



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

RAYANE BUENO GOULARTE

**DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DE ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS
UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS METÁLICAS E SILSESQUIOXANOS**

FLORIANÓPOLIS

2022

Rayane Bueno Goularte

DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DE ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO
ESTEROIDAIIS UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS METÁLICAS E
SILSESQUIOXANOS

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Química da Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do título de Doutora
em Química.

Orientadora: Prof. Dra. Cristiane Luisa Jost.

FLORIANÓPOLIS

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Goularte, Rayane

Determinação eletroanalítica de anti-inflamatórios não esteroidais utilizando nanopartículas metálicas e silsesquioxanos / Rayane Goularte ; orientador, Cristiane Jost, 2022.

115 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Química. 2. Química. 3. Eletroanalítica. 4. Eletrodos quimicamente modificados . 5. Nanopartículas . I. Jost, Cristiane . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Rayane Bueno Goularte

Determinação eletroanalítica de anti-inflamatórios não esteroidais utilizando nanopartículas metálicas e silsesquioxanos

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado em 20 de dezembro de 2022 por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Wallans Torres Pio dos Santos, Dr.

Departamento de Química, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

Profa. Regina Massako Takeuchi, Dra.

Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal, Universidade Federal de Uberlândia.

Prof. Leandro Machado de Carvalho, Dr.

Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria.

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutor em Química obtido pelo Programa de Pós-Graduação em Química

Prof. Dr. Giovani Caramori

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Química

Profª. Dra. Cristiane Luisa Jost

Orientadora

Florianópolis, 2022

À minha avó Nilza, que no início desta minha caminhada partiu para outro plano. Espero que estejas orgulhosa dos meus passos, pois sempre foste o meu amor, a minha força e o motivo de tudo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Marta e Rubens, que sempre se fizeram presentes em minha educação e garantiram a oportunidade de estudar, me ensinando a ter ética, caráter e respeito com os demais. Obrigada por sempre apoiarem minhas escolhas e acreditarem nos meus objetivos. O esforço, a confiança e o apoio de vocês foi fundamental para que eu pudesse concluir mais esta etapa da minha vida.

À minha avó Nilza (*in memoriam*), por todo amor e carinho dedicado a mim desde a minha infância. Você é minha maior saudade e, ao mesmo tempo, minha maior presença porque entendi que o amor nunca morre.

À minha orientadora, Prof^a Cristiane Jost, pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa, pela orientação, paciência e principalmente por confiar em mim, por me receber e me acolher com tanto carinho.

Aos amigos maravilhosos que ganhei desde o início desta jornada do doutorado. Belle, Caio, Edinho, Éverton, João, Kelline, Marília e Paola, obrigada por me receberem com tanto amor e carinho, obrigada por se tornarem meus amigos além de colegas, por alegrarem o dia a dia, por serem tão maravilhosos e especiais. Levo cada um de vocês sempre comigo e sou grata por nossos caminhos terem se cruzado nessa vida.

Às minhas amigas que me acompanham a tantos anos, Camila, Chay, Gabi, Ju, Kathe, Michi, Paulinha, Sindy e Su. Mesmo que de longe, vocês foram meu suporte em tempos difíceis, a amizade de vocês é um presente na minha vida.

Ao Programa de Pós Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina pela oportunidade oferecida de realizar o doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro.

A Deus por ter me dado forças e me acompanhado sempre...

Muito Obrigada.

*“Devemos acreditar que somos talentosos
para alguma coisa, e que essa coisa, a
qualquer custo, deve ser alcançada.”*

Marie Curie.

