



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

Sthephany Marie Agnes Beatrice Cecille Elisabeth Van Sebroeck Dória Santos

**MONITORAMENTO DIRETO DE NIMESULIDA COM ELETRODOS IMPRESSOS:
UMA ABORDAGEM ELETROANALÍTICA**

Florianópolis
2024

Sthephany Marie Agnes Beatrice Cecille Elisabeth Van Sebroeck Dória Santos

**MONITORAMENTO DIRETO DE NIMESULIDA COM ELETRODOS IMPRESSOS:
UMA ABORDAGEM ELETROANALÍTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Química Bacharelado do Centro de Ciências Físicas e Matemáticas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Cristiane Luisa Jost
Coorientador: MSc. Adriano Rogério Silva Lima

Florianópolis

2024

Santos, Sthephany Marie Agnes Beatrice Cecille Elisabeth
Van Sebroeck Dória

Monitoramento direto de nimesulida com eletrodos
impressos: Uma abordagem eletroanalítica / Sthephany Marie
Agnes Beatrice Cecille Elisabeth Van Sebroeck Dória
Santos orientadora, Cristiane Luisa Jost, coorientadora,
Adriano Rogério Silva Lima, 2024.

64 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Físicas e Matemáticas, Graduação em Química - Bacharelado,
Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

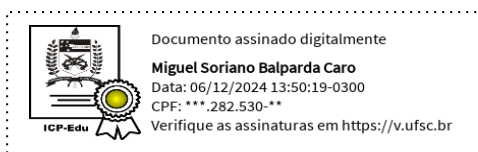
1. Química - Bacharelado. 2. Aplicação in loco. 3.
Eletrodos impressos. 4. Nimesulida . 5. Eletroanalítica.
I. Jost, Cristiane Luisa. II. Lima, Adriano Rogério
Silva. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação
em Química - Bacharelado. IV. Título.

Sthephany Marie Agnes Beatrice Cecille Elisabeth Van Sebroeck Dória Santos

Monitoramento direto de nimesulida com eletrodos impressos: Uma abordagem eletroanalítica

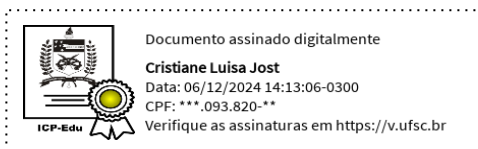
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharel em Química e aprovado em sua forma final pelo Curso Bacharelado em Química

Florianópolis, 27 de Novembro de 2024.

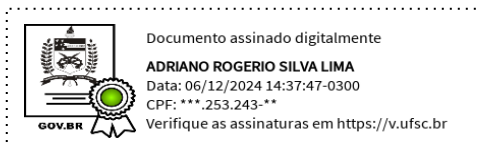


Coordenação do Curso

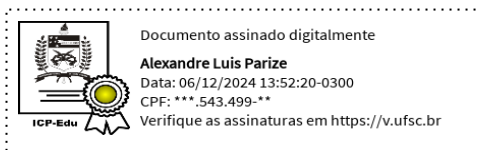
Banca examinadora



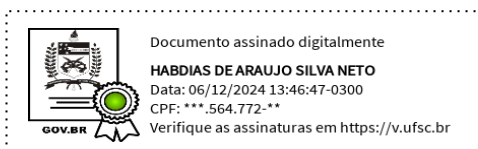
Profa. Dra. Cristiane Luisa Jost
Orientadora



MSc. Adriano Rogério Silva Lima
Coorientador



Prof. Dr. Alexandre Parize
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Dr. Habledias de Araujo Silva Neto
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2024

AGRADECIMENTOS

Quero deixar registrado meu carinho e eterna gratidão a todos as pessoas que estiveram comigo ao longo dessa caminhada tão especial e significativa. Em primeiro lugar, agradeço a minha família: minha mãe, Kamilla; meu vô, Pi; meu padrasto, Flavio; meu irmão, Théo; meus tios, Dih e Karol e meu pai, Bruno. Sou eternamente grata por terem me permitido sonhar e criar asas, em vez de podar as penugens que começavam a crescer. Agradeço por sempre me apoiarem em minhas escolhas, e por terem abdicado de tantas coisas para que eu conseguisse chegar aonde cheguei. O suporte incondicional e a inspiração que vocês me proporcionaram me deram forças para acreditar em mim mesma e enfrentar cada desafio do caminho. Obrigada por me encorajarem a enxergar a educação como uma ferramenta tão poderosa. Cada conquista minha carrega um pedacinho de vocês. Mas principalmente à minha mãezoca, Beatrice. A senhora foi meu porto seguro e minha rocha em todos os momentos da minha vida. Eu jamais teria conseguido sem o seu amor e apoio. Muito obrigada por todo suporte, por toda a força e por ter enxugado as minhas lágrimas, mesmo quando estávamos a quilômetros de distância. Espero, de coração, um dia conseguir retribuir tudo o que a senhora fez por mim e poder enchê-la de orgulho. Amo muito todos vocês!

À Carol, minha terapeuta, que foi um verdadeiro achado quando me mudei para Floripa. Serei eternamente grata por tudo o que fez por mim, por toda a ajuda, paciência e tantos ensinamentos, por me guiar nesses últimos cinco anos da melhor maneira possível e de forma tão especial. Tenho absoluta certeza de que não teria conseguido sem seu suporte. Espero de coração ter essa relação pro resto da vida. Toda a minha gratidão e carinho!

À professora Cris, por quem eu construí uma admiração gigantesca, pela orientação, incentivo e confiança que depositou em mim para a realização desse trabalho. Obrigada por ter me visto e por ter visto o meu potencial, quando peguei as primeiras matérias com você, estava completamente desacreditada e pensando em largar a química, mas ao longo do semestre você fez eu me apaixonar pela química novamente e nunca irei conseguir agradecer o suficiente por isso. Obrigada por tantos ensinamentos e pelas geleias. Espero ser uma pesquisadora/profissional como você quando chegar o meu momento.

Ao meu coorientador Adriano, minha eterna gratidão e amor por tantos ensinamentos, risadas, músicas, conversas, apoio e conselhos ao longo desses dois anos. Obrigada por me ensinar tanto, não só sobre a eletroanalítica mas também sobre a vida, tu és um professor fantástico e me passou tanto conhecimento de forma excepcional. Obrigada pela paciência ao tirar as minhas dúvidas e por sempre ter visto o meu potencial, acreditado em mim, mesmo

quando muitas vezes eu não conseguia acreditar, e, principalmente por nunca ter me podado e sempre escutar o que eu tinha a dizer. Eu não poderia ter pedido um companheiro melhor para estar ao meu lado nessa jornada maluca. Vou guardar todos os nossos momentos no meu coração. Já estou morrendo de saudades e espero ter um pouquinho da sua alegria, leveza e sabedoria quando crescer. Ao Caio e o Philipe por também terem me orientado e me ajudado de alguma forma durante este trabalho. Muito obrigada por tantos momentos de risadas e cantorias, irei guardar todos eles no meu coração. À Kelly, minha companheira de lab, essa jornada não teria sido a mesma sem você, sem sua alegria às oito da manhã, seus shows, sem nossas conversas e risadas intermináveis. Você é uma inspiração pra mim e tu me manques tous les jours. Amo muito todos vocês e vou leva-los no meu coração!

Aos meus amigos/ irmãos que fiz durante a graduação: Gui, Dr Diogo, Menino Paulo, Vini, Helena, Nat, Amandinha, Larissa, Luísa, Felipe e Jonh. Vocês foram, sem dúvida, a melhor coisa que a UFSC me deu. Não poderia ter tido companheiros mais maravilhosos para dividir essa jornada. Muito obrigada por todo apoio, por terem sido meu suporte, por arrancarem sorrisos mesmo nos dias mais difíceis e por me abraçarem nos momentos mais pesados. Por todas as risadas, os rolês inesquecíveis que a gente fez e por todas as horas de estudos e descontração, vocês fizeram tudo valer a pena. Amo vocês com todo meu coração!

Agradeço imensamente aos meus professores do Ensino Médio: Dri, Cris, Leuci, Renato, Ruan por todo o ensinamento que vocês me passaram ao longo dos anos, o que eu aprendi com vocês foi essencial para que eu conseguisse trilhar o caminho da faculdade. Vocês foram a melhor coisa do meu ensino médio e serei sempre grata por tudo. Sinto muitas saudades de vocês. Aos professores da Graduação, que não só compartilharam valiosos ensinamentos, mas também me inspiraram e orientaram com dedicação, mostrando possibilidades e caminhos que transformaram minha jornada. Sou imensamente grata por todo o apoio e incentivo ao longo dessa caminhada. Um agradecimento especial aos que também foram amigos e nos ouviram de verdade quando estávamos passando por algo, isso foi extremamente significativo. Todas as conversas e risadas irão ficar para sempre no meu coração. Agradeço também as pessoas que fizeram parte da minha vida nos últimos anos, e que, embora não estejam mais presentes, tiveram um papel importante na minha jornada e me ajudaram a chegar até aqui.

À Universidade Federal de Santa Catarina e a todos os funcionários que tornaram minha caminhada acadêmica tão especial, meu mais sincero agradecimento. E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina pelo apoio financeiro que tornou tudo isso possível.

RESUMO

Nimesulida (NIM) é um dos fármacos mais consumidos do país, pertencente à classe dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), e amplamente aplicada no tratamento de dores agudas e crônicas, inflamações e febres. Neste estudo, temos a utilização de eletrodos impressos com o objetivo de desenvolver uma metodologia eficaz para a detecção *in loco* (“no local”) de NIM. As aplicações *in loco* utilizando eletrodos impressos, comercializados tanto à base de carbono quanto à base de platina ou ouro, se mostram promissoras pois apresentam um baixo custo, geram um menor volume de resíduos durante a análise, promovem a utilização direta de sistemas sensores e permitem a preservação da natureza da amostra. Tais aplicações são úteis nas áreas ambiental e hospitalar onde há demanda por análises rápidas. Neste trabalho, o eletrodo impresso de carbono se mostrou o mais adequado para a detecção de NIM. Pelo estudo com voltametria cíclica (CV), foram evidenciados quatro processos eletroquímicos: dois de oxidação (em *ca.* +0,01 V e +0,35 V, vs. Ag) e dois de redução (em *ca.* -0,12 V e +0,25 vs. Ag). O comportamento com base na intensidade de pico e a distância entre os potenciais de pico indica uma reação *quasi-reversível*. O melhor sinal de corrente foi otimizado em eletrólito suporte PB 0,100 mol L⁻¹ (pH 7,0) e a técnica aplicada foi a voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *square wave voltammetry*) em razão da sua maior sensibilidade frente ao analito. Os parâmetros e valores otimizados foram: frequência = 6 Hz, incremento de potencial = 5 mV e amplitude de pulso = 100 mV. Com o uso destes parâmetros, foi construída uma curva de calibração na faixa de 6,32 a 117,5 µmol L⁻¹ (R² = 0,9986). Os limites de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*) e quantificação (LOQ, do inglês *limit of quantification*) foram de 6,32 µmol L⁻¹ e 19,15 µmol L⁻¹, respectivamente. Posteriormente, o estudo da seletividade apresentou uma interferência inferior a 20%. A repetibilidade das medições de NIM (40 µmol L⁻¹) foi investigada sob condições otimizadas; os valores do desvio padrão relativo (DPR) foram de 3,54% para medições intra-dia e 2,49% para medições inter-dia ao longo de um período de cinco dias. A análise de amostras foi realizada utilizando amostras de água provenientes da Lagoa da Conceição, sendo obtidos valores de recuperação entre 99% e 105%. Os resultados mostraram grande potencial para a determinação de NIM utilizando eletrodos impressos para uma aplicação *in loco*.

Palavras chaves: Aplicação *in loco*; Eletrodos impressos; Contaminantes orgânicos emergentes; Nimesulida.

ABSTRACT

Nimesulide (NIM) is one of the most widely consumed drugs in the country, belonging to the class of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and commonly used to treat acute and chronic pain, inflammation, and fever. This study focuses on the use of printed electrodes to develop an effective methodology for the in-situ detection of NIM. Printed electrodes—available in carbon, platinum, or gold-based variants—are promising due to their low cost, minimal waste generation, direct application in sensor systems, and preservation of sample integrity. These applications are particularly valuable in environmental and hospital settings where rapid analyses are required. In this work, carbon-based printed electrodes proved most suitable for NIM detection. Using cyclic voltammetry (CV), four electrochemical processes were identified: two oxidation processes (+0.01 V and +0.35 V vs. Ag) and two reduction processes (-0.12 V and +0.25 V vs. Ag). The peak intensity and potential separation suggest a quasi-reversible reaction. Optimal current signals were achieved in a PB buffer (0.100 mol L⁻¹, pH 7.0) using square wave voltammetry (SWV) due to its higher sensitivity to the analyte. Optimized parameters included a frequency of 6 Hz, potential increment of 5 mV, and pulse amplitude of 100 mV. A calibration curve was constructed in the range of 6.32 to 117.5 μmol L⁻¹ ($R^2 = 0.9983$), with detection (LOD) and quantification (LOQ) limits of 6.32 μmol L⁻¹ and 19.15 μmol L⁻¹, respectively. Selectivity tests showed interference below 20%. The repeatability of NIM measurements (40 μmol L⁻¹) under optimized conditions demonstrated relative standard deviations (RSD) of 3.54% for intra-day and 2.49% for inter-day measurements over five days. Sample analyses were conducted using water from Lagoa da Conceição, yielding recovery rates between 99% and 105%. These results demonstrate significant potential for NIM detection using printed electrodes, enabling in-situ applications.

Keywords: In-situ application; Printed electrodes; Emerging organic contaminants; Nimesulide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da Nimesulida.....	15
Figura 2. Célula eletroquímica constituída por três eletrodos: eletrodo de trabalho (WE); eletrodo auxiliar (CE); eletrodo de referência (RE); e entrada para gás purga.....	18
Figura 3. Eletrodos impressos comerciais comerciais à base de (a) platina; (b) carbono; e (c) ouro.	19
Figura 4. (a) Voltamogramas cíclicos para sonda redox $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ em SPE à base de carbono, (b) .Plot de corrente de pico anódico e catódico e variação da velocidade de varredura a partir de voltamogramas cíclicos em sonda redox e SPE à base de carbono, (c) Dados de EIS para sonda redox e SPE à base de carbono e (d) Circuito de Randles-Sevcík correspondente aos dados de EIS para SPE à base de carbono.	30
Figura 5. (a) Voltamogramas cíclicos para sonda redox $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ em SPE à base à base de platina, (b) Plot de corrente de pico anódico e catódico e variação da velocidade de varredura a partir de voltamogramas cíclicos em sonda redox e SPE à base de platina, (c) Dados de EIS para sonda redox em SPE platina. (d) Circuito de Randles-Sevcík correspondente aos dados de EIS para SPE platina.....	31
Figura 6. (a) Voltamogramas cíclicos para sonda redox $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ em SPE ouro, (b) Plot de corrente de pico anódico e catódico e variação da velocidade de varredura a partir de voltamogramas cíclicos em sonda redox e SPE-ouro, (c) Dados de EIS para sonda redox em SPE ouro e (d) Circuito de Randles-Sevcík correspondente aos dados de EIS para SPE ouro.	32
Figura 7. Dados comparativos para EIS em sonda redox e diferentes elétrodos impressos. ..	33
Figura 8. Voltamogramas cíclicos para NIM $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Branco: eletrólito suporte tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) para os elétrodos impressos de trabalho, (a) carbono, (b) ouro, (c) platina e (d) comparativo; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	34
Figura 9. (a) Estudo de pH em voltametria cíclica para a NIM a $97,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ - pH 4,0 a 12,0, (b) 1º Conjunto de picos- Variação da intensidade de pico anódico e catódico e variação dos potenciais de pico anódico e catódico em função do pH do eletrólito e (c) 2º Conjunto de picos- Variação da intensidade de pico anódico e catódico e variação dos potenciais de pico anódico e catódico em função do pH do eletrólito. Condições: Eletrólito suporte tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$	36
Figura 10. (a) Comparativo dos voltamogramas cíclicos para NIM a $97,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em SPE de carbono em pH 7 em diferentes eletrólitos suporte: BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ / PB $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ /	

