applications of Electrochemical Sensors and Biosensors Based on Modified Screen-Printed Electrodes: A Review*. **Analytical Methods**, vol. 12, p. 1547–1560, 2020.
- (67) Foster, C. W.; Pillay, J.; Metters, J. P.; Banks, C. E. *Cobalt Phthalocyanine Modified Electrodes Utilised in Electroanalysis: Nano-Structured Modified Electrodes vs. Bulk Modified Screen-Printed Electrodes*. **Sensors (Switzerland)**, vol. 14, p. 21905–21922, 2014.
- (68) Vanoni, C. R.; Winiarski, J. P.; Bassani, J. C.; Santos, A. R. S.; Mezalira, D. Z.; Jost, C. *Determination of Melatonin Using a New Integrated Electrochemical Platform of Functionalized Multi-Walled Carbon Nanotubes and Gold Nanoparticles for Clinical Applications*. **J Electrochem Soc**, vol.169, 2022.
- (69) Abdulrahim, S. M.; Ahmad, Z.; Bahadra, J.; Al-Thani, N. J. *Electrochemical Impedance Spectroscopy Analysis of Hole Transporting Material Free Mesoporous and Planar Perovskite Solar Cells*. **Nanomaterials**, MDPI AG, vol. 10, p. 1–23, 2020.
- (70) De Carvalho, L. A.; De Andrade, A. R.; Bueno, P. R. *Espectroscopia de Impedância Eletroquímica Aplicada ao Estudo das Reações Heterogêneas em Ânodos Dimensionalmente Estáveis*. **Quim Nova**, vol. 29, p. 796-804, 2006.
- (71) Kor, K.; Zarei, K.  *$\beta$ -Cyclodextrin Incorporated Carbon Nanotube Paste Electrode as Electrochemical Sensor for Nifedipine*. **Electroanalysis**, vol. 25, p. 1497–1504, 2013.

- (72) González-Sánchez, M. I.; Gómez-Monedero, B.; Agrisuelas, J.; Iniesta, J.; Valero, E. *Highly Activated Screen-Printed Carbon Electrodes by Electrochemical Treatment with Hydrogen Peroxide*. **Electrochem commun**, vol. 91, p. 36–40, 2018.
- (73) Shih, Y.; Zen, J. M.; Kumar, A. S.; Chen, P. Y. *Flow Injection Analysis of Zinc Pyrithione in Hair Care Products on a Cobalt Phthalocyanine Modified Screen-Printed Carbon Electrode*. **Talanta**, vol. 62, p. 912–917, 2014.
- (74) Stojek, Z. *The Electrical Double Layer and Its Structure. In Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications*. **Springer Berlin Heidelberg**, p. 3–9, 2010.
- (75) Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. **Russian Journal of Electrochemistry**, vol. 38, p. 1505- 1506, 2002.
- (76) Baghayeri, M.; Namadchian, M.; Karimi-Maleh, H.; Beitollahi, H. *Determination of Nifedipine Using Nanostructured Electrochemical Sensor Based on Simple Synthesis of Ag Nanoparticles at the Surface of Glassy Carbon Electrode: Application to the Analysis of Some Real Samples*. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, vol. 697, p. 53–59, 2013.
- (77) Agrawal, N.; Savalia, R.; Chatterjee, S. *Nanostructured Zinc Oxide Film Amalgamated with Functionalized Carbon Nanotubes for Facile Electrochemical Determination of Nifedipine*. **Colloids Surf B Biointerfaces**, vol. 201, 2021.
- (78) Brownson, D. A. C.; Banks, C. E. *Interpreting Electrochemistry*. Capitulo 2, 2014.
- (79) Mokhtari, B.; Nematollahi, D.; Salehzadeh, H. *Electrochemical Simultaneous Determination of Nifedipine and Its Main Metabolite Dehydronifedipine Using MWCNT Modified Glassy Carbon Electrode*. **J Mol Liq**, vol. 264, p. 543–549, 2018.
- (80) Mirceski, V.; Skrzypek, S.; Stojanov, L. *Square-Wave Voltammetry*. **ChemTexts** **2018**, 4 (4). <https://doi.org/10.1007/s40828-018-0073-0>.
- (81) Ac00279a004.
- (82) Mirceski, V.; Gulaboski, R.; Lovric, M.; Bogeski, I.; Kappl, R.; Hoth, M. *Square-Wave Voltammetry: A Review on the Recent Progress*. **Electroanalysis**, vol. 25, 2013.
- (83) QUIMICA\_ANALITICA\_SKOOG.
- (84) Wang, J.; Hutchins, L. D. *Activation of Glassy Carbon Electrodes by Alternating Current Electrochemical*. **Elsevier Science Publishers B.V**, vol. 167, 1985.
- (85) Garcia-Rodriguez, O.; Villot, A.; Olvera-Vargas, H.; Gerente, C.; Andres, Y.; Lefebvre, O. *Impact of the Saturation Level on the Electrochemical Regeneration of Activated Carbon in a Single Sequential Reactor*. **Carbon N Y**, vol. 163, p. 265–275, 2020.
- (86) Pfeiffer, N.; Wachter, T.; Frickel, J.; Hofmann, C.; Errachid; A.; Heuberger, A. *Elliptical Fitting as an Alternative Approach to Complex Nonlinear Least Squares Regression for Modeling Electrochemical Impedance Spectroscopy*. **Science and Technology Publications**, vol. 4, p. 42-49, 2021.