RESUMO

Este trabalho relata a preparação, caracterização e aplicação de dois novos eletrodos modificados com nanopartículas estabilizadas em polímeros de silsesquioxano para a determinação eletroanalítica de anti-inflamatórios não esteroidais. O primeiro eletrodo proposto consiste na modificação de um eletrodo de carbono vítreo (GCE) com um filme de nanopartículas de paládio (PdNPs) estabilizadas no polímero cloreto de 3-*n*-propil(4-metilpiridínio) silsesquioxano (Si4Pic⁺NO₃⁻) empregado para determinar nimesulida. A síntese das PdNPs foi realizada utilizando como precursor acetato de paládio, como agente redutor borohidreto de sódio e como estabilizante o polímero Si4Pic⁺NO₃⁻. As PdNPs foram caracterizadas pelas técnicas de UV-Vis, microscopia eletrônica de transmissão, espalhamento de raios X a baixo ângulo e potencial zeta. Após modificada com a dispersão de PdNPs, a superfície do GCE foi caracterizada usando a técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica. Com o método eletroanalítico otimizado utilizando solução tampão fosfato de sódio 0,4 mol L⁻¹ (pH 6,5) e voltametria de pulso diferencial, construiu-se as curvas de calibração na faixa de 5 a 60,0 μmol L⁻¹, obtendo o limite de detecção no valor de 2,0 μmol L⁻¹. Ainda, com objetivo de realizar determinações em concentrações mais baixas, uma etapa de pré-concentração foi desenvolvida com faixa linear de 0,13 a 1,87 μmol L⁻¹ e limite de detecção de 39 nmol L⁻¹. Além disso, o eletrodo modificado demonstrou repetibilidade e sensibilidade adequada para ser aplicado com sucesso na determinação de nimesulida em amostras de soro simulado, urina sintética e amostras de água de rio. O novo sensor apresentou boa exatidão e concordância com resultados do método comparativo. O segundo eletrodo modificado proposto neste trabalho foi um GCE modificado com nanopartículas de cobaltita de níquel e dióxido de titânio (NiCo₂O₄:TiO₂) estabilizadas no polímero de cloreto de 3-*n*-propil-4-(dimetilamino)piridínio silsesquioxano (Si4DMAP⁺Cl⁻). As nanopartículas de NiCo₂O₄:TiO₂ foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho e difração de raios X. Este novo eletrodo modificado teve sua superfície caracterizada por voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica. Em seguida, foi aplicado na determinação de naproxeno. Após a otimização do método empregando voltametria de pulso diferencial, a curva de calibração foi construída na faixa de 0,3 a 4,5 μmol L⁻¹, utilizando como eletrólito suporte tampão PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0). O limite de detecção obtido foi de 0,11 μmol L⁻¹ e atingiu-se uma boa repetibilidade entre as medidas. Por fim, a determinação de naproxeno foi realizada também em amostras de urina sintética e amostras ambientais de água de rio. Dessa maneira, verifica-se neste estudo o desenvolvimento de dois novos métodos possíveis de serem empregados no monitoramento biológico e ambiental de dois diferentes anti-inflamatórios não esteroidais.

Palavras-chave: Eletroanalítica. Eletrodo modificado. Nanopartículas. Nimesulida. Naproxeno.

ABSTRACT

This study reports the preparation, characterization and application of two new electrodes modified with nanoparticles stabilized in silsesquioxane polymers for the electroanalytical determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs. The first proposed electrode consists of the modification of a glassy carbon electrode (GCE) with a film of palladium nanoparticles (PdNPs) stabilized in the polymer 3-n-propyl(4-methylpyridinium) silsesquioxane chloride ($\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$) used to determine nimesulide. The synthesis of PdNPs was performed using palladium acetate as precursor, sodium borohydride reducing agent and stabilizing agent $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ polymer. PdNPs were characterized by UV-Vis, transmission electron microscopy, small angle x-ray scattering and zeta potential. After modified with the dispersion of PdNPs, the surface of the GCE was characterized using the electrochemical impedance spectroscopy technique. With the optimized electroanalytical method using 0.4 mol L^{-1} sodium phosphate buffer solution (pH 6.5) and differential pulse voltammetry, calibration curves were constructed in the range from 5 to $60.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, obtaining the limit of detection of $2.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Also, in order to determine lower concentrations, a pre-concentration step was developed with a linear range from 0.13 to $1.87 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ and a detection limit of 39 nmol L^{-1} . Furthermore, the modified electrode demonstrated repeatability and adequate sensitivity to be successfully applied in the determination of nimesulide in simulated serum samples, synthetic urine and river water samples. The new sensor showed good accuracy and agreement with the results of the comparative method. The second modified electrode proposed in this work was a GCE modified with titanium dioxide-doped nickel cobaltite nanoparticles ($\text{NiCo}_2\text{O}_4:\text{TiO}_2$) stabilized in 3-n-propyl-4-(dimethylamino) pyridinium chloride polymer silsesquioxane ($\text{Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$). $\text{NiCo}_2\text{O}_4:\text{TiO}_2$ nanoparticles were characterized by infrared spectroscopy and X-ray diffraction. This new modified electrode had its surface characterized by cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy. Then it was applied to the determination of naproxen. After optimizing the method using differential pulse voltammetry, the calibration curve was constructed in the range from 0.3 to $4.5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, using PBS 0.1 mol L^{-1} (pH 4.0). The detection limit obtained was $0.11 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ and a good repeatability between measurements was achieved. Finally, the determination of naproxen was also performed on synthetic urine samples and environmental samples of river water. Thus, in this study, the development of two new methods that can be used in the biological and environmental monitoring of two different non-steroidal anti-inflammatory drugs is demonstrated.