Mcllvaine 0,1 mol L ⁻¹ (b) Intensidade da corrente anódica e catódica para o 1º conjunto de pico; velocidade de varredura de 50 mV s ⁻¹ e faixa de potencial entre -1,0 a 0,6 V.	37
Figura 11. (a) Comparativo dos voltamogramas cíclicos para NIM a 97,95x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ mol L ⁻¹ em SPCE em concentrações entre 0,025 - 0,300 mol L ⁻¹ , (b) Intensidade da corrente 1º conjunto de pico e (c) Intensidade da corrente 2º conjunto de pico obtidas a partir dos voltamogramas anteriores Condições: Eletrólito suporte tampão PB (pH 7,0).....	38
Figura 12. (a) Estudo de velocidade de varredura em voltamogramas cíclicos para NIM 97,95 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em solução tampão PB 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7) no SPCE; velocidade entre 10–100 mV s ⁻¹ , (b) 1º Conjunto de picos. <i>I_{pa}</i> e <i>I_{pc}</i> versus <i>v</i> , (c) 1º Conjunto de picos. <i>I_{pa}</i> e <i>I_{pc}</i> versus <i>v</i> ^{1/2} e (d) 1º Conjunto de picos. Log <i>v</i> versus log <i>I</i> , (e) 1º Conjunto de picos. <i>E_p</i> vs. log <i>v</i> obtidos a partir do estudo de velocidade de varredura. Condições: Eletrólito suporte tampão PB 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7)	39
Figura 13. (a). 2º Conjunto de picos. <i>I_{pa}</i> e <i>I_{pc}</i> versus <i>v</i> , (b) 2º Conjunto de picos. <i>I_{pa}</i> e <i>I_{pc}</i> versus <i>v</i> ^{1/2} e (c) 2º Conjunto de picos. Log <i>v</i> versus Log <i>I</i> . Condições: Eletrólito suporte tampão PB 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7).	42
Figura 14. (a) Voltamogramas referentes as técnicas de LSV, DPV e SWV. Condições experimentais: eletrólito suporte tampão PB 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7) utilizando NIM a 97,95.10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em SPCE; velocidade de varredura de 50 mV s ⁻¹ ; (b) Intensidade de corrente para as técnicas aplicadas.	45
Figura 15. Os voltamogramas são referentes as variações dos parâmetros experimentais para a técnica de voltametria de onda quadrada, onde (a) é a frequência, (c) o incremento de potencial e (e) amplitude de pulso incremento de potencial; nos gráficos à direita temos as intensidades de corrente para cada parâmetro.	46
Figura 16. (a) Voltamogramas em onda quadrada para diferentes concentrações de nimesulida com a (b) construção da curva completa de calibração, utilizando valores de concentração entre 6,53 - 117,54 µmol L ⁻¹ em SPCE (c) Voltamogramas em onda quadrada referente à faixa linear da curva para diferentes concentrações de nimesulida com a (d) construção da curva de calibração, utilizando valores de concentração entre 19,59 a 117,54 µmol L ⁻¹ em SPCE.	48
Figura 17. Resposta de corrente relativa de cada interferente potencial. Condições: Eletrólito suporte tampão PB 0,1 mol L ⁻¹	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AE** – (do inglês *auxiliary electrode*) – Eletrodo auxiliar
- AINEs** – Anti-inflamatórios não esteroidais
- B-R** – (do inglês *Britton-Robison buffer solution*) – Solução tampão Britton-Robinson
- CE** – (do inglês *capillary electrophoresis*)- Eletroforese capilar
- COX-2** – Enzima ciclo-oxigenase-2
- CV** – (do inglês *cyclic voltammetry*) - Voltametria cíclica
- DPR** – Desvio padrão relativo
- DPV** – (do inglês *differential pulse voltammetry*) – Voltametria de pulso diferencial
- EIS** – (do inglês *electrochemical impedance spectroscopy*) – Espectroscopia de impedância eletroquímica
- EOCs** – (do inglês *emerging organic compounds*) – Contaminantes orgânicos emergentes
- EPI** – Equipamentos de proteção individual
- GC** – (do inglês *gas chromatography*) – Cromatografia líquida
- HPLC** – (do inglês *high-performance liquid chromatography*) – Cromatografia líquida de alta eficiência
- HPTLC** – (do inglês *high performance thin layer*) – Cromatografia em camada delgada de alta performance
- LC** – (do inglês *liquid chromatography*) – Cromatografia líquida
- LC-MS** – (do inglês *liquid chromatography tandem mass spectrometry*) – Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas
- 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
- MEKC** – (do inglês *micellar electrokinetic chromatography*) – Cromatografia eletrocinética micelar
- MS** – (do inglês *mass spectrometry*) – Espectrometria de massa
- NIM** – Nimesulida
- PBS** – (do inglês *phosphate buffer*) – Solução tampão fosfato
- POC** – (do inglês *point of care*) - Teste no ponto de atendimento
- R_s** – (do inglês *solution resistance*) – Resistência da solução
- R_{tc}** – (do inglês *charge transfer resistance*) – Resistência a transferência de carga
- RE** – (do inglês *reference electrode*) – Eletrodo de referência

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

SPGE – (do inglês *screen printed gold electrode*) – Eletrodo impresso de ouro

SPPE – (do inglês *screen printed platinum electrode*) – Eletrodo impresso de platina

SPE – (do inglês *screen printed electrode*) – Eletrodo impresso

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

UHPLC – (do inglês *ultra-high pressure liquid chromatography*) – Cromatografia líquida de ultra-alta pressão

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

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	CONTAMINANTES ORGÂNICOS EMERGENTES (EOCS).....	14
2.2	NIMESULIDA	14
2.3	TÉCNICAS DE QUANTIFICAÇÃO PARA NIMESULIDA.....	16
2.4	ELETROANALÍTICA.....	17
2.5	ELETRODOS IMPRESSOS	19
3	OBJETIVOS	21
3.1	OBJETIVO GERAL	21
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4	MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1	REAGENTES E SOLUÇÕES.....	23
4.1.1	Reagentes	23
4.1.2	Soluções.....	23
4.2	INSTRUMENTAÇÃO.....	24
4.2.1	Célula eletroquímica.....	24
4.2.2	Instrumentação	24
4.3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	25
4.3.1	Caracterização eletroquímica em eletrodos impressos à base de carbono, platina e ouro frente a sonda redox $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$	25
4.3.2	Comportamento eletroquímico da Nimesulida frente aos eletrodos impressos de carbono, platina e ouro	25
4.3.3	Desenvolvimento e aplicabilidade do método eletroanalítico.....	25
4.3.4	Limpeza do eletrodo	26
4.4	SEGURANÇA NO LABORATÓRIO	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1	ESTUDO DE CARACTERIZAÇÃO EM ELETRODOS IMPRESSOS.....	29
5.2	COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO ANALITO	34
5.3	OTIMIZAÇÃO DOS VALORES DE PH.....	35
5.4	ESTUDO DO ELETRÓLITO SUPORTE	36
5.5	ESTUDO DE VELOCIDADE DE VARREDURA	38

5.6	ESCOLHA DA TÉCNICA ELETROANALÍTICA PARA A DETERMINAÇÃO DE NIM.....	44
5.7	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA SWV	45
5.8	CURVA DE CALIBRAÇÃO.....	47
5.9	SELETIVIDADE E REPETIBILIDADE	49
5.10	DETERMINAÇÃO DE NIM EM AMOSTRA DE ÁGUA DA LAGOA DA CONCEIÇÃO.....	50
6	CONCLUSÃO.....	51
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

1 INTRODUÇÃO

Os órgãos fiscalizadores ambientais têm apresentado cada vez mais preocupação em relação ao monitoramento da concentração de compostos orgânicos e metais em ecossistemas costeiros. Compreender a disseminação de poluentes nesses ambientes, que podem acumular-se na fauna marinha, sedimentos e lençóis freáticos, é primordial para um controle ambiental satisfatório, assim como a verificação da contaminação por substâncias químicas potencialmente tóxicas, como fármacos e metais em ambientes aquáticos. Em Florianópolis, cercada por diversos ambientes aquáticos em contato direto com o Oceano Atlântico, esse monitoramento é especialmente importante para uma fiscalização ambiental eficaz. Tais espécies, classificadas como poluentes emergentes pela União Europeia, podem ser oriundas de processos industriais assim como da descarga direta de esgoto não-tratado.

Entre as principais consequências para as pessoas expostas à água contaminada estão doenças crônicas, como infertilidade, resistência a antibióticos e alterações na pressão arterial. A crescente preocupação com a presença de contaminantes emergentes em água potável e no meio ambiente tem impulsionado a pesquisa científica em busca de métodos eficazes para quantificar essas substâncias. Entre as técnicas comumente empregadas destacam-se as eletroquímicas, como a voltametria, condutimetria e amperometria. Essas técnicas envolvem reações de transferência de elétrons e a conversão de energia química em energia elétrica, tornando-se amplamente utilizadas em estudos analíticos na comunidade científica.

Nesse contexto, os eletrodos impressos têm surgido como uma solução promissora para a detecção e quantificação de compostos orgânicos emergentes (EOCs, do inglês *emerging organic compounds*), como a nimesulida (NIM), um medicamento amplamente utilizado no tratamento de dores agudas e crônicas, inflamações, febres e no tratamento de câncer. Esses eletrodos apresentam diversas vantagens, especialmente dentro da tendência de miniaturização, incluindo sua alta sensibilidade, seletividade, simplicidade de uso e baixo custo, o que os torna ideais para análises diretas em campo. A aplicação *in loco* utilizando estes dispositivos tem se mostrado cada vez mais vantajosa por preservar as características originais das amostras.

Dessa forma, este trabalho tem como objetivo aplicar técnicas eletroanalíticas utilizando eletrodos impressos, com foco na detecção da NIM. O estudo visa à caracterização dos eletrodos e à avaliação da resposta eletroquímica da NIM. Além disso, busca-se otimizar as condições experimentais para, ao final, validar o método analítico desenvolvido.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONTAMINANTES ORGÂNICOS EMERGENTES (EOCS)

Os contaminantes orgânicos emergentes (EOCs, do inglês *emerging organic compounds*) abrangem compostos químicos presentes em uma ampla gama de produtos comerciais, como por exemplo, medicamentos, produtos veterinários, embalagens de alimentos, itens de higiene, agrotóxicos e até mesmo certos micro-organismos são apontados como EOCs. Esses contaminantes podem ser encontrados nas mais diversas matrizes ambientais e biológicas, e ainda assim, não são habitualmente monitorados ou ainda não possuem legislação regulatória correspondente^{1,2}.

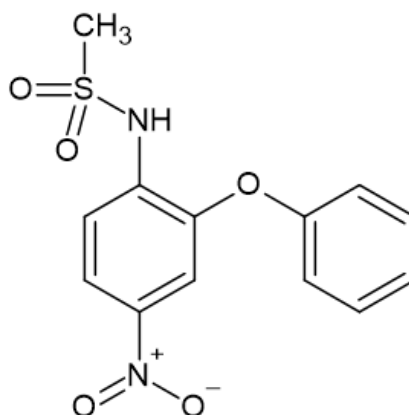
A comunidade científica e os órgãos legisladores nacionais e internacionais possuem uma grande apreensão relacionada aos EOCs devido às suas propriedades, tais como, sua alta estabilidade, baixa biodegradabilidade e elevada solubilidade em água³. Ainda não há uma grande compreensão dos efeitos negativos desses poluentes sobre a fauna e flora, nem sobre as doenças que podem ocorrer a longo prazo em pessoas que utilizam esses recursos hídricos. Contudo, certos estudos já mencionam impactos adversos à saúde humana, como lesões celulares, disfunção no sistema endócrino e reprodutivo de seres humanos e dos animais, podendo causar infertilidade e abortos espontâneos, alterações comportamentais, resistência a antibióticos, variações na pressão arterial, distúrbios metabólicos e incidência de neoplasias malignas, além da indução de bactérias mais resistentes⁴⁻⁶.

Os produtos farmacêuticos exercem um papel de elevada relevância como EOCs, devido ao amplo consumo por uma grande parcela da população e à venda frequente sem prescrição médica. Entre esses produtos, encontram-se diversas classes de medicamentos, como por exemplo antibióticos, anti-inflamatórios, analgésicos, reguladores lipídicos, betabloqueadores, esteroides e hormônios, antiepiléticos, diuréticos e agentes terapêuticos contra o câncer⁷.

2.2 NIMESULIDA

Dentre os fármacos que compõe os EOCs, tem-se a nimesulida (NIM), determinada pela IUPAC como N-(4-nitro-2-fenoxifenil)metanossulfonamida (**Figura 1**), pertencente à classe dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs)⁸. Suas principais propriedades são efeitos anti-inflamatórias, analgésicas e antipiréticas, sendo amplamente utilizada no tratamento de dores agudas e crônicas, inflamações, febres e no tratamento de câncer^{9,10}.

Figura 1. Estrutura química da Nimesulida



Fonte. A autora.

Sua estrutura química é caracterizada por um anel tiazolilideno ligado a uma sulfonamida, conferindo-lhe propriedades farmacológicas específicas. A presença da sulfonamida na estrutura da NIM é responsável por sua atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética, atuando principalmente como inibidora da enzima ciclo-oxigenase-2 (COX-2) que está vinculada à produção de glândulas prostáticas, que causam inflamação e dor^{11, 12}. Sua estrutura química também pode influenciar a NIM ser classificada como um contaminante emergente, sua solubilidade em água, por exemplo, pode interferir na sua dispersão e transporte em sistemas aquáticos, enquanto sua estabilidade química pode determinar sua persistência no meio ambiente. A capacidade de interação da NIM com outros compostos presentes no meio, como matéria orgânica e metais, pode influenciar sua biodisponibilidade e toxicidade para organismos aquáticos e terrestres¹³.

Embora seja bem tolerada e apresente um risco relativamente baixo de efeitos colaterais gastrointestinais em comparação com outros medicamentos semelhantes, pois possui uma menor acidez ($pK_a=6,9$) quando comparada a outros fármacos utilizados para mesma finalidade, como por exemplo o ácido acetilsalicílico ($pK_a = 3,4$)¹⁴, são necessários grandes cuidados em relação a sua ingestão contínua devido aos casos, cada vez mais recorrentes, relacionados à sua hepatotoxicidade¹⁵. Devido a esses riscos relacionados à insuficiência hepática, alguns países como Espanha, Finlândia, Irlanda, Bélgica, Dinamarca, Holanda, Suécia, Canadá, Japão, Estados Unidos, Nova Zelândia e Austrália suspenderam a utilização desse fármaco^{16,17}. No Brasil, mesmo sendo um medicamento de tarja vermelha, ou seja, a

venda do mesmo ocorre somente sob prescrição médica¹⁸, ainda está entre os dez medicamentos mais vendidos do país¹⁹.

A crescente utilização e liberação de NIM desenfreada e indiscriminada por seres humanos e animais tem levantado preocupações acerca de sua classificação como um contaminante emergente em corpos d'água superficiais e subterrâneos, resultando em impactos ambientais consideráveis e nas consequências prejudiciais que pode causar ao organismo humano²⁰. Faz-se necessário cada vez mais estudos relacionados à NIM e sobre os impactos que podem desencadear no meio ambiente e na saúde dos seres vivos. Com isso, é essencial o desenvolvimento de métodos analítico que sejam rápidos, simples e de baixo custo para o controle de qualidade da NIM em formulações farmacêuticas, assim como proporcionar uma quantificação sensível e seletiva de NIM em amostras ambientais, a fim de avaliar seu potencial impacto e adotar medidas adequadas de controle e mitigação.

2.3 TÉCNICAS DE QUANTIFICAÇÃO PARA NIMESULIDA

Devido a este grande interesse sobre os EOCs, há uma grande gama de trabalhos científicos desenvolvendo diversas técnicas para a detecção e quantificação da NIM²¹, por exemplo, espectrometria de massas (MS, do inglês *mass spectrometry*)²², cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS, do inglês *liquid chromatography tandem mass spectrometry*)²³⁻²⁶, cromatografia gasosa (GC, do inglês *gas chromatography*)²⁷, cromatografia líquida de ultra-alta pressão (UHPLC, do inglês *ultra-high pressure liquid chromatography*)²⁸, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *high-performace liquid chromatographay*)²⁹⁻³⁶, eletroforese capilar (CE, do inglês *capillary electrophoresis*)³⁶, cromatografia em camada delgada de alta performance (HPTLC, do inglês *high performance thin layer*)³⁷, cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa (do inglês, *reversed phase HPLC*)³⁸⁻³⁹, espectrometria de absorção molecular⁴⁰⁻⁴³ e cromatografia eletrocínética micelar (MEKC, do inglês *micellar electrokenetic chromatography*)⁴⁴.

No trabalho realizado por Singh Kushwah et al.²⁵, foi desenvolvido um método seletivo, sensível e preciso através da técnica de LC-MS, validado e aplicado para a determinação de NIM e de seu metabolito hidroxilado em leite de vaca. Foram realizados estudos de validação para se determinar a exatidão, a precisão, a seletividade, a estabilidade, o efeito de matriz e a integridade da diluição. Ao final da metodologia, 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 NIM de 0,05 ng mL⁻¹ e 0,16 ng mL⁻¹, respectivamente.

Concluiu-se que o método pode ser aplicado para a determinação quantitativa de NIM e de seu metabólito em matrizes biológicas, como o leite.

Conforme o trabalho de Ruela et al.³⁹, a técnica de HPLC de fase reversa foi aplicada para a determinação de NIM em estudos de liberação *in vitro*, a fim de desenvolver, validar e aplicar esta metodologia rápida. Uma série de estudos foram conduzidos para determinar a composição da fase móvel, assim como seu pH e vazão. Estudos para a validação do método analítico e para a dissolução do comprimido também foram realizados. A metodologia aplicada se mostrou promissora, pois obteve-se um limite de detecção de $0,03 \mu\text{g mL}^{-1}$ e um valor igual a $0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o limite de quantificação mostrando-se sensível, assim como preciso, exato e linear em uma ampla faixa de concentração. Ademais, apresentou-se resultados satisfatórios para a avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de NIM.

As técnicas apresentadas anteriormente são extremamente importantes no desenvolvimento de métodos analíticos. Contudo, é possível que o pré-tratamento de amostras necessite de um empenho considerável, já que esses processos costumam ser extensos e complexos, incluindo etapas de digestão ou limpeza, além de necessitar de operações detalhadas, treinamentos específicos e reagentes apropriados. Essas condições não apenas aumentam o processo de análise, como também podem acarretar à perda do analito⁴⁵. Adicionalmente, o transporte das amostras é mandatório, uma vez que os equipamentos habitualmente permanecem nos laboratórios de origem⁴⁶. Por conseguinte, tornou-se primordial, no meio científico, a adesão de uma cultura de miniaturização dos equipamentos analíticos. Esta abordagem oferece uma série de vantagens, como portabilidade e baixo custo, desenvolvimento de *gadgets* amigáveis, possibilitando aplicações *in loco* (“no local”) e eliminando, em certos aspectos, as limitações dos procedimentos analíticos convencionais⁴⁷.

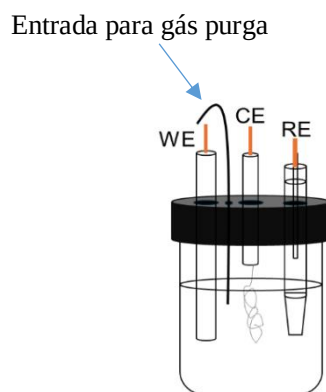
2.4 ELETROANALÍTICA

Dentre os diversos métodos utilizados para a determinação de EOCs, aqueles baseados em técnicas eletroanalíticas têm ganhado cada vez mais destaque tanto no meio científico quanto industrial, com o crescimento nas aplicações de potenciometria, condutimetria, amperometria e voltametria no monitoramento ambiental^{48,49}. Somado a isso, são economicamente viáveis em relação aos custos operacionais e de manutenção. Ainda, esses métodos proporcionam a vantagem de incremento de sensibilidade através de modificações ou ativações das superfícies dos eletrodos, gerando dados mais confiáveis^{50,51}.

Para a técnica de voltametria, é utilizado um sistema eletroquímico constituído 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*)⁴⁹. A **Figura 2** apresenta uma célula eletroquímica com os três eletrodos, além de uma entrada de gás nitrogênio, frequentemente aplicado como gás de purga durante o monitoramento de sinais de redução⁵².

Figura 2. Célula eletroquímica constituída por três eletrodos: eletrodo de trabalho (WE); eletrodo auxiliar (CE); eletrodo de referência (RE); e entrada para gás purga.