Keywords: Electroanalytical. Modified electrode. Nanoparticles. Nimesulide. Naproxen.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da estrutura química da nimesulida (N-(4-nitro-2-fenoxifenil) metanossulfonamida).....	26
Figura 2. Representação da estrutura química do naproxeno (ácido 2-(6-metoxinaftalen-2-il) propanóico).....	28
Figura 3. Ilustração esquemática das várias etapas de modificação do eletrodo com NPs usando (A) drop coating, (B) eletrodeposição e (C) dipping.	32
Figura 4. Ilustração dos métodos físico (top down) e químico (botton up) de síntese de MNPs.	34
Figura 5. Ilustração da diminuição percentual de átomos na superfície com o aumento do raio.	35
Figura 6. Tipos de estabilização de nanopartículas, (A) estérica, (B) eletrostática e (C) eletroestérica.....	37
Figura 7. Estrutura representativa de silsesquioxanos. Estrutura representativa de silsesquioxanos.	39
Figura 8. Representação esquemática de nanopartículas de óxido metálico em sensoriamento eletroquímico.....	42
Figura 9. Esquema da preparação de eletrodos de carbono vítreo modificados com (A) Pd-Si4Pic ⁺ NO ₃ ⁻ e (B) NiCO ₂ O ₄ :TiO ₂ - Si4DMAP ⁺ Cl ⁻	52
Figura 10. Colorações da solução do material Si4Pic ⁺ NO ₃ ⁻ e da suspensão de Pd-Si4Pic ⁺ NO ₃	56
Figura 11. Espectro de absorção na região de UV-Vis do material Si4Pic ⁺ NO ₃ ⁻ , do sal Pd(OAc) ₂ e das nanopartículas de paládio estabilizadas no silsesquioxano Pd-Si4Pic ⁺ NO ₃	57
Figura 12. (A) Imagem de TEM e (B) distribuição do tamanho das PdNPs estabilizadas em Si4Pic ⁺ NO ₃ ⁻ , (C) imagem de TEM de Pd-Si4Pic ⁺ NO ₃ ⁻ após dois anos com mesma forma e (D) tamanho.	58
Figura 13. Curva de espalhamento ajustada pela contribuição dos modelos de Esfera e Beaucage.....	59
Figura 14. Esquema representativo da estabilização de PdNP u material Si4Pic ⁺ NO ₃ ⁻ como agente estabilizante	60
Figura 15. Espectro de impedância eletroquímica para (A) GCE; (B) GCE/Si4Pic ⁺ NO ₃ ⁻ e (C) GCE/Pd-Si4Pic ⁺ NO ₃ ⁻ em solução de 0,1 mol L ⁻¹ KCl	

- contendo $5,0 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$. O potencial aplicado foi de $+ 0,245 \text{ V}$ vs Ag/AgCl. (B) Circuito equivalente obtido para os dados. 61
- Figura 16.** Voltamogramas cíclicos para $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIM (pH 7,0), $v=50 \text{ mVs}^{-1}$. GCE sem modificação (preto); GCE modificado com o polímero $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ (azul) e GCE modificado com $\text{Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ (vermelho). 63
- Figura 17.** Voltamogramas cíclicos para $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIM em GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ em tampão B-R $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH: (A) de 5,0 a 12,0 e (B) de 2,0 a 4,0, (C) corrente de pico em função do valor de pH e (D) potencial de pico em função do valor de pH. 64
- Figura 18.** Voltamogramas cíclicos para $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIM em GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ em diferentes soluções tampão (A) pH 6,0, (B) pH 6,5 e (C) pH 7,0. 65
- Figura 19.** (A) Voltamogramas cíclicos para $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIM em GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ em diferentes concentrações de solução tampão PBS pH 6,5 e (B) correlação da corrente de pico e concentração de PBS 66
- Figura 20.** (A) Voltamogramas cíclicos da NIM no GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ com diferentes velocidades de varredura, (B) o logaritmo da corrente de pico ($\log I$) versus o logaritmo da velocidade de varredura ($\log v$), $R^2 = 0,9996$ e (C) relação entre o potencial de pico de redução (E_p) e o logaritmo neperiano da velocidade de varredura. 67
- Figura 21.** Voltamogramas para NIM ($50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) em $0,40 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão PBS (pH 6,5) usando as técnicas DPV e SWV, em diferentes velocidades de varredura (A) 10 mV s^{-1} , (B) 40 mV s^{-1} , e (C) 200 mV s^{-1} 69
- Figura 22.** Voltamogramas de pulso diferencial com a variação dos parâmetros experimentais e dependência da corrente resultante com a variação da velocidade de varredura (A, B), amplitude (C, D) e tempo de pulso (E, F). 70
- Figura 23.** Voltamogramas de pulso diferencial com diferentes concentrações de NIM, de 5 a $60,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Condições: $0,40 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 6,5), DPV. Inserção: Curvas de calibração para NIM ($n = 5$) com as duas faixas lineares. 71
- Figura 24.** Efeito do (A) potencial de deposição (E_d) e (B) tempo de deposição (t_d) na resposta de corrente de pico da NIM usando GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ e DPV. 72

Figura 25. Voltamogramas de pulso diferencial com diferentes concentrações de NIM, de 0,13 a 1,87 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Condições: PBS 0,40 mol L^{-1} (pH 6,5), $E_d = -0,4$ V, $t_d = 80$ s. Inserção: Curvas de calibração para NIM (n = 5) com duas faixas lineares.	73
Figura 26. Voltamogramas de pulso diferencial com 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ NIM com (A) concentrações 10 vezes maiores de potenciais interferentes e (B) concentrações 100 vezes maiores de cada interferente. (C) Resposta de corrente relativa de cada potencial interferente estudado. Condições:PBS 0,40 mol L^{-1} (pH 6,5). (---- NIM,— K^+ ;— Ca^{2+} ; — Cd^{2+} , — NH_4^+ , — Zn^{2+} , — Pb^{2+} , — Cu^{2+} , — SO_4^{2-} , — PO_4^{3-} and—HA)......	77
Figura 27. Voltamogramas de pulso diferencial com 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ NIM em tampão PBS 0,40 mol L^{-1} (pH 6,5) para (A) estudos de repetibilidade intra dia e (B) inter dia.	77
Figura 28. Voltamogramas de pulso diferencial para NIM usando GCE/Pd-Si4Pic $^+\text{NO}_3^-$ em 0,4 mol L^{-1} de tampão PBS em amostras de (A) urina sintética, (B) soro simulado e (C) água do rio (n = 3) e sucessivas adição de padrão de NIM.....	79
Figura 29. (A) Difratograma das nanopartículas de cobaltita de níquel e (B) nanopartículas de cobaltita de níquel dopadas com TiO_2	83
Figura 30. (A) FTIR das nanopartículas de cobaltita de níquel e (B) nanopartículas de cobaltita de níquel incorporadas em TiO_2 em KBr usando modo transmitância.....	84
Figura 31. Imagem de TEM das nanopartículas de cobaltita de níquel incorporadas numa matriz de nanopartículas de dióxido de titânio.	85
Figura 32. (A) Espectro de impedância eletroquímica para (a) GCE; (b) GCE/ $\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{-Si}_4\text{DMAP}^+\text{Cl}^-$ e (c) GCE/ $\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{:TiO}_2\text{-Si}_4\text{DMAP}^+\text{Cl}^-$ em solução de 0,1 mol L^{-1} KCl contendo 5,0 mmol L^{-1} $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$. (B) Voltamogramas cíclicos para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 5,0 mmol L^{-1} em KCl 0,1 mol L^{-1} ($v = 50$ mV s^{-1}) em diferentes eletrodos.	86
Figura 33. Voltamogramas cíclicos para 74 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX (pH 7,0), $v = 50$ mV s^{-1} . GCE sem modificação (curva azul); GCE modificado com o $\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{-Si}_4\text{DMAP}^+\text{Cl}^-$ (curva em preto e (c) GE modificado com o $\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{:TiO}_2\text{-Si}_4\text{DMAP}^+\text{Cl}^-$ (curva rosa)......	87

Figura 34. Voltamogramas cíclicos para 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX sobre o GCE/NiCo ₂ O ₄ :TiO ₂ -Si ₄ DMAP ⁺ Cl ⁻ em tampão B-R 0,2 mol L ⁻¹ em diferentes valores de pH: (A) de 2,0 a 7,0, (B) de 8,0 a 10,00. (C) Corrente de pico em função do valor de pH e (D) Variação dos potenciais de pico de oxidação do NPX em função do pH do eletrólito.	89
Figura 35. Voltamogramas cíclicos para NPX 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o GCE/NiCo ₂ O ₄ :TiO ₂ -Si ₄ DMAP ⁺ Cl ⁻ em diferentes soluções tampão em pH 4,0.	90
Figura 36. (A) Voltamogramas cíclicos do NPX no GCE/NiCo ₂ O ₄ :TiO ₂ -Si ₄ DMAP ⁺ Cl ⁻ com diferentes velocidades de varredura, (B) o logaritmo da corrente de pico (log I) versus o logaritmo da velocidade de varredura (log v), R ² = 0,9996 e (C) relação entre o potencial de pico de oxidação (E _p) e o logaritmo da velocidade de varredura (log v).....	91
Figura 37. Voltamogramas para NPX (20 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em 0,10 mol L ⁻¹ de tampão PBS (pH 4,0) usando as técnicas LSV, SWV e DPV, em diferentes velocidades de varredura (A) 10 mV s ⁻¹ , (B) 100 mV s ⁻¹ , e (C) 200 mV s ⁻¹	93
Figura 38. Voltamogramas de pulso diferencial com a variação dos parâmetros experimentais e dependência da corrente resultante com a variação da (A) velocidade de varredura, (B) amplitude e (C) tempo de pulso.....	94
Figura 39. Voltamogramas de pulso diferencial em 0,10 mol L ⁻¹ PBS (pH 4,0), com diferentes concentrações de NPX, de 0,3 a 4,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Inserção: Curva de calibração para NPX (n = 3).....	95