Fonte. A autora

Na literatura há um grande conjunto de estudos realizados para a determinação de NIM utilizando os mais diversos tipos de eletrodos de trabalho, com e sem modificações⁵³⁻⁶¹. Contudo, não há trabalhos na literatura que reportam a utilização de eletrodos impressos para a detecção deste fármaco. As ferramentas eletroquímicas têm se comprovado promissoras para a detecção de NIM em amostras clínicas e ambientais⁶², uma vez que, conforme foi apresentado na **Figura 1**, a NIM é constituída por um grupo nitro - que pode sofrer o processo de redução - e por um grupo amina - que pode sofrer o processo de oxidação. O estudo da redução do grupo nitro mostra-se mais vantajoso, visto que ocorre a minimização de possíveis interferências de matriz em águas naturais, essencial para aplicações em análises ambientais e clínicas^{60,63}.

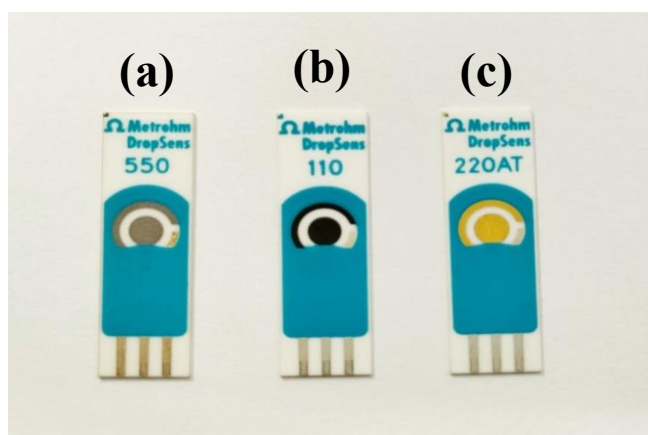
Conforme desenvolvido por Goularte et al 2022.⁶⁰ a técnica voltamétrica foi aplicada para a detecção analítica do processo de redução eletroanalítica de NIM utilizando o sensor eletroquímico $\text{GCE/Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ (Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de paládio estabilizadas em um material híbrido de sílica-silexano). Estudos sobre a modificação, o comportamento eletroquímico da NIM, escolha do eletrólito suporte e sua concentração, condição ideal de pH, efeito da velocidade de varredura, escolha da técnica e aplicação em amostras de urina sintética, soro simulado e amostras de água de rio foram realizados. A técnica eletroquímica demonstrou excelente desempenho em termos de

sensibilidade, precisão e seletividade. O limite de detecção (LOD) foi de $0,039 \mu\text{mol L}^{-1}$ e o limite de quantificação (LOQ) foi de $0,132 \mu\text{mol L}^{-1}$. A validação foi realizada por meio de comparação com a espectrometria de absorção molecular, demonstrando a confiabilidade e a aplicabilidade do método proposto para a eletroanálise de amostras de origem clínica e ambientais.

2.5 ELETRODOS IMPRESSOS

Por intermédio do avanço tecnológico mostrou-se necessário a ampliação e o aperfeiçoamento das formas de análises *in loco*, a fim de diminuir a necessidade de grandes e complexos equipamentos. O desenvolvimento dos primeiros eletrodos impressos (SPEs, do inglês *screen printed electrodes*) ocorreu em 1990, o que desencadeou na diminuição dos custos de produção e da execução de análises eletroanalíticas, sem comprometer a confiabilidade, a seletividade, a sensibilidade e a reprodutibilidade dos resultados obtidos⁶⁴. A **Figura 3** ilustra um exemplo de eletrodos impressos de platina, carbono e ouro, respectivamente, composto por um conjunto de três eletrodos, sendo eles, o eletrodo de trabalho, um contra eletrodo de carbono e um pseudo eletrodo de referência, a estrutura de cerâmica possui dimensões de $3,4 \times 1,0 \text{ cm}$. Consequentemente, uma célula eletroquímica, que usualmente requer no mínimo um volume de 10 mL de solução, é reduzida para uma gota de apenas $70 \mu\text{L}$, capaz de encobrir todo o sistema de eletrodos.

Figura 3. Eletrodos impressos comerciais à base de (a) platina; (b) carbono; e (c) ouro.



Fonte. A autora

Essas características, levando em consideração o seu baixo custo, tamanho reduzido, possibilidade de portabilidade dos eletrodos, menor geração de resíduos durante a análise e a

viabilidade de utilização direta sem requerer modificações, comprova seu potencial de aplicação no segmento de *point-of-care* (POC). Essa abordagem simplifica a acessibilidade de análises qualitativas em locais com infraestrutura laboratorial limitada. Os testes realizados são especialmente úteis nas áreas ambiental e hospitalar, que constantemente requerem análises rápidas e práticas⁶⁵.

Os eletrodos impressos apresentam uma alta versatilidade tanto em suas composições quanto nas modificações superficiais que podem ser aplicadas. Na literatura, a aplicação de modificadores nas superfícies dos eletrodos impressos é amplamente estudada, uma vez que ocorre o aumento da sensibilidade dos dispositivos⁶⁶⁻⁷¹. No que diz respeito ao eletrodo de trabalho, há disponibilidade tanto de eletrodos à base de carbono, que são os mais habituais em função de sua excelente condutividade e custo acessível, quanto de eletrodos a base de platina e de ouro⁷².

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um método eletroanalítico empregando-se eletrodos impressos para a determinação de NIM em amostra de água proveniente da Lagoa da Conceição em Florianópolis - Santa Catarina.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a caracterização eletroquímica em eletrodos impressos à base de carbono, platina e ouro;
- Classificar o melhor eletrodo impresso, com base no comportamento eletroquímico para a determinação da NIM;
- Analisar os parâmetros experimentais, assim como os valores de pH, natureza e concentração do eletrólito de suporte;
- Selecionar a técnica mais adequada, entre voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial. Complementarmente, realizar a otimização dos parâmetros da técnica definida.
- Qualificar as características do método sugerido, levando em consideração a construção de uma curva de calibração e, subsequentemente, a determinação dos valores dos limites de detecção e quantificação;
- Testar a aplicabilidade do sensor eletroquímico em amostra ambiental.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

4.1.1 Reagentes

Os reagentes a serem usados para a elaboração do projeto estão elencadas no **Quadro 1**.

Quadro 1. Origens e características dos reagentes utilizados

REAGENTES	FÓRMULA	MARCA	PUREZA
Ácido acético	$C_2H_4O_2$	Vetec	$\geq 99,7\%$
Ácido bórico	H_3BO_3	Acros Organics	$\geq 99,5\%$
Ácido fosfórico	H_3PO_4	Grupo Química	$\geq 85\%^a$
Cloreto de potássio	KCl	Isofar	$\geq 99\%$
Etanol	C_2H_5OH	Meta Química	$\geq 99,3\%$
Ferricianeto de potássio	$K_3Fe(CN)_6$	Vetec	$\geq 99\%$
Ferrocianeto de potássio	$K_4Fe(CN)_6$	Vetec	$\geq 98,5\%$
Fosfato de sódio monohidratado	$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$	Neon	$\geq 98,7\%$
Hidróxido de sódio	NaOH	Vetec	$\geq 99\%$
Nimesulida	$C_{13}H_{12}N_2O_5S$	Sigma	$\geq 99,4\%$
Fosfato de sódio bibásico dihidratado	$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	Neon	$\geq 99\%$
Ácido cítrico anidro	$C_6H_8O_7$	Synth	$\geq 99,5\%$

4.1.2 Soluções

A elaboração das soluções dos reagentes apresentados no **Quadro 1** constituiu-se em solubilizá-los em água ultrapura (obtida via sistema Milli-Q, Millipore - Bedford, MA, USA) com resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ a 25°C .

As soluções de $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ da sonda redox foram preparadas a partir dos sais de $K_3Fe(CN)_6$ e de $K_4Fe(CN)_6$ em meio aquoso contendo KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A preparação das soluções do tampão Britton-Robinson (B-R), empregadas na compreensão do comportamento da NIM diante das alterações de pH, deram-se através da combinação de ácido acético, ácido bórico e ácido fosfórico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) compreendendo uma faixa de pH entre 4,0 e 9,0. Ajustou-se os valores de pH utilizando uma solução de NaOH 7 mol L^{-1} . Utilizou-se também soluções do tampão fosfato (PB, do inglês *phosphate buffer*), composta por ácido fosfórico, e do tampão McIlvaine, composto por ácido cítrico e fosfato de sódio, em pH 7,0. As soluções foram

armazenadas sob refrigeração à 4 °C com prazo máximo de utilização em 90 dias.

Preparou-se as soluções à base de NIM a partir de uma solução estoque com concentração de $9,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ solubilizada em etanol. Diariamente, essa solução foi diluída conforme necessidade.

4.2 INSTRUMENTAÇÃO

4.2.1 Célula eletroquímica

As análises voltamétricas foram executadas pelo emprego de eletrodos impressos de carbono, platina e ouro (Metrohm DropSens – Espanha). Tais eletrodos são constituídos por uma única peça dividida com a seguinte configuração: um eletrodo de trabalho à base de carbono, platina ou ouro (com um diâmetro igual à 4 mm), um contra eletrodo de carbono e um eletrodo de referência de prata. Esta configuração foi utilizada em todas as medições, operando em com alíquotas discretas, em gota, e volume máximo de 70 μL .

4.2.2 Instrumentação

Medidas voltamétricas foram conduzidas com o auxílio de um potenciostato/galvanostato PalmSens (Palm Instruments BV, Holanda) conectado a um computador com o *software* PSTrace (versão 5.10) de onde foram extraídos os dados. Para o estudo de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, do inglês *electrochemical impedance spectroscopy*) foi empregado o potenciostato/galvanostato DropSens modelo $\mu\text{Stat-i 400s}$ (Metrohm DropSens – Espanha) conectado a um computador com o *software* DropView (versão 3.78), diante do qual gerou-se os voltamogramas e os gráficos de Nyquist.

Inseriu-se os eletrodos impressos à um conector que transmite os dados obtidos para um sistema computacional, no qual foram processados e tratados em um programa gráfico.

Efetuuou-se as medições de pH utilizando um conjunto medidor de eletrodo combinado Ohaus (Modelo ST3100-F), devidamente calibrado antes de cada uso.

4.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.3.1 Caracterização eletroquímica em eletrodos impressos à base de carbono, platina e ouro frente a sonda redox $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$

Inicialmente, avaliou-se o comportamento eletroquímico de três diferentes sistemas sensores através de uma abordagem comparativa, utilizando o mesmo aparato instrumental descrito no subtópico 4.2.2. Para este estudo, empregou-se uma sonda redox de $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ ($0,005 \text{ mol L}^{-1}$ cada) em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Foi depositada uma gota contendo $70 \mu\text{L}$ desta sonda redox diretamente na superfície do eletrodo impresso (SPE, do inglês *screen printed electrode*), variando a velocidade de varredura entre 10 e 100 mV s^{-1} , em uma faixa de potencial de $-0,3 \text{ V}$ a $0,7 \text{ V}$. Dessa forma, tornou-se possível observar os comportamentos eletroquímicos que são provenientes dos processos de oxidação e redução.

Além da caracterização por voltametria cíclica, ocorreu a avaliação complementar dos sistemas sensores a partir do estudo de espectroscopia de impedância eletroquímica nas mesmas condições mencionadas anteriormente.

4.3.2 Comportamento eletroquímico da Nimesulida frente aos eletrodos impressos de carbono, platina e ouro

Avaliou-se o comportamento eletroquímico da NIM pela técnica de voltamétrica cíclica. Testou-se os SPEs, sem etapas de tratamento prévio ou ativação de superfície, utilizando o mesmo aparato instrumental descrito no subtópico 4.2.2. Em todos os testes, a preparação das soluções padrão de NIM foi realizada diretamente em frasco Eppendorf®, em etapas de diluição e valores de concentração adequados à aplicação direta na forma de gota na superfície dos eletrodos de trabalho, minimizando a geração de resíduos químicos.

Para a NIM, utilizou-se como eletrólito suporte a solução tampão Britton Robinson (B-R) com concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) em concentração final de $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com base em relatos prévios da literatura⁶⁰. Foi depositada uma alíquota de $70 \mu\text{L}$ desta solução diretamente na superfície do SPE utilizando uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} , em uma faixa de potencial entre $-0,7 \text{ V}$ e $0,7 \text{ V}$.

4.3.3 Desenvolvimento e aplicabilidade do método eletroanalítico

Estudos referentes aos eletrodos impressos de carbono, platina e ouro foram executados visando alcançar um equilíbrio entre a intensidade de corrente e o perfil

voltamétrico para o analito. Desta maneira, o objetivo inicial foi avaliar o eletrodo impresso que apresente a melhor condição de compromisso entre qualidade do sinal analítico e intensidade de corrente de pico.

Examinou-se os perfis voltamétricos da NIM em diferentes valores de pH, com o intuito de otimizar esse parâmetro, modificando sua natureza tamponante e a concentração. Simultaneamente, conduziu-se análises para a determinação do mecanismo eletroquímico que prevalece na superfície do eletrodo (difusional, adsortivo ou misto), com base na investigação da variação da velocidade de varredura.

A variação do pH também foi estudada para se compreender a relação entre prótons e elétrons envolvidos no processo de oxirredução da NIM. Realizou-se a determinação do modo operacional da voltametria de pulso entre onda quadrada e pulso diferencial, e em consecutivo, foi feita a otimização dos parâmetros.

Sob as condições experimentais estabelecidas, averiguou-se a faixa operacional apropriada para a quantificação de NIM, procurando certificar uma relação linear entre corrente e concentração. A comprovação do método deu-se por meio da construção de uma curva de calibração para medições comparativas diretas, minimizando os efeitos de matriz. Os parâmetros como limites de detecção e quantificação foram definidos a partir dos dados experimentais. Subsequentemente realizou-se a aplicação em amostras. As amostras de água de origem natural foram coletadas em diferentes áreas da Lagoa da Conceição em Florianópolis – SC, para representação da matriz. Vale ressaltar que não foram realizados procedimentos de pré-tratamento, filtração ou extração nas amostras coletadas e armazenou-se as mesmas na geladeira, em uma temperatura igual à 4 °C.

Complementarmente, avaliou-se a seletividade do eletrodo, testando a interferência de diferentes substâncias na matriz utilizada, com ênfase na presença de espécies eletroativas.

4.3.4 Limpeza do eletrodo

Após cada análise, os eletrodos utilizados foram submetidos a um processo de limpeza, iniciando com lavagem em água deionizada, seguida de etanol e, posteriormente, uma nova lavagem em água deionizada. Em seguida, os eletrodos foram imersos por 2 segundos em uma solução 1:1 de água deionizada e etanol, na presença de um banho ultrassônico. Por fim, os eletrodos foram deixados em uma estufa de esterilização e secagem até a completa secagem dos mesmos.

4.4 SEGURANÇA NO LABORATÓRIO

É imprescindível para um bom desenvolvimento de uma pesquisa possuir o conhecimento necessário acerca das normas de segurança básica em laboratórios e o manuseio apropriado dos resíduos gerados durante a realização das práticas experimentais. Durante todos os experimentos foram utilizados equipamentos de proteção individual (EPI) apropriados ao laboratório, como, jaleco, luvas e óculos de proteção, de acordo com a necessidade. A manipulação de soluções voláteis foi realizada em capela com exaustão para a prevenção de acidentes decorrente dos vapores da solução.

Soluções residuais de tampões foram neutralizadas até atingir um valor de pH igual à 7 e, posteriormente, foram descartadas diretamente na pia. Contudo, as soluções contendo NIM foram armazenados em recipientes apropriados de descarte, para futuramente serem recolhidas por empresas especializadas contratadas pela UFSC.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

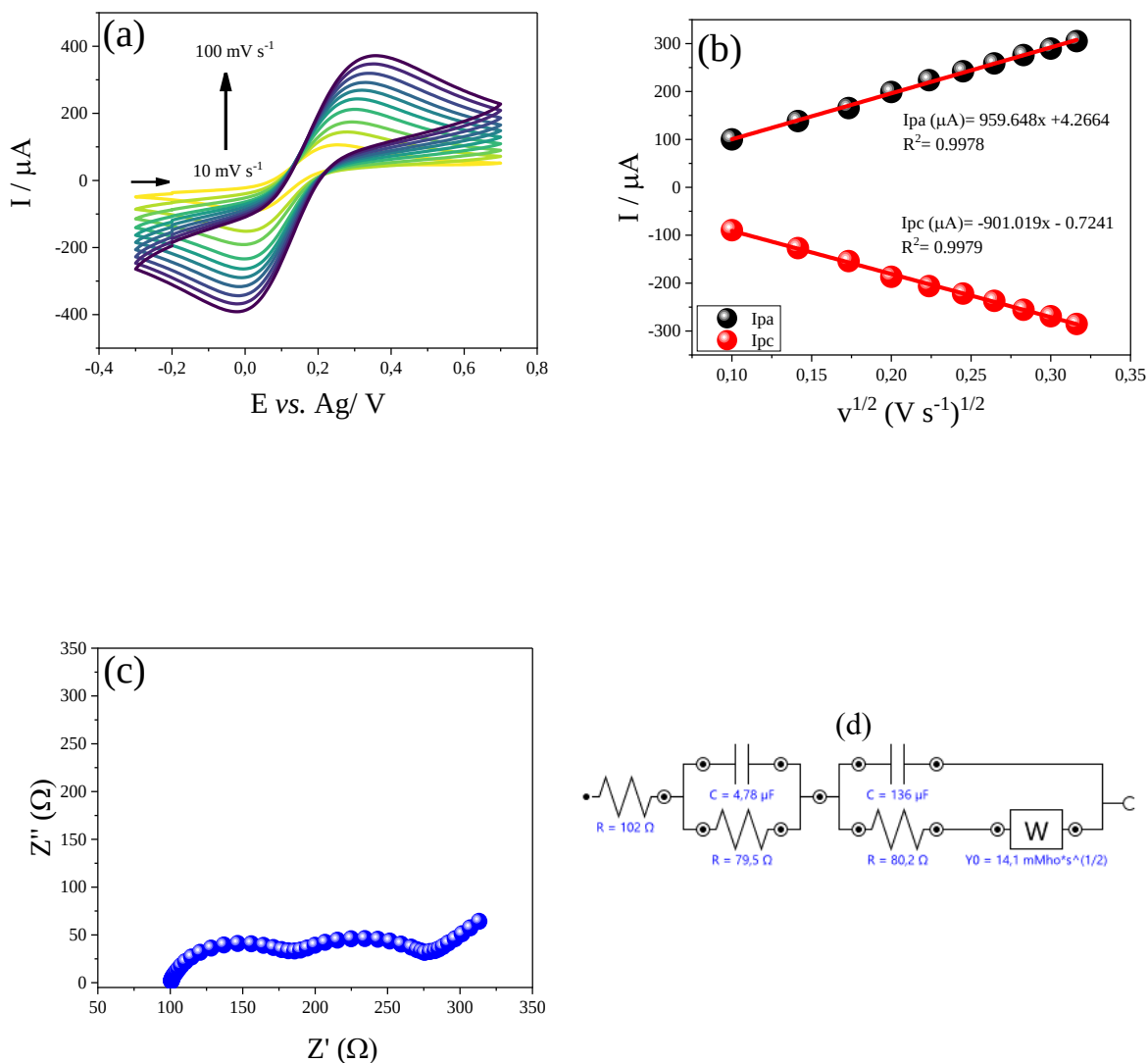
5.1 ESTUDO DE CARACTERIZAÇÃO EM ELETRODOS IMPRESSOS

Inicialmente, o comportamento eletroquímico de três diferentes sistemas sensores foi analisado através de uma abordagem comparativa, utilizando dados coletados via potenciostato/galvanostato uSTAT-i 400s. Nesta fase da pesquisa, um estudo detalhado das propriedades eletroquímicas de três tipos de eletrodos foi realizado. Para este estudo foi empregada uma sonda redox composta por Ferro II e Ferro III [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$], com concentração de $0,005\text{mol L}^{-1}$ cada, em KCl $0,1\text{ mol L}^{-1}$. Uma solução contendo $70\text{ }\mu\text{L}$ desta sonda redox foi depositada diretamente na superfície do SPE variando a velocidade de varredura entre 10 e 100 mV s^{-1} . Dessa forma, foi possível observar os comportamentos dos processos de oxidação e redução eletroquímica. A escolha deste par redox baseia-se em seu comportamento eletroquímico amplamente conhecido e definido, uma vez que o processo redox envolvido requer baixa energia para ocorrer⁷³.