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Classes de alguns NSAIDs e suas estruturas.	23
Quadro 2. Reagentes utilizados nos processos de síntese e aplicação.	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características analíticas obtidas a partir da curva de calibração com etapa de pré concentração para determinação de NIM empregando o eletrodo modificado GCE/Pd-Si4Pic ⁺ NO ₃ ⁻	74
Tabela 2. Comparação do desempenho de diferentes eletrodos para determinação de NIM.....	75
Tabela 3. Dados comparativos para a determinação de NIM em amostras de urina sintética, soro simulado e água de rio usando DPV e espectrometria de absorção molecular (n = 3, F _{crítico} = 19; t _{crítico} = 8,16).....	80
Tabela 4. Comparação do desempenho de diferentes eletrodos para determinação de NPX.....	96
Tabela 5. Características analíticas obtidas a partir da curva de calibração com para determinação de NPX empregando o eletrodo modificado GCE/NiCo ₂ O ₄ :TiO ₂ -Si4DMAP ⁺ Cl	97
Tabela 6. Determinação de NPX em urina e água de rio fortificada, empregando o eletrodo modificado GCE/NiCo ₂ O ₄ :TiO ₂ -Si4DMAP ⁺ Cl.....	98

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- CME** – Eletrodo quimicamente modificado, do inglês *Chemically Modified Electrode*
- COX** – Cicloxigenase
- CPE** – Eletrodo de pasta de carbono, do inglês *Carbon Paste Electrode*
- CV** – Voltametria cíclica, do inglês *Cyclic Voltammetry*
- DPV** – Voltametria de pulso diferencial, do inglês *Differential Pulse Voltammetry*
- EIS** – Espectroscopia de impedância eletroquímica, do inglês *Electrochemical Impedance Spectroscopy*
- FTIR** – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier, do inglês *Fourier Transform Infra Red Spectroscopy*
- GCE** – Eletrodo de carbono vítreo, do inglês *Glassy Carbon Electrode*
- GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻** – Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de paládio estabilizadas com o polímero 3-*n*-propil(4-metilpiridínio) silsesquioxano
- GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP⁺Cl⁻** – Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de cobaltita de níquel e dióxido de titânio estabilizadas com o polímero cloreto 3-*n*-propil-4-(dimetilamino)piridínio silsesquioxano
- HPLC** – Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*
- IUPAC** – União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*
- LOD** – Limite de detecção, do inglês *Limit Of Detection*
- LOQ** – Limite de quantificação, do inglês *Limit Of Quantification*
- LSV** – voltametria de varredura linear, do inglês *Linear Sweep Voltammetry*
- MO NPs** – Nanopartícula de óxido metálico, do inglês *Metal Oxide Nanoparticle*
- NIM** – Nimesulida
- NP** – Nanopartícula, do inglês *Nanoparticle*
- NPX** – Naproxeno
- NSAID** – Anti-inflamatórios não esteroidais, do inglês *Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs*

PdNP – Nanopartícula de paládio

Rct– Resistência à transferência de carga

SAXs – Espalhamento de raios X a baixos ângulos

SWV – Voltametria de onda quadrada, do inglês *Square Wave Voltammetry*

TEM – Microscopia eletrônica de transmissão, do inglês *Transmission Electronic Microscopy*

XRD – Difração de raios X, do inglês *X-Ray Diffraction*

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	20
CAPÍTULO 1– REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
1.1 <i>Anti-inflamatórios não esteroidais</i>	22
1.2 <i>Nimesulida</i>	26
1.3 <i>Naproxeno</i>	28
1.4 <i>Eletrodos quimicamente modificados</i>	30
1.5 <i>Nanopartículas metálicas na eletroanálise</i>	33
1.6 <i>Silsesquioxano como estabilizantes de nanopartículas metálicas</i>	38
1.7 <i>Nanopartículas de paládio</i>	40
1.8 <i>Nanopartículas de cobaltita de níquel</i>	42
CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS	45
2.1 <i>Objetivo Geral</i>	45
2.2 <i>Objetivos Específicos</i>	45
CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS	47
3.1 <i>Reagentes e Soluções</i>	47
3.2 <i>Materiais e equipamentos</i>	49
3.3 <i>Procedimentos experimentais</i>	50
3.3.1 <i>Síntese e caracterização de PdNP estabilizadas em Si⁴Pic⁺NO₃⁻</i>	50
3.3.2 <i>Síntese e caracterização de NiCo₂O₄:TiO₂ estabilizadas em Si⁴DMAP⁺Cl⁻</i>	50
3.3.2 <i>Preparação de eletrodos de carbono vítreo modificados</i>	51
3.3.4 <i>Eletroquímica da NIM e do NPX em diferentes arquiteturas de eletrodos</i>	52
3.3.5 <i>Preparo das amostras</i>	53
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO – DETERMINAÇÃO DE NIMESULIDA	55
4.1 <i>Caracterização das PdNPs</i>	55
4.2 <i>Caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados</i>	60
4.3 <i>Comportamento eletroquímico da nimesulida sobre superfícies eletródicas</i>	62
4.4 <i>Estudo do pH, natureza e concentração do eletrólito suporte</i>	63
4.5 <i>Efeito da velocidade de varredura</i>	66
4.6 <i>Seleção da técnica voltamétrica e otimização dos parâmetros experimentais</i>	68
4.7 <i>Curva de calibração e características analíticas</i>	71
4.8 <i>Seletividade, estabilidade e reprodutibilidade</i>	76
4.9 <i>Determinação de NIM em amostras de urina, soro e água de rio</i>	78
CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO – DETERMINAÇÃO DE NAPROXENO	82
5.1 <i>Caracterização das nanopartículas NiCo₂O₄ e NiCo₂O₄/TiO₂</i>	82
5.2 <i>Caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados</i>	85
5.3 <i>Comportamento eletroquímico do naproxeno sobre superfícies eletródicas</i>	87
5.4 <i>Estudo do pH e natureza do eletrólito suporte</i>	88
5.5 <i>Efeito da velocidade de varredura</i>	90