Além da caracterização por voltametria cíclica, acrescentou-se no estudo a avaliação dos resultados pela técnica EIS que é uma técnica eficiente e não invasiva que proporciona a obtenção da caracterização de forma detalhada e precisa acerca das propriedades da interface na superfície do eletrodo e das soluções analisadas, ocasionando à análise da resistência à transferência de carga entre as plataformas eletroquímicas⁷⁴. Neste estudo, realizaram-se medições de EIS nos SPEs, utilizando novamente a sonda redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$.

Esta abordagem fornece informações importantes sobre o comportamento dos gráficos de impedância e a obtenção dos circuitos de Randles-Sevcík correspondentes para os três eletrodos em foco. O diagrama obtido, definido como gráfico de Nyquist, consiste em duas regiões distintas: um semicírculo e uma linha reta. A partir da análise do ajuste do modelo em relação ao espectro de impedância, é possível a obtenção do valor da resistência à transferência de carga (R_{ct}) de cada eletrodo, representada pelo diâmetro do semicírculo. A parte linear, por outro lado, está correlacionada ao processo de difusão do produto em solução. Desta forma, quanto menor o semicírculo, menor será a resistência à transferência de carga entre a superfície do eletrodo e a solução⁷⁵.

Figura 4. (a) Voltamogramas cíclicos para sonda redox $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ em SPE à base de carbono, (b) Plot de corrente de pico anódico e catódico e variação da velocidade de varredura a partir de voltamogramas cíclicos em sonda redox e SPE à base de carbono, (c) Dados de EIS para sonda redox e SPE à base de carbono e (d) Circuito de Randles-Sevcík correspondente aos dados de EIS para SPE à base de carbono.

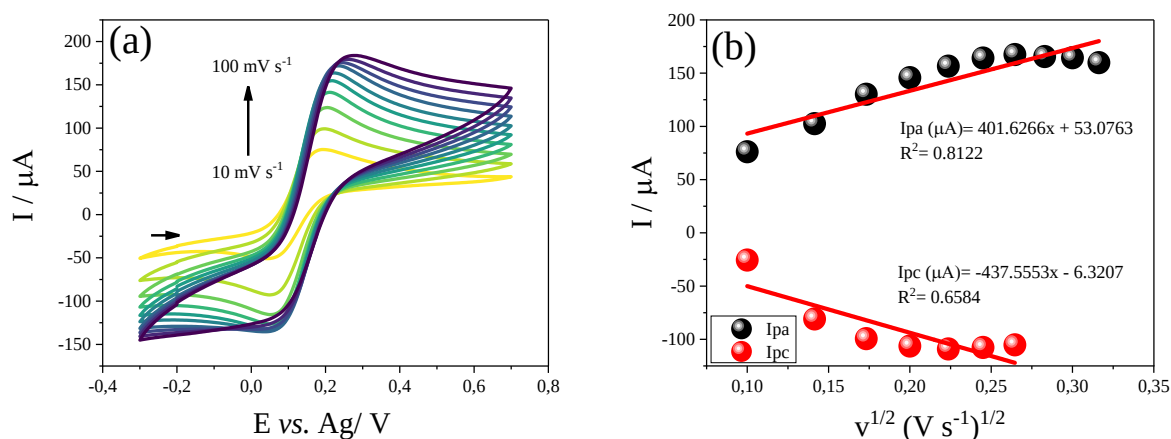


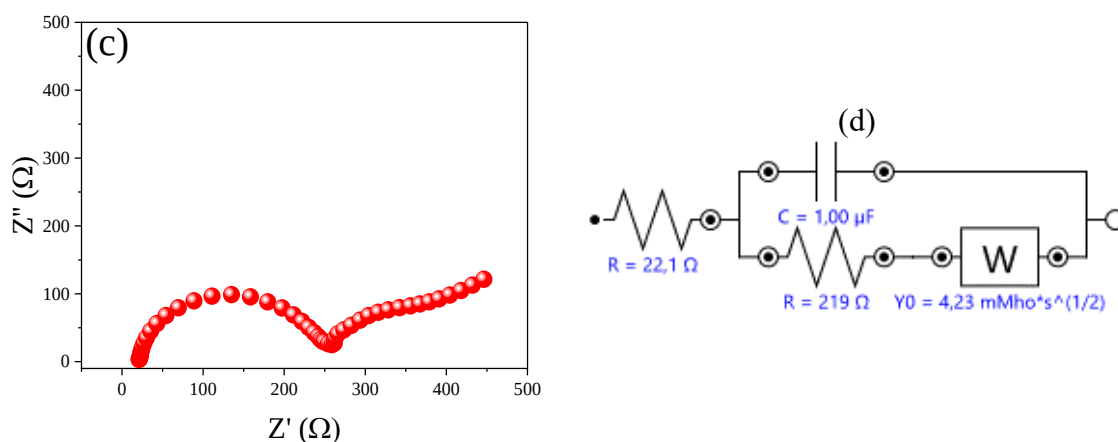
Desta forma, são apresentados os resultados obtidos para elétrodos impressos à base de carbono, platina e ouro (**Figuras 4a, 5a e 6a**). Os voltamogramas obtidos apresentam o comportamento eletroquímico do par redox do Ferro/Ferricianeto de potássio sobre os eletrodos impressos para verificação das condições do eletrodo e identificar a presença de uma superfície reprodutiva, satisfazendo as condições de um processo redox reversível⁷⁶. Para uma reação eletroquímica reversível, os picos de corrente catódico e anódico são aproximadamente iguais em valores absolutos, contudo com sinais opostos. Para que ocorra a transferência eletrônica,

deve haver a existência de estados de energia eletrônicos aceitadores no eletrodo com energias compatíveis sistema redox. Em um sistema reversível, a velocidade de transferência de carga é elevada (constante de velocidade superior a 10^{-1} cm^{-1}) e a etapa de transferência de massa controla o processo; ainda, essa reação ocorre com velocidade suficientemente alta para estabelecer um equilíbrio dinâmico na interface do eletrodo⁷⁷.

Portanto, os três eletrodos satisfazem as condições estabelecidas, ou seja, todos os eletrodos estão adequados para a utilização, pois é possível observar o comportamento reversível da sonda redox.

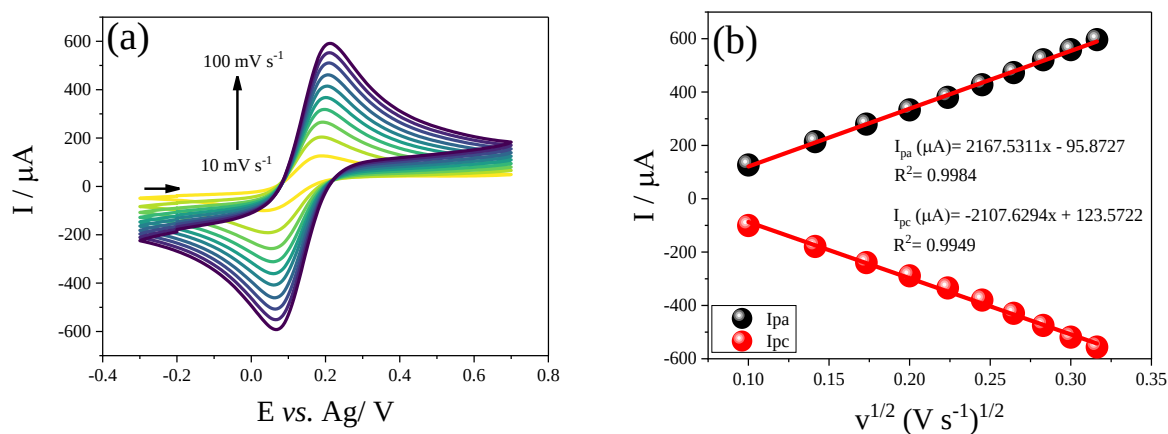
Figura 5. (a) Voltamogramas cíclicos para sonda redox $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ em SPE à base de platina, (b) *Plot* de corrente de pico anódico e catódico e variação da velocidade de varredura a partir de voltamogramas cíclicos em sonda redox e SPE à base de platina, (c) Dados de EIS para sonda redox em SPE platina. (d) Circuito de Randles-Sevcík correspondente aos dados de EIS para SPE platina.

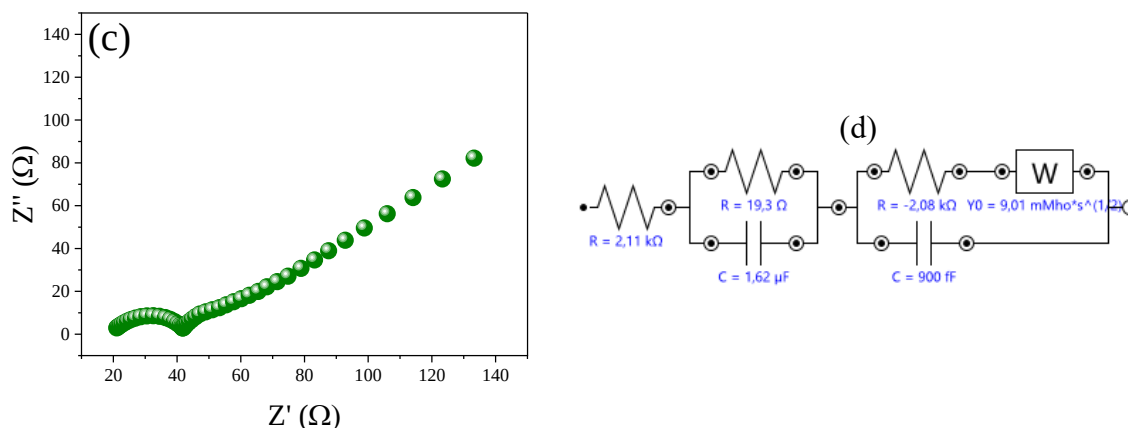




As **Figuras 4c, 5c e 6c** apresentam os diagramas de Nyquist ($-Z''$ vs. Z') para os elétrodos impressos de carbono, platina e ouro, respectivamente. De acordo com os dados de espectroscopia de impedância eletroquímica, evidenciados pela **Figura 7**, o SPE à base de ouro apresenta uma menor resistência à transferência de carga em relação ao SPE à base de carbono que apresenta uma resistência dupla intermediária e em relação ao SPE à base de platina que apresenta uma alta resistência.

Figura 6. (a) Voltamogramas cíclicos para sonda redox $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ em SPE ouro, (b) Plot de corrente de pico anódico e catódico e variação da velocidade de varredura a partir de voltamogramas cíclicos em sonda redox e SPE-ouro, (c) Dados de EIS para sonda redox em SPE ouro e (d) Circuito de Randles-Sevcik correspondente aos dados de EIS para SPE ouro.

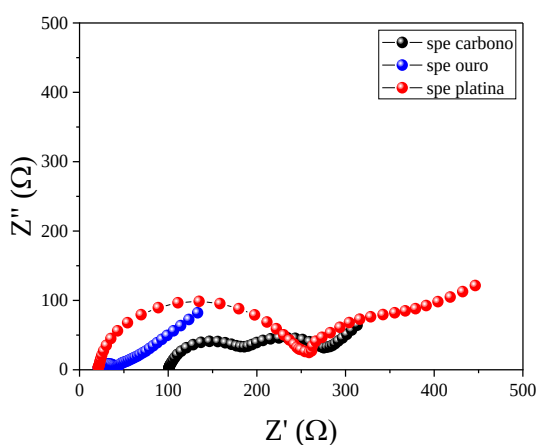




Utilizando o circuito equivalente de Randles (**Figuras 4d, 5d e 6d**), é possível modelar o sistema eletroquímico, sendo a resistência à transferência de carga (R_{ct}) um dos parâmetros essenciais nesse processo. A partir da análise do ajuste do modelo em relação ao espectro de impedância, foi possível determinar o valor de R_{ct} para cada tipo de eletrodo. No caso do eletrodo impresso de carbono, os valores de R_{ct} calculados foi de 79,5 e 80,2 kΩ; para o eletrodo impresso de platina, o valor foi de 219 kΩ enquanto para o eletrodo impresso de ouro, o valor encontrado foi de 19,3 kΩ.

De forma comparativa, pode-se concluir que todos os eletrodos impressos apresentam comportamento eletroquímico satisfatório para a sonda redox avaliada, em função de processos de oxidação e redução.

Figura 7. Dados comparativos para EIS em sonda redox e diferentes eletrodos impressos.



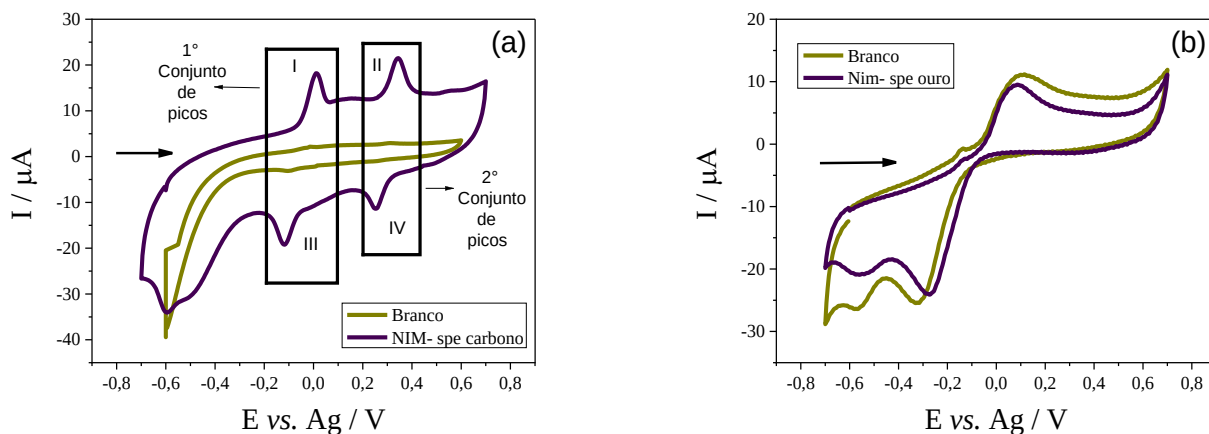
Até o presente momento, os dados mostram que os três tipos de eletrodos impressos se mostram promissores para o *screening* de compostos eletroativos, com janela eletroquímica

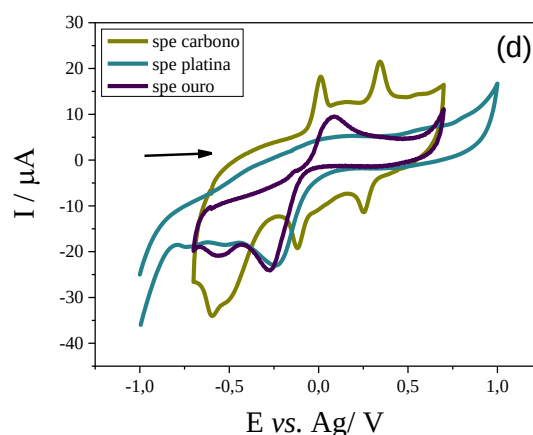
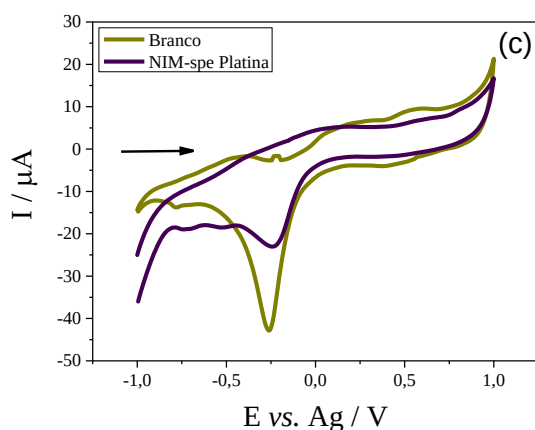
adequada para observação de processos de oxidação e redução, com alta intensidade de corrente.

5.2 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO ANALITO

Os comportamentos eletroquímicos dos eletrodos impressos de carbono, platina e ouro, sem etapas de tratamento prévio ou ativação de superfície, foram avaliados pela técnica de voltamétrica cíclica, onde considerou-se uma solução de NIM com concentração de $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com base em relatos prévios da literatura⁶⁰. A solução do analito foi preparada utilizando como eletrólito suporte a solução tampão Britton Robinson (B-R) com concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 7,0. Analisando a **Figura 8** tem-se que os testes conduzidos para NIM nos elétrodos de ouro **(b)** e platina **(c)** não apresentaram processos eletroquímicos com magnitude significativa de corrente. Entretanto, de acordo com os voltamogramas cíclicos **(a)**, evidencia-se dois processos de oxidação para NIM em *ca.* $+0,01 \text{ V}$ e $+0,35 \text{ V}$ (*vs.* Ag) e dois processos de redução em *ca.* $-0,12 \text{ V}$ e $+0,25$ (*vs.* Ag) com o emprego de SPE à base de carbono.