<i>5.6 Seleção da técnica voltamétrica e otimização dos parâmetros experimentais</i>	92
<i>5.7 Curva de calibração e características analíticas</i>	95
<i>5.8 Determinação de NPX em amostras de urina e água de rio</i>	98
CONSIDERAÇÕES FINAIS	99
REFERÊNCIAS	100

APRESENTAÇÃO

Os anti-inflamatórios não esteroidais (NSAIDs do inglês, *Non-steroidal anti-inflammatory drugs*) são medicamentos geralmente usados para reduzir a dor e inflamação resultantes de diversos tipos de lesões, pois possuem propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antipiréticas. Alguns dos efeitos colaterais, devido ao mau uso ou quantidades excessivas destas drogas, estão relacionados com distúrbios gastrointestinais, ulceração intestinal, disfunção renal, dentre outros. Além disso, o uso e o descarte descontrolado desses medicamentos em esgotos levam ao aparecimento generalizado de poluentes emergentes no meio ambiente. Neste contexto, torna-se importante o desenvolvimento de métodos para determinação de NSAIDs em amostras biológicas, bem como para monitorar águas residuais e de superfície.

O uso de métodos baseados em técnicas eletroanalíticas é consolidado para a determinação dos mais diversos compostos orgânicos. No entanto, para melhorar as propriedades como seletividade e sensibilidade, pode-se modificar superfícies eletródicas com a incorporação de nanomateriais, onde há um efeito atrelado ao aumento da área superficial ativa, com aumento da velocidade de transferência de carga. Ainda, a fim de prevenir o possível processo de aglomeração das nanopartículas, faz-se necessária a adição de estabilizantes em sua síntese. Polímeros do tipo silsesquioxanos iônicos são frequentemente utilizados na estabilização de nanopartículas, devido à presença de cargas em sua estrutura, além de possuírem capacidade de formar filmes estáveis sobre a superfície de eletrodos. Em vista disso, o objetivo deste trabalho é construir eletrodos modificados com nanopartículas metálicas, estabilizadas em polímeros do tipo silsesquioxano para a determinação de fármacos da classe dos NSAIDs – nimesulida e naproxeno – em amostras biológicas e ambientais.

Para fins de apresentação, esta tese foi dividida em cinco capítulos. O Capítulo 1 apresenta a revisão bibliográfica dos temas contemplados no trabalho. No Capítulo 2 apresenta-se o objetivo geral e os objetivos específicos desta pesquisa. Já no Capítulo 3 são descritos os materiais e procedimentos empregados durante o trabalho. O Capítulo 4 apresenta os resultados e discussão acerca dos experimentos realizados para determinação de nimesulida. E por fim, no Capítulo 5 são descritos os resultados para determinação de naproxeno.

CAPÍTULO 1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS

Os anti-inflamatórios não esteroidais (NSAIDs – do inglês, *non-steroidal anti-inflammatory drugs*) constituem uma classe de fármacos de composição química diversa, geralmente ácidos orgânicos fracos que consistem de um ou mais anéis aromáticos ligados a um grupamento ácido funcional [1]. Essa diversidade química dos NSAIDs é responsável pela ampla variedade de características farmacocinéticas. A maior parte desses medicamentos é bem absorvida por via oral, e a sua biodisponibilidade não é consideravelmente modificada pela presença de alimentos [2].

Além disso, de forma geral, os NSAIDs possuem três características comuns: propriedades farmacológicas básicas idênticas, mecanismos de ação semelhantes e efeitos colaterais similares [3].

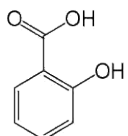

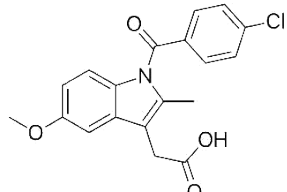
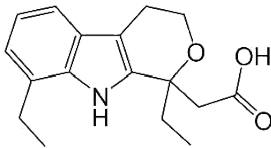
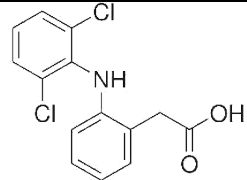
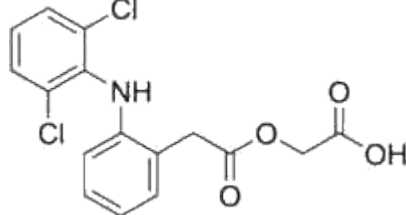
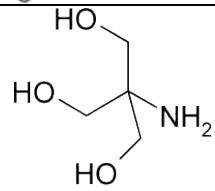
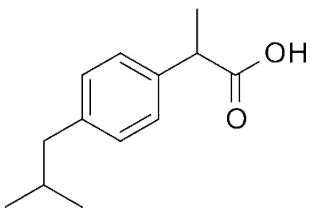
Os NSAIDs apresentam propriedades anti-inflamatórias (que modificam a reação inflamatória), analgésicas (que reduzem certos tipos de dores) e antipiréticas (que reduzem a temperatura corpórea elevada). Por isso são as drogas de primeira escolha no tratamento da inflamação, dor e edema, como também nas osteoartrites, artrite reumatoide e distúrbios músculo-esqueléticos [4,5].

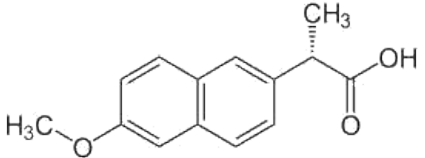
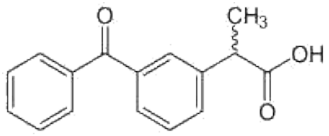
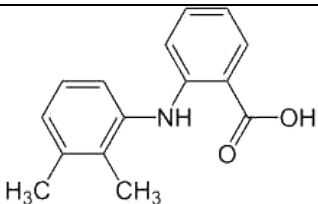
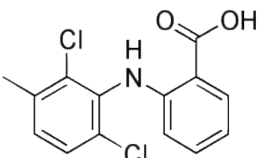
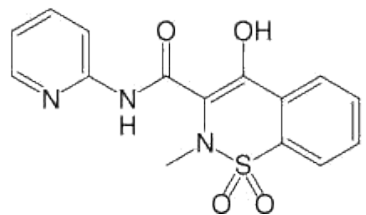
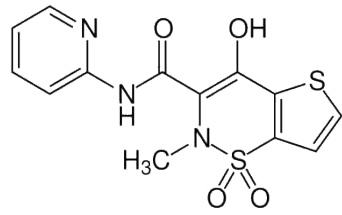
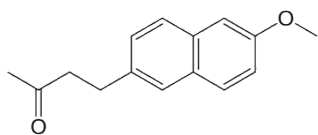
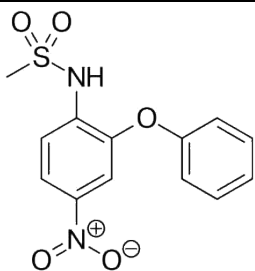
O mecanismo de ação dos NSAIDs baseia-se na inibição de um grupo de enzimas, as ciclooxigenases (COXs), reduzindo assim a síntese de prostaglandinas – que são mediadores pró-inflamatórios derivados do ácido araquidônico – e diminuindo a intensidade do processo inflamatório [6]. Dessa forma, as propriedades farmacológicas dos NSAIDs provêm de sua capacidade de inibir a COXs.

Além disso, os NSAIDs pertencem a um grupo de medicamentos amplamente prescritos, que também estão disponíveis como medicamentos de venda livre [7]. No entanto, seu uso pode envolver diversos efeitos colaterais como: toxicidades gastrointestinais, riscos cardiovasculares, lesões renais e hepatotoxicidade, bem como hipertensão e outros distúrbios menores [8].

De acordo com a estrutura molecular dos NSAIDs, eles podem ser divididos em várias classes: derivados de ácido salicílico, derivados de indol, ácidos heteroarilacéticos, ácidos arilpropiônicos, ácidos enólicos, dentre outros cujas estruturas moleculares podem ser vistas no Quadro 1 [9].

Quadro 1. Classes de alguns NSAIDs e suas estruturas químicas.

Classe	Fármaco	Estrutura
Ácido salicílico e derivados	Ácido acetilsalicílico	
	Diflunisal	
Ácidos indol e indol acéticos	Indometacina	
	Etodolac	
Ácidos hetero aril acéticos	Diclofenaco	
	Aceclofenaco	
	Cetrolaco	
	Ibuprofeno	

Ácidos arilpropiónicos	Naproxeno	
	Cetoprofeno	
Ácidos antranílicos (fenamatos)	Ácido mefenâmico	
	Ácido meclofenâmico	
Ácidos enólicos	Piroxan	
	Tenoxicam	
Alcanones (não ácidos)	Nabumetona	
Sulfonamida	Nimesulida	

A ocorrência de resíduos de NSAIDs no meio ambiente tem chamado bastante atenção, uma vez que estes fármacos não são totalmente eliminados nas estações de tratamento de esgoto e assim, são posteriormente lançados nos mananciais ambientais em sua forma nativa ou como metabólitos [10].