Figura 8. Voltamogramas cíclicos para NIM $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Branco: eletrólito suporte tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) para os elétrodos impressos de trabalho, (a) carbono, (b) ouro, (c) platina e (d) comparativo; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.





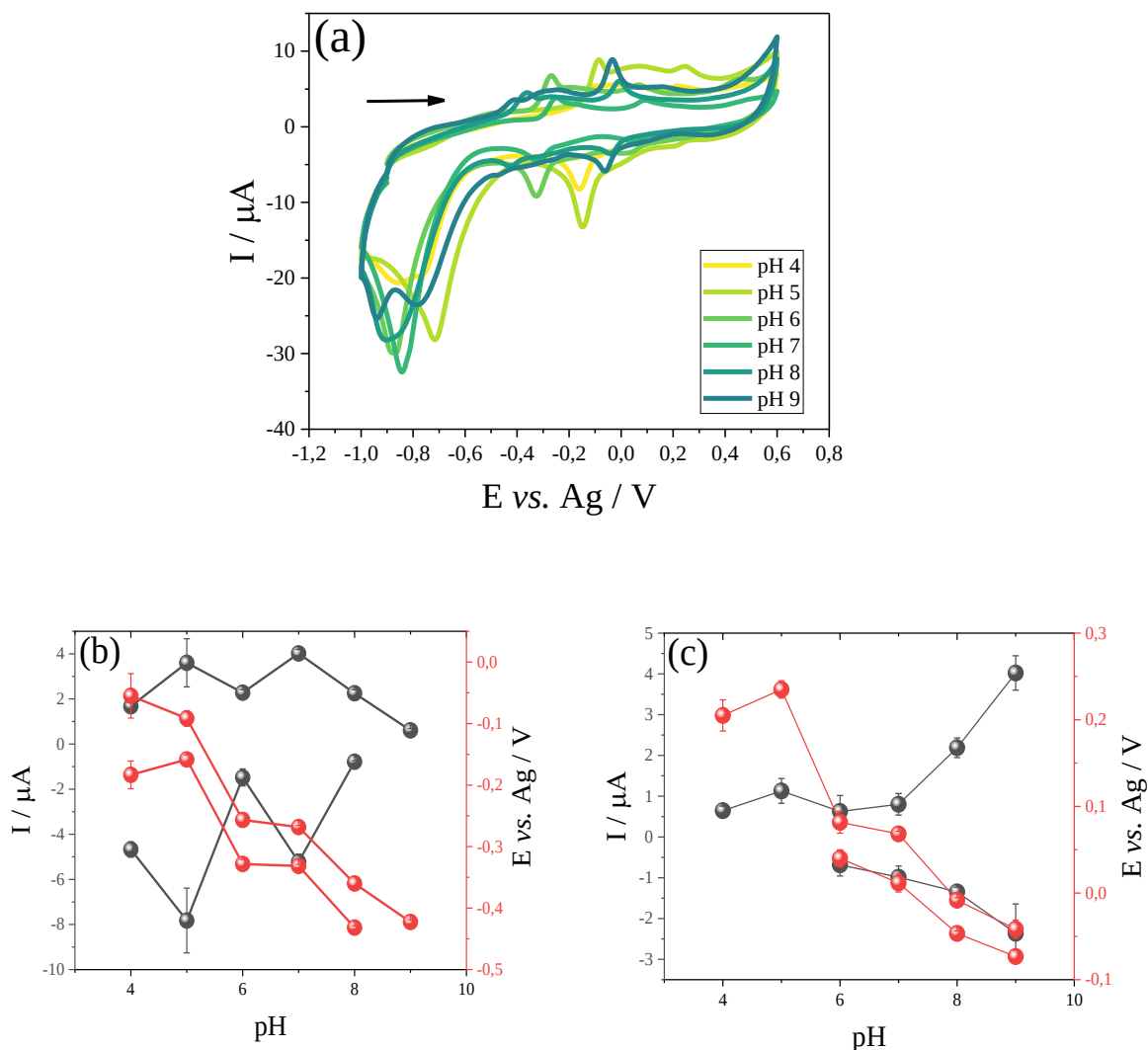
Os dados obtidos pela técnica de voltametria cíclica indicam um processo *quasi*-reversível, com alta intensidade de corrente e uma janela eletroquímica adequada, ao utilizar um eletrodo impresso de carbono (SPCE) para observar os processos de oxidação e redução. O SPCE mostrou uma alta intensidade de corrente para o fármaco NIM. Com base nesses resultados iniciais, o SPCE foi escolhido para as análises subsequentes.

Vale ressaltar que os SPCEs são particularmente populares devido à sua baixa toxicidade, baixo custo, possibilidade de reuso, boa condutividade elétrica e ampla faixa de potencial. Eles são frequentemente utilizados em aplicações de sensoriamento químico e biológico, bem como em dispositivos de armazenamento e conversão de energia⁷⁸.

5.3 OTIMIZAÇÃO DOS VALORES DE PH

Realizou-se um estudo para otimização de pH com o objetivo de avaliar o impacto do analito sobre o eletrodo utilizado. Utilizou-se a solução tampão Britton-Robinson para realizar medidas voltamétricas em diferentes valores de pHs, com o objetivo de determinar as condições que proporcionem um melhor perfil e intensidade de corrente para a NIM. A faixa de pH testada foi de 4,0 a 9,0, com concentração fixa de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Na **Figura 9**, é apresentado o perfil obtido para a NIM utilizando o SPCE em diferentes pHs. Os resultados mostram um deslocamento no potencial à medida que o pH aumenta ao longo das análises, indicando o envolvimento de prótons nos processos de oxidação e redução da NIM⁷⁹. Após avaliação dos quatro processos encontrados e levando em consideração condições brandas de análise e aplicação em amostras de águas de origem natural, o pH 7,0 foi escolhido como a condição ideal.

Figura 9. (a) Estudo de pH em voltametria cíclica para a NIM a $97,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ - pH 4,0 a 12,0, (b) 1º Conjunto de picos- Variação da intensidade de pico anódico e catódico e variação dos potenciais de pico anódico e catódico em função do pH do eletrólito ($n=3$). e (c) 2º Conjunto de picos- Variação da intensidade de pico anódico e catódico e variação dos potenciais de pico anódico e catódico em função do pH do eletrólito ($n=3$). Condições: Eletrólito suporte tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.



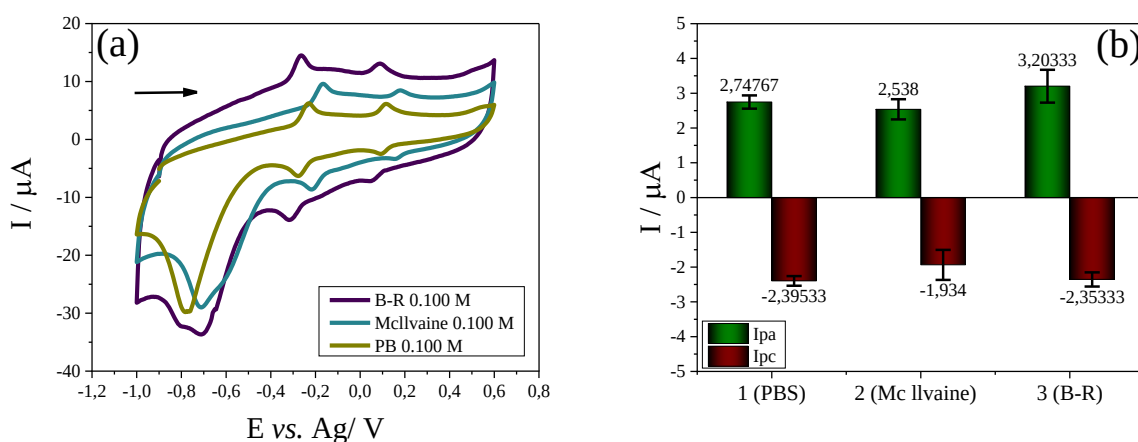
5.4 ESTUDO DO ELETRÓLITO SUPORTE

Após a determinação do pH ideal para a detecção de NIM, o próximo passo de extrema importância foi a escolha do eletrólito suporte. O eletrólito suporte possui uma função fundamental em estudos eletroquímicos, certificando a neutralidade de carga e impactando diretamente nos resultados das análises. A escolha adequada e as condições de utilização desse eletrólito são fatores essenciais para assegurar a precisão e a confiabilidade dos dados obtidos⁸⁰.

Dentre os diversos tampões disponíveis na literatura, foram selecionados aqueles que incluíam o pH 7 em sua faixa tamponante. As soluções testadas incluíram o tampão Britton-Robinson (BR), o tampão McIlvaine e o tampão PB, todos com concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

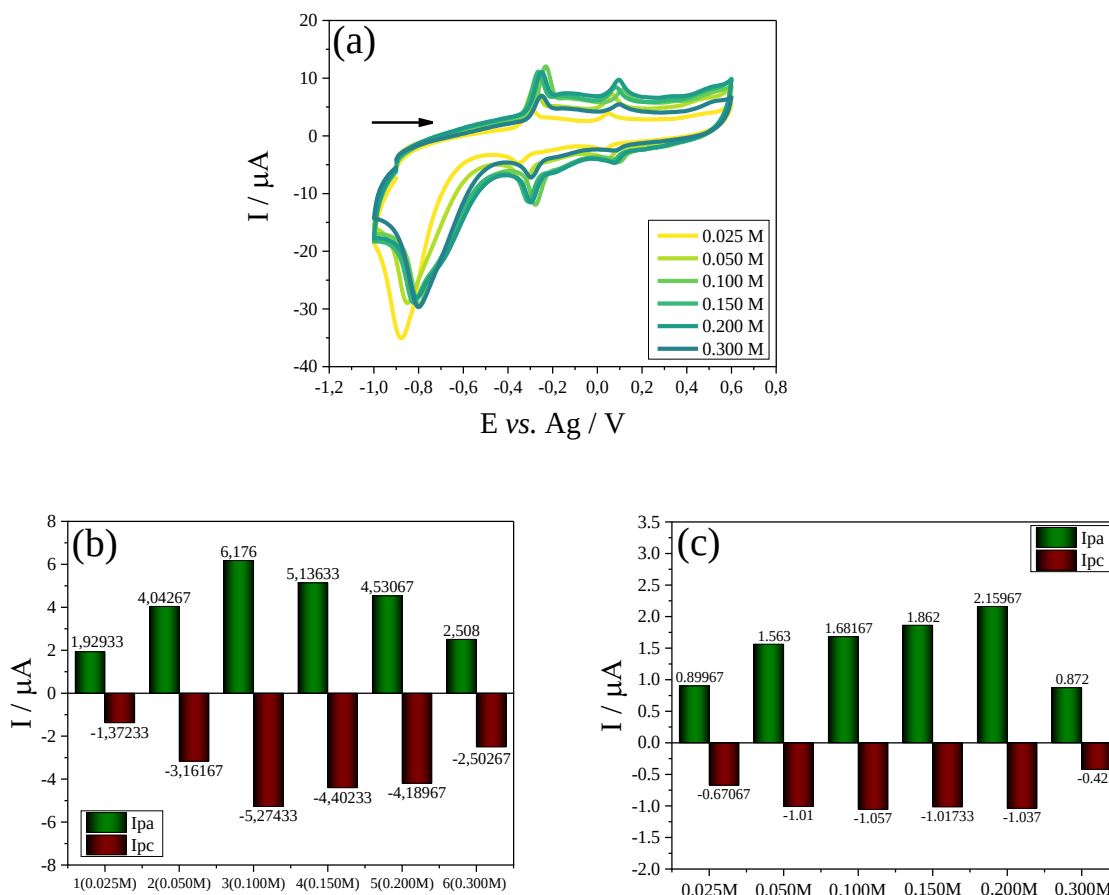
Ao comparar os voltamogramas das diferentes soluções tampão (**Figura 10**), observou-se que todas elas exibiam os dois picos de oxidação e os dois picos de redução relacionados à NIM. O tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) apresentou a melhor intensidade nos sinais de corrente; no entanto, a escolha final recaiu sobre o tampão PB $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0), devido à boa intensidade dos sinais de corrente tanto para os picos de oxidação quanto para os de redução. Além disso, o tampão PB mostrou uma capacitância consideravelmente menor em comparação ao tampão BR, consolidando-o como a escolha mais assertiva para a continuação estudo.

Figura 10. (a) Comparativo dos voltamogramas cíclicos para NIM a $97,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em SPE de carbono em pH 7 em diferentes eletrólitos suporte: BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ / PB $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ / McIlvaine $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (b) Intensidade da corrente anódica e catódica para o 1º conjunto de pico; velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} e faixa de potencial entre $-1,0$ a $0,6 \text{ V}$ ($n=3$).



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 PB. A **Figura 11** apresenta tanto os voltamogramas referentes às concentrações escolhidas quanto a intensidade de pico anódica e catódica do NIM, respectivamente. Através destes resultados podemos afirmar que a concentração com melhor perfil é a de $0,100 \text{ mol L}^{-1}$, uma vez que a mesma apresentou o sinal mais intenso de corrente para os primeiros picos de oxidação e redução e uma intensidade de corrente adequada para os segundos picos de oxidação e de redução, sendo essa utilizada nos estudos realizados posteriormente.

Figura 11. (a) Comparativo dos voltamogramas cíclicos para NIM a $97,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em SPCE em concentrações entre 0,025 - 0,300 mol L^{-1} , (b) Intensidade da corrente 1º conjunto de pico e (c) Intensidade da corrente 2º conjunto de pico obtidas a partir dos voltamogramas anteriores Condições: Eletrólito suporte tampão PB (pH 7,0)



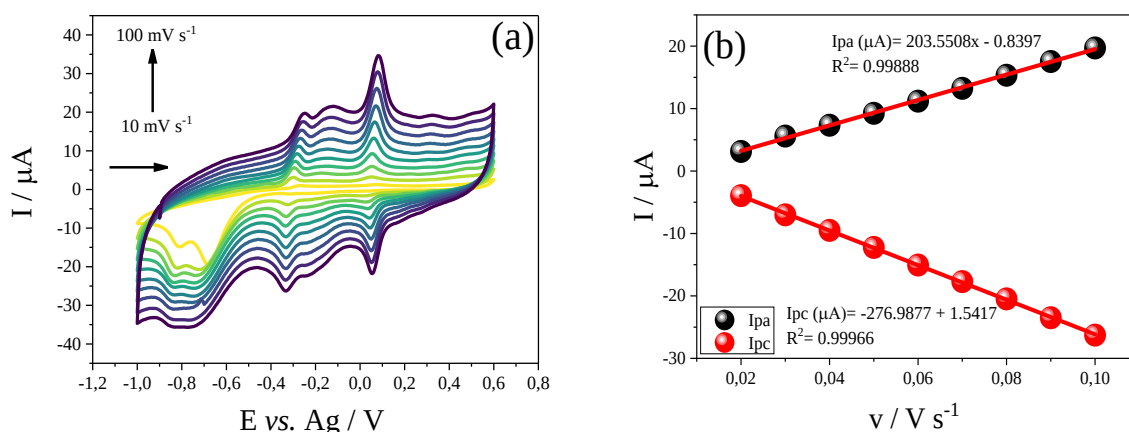
5.5 ESTUDO DE VELOCIDADE DE VARREDURA

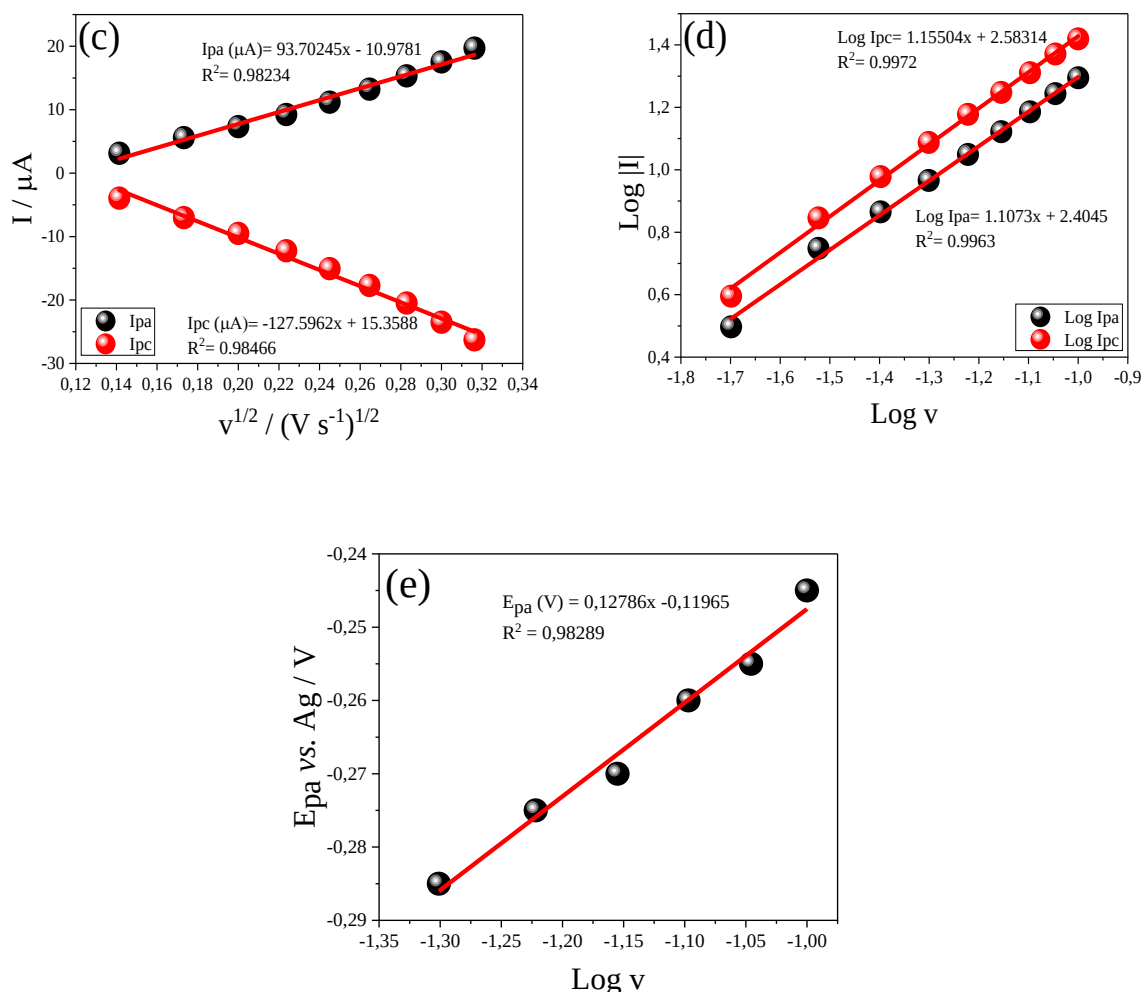
Um dos aspectos voltados para a otimização das técnicas de análise eletroanalítica é a determinação do mecanismo de transferência de massa predominante na interface eletrodo-solução. Na análise voltamétrica, ocorrem dois processos fundamentais durante a leitura: a transferência de massa por difusão e por adsorção. Inicialmente, o analito se desloca do seio da solução para a superfície do eletrodo, ocasionado pela aplicação de uma diferença de potencial elétrico, o que gera uma diferença de concentração entre a interface eletrodo-solução e o restante do meio. Esse gradiente de concentração induz o movimento das espécies químicas. Em seguida à difusão, pode ocorrer a adsorção, onde o analito se fixa à superfície do eletrodo até que ocorra a transferência de carga, proporcionando a medição da corrente gerada. Ambos

os processos, difusional e adsorptivo, influenciam a cinética do sistema, e a resposta eletroquímica pode variar de acordo com o tipo de eletrodo e amostra. Dessa forma, tanto a difusão quanto a adsorção podem ser a etapa lenta do processo, impactando significativamente os estudos^{81,82}. Assim, entender qual desses mecanismos de transferência de massa desempenha maior influência é essencial para aperfeiçoar a análise de amostras por voltametria.

Na primeira etapa do estudo, foi analisada a linearidade das correntes anódicas e catódicas em relação à velocidade de varredura. Este gráfico é focado principalmente no processo de adsorção, onde uma linearidade próxima a 1 indica que a cinética é predominantemente controlada pelo mecanismo de adsorção⁸³. Após a coleta dos dados experimentais (**Figura 12a**), fez-se uma regressão linear dos pontos que representam a variação da corrente em função da taxa de varredura para o primeiro conjunto de picos (**Figura 12b**). Ao avaliar o valor do coeficiente de determinação, R^2 , que indica a linearidade dos dados, descobrimos que a reação provavelmente teve uma contribuição significativa do processo de adsorção. Isto é evidenciado pela obtenção de alta linearidade de 0,99888 para oxidação e 0,99966 para redução. No entanto, essa conclusão é preliminar e requer análises adicionais.

Figura 12. (a) Estudo de velocidade de varredura em voltamogramas cíclicos para NIM 97,95 10^{-5} mol L^{-1} em solução tampão PB 0,1 mol L^{-1} (pH 7) no SPCE; velocidade entre 10–100 $mV s^{-1}$, (b) 1º Conjunto de picos. I_{pa} e I_{pc} versus v , (c) 1º Conjunto de picos. I_{pa} e I_{pc} versus $v^{1/2}$ e (d) 1º Conjunto de picos. $\log v$ versus $\log I$, (e) 1º Conjunto de picos. E_p vs. $\log v$ obtidos a partir do estudo de velocidade de varredura. Condições: Eletrólito suporte tampão PB 0,1 mol L^{-1} (pH 7)





A segunda etapa é idêntica à anterior, a única modificação é na forma como os valores da velocidade de varredura são apresentados em função da 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. Contudo, os resultados encontrados nesta etapa apresentaram uma menor linearidade, pois apresentam um R^2 de 0,9823 para a oxidação e 0,9846 para a redução, sugerindo mais uma vez o processo adsorvivo. É possível confirmar este resultado observando a **Figura 12c**.

A etapa final, distinta das anteriores, concentra-se na avaliação do plot do logaritmo da corrente e do logaritmo da velocidade de varredura. Essa abordagem permite uma identificação mais precisa de qual mecanismo predomina no processo, seja ele controlado por adsorção ou difusão⁸⁴. As equações a seguir correspondem a cada um dos processos, onde i representa a corrente anódica ou catódica e v a velocidade de varredura. No caso de um processo controlado por adsorção, observa-se 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 $[i \propto v^{1/2}]$:

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

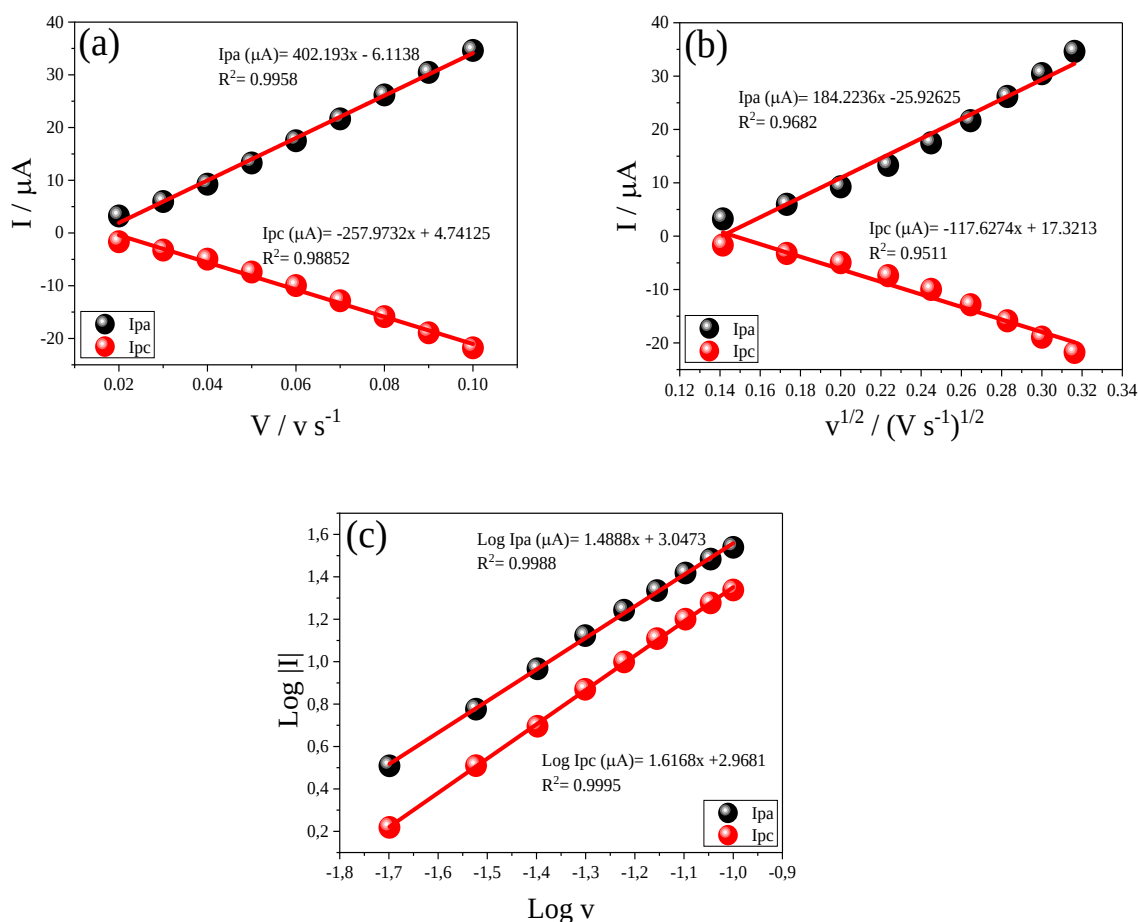
$$\text{Coeficiente angular} = \frac{\Delta \log(i)}{\Delta \log(v)} = 0,5$$

Neste gráfico (**Figura 12d**) que relaciona o logaritmo da corrente *versus* o logaritmo da velocidade de varredura, são fornecidas informações sobre a natureza e a extensão do processo de transferência de carga. A inclinação da reta, quando próxima de 0,5 ou 1,0, indica se o processo é controlado predominantemente por difusão ou adsorção, respectivamente⁸⁴⁻⁸⁶. A inclinação obtida para a NIM utilizando o SPCE, foi de 1,1073 para a oxidação e 1,5504 para a redução. Com base nesta informação e nos resultados anteriores, se pode afirmar que o processo para NIM é controlado por adsorção para o primeiro conjunto de picos.

Para o segundo conjunto de picos, foram realizados os mesmos tratamentos de dados. Primeiramente, foi analisada a linearidade das correntes anódicas e catódicas em relação à taxa de varredura. Após a coleta dos dados experimentais, realizamos uma regressão linear dos pontos (**Figura 13a**). Ao avaliar o valor do coeficiente de determinação, R^2 , descobrimos que a reação provavelmente teve uma alta contribuição do processo de adsorção. Isto é evidenciado pela obtenção de alta linearidade de 0,9958 para oxidação e 0,9885 para redução. Novamente, essas conclusões são preliminares e são necessárias mais análises para confirmá-las.

Na segunda etapa, utilizando a linearidade das correntes anódicas e catódicas em relação à raiz quadrada da taxa de varredura. Os resultados encontrados nesta etapa também apresentaram uma menor linearidade, pois apresentou um R^2 de 0,9682 para a oxidação e 0,09511 para a redução, sugerindo mais uma vez que o processo que está ocorrendo é adsorativo. É possível confirmar este resultado observando as **Figuras 13b**.

Figura 13. (a). 2º Conjunto de picos. I_{pa} e I_{pc} versus v , (b) 2º Conjunto de picos. I_{pa} e I_{pc} versus $v^{1/2}$ e (c) 2º Conjunto de picos. $\log v$ versus $\log I$. Condições: Eletrólito suporte tampão PB 0,1 mol L⁻¹ (pH 7).



Na terceira e última etapa, o gráfico (**Figura 13c**) logaritmo de corrente *versus* logaritmo da velocidade apresentou uma inclinação obtida para a NIM, foi de 1,4888 para a oxidação e 1,6168 para a redução. Com isso, podemos afirmar que o analito possui a cinética voltada para o processo adsorptivo para o segundo conjunto de picos. Tal evidência é corroborada por outros trabalhos que já relatam este comportamento para a NIM^{87, 88}.

Utilizando ainda o estudo da velocidade (entre 50 e 100 mV s⁻¹) para o primeiro conjunto de picos, foi plotado o gráfico correlacionando o E_p e $\log v$ (**Figura 12e**). Foi possível observar uma relação linear ($R^2 = 0,98289$) entre os valores de E_p e $\log v$, resultando na equação $E_p = 0,12786x - 0,11965$. Com base na equação de Laviron^{89,90} (**Equação 2**), é possível calcular o número de mols de elétrons envolvidos (n). Nessa equação, $E^{o'}$ representa o potencial formal de redução, R é a constante dos gases ideais (8,314 J mol⁻¹ K⁻¹), T corresponde à temperatura (298 K), α é o coeficiente de transferência eletrônica, F é a constante de Faraday

(96.485 C mol⁻¹) e k^o é a constante de velocidade heterogênea, conforme expressado na seguinte relação:

$$E_p = E^o + \left(\frac{2,303RT}{\alpha nF}\right) \log\left(\frac{RTk^o}{\alpha nF}\right) + \left(\frac{2,303RT}{\alpha nF}\right) \log(v) \quad \text{Eq. 2}$$

Dessa forma, a partir da correlação entre os valores de E_p e $\log v$, o coeficiente angular obtido pode ser comparado com a expressão $\left(\frac{2,303RT}{\alpha nF}\right)$. Atribuindo-se um valor de 0,5 para α , calcula-se que o número de mols de elétrons transferidos entre a NIM e o SPCE seja de aproximadamente 1,2, valor que pode ser arredondado para 1. Tal resultado está em concordância com a literatura⁹¹.

A avaliação da reversibilidade de um processo eletroquímico é crucial, uma vez que possibilita extrair informações essenciais acerca dos mecanismos envolvidos e proporciona a otimização dos sistemas com foco em aplicações analíticas. Ao analisar se o processo é reversível, irreversível ou *quasi*-reversível, é comum observar a proximidade entre os picos anódico e catódico, o que contribui na caracterização do comportamento eletroquímico.

Para classificar processos eletroquímicos quanto à reversibilidade, três critérios devem ser avaliados. O primeiro deles é a razão entre as intensidades de corrente anódica e catódica. Quanto mais essa razão se aproxima de 1,0, maior será a reversibilidade do processo. A outra condição a ser atendida é a diferença entre os valores de potencial de pico, que está diretamente relacionada com a equação de Nernst. Neste caso, quando essa diferença de potencial (ΔE_p) se aproxima de 0,0592 V, o processo pode ser classificado como reversível.⁹² A terceira condição a ser atendida é a proporcionalidade entre corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura. Quando os três critérios são atendidos, os processos são classificados como reversíveis. Em função do não atendimento a algum dos critérios, os processos são definidos como *quasi*-reversíveis ou irreversíveis.

Desta forma, ao aplicar duas equações principais é possível compreender melhor o comportamento do analito em questão. A Equação 3 descreve a relação entre os potenciais de pico anódico e catódico. A Equação 4 define a razão entre as intensidades de corrente. Nessas equações, E_p^{ox} e E_p^{red} o potencial de oxidação e redução, respectivamente, e i_{pa} é a corrente de pico anódica e i_{pc} a corrente de pico catódica.

$$\Delta E_p = (E_p^{ox} - E_p^{red}) \quad \text{Eq. 3}$$

$$i = \frac{i_{pa}}{i_{pc}} \quad \text{Eq. 4}$$

Empregando-se as equações acima para o primeiro conjunto de picos, tem-se como resultado que o $\Delta E_p = 0,025 \text{ V}$ distante de $0,0592 \text{ V}$, e a razão entre os picos anódicos e catódicos é $1,23 \mu\text{A}$. Esta razão das intensidades de corrente se encaixa num processo reversível, porém a diferença de potencial está discrepante do valor de $0,0592 \text{ V}$ e a baixa linearidade apresentada pelas correntes anódicas e catódicas em relação à raiz quadrada da velocidade (**Figura 12c**), apontando que a NIM se comporta por um processo *quasi*-reversível para o seu primeiro conjunto de picos.

Já para o segundo conjunto de picos tem-se como resultados $\Delta E_p = 0,030 \text{ V}$, que também está muito distante de $0,0592 \text{ V}$. A razão entre os picos anódicos e catódicos é igual a $1,87 \mu\text{A}$ e a relação apresentada pelas correntes anódicas e catódicas e a raiz quadrada da velocidade (**Figura 13b**) também mostra uma baixa linearidade. Dessa forma, nenhuma das condições estabelecidas para se considerar um processo reversível são respeitadas podendo ser o processo para o segundo conjunto de picos *quasi*-reversível ou irreversível. Contudo, a partir do voltamograma obtido (**Figura 12a**) pode-se constatar que há a presença tanto do processo de oxidação quanto do processo de redução mostrando que a NIM se comporta por um processo *quasi*-reversível para o seu segundo conjunto de picos. Em uma reação eletroquímica *quasi*-reversível, a corrente é controlada tanto pela etapa de transferência de massa como pela etapa de transferência de carga. Neste caso, a equação de Nernst é aproximadamente satisfeita, refletindo a dinâmica intermediária entre os processos puramente reversíveis e irreversíveis⁹³. Este comportamento já foi reportado anteriormente na literatura⁹⁴.

Para dar continuidade aos estudos, foi selecionado o primeiro conjunto de picos da NIM como foco das análises subsequentes. Essa escolha baseou-se na relevância analítica e clareza dos sinais obtidos, tendo em consideração fatores como a resolução dos picos, reprodutibilidade e resposta diferencial em relação às concentrações do analito. Sendo assim, essa abordagem possibilita uma interpretação otimizada dos dados e minimiza interferências, proporcionando uma maior sensibilidade e precisão nas análises futuras.

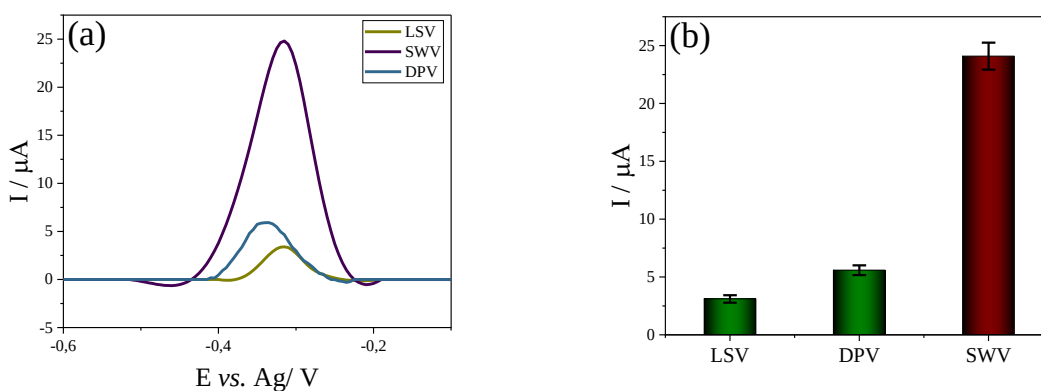
5.6 ESCOLHA DA TÉCNICA ELETROANALÍTICA PARA A DETERMINAÇÃO DE NIM

Para o desenvolvimento de um método sensível para a determinação da NIM, aplicou-se três distintos modos de varredura de potencial com um enfoque analítico. Estas técnicas

incluíram voltametria linear (LSV, do inglês *Linear Sweep Voltammetry*), pulso diferencial (DPV, do inglês *Differential Pulse Voltammetry*) e onda quadrada (SWV, do inglês *Square Wave Voltammetry*). A análise dos resultados obtidos, como apresentado nas **Figuras 14a e 14b**, revelou que a técnica de SWV demonstrou um desempenho superior na determinação da NIM, quando comparada às outras técnicas utilizadas.

Essa resposta é coerente devido à diminuição da contribuição da corrente capacitiva gerada pelo carregamento da dupla camada elétrica, o que torna os sinais mais nítidos e bem definidos⁹². Este resultado pode ser justificado pela natureza *quasi-reversível* da reação do fármaco, uma vez que a técnica mede a corrente resultante da diferença entre as correntes de oxidação e redução. Isso resulta na geração de um sinal de pico mais intenso em comparação com os valores individuais de I_{pc} e I_{pa} se considerados separadamente^{95, 96}.

Figura 14. (a) Voltamogramas referentes às técnicas de LSV, DPV e SWV. Condições experimentais: eletrólito suporte tampão PB 0,1 mol L⁻¹ (pH 7) utilizando NIM a 97,95x10⁻⁵ mol L⁻¹ em SPCE; velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹; (b) Intensidade de corrente para as técnicas aplicadas ($n = 3$).

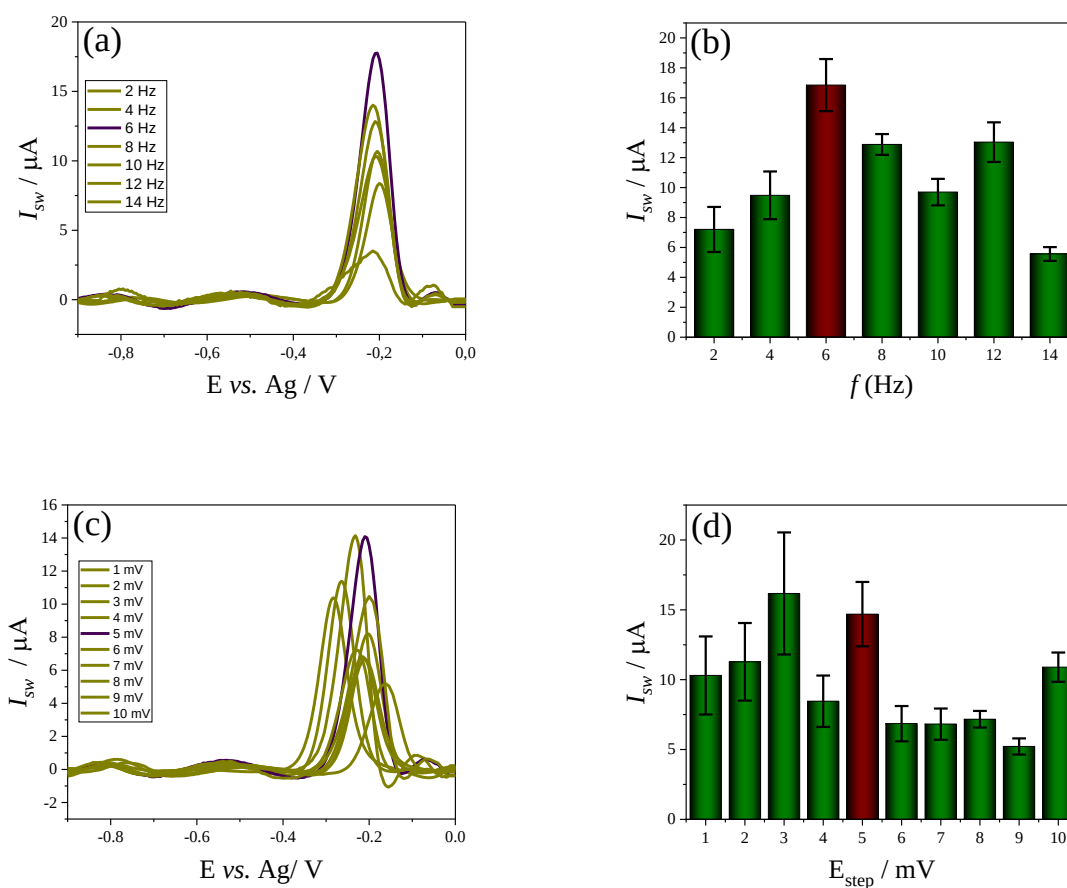


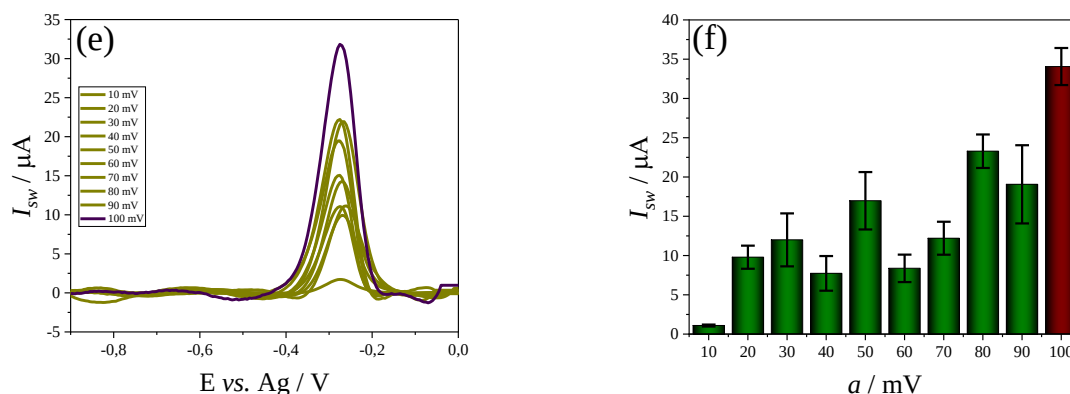
5.7 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA SWV

A otimização dos parâmetros da técnica é de suma importância para o desenvolvimento de métodos de eletroanálise, pois permite que haja uma menor contribuição de corrente capacitiva, maximização de corrente faradáica e, conseqüentemente, uma redução em limites de detecção e quantificação. No caso da SWV, os parâmetros otimizados incluem a frequência de pulso (f), a amplitude de pulso (a) e o incremento de potencial (ΔE_s), respectivamente. Essas otimizações são fundamentais para aprimorar o desempenho analítico do método.

A frequência de pulso é o primeiro parâmetro a ser otimizado. Nesse contexto, a variação da frequência de pulso ocorreu no intervalo de 2 a 14 Hz, enquanto a amplitude foi mantida constante em 50 mV e o incremento de potencial foi fixado em 5 mV. Para o incremento de potencial foi variado de 1 a 10 mV. Por fim, para a amplitude, foram testados valores entre 10 e 100 mV. A **Figura 15** apresenta os voltamogramas juntamente com os valores de intensidade de corrente correspondentes a cada conjunto de parâmetros, destacam-se os pontos os quais foram determinados a melhor faixa destes parâmetros para o analito.

Figura 15. Os voltamogramas são referentes as variações dos parâmetros experimentais para a técnica de voltametria de onda quadrada, onde (a) é a frequência, (c) o incremento de potencial e (e) amplitude de pulso incremento de potencial; nos gráficos à direita temos as intensidades de corrente para cada parâmetro ($n=3$).





Após concluir o processo de otimização, foram escolhidos os valores que proporcionam um compromisso entre perfil voltamétrico e maior intensidade de corrente para os três parâmetros SWV. Em relação ao incremento de potencial, optou-se por escolher o valor de 5 mV, atrelado a um menor desvio padrão entre medidas. A **Tabela 1** detalha os intervalos estudados e os valores selecionados, os quais foram adotados em todos os estudos subsequentes.

Tabela 1. Otimização dos parâmetros de SWV para determinação de NIM.

Parâmetros	Intervalos de estudo	Valor selecionado
Frequência (f)	2 a 14 Hz	6 Hz
Incremento de potencial (ΔE_s)	1 a 10 mV	5 mV
Amplitude de pulso (a)	10 a 100 mV	100 mV

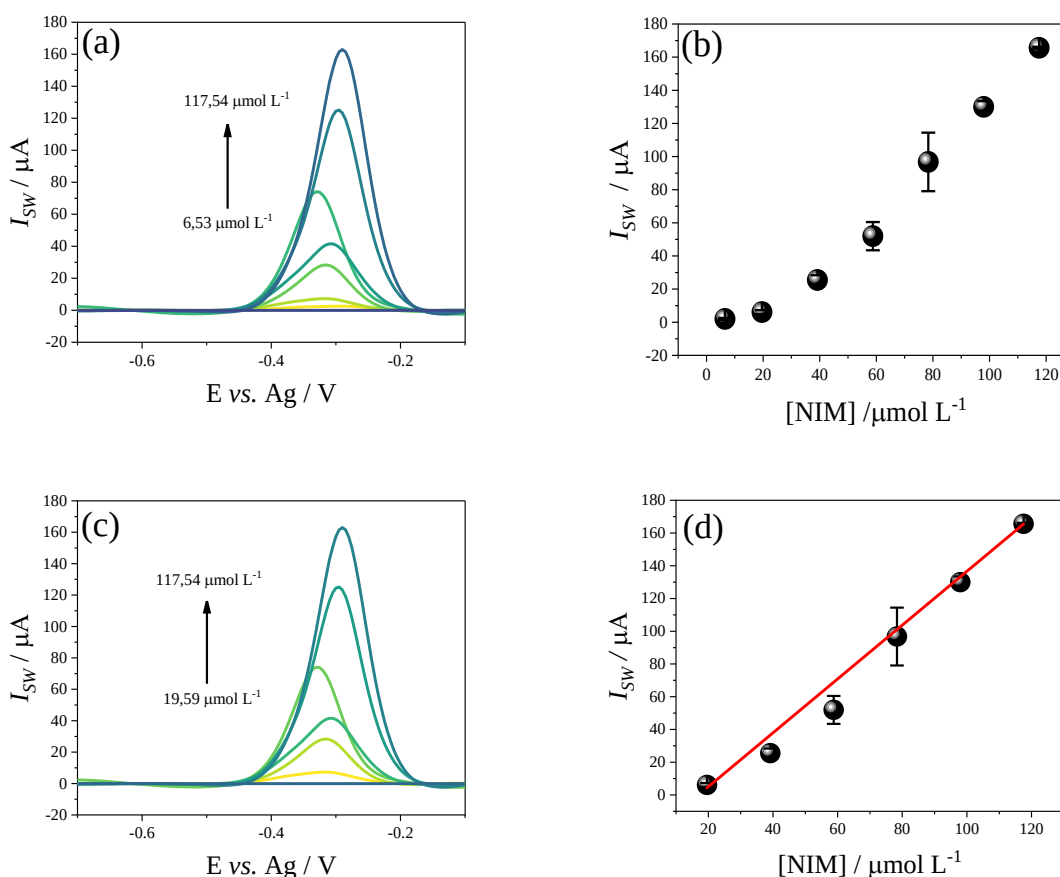
5.8 CURVA DE CALIBRAÇÃO

Através da utilização dos dados experimentais relacionados à otimização da Técnica de SWV, elaborou-se a curva de calibração externa considerando diversas concentrações do padrão de NIM. A **Figura 16a** exibe os voltamogramas de onda quadrada referentes à construção da curva completa, abrangendo uma faixa de concentração entre $6,53 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $117,5 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Na **Figura 16c**, apresenta-se o voltamograma correspondente à região linear da curva de calibração, que apresenta um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9983. Nessa etapa,

utilizou-se como eletrólito suporte uma solução PB 0,100 mol L⁻¹ em pH 7,0. A **Figura 16d** ilustra a curva de calibração para a NIM pelo emprego de SPCE, que apresenta uma equação matemática linear que estabelece a relação entre a concentração do analito e a corrente. Essa expressão é descrita por $I_p = 1,64462[NIM] - 27,83808$ ($R^2 = 0,9986$), em que I_p representa a corrente de pico em μA , e $[NIM]$ é a concentração de NIM em $\mu mol L^{-1}$.

Figura 16. (a) Voltamogramas em onda quadrada para diferentes concentrações de nimesulida com a (b) construção da curva completa de calibração, utilizando valores de concentração entre 6,53 - 117,54 $\mu mol L^{-1}$ em SPCE ($n=3$) (c) Voltamogramas em onda quadrada referente à faixa linear da curva para diferentes concentrações de nimesulida com a (d) construção da curva de calibração, utilizando valores de concentração entre 19,59 a 117,5 $\mu mol L^{-1}$ em SPCE ($n=3$).



Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para a NIM foram determinados com base no coeficiente angular e no desvio padrão do coeficiente linear obtidos a partir da curva de calibração. Esses limites foram calculados usando as seguintes equações⁹⁷.

$$LOD = \frac{3,3 DP}{a} \quad \text{Eq. 5}$$

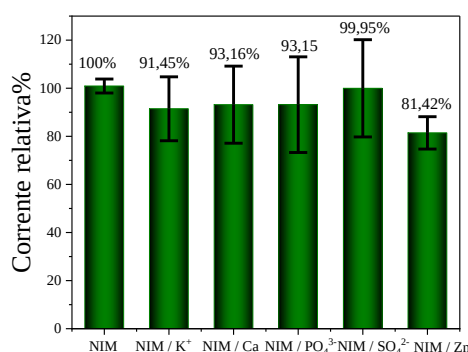
$$LOQ = \frac{10 DP}{a} \quad \text{Eq. 6}$$

onde, DP é o desvio padrão do coeficiente linear (3,15) e a é valor referente à inclinação da reta (1,64462). Os resultados encontrados para os limites de detecção e quantificação são respectivamente: LOD = 6,32 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LOQ = 19,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Ainda serão conduzidos testes para a otimização das condições analíticas, uma vez que o LOQ calculado é superior ao primeiro ponto da curva de calibração.

5.9 SELETIVIDADE E REPETIBILIDADE

Posteriormente aos estudos referentes à curva de calibração, avaliou-se a seletividade do método. Foram selecionados potenciais interferentes presentes em amostras de água, os quais foram adicionados individualmente ao eletrólito suporte em concentrações 10 vezes maiores em relação à concentração de NIM (40 $\mu\text{mol L}^{-1}$), ou seja, 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$, incluindo K^+ , Ca^{2+} , Zn^{2+} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} . A **Figura 17** apresenta os dados e os seus respectivos desvios ($n=3$). Em todos os casos testados, a interferência foi inferior a 20%, indicando adequada seletividade do método.

Figura 17. Resposta de corrente relativa de cada interferente potencial. Condições: NIM 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$, interferentes 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e eletrólito suporte tampão PB 0,1 mol L^{-1} ($n=3$).



A repetibilidade das medições para NIM 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi avaliada sob condições otimizadas, monitorando-se o desvio do sinal de corrente de pico. O desvio padrão relativo (DPR) obtido para medições intradia foi de 3,54%, enquanto para medições inter-dia foi de

2,49% ao longo de cinco dias consecutivos. Portanto, os valores de DPR obtidos indicam que a metodologia proposta apresenta uma repetibilidade aceitável.

5.10 DETERMINAÇÃO DE NIM EM AMOSTRA DE ÁGUA DA LAGOA DA CONCEIÇÃO

Para a realização de ensaios em amostras reais, foi empregada uma amostra de água proveniente da Lagoa da Conceição - região norte. A mesma foi fortificada com o analito NIM, em três níveis distintos de concentração (a saber, 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 70 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 115 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Os resultados dessa análise estão representados na **Tabela 2**.

Tabela 2. Determinação de NIM em água de lagoa por SWV utilizando o SPCE ($n=3$).

Amostra	Adicionado/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	Encontrado/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperado%
Água da	20	20,91	104,56 ($\pm 0,04$)
lagoa da	70	69,50	99,28 ($\pm 0,02$)
Conceição	115	114,75	99,78 ($\pm 0,06$)

As concentrações foram calculadas pelo método de calibração externa e os valores percentuais de recuperação foram determinados pela razão entre o valor encontrado e o valor adicionado, multiplicado por 100. Os dados de recuperação na **Tabela 2** refletem a exatidão do método, pois as recuperações médias da NIM variaram satisfatoriamente entre 99 e 105%. Estes resultados indicam que o SPCE pode ser aplicado para determinação da NIM. É importante ressaltar que o volume total de resíduos gerados para a realização de todo esse trabalho foi de apenas 200,00 mL.

6 CONCLUSÃO

A pesquisa desenvolvida abordou o estudo para a determinação direta do fármaco NIM utilizando SPEs. Através do emprego de voltametria cíclica, foi evidenciado o comportamento eletroquímico do analito a partir com dois processos de oxidação e dois processos de redução com o emprego de SPE à base de carbono. As melhores condições encontradas foram a solução tampão PS com concentração de $0,100 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 7,0. De acordo com o comportamento observado, é possível concluir que o processo eletroquímico é *quasi-reversível*. Ainda, o estudo de velocidade indicou que NIM apresenta um processo controlado majoritariamente por adsorção. A técnica eletroanalítica de SWV foi a selecionada e posteriormente otimizada, já que esta exibiu o melhor compromisso entre intensidade de corrente e a qualidade do sinal analítico. A curva de calibração para o método baseado em SPCE apresentou linearidade em concentrações de $6,53 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ a $117,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9986$). Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram $6,32 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e $19,15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O estudo da seletividade se mostrou promissor ao apresentar uma interferência inferior a 20%. A repetibilidade das medições de NIM ($40 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) foi avaliada sob condições otimizadas e considerada satisfatória. Por fim, foi realizada a análise de amostras de água provenientes da Lagoa da Conceição, onde foram obtidos valores de recuperação entre 99% e 105%. O método eletroanalítico apresentado para a detecção de NIM demonstra ser uma abordagem promissora para o monitoramento *in loco* de contaminantes emergentes no ambiente. Os resultados obtidos indicam um grande potencial para o desenvolvimento de novas metodologias que possam aprimorar a resposta eletroquímica de SPEs.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. LA FARRE, Marinel et al. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 11, p. 991-1007, 2008.
2. KUSTER, Marina et al. Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). **Journal of hydrology**, v. 358, n. 1-2, p. 112-123, 2008.
3. GAFFNEY, Vanessa de Jesus et al. Análise de fármacos em águas por SPE-UPLC-ESI-MS/MS. **Química nova**, v. 37, p. 138-149, 2014.
4. KASONGA, Teddy Kabeya et al. Endocrine-disruptive chemicals as contaminants of emerging concern in wastewater and surface water: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 277, p. 111485, 2021.
5. Prazeres, K. C.; Miranda, A. C.; Filho, S. C. da S.; Santana, J. C. C. MATRIZ DE RISCO DA CONTAMINAÇÃO DE EFLUENTE DE ESGOTO CONTAMINADO POR FÁRMACOS. XXXVI ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO; Contribuições da Engenharia de Produção para Melhores Práticas de Gestão e Modernização do Brasil, 2016.
6. SILVA, C. G. A. DA; COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química nova**, v. 34, n. 4, p. 665–676, 2011
7. ÁLVAREZ, Silvia et al. Synthesis of carbon xerogels and their application in adsorption studies of caffeine and diclofenac as emerging contaminants. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 95, p. 229-238, 2015.
8. SONG, Jinping et al. Fluorescent boron and nitrogen co-doped carbon dots with high quantum yield for the detection of nimesulide and fluorescence staining. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 216, p. 296-302, 2019.
9. DE OLIVEIRA, Raquel Braga; CARVALHO, Fabiano Lacerda; DE ANDRADE, Leonardo Guimarães. ATENÇÃO FARMACÊUTICA QUANTO AO USO INDISCRIMINADO DE ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIAS (AINES). **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 11, p. 1613-1625, 2023.
10. CATARRO, Mafalda et al. Nimesulide analogues: From anti-inflammatory to antitumor agents. **Bioorganic Chemistry**, v. 88, p. 102966, 2019.

11. OLIVEIRA, Marialice de. Estudo do perfil de prescrição do ibuprofeno na Farmácia Escola da Universidade Federal de Ouro Preto. 2019.
12. WEI, Wei et al. Solubility, permeability, anti-inflammatory action and in vivo pharmacokinetic properties of several mechanochemically obtained pharmaceutical solid dispersions of nimesulide. **Molecules**, v. 26, n. 6, p. 1513, 2021.
13. CAMINADA, Suzete Maria Lenzi. **Avaliação da presença de fármacos em biossólido compostado proveniente de Estação de Tratamento de Esgotos**. 2021. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
14. RABASSEDA, X. Safety profile of nimesulide: ten years of clinical experience. **Drugs Today**, 1997
15. KUSHWAH, Bhoopendra Singh et al. A sensitive method for determination of nimesulide and its hydroxy metabolite in milk using validated UPLC-MS method. **Talanta Open**, v. 6, p. 100160, 2022.
16. NAMBIRAJAN, Kanthan et al. Nimesulide poisoning in white-rumped vulture *Gyps bengalensis* in Gujarat, India. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 41, p. 57818-57824, 2021.
17. PAPAGEORGIOU, Myrsini; KOSMA, Christina; LAMBROPOULOU, Dimitra. Seasonal occurrence, removal, mass loading and environmental risk assessment of 55 pharmaceuticals and personal care products in a municipal wastewater treatment plant in Central Greece. **Science of the total Environment**, v. 543, p. 547-569, 2016.
18. NIMESULIDA: comprimidos. Responsável técnico Angelina Fernandes. Goiás : Vitamedic Ind. Farmacêutica Ltda, 2021. Bula do Profissional de Saúde. 12 p
19. TEMPO, O. **Quatro dos dez medicamentos mais vendidos no país são para hipertensão arterial**. Disponível em: <<https://www.otempo.com.br/brasil/quatro-dos-dez-medicamentos-mais-vendidos-no-pais-sao-para-hipertensao-arterial-1.3432473>>. Acesso em: 23 outubro. 2024.
20. DOMINGUES, Fagner Simões et al. Riscos do uso indiscriminado do anti-inflamatório nimesulida. **XIV Jornada Científica Faculdades Integradas de Bauru–FIB**, 2019.
21. STAREK, M.; KRZEK, J. A review of analytical techniques for determination of oxicams, nimesulide and nabumetone. **Talanta**, v. 77, n. 3, p. 925–942, 2009.
22. CARINI, M. et al. Mass spectrometric characterization and HPLC determination of the main urinary metabolites of nimesulide in man. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 18, n. 1–2, p. 201–211, 1998.
23. SUN, X. et al. Simultaneous determination of nimesulide and its four possible metabolites in human plasma by LC–MS/MS and its application in a study of

pharmacokinetics. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 1027, p. 139–148, 2016.

24. BARRIENTOS-ASTIGARRAGA, R. E. et al. Quantification of nimesulide in human plasma by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Application to bioequivalence studies. **Journal of mass spectrometry**, v. 36, n. 12, p. 1281–1286, 2001.

25. SINGH KUSHWAH, B. et al. A sensitive method for determination of nimesulide and its hydroxy metabolite in milk using validated UPLC-MS method. **Talanta open**, v. 6, n. 100160, p. 100160, 2022.

26. MAKUKHA, O. G. et al. Cloud point extraction combined with HPLC–MS for the determination of nimesulide in biological samples. **Chemical papers**, v. 73, n. 3, p. 693–699, 2019.

27. SINGH, Rajeev Kumar R. et al. Determination of Camylofin dihydrochloride and Nimesulide in Pharmaceutical preparation by Gas chromatography. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 2, n. 8, p. 944, 2011.

28. HU, T. et al. Simultaneous determination of thirty non-steroidal anti-inflammatory drug residues in swine muscle by ultra-high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. **Journal of chromatography A**, v. 1219, p. 104–113, 2012.

29. KIM, M.-S. et al. Quantification of nimesulide in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detector (HPLC-UV): Application to pharmacokinetic studies in 28 healthy Korean subjects. **Journal of chromatographic science**, v. 50, n. 5, p. 396–400, 2012.

30. ZACHARIS, C. K.; TZANAVARAS, P. D. HPLC separation of nimesulide and five impurities using a narrow-bore monolithic column: Application to photo-degradation studies. **Chromatographia**, v. 73, n. 3–4, p. 347–352, 2011.

31. ÁLVAREZ-LUEJE, A. et al. HPLC determination of nimesulide in tablets by electrochemical detection. **Analytical letters**, v. 31, n. 7, p. 1173–1184, 1998.

32. MORE, S. J. et al. Application of HPLC for the simultaneous determination of paracetamol, chlorzoxazone, and nimesulide in pharmaceutical dosage form. **ISRN Chromatography**, v. 2012, p. 1–8, 2012.

33. TZANAVARAS, P. D.; THEMELIS, D. G. Validated high-throughput HPLC assay for nimesulide using a short monolithic column. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 43, n. 4, p. 1483–1487, 2007.

34. KHAкса, G.; UDUPA, N. Rapid and sensitive method for determination of nimesulide in human plasma by high-performance liquid chromatography. **Journal of chromatography**, v. 727, n. 1–2, p. 241–244, 1999.
35. PTÁČEK, P.; MACEK, J.; KLÍMA, J. Rapid and simple high-performance liquid chromatographic determination of nimesulide in human plasma. **Journal of chromatography**, v. 758, n. 2, p. 183–188, 2001.
36. CHEN, Y.-L.; WU, S.-M. Capillary zone electrophoresis for simultaneous determination of seven nonsteroidal anti-inflammatory drugs in pharmaceuticals. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 381, n. 4, p. 907–912, 2005.
37. PATRAVALE, V. B.; D'SOUZA, S.; NARKAR, Y. HPTLC determination of nimesulide from pharmaceutical dosage forms. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 25, n. 3–4, p. 685–688, 2001.
38. TUBIĆ, Biljana et al. Simultaneous determination of nimesulide and its impurities in pharmaceutical formulations by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Acta Chimica Slovenica**, v. 54, n. 3, p. 583–590, 2007.
39. RUELA, A. L. M.; ARAÚJO, M. B.; PEREIRA, G. R. Desenvolvimento e validação de um método analítico rápido por cromatografia líquida de alta eficiência para determinação de nimesulida em estudos de liberação in vitro. **Química nova**, v. 32, n. 1, p. 165–168, 2009.
40. CHANDRAN, S. et al. New ultraviolet spectrophotometric method for the estimation of nimesulide. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 26, n. 2, p. 229–234, 2000.
41. ALTINÖZ, S.; DURSUN, Ö. Ö. Determination of nimesulide in pharmaceutical dosage forms by second order derivative UV spectrophotometry. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 22, n. 1, p. 175–182, 2000.
42. LAKSHMI, C. S. R.; REDDY, M. N. Spectrophotometric Estimation of Nimesulide and its Formulations. **Mikrochimica acta**, v. 132, n. 1, p. 1–6, 1999.
43. NAGARAJA, P. et al. Novel coupling reagents for the sensitive spectrophotometric determination of nimesulide in pharmaceutical preparations. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 29, n. 1–2, p. 277–282, 2002.
44. ZACHARIS, C. K. et al. Separation and determination of nimesulide related substances for quality control purposes by micellar electrokinetic chromatography. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 49, n. 2, p. 201–206, 2009.
45. LIMA, Handerson Rodrigues Silva et al. Electrochemical sensors and biosensors for the analysis of antineoplastic drugs. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 108, p. 27–37, 2018.

46. JANG, Am et al. Potentiometric and voltammetric polymer lab chip sensors for determination of nitrate, pH and Cd (II) in water. **Talanta**, v. 83, n. 1, p. 1-8, 2010.
47. ZHANG, Wei et al. Miniaturized electrochemical sensors and their point-of-care applications. **Chinese Chemical Letters**, v. 31, n. 3, p. 589-600, 2020.
48. BRETT, Christopher MA; BRETT, Oliveira. Principles, methods, and applications. **Electrochemistry**, v. 67, n. 2, p. 444, 1993.
49. SCHOLZ, Fritz. Voltammetric techniques of analysis: the essentials. **ChemTexts**, v. 1, n. 4, p. 17, 2015.
50. BAIG, Nadeem; SAJID, Muhammad; SALEH, Tawfik A. Recent trends in nanomaterial-modified electrodes for electroanalytical applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 111, p. 47-61, 2019.
51. RANA, Azeem; BAIG, Nadeem; SALEH, Tawfik A. Electrochemically pretreated carbon electrodes and their electroanalytical applications—A review. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 833, p. 313-332, 2019.
52. YIN, Shuli et al. Flexible synthesis of Au@ Pd core-shell mesoporous nanoflowers for efficient methanol oxidation. **Nanoscale**, v. 13, n. 5, p. 3208-3213, 2021.
53. SHETTI, N. P. et al. Novel nanoclay-based electrochemical sensor for highly efficient electrochemical sensing nimesulide. **The Journal of physics and chemistry of solids**, v. 137, n. 109210, p. 109210, 2020.
54. DEROOCO, P. B.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. A new and simple method for the simultaneous determination of amoxicillin and nimesulide using carbon black within a dihexadecylphosphate film as electrochemical sensor. **Talanta**, v. 179, p. 115–123, 2018.
55. WONG, A.; SANTOS, A. M.; FATIBELLO-FILHO, O. Determination of piroxicam and nimesulide using an electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and PEDOT:PSS. **Journal of electroanalytical chemistry (Lausanne, Switzerland)**, v. 799, p. 547–555, 2017.
56. ÁLVAREZ-LUEJE, A. et al. Voltammetric study of nimesulide and its differential pulse polarographic determination in pharmaceuticals. **Electroanalysis**, v. 9, n. 15, p. 1209–1213, 1997.

57. FURLANETTO, S. et al. Designing experiments to optimise and validate the adsorptive stripping voltammetric determination of nimesulide. **Analytica chimica acta**, v. 413, n. 1–2, p. 229–239, 2000.
58. EL-SAYED, Gamal O. et al. Adsorptive voltammetric determination of nimesulide at glassy carbon electrode. **Lat. Am. J. Pharm**, v. 28, n. 5, p. 741-6, 2009.
59. GOVINDASAMY, M. et al. Highly sensitive determination of non-steroidal anti-inflammatory drug nimesulide using electrochemically reduced graphene oxide nanoribbons. **RSC advances**, v. 7, n. 52, p. 33043–33051, 2017.
60. GOULARTE, Rayane Bueno et al. Novel analytical sensing strategy using a palladium nanomaterial-based electrode for nimesulide electrochemical reduction. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 920, p. 116622, 2022.
61. LIMA, Amanda Barbosa et al. Determinação de nimesulida por análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos. **Química Nova**, v. 36, p. 1296-1302, 2013.
62. AGUILAR-LIRA, G. Y. et al. Simultaneous voltammetric determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) using a modified carbon paste electrode and chemometrics. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 23, n. 1, p. 421, 2022.
63. ŁYSONŃ, M. et al. Nimesulide determination on carbon black-Nafion modified glassy carbon electrode by means of adsorptive stripping voltammetry. **Electrocatalysis**, v. 12, n. 6, p. 641–649, 2021.
64. ARDUINI, Fabiana et al. Electrochemical biosensors based on nanomodified screen-printed electrodes: Recent applications in clinical analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 79, p. 114-126, 2016.
65. DA SILVA, Everson TSG et al. Electrochemical biosensors in point-of-care devices: recent advances and future trends. **ChemElectroChem**, v. 4, n. 4, p. 778-794, 2017.
66. ECONOMOU, A. Screen-printed electrodes modified with “green” metals for electrochemical stripping analysis of toxic elements. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 18, n. 4, p. 1032, 2018.
67. FANJULBOLADO, P. et al. Manufacture and evaluation of carbon nanotube modified screen-printed electrodes as electrochemical tools. **Talanta**, v. 74, n. 3, p. 427–433, 2007.
68. FINŠGAR, M. et al. Reusability of SPE and Sb-modified SPE sensors for trace Pb(II) determination. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 18, n. 11, p. 3976, 2018.

69. ALI, M. R. et al. *N*-Hydroxysuccinimide crosslinked graphene oxide–gold nanoflower modified SPE electrode for sensitive detection of chloramphenicol antibiotic. **RSC advances**, v. 11, n. 26, p. 15565–15572, 2021.
70. FOSTER, C. et al. Cobalt phthalocyanine modified electrodes utilised in electroanalysis: Nano-structured modified electrodes vs. Bulk modified screen-printed electrodes. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 14, n. 11, p. 21905–21922, 2014.
71. SONG, W. et al. Simultaneous determination of cadmium (II), lead (II) and copper(II) by using a screen-printed electrode modified with mercury nano-droplets. **Mikrochimica acta**, v. 169, n. 3–4, p. 321–326, 2010.
72. DOS SANTOS, Sergio et al. Screen-printed electrodes constructed using carbon black as conductive material. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, p. 626-640, 2017.
73. MARTINS, P. O. Síntese, caracterização e aplicação do poli(ácido3-hidroxifenilacético) no desenvolvimento de biossensor para detecção de marcador cardíaco. 2011. 97p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química). Universidade Federal de Uberlândia-UFU. Uberlândia, MG, 2011.
74. BARD, Allen J.; FAULKNER, Larry R.; WHITE, Henry S. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. John Wiley & Sons, 2022.
75. ABDULRAHIM, Sumayya M. et al. Electrochemical impedance spectroscopy analysis of hole transporting material free mesoporous and planar perovskite solar cells. **Nanomaterials**, v. 10, n. 9, p. 1635, 2020.
76. GROSS, M. A. *Nanocompósitos de Óxido de Ferro e Óxido de Grafeno: Síntese, Caracterização e Aplicação em Sensores Voltamétricos para Detecção de Bisfenol A*. 2020. 134p. Tese (Programa de Pós-Graduação em Química). Universidade de Brasília- DF, 2020.
77. DE SOUZA, Pedro Henrique Moreno. *Estudos eletroquímicos de complexos de Cu (II) de antibióticos da classe das fluorquinolonas*. 2011.
78. CARVALHO, Liliane A. de; ANDRADE, Adalgisa R. de; BUENO, Paulo R. Espectroscopia de impedância eletroquímica aplicada ao estudo das reações heterogêneas em ânodos dimensionalmente estáveis. **Química Nova**, v. 29, p. 796-804, 2006.
79. VANONI, Caio Raphael et al. Determination of melatonin using a new integrated electrochemical platform of functionalized multi-walled carbon nanotubes and gold nanoparticles for clinical applications. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 169, n. 3, p. 036502, 2022.
80. FLETCHER, Stephen. Screen-printed carbon electrodes. **Electrochemistry of carbon electrodes**, p. 425-444, 2015.

81. YANG, Minjun; COMPTON, Richard G. Adsorption processes coupled with mass transport at macro-electrodes: New insights from simulation. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 836, p. 68-76, 2019.
82. ATCHERLEY, Christopher W. et al. Fast-scan controlled-adsorption voltammetry for the quantification of absolute concentrations and adsorption dynamics. **Langmuir**, v. 29, n. 48, p. 14885-14892, 2013.
83. TAN, Xinyu; NAMADCHIAN, Melika; BAGHAYERI, Mehdi. Follow up of the prostate cancer treatment based on a novel sensing method for anti-prostate cancer drug (flutamide). **Environmental Research**, v. 238, p. 117261, 2023.
84. SHIH, Ying et al. Flow injection analysis of zinc pyrithione in hair care products on a cobalt phthalocyanine modified screen-printed carbon electrode. **Talanta**, v. 62, n. 5, p. 912-917, 2004.
85. BARD, Allen J.; FAULKNER, Larry R. Electrochemical methods: fundamentals and applications. **Surf. Technol**, v. 20, n. 1, p. 91-92, 1983.
86. STOJEK, Zbigniew. The electrical double layer and its structure. **Electroanalytical methods: Guide to experiments and applications**, p. 3-9, 2010.
87. DE OLIVEIRA, Wallace Burger Veríssimo et al. Composite material immobilized in 3D-printed support, an economical approach for electrochemical sensing of nimesulide. **Microchemical Journal**, v. 188, p. 108463, 2023.
88. SHETTI, Nagaraj P. et al. Electro-oxidation and determination of nimesulide at nanosilica modified sensor. **Materials Science for Energy Technologies**, v. 2, n. 3, p. 396-400, 2019.
89. TAVAKKOLI, Nahid et al. Simultaneous voltammetric sensing of acetaminophen, epinephrine and melatonin using a carbon paste electrode modified with zinc ferrite nanoparticles. **Microchimica Acta**, v. 185, p. 1-11, 2018.
90. LAVIRON, E. Adsorption, autoinhibition and autocatalysis in polarography and in linear potential sweep voltammetry. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 52, n. 3, p. 355-393, 1974.
91. DEROOCO, Patrícia B.; ROCHA-FILHO, Romeu C.; FATIBELLO-FILHO, Orlando. A new and simple method for the simultaneous determination of amoxicillin and nimesulide using carbon black within a dihexadecylphosphate film as electrochemical sensor. **Talanta**, v. 179, p. 115-123, 2018.
92. BROWNSON, Dale AC et al. Interpreting electrochemistry. **The handbook of graphene electrochemistry**, p. 23-77, 2014.

93. SILVA, D. C.; SILVA, G. F. Métodos Eletroanalíticos: Voltametria Cíclica. **Monografia de Pós-Graduação em Química–UFMG, Belo Horizonte**, 2006.
94. EL-SAYED, Gamal O. et al. Adsorptive voltammetric determination of nimesulide at glassy carbon electrode. **Lat. Am. J. Pharm**, v. 28, n. 5, p. 741-6, 2009.
95. MIRCESKI, Valentin; SKRZYPEK, Sławomira; STOJANOV, Leon. Square-wave voltammetry. **ChemTexts**, v. 4, p. 1-14, 2018.
96. MIRCESKI, Valentin et al. Square-wave voltammetry: a review on the recent progress. **Electroanalysis**, v. 25, n. 11, p. 2411-2422, 2013.
97. SKOOG, D. A. et al. Fundamentos de Química. Analítica, Editora Thomson, tradução da 8ª edição, 2006