Ainda, essa classe de fármacos são um dos grupos de micropoluentes mais comumente relatados em águas superficiais [11]. De acordo com as pesquisas de monitoramento recentes, a concentração de NSAIDs no ecossistema de água doce está entre ngL^{-1} a mgL^{-1} , causando riscos potenciais para diferentes organismos aquáticos [12,13]. Estudos comprovam que a presença de NSAIDs em ambientes aquáticos tais como rios e estação de tratamento de esgotos, ou solo, tem potencial para alterar a diversidade, composição da biomassa, reações bioquímicas, atividade metabólica e enzimática da comunidade microbiológica [14].

Dentre os NSAIDs mais recorrentemente detectados no ambiente incluem diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno e cetoprofeno, reconhecidos como potenciais contaminantes emergentes [15], uma vez que observa-se nesses fármacos uma grande capacidade de difundir passivamente através de membranas biológicas, com elevada persistência em ambientes aquáticos [16]. A ocorrência desses NSAIDs em águas superficiais já foi relatada em diferentes países como Canadá, China, Costa Rica, França e Grécia [17–21]. Petrie *et al.* também relataram recentemente a presença de ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco, entre outros fármacos, em águas residuais e águas superficiais no Reino Unido, na faixa de 0,17 a 0,37 μgL^{-1} [22].

Eslami *et al.* analisaram anti-inflamatórios não esteroidais em águas superficiais, água potável e águas residuais do Irã. Uma extração em fase sólida (SPE—do inglês, *solid phase extraction*) seguida por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa foi usada na determinação dos produtos farmacêuticos: ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco e indometacina. O ibuprofeno foi encontrado na maioria das amostras e apresentou a maior concentração. Já as maiores concentrações de NSAIDs totais (na faixa de μgL^{-1}) foram encontradas na estação de tratamento de água municipal e hospitalar. Além disso, todos os NSAIDs estudados foram detectados em amostras de água da torneira, no entanto, a concentração encontrada foi muito baixa e os valores máximos estão na unidade de ngL^{-1} [23].

No Brasil, Miranda *et al.* detectaram nimesulida em amostras de efluentes em níveis de concentração variando na faixa de 101,7 a 385 μgL^{-1} . Sendo essa a primeira

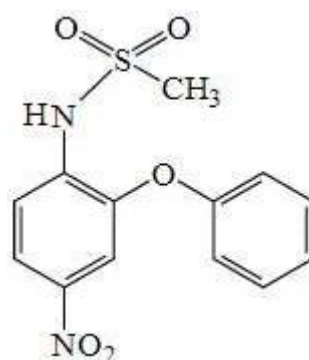
evidência sobre ocorrências de NIM em matrizes ambientais no entorno do reservatório do Lago de Itaipu [24].

NIMESULIDA

A nimesulida (NIM), denominada pela IUPAC como N-(4-nitro-2-fenoxifenil)metanossulfonamida (Fig. 1), pertence à classe de anti-inflamatórios não esteroidais[25]. Apresenta-se na forma de um pó amarelo pálido, cristalino, levemente untuoso ao tato, inodoro e não higroscópico. É um ácido fraco, insolúvel em água, pouco solúvel em etanol e facilmente solúvel em acetona[26,27]. O valor de pKa da NIM é 6,46, o que é muito importante para a tolerância gástrica[28].

Assim como outros fármacos pertencentes à classe dos NSAIDs, a NIM também atua como um inibidor seletivo da enzima da síntese de prostaglandina, a COX. *In vitro* e *in vivo* a nimesulida preferencialmente inibe a enzima COX-2, a qual é liberada durante a inflamação, com menor atividade sobre a COX-1, a qual atua na manutenção da mucosa gástrica[29,30]. Devido a essas ações, os efeitos anti-inflamatórios, analgésicos e antipiréticos são as principais propriedades da NIM, sendo usado para tratar dor aguda, osteoartrite dolorosa e dismenorrea primária[31,32].

Figura 1. Representação da estrutura química da nimesulida (N-(4-nitro-2-fenoxifenil)metanossulfonamida)



Fonte: O autor.

A NIM é metabolizada no fígado e o seu metabólito principal, 4-hidroxinimesulida, também é farmacologicamente ativo e é o único metabólito encontrado no plasma, apresentando-se quase que completamente conjugado. O intervalo para

aparecimento da hidroxinimesulida na circulação é curto (cerca de 0,8 horas) mas a sua constante de formação não é alta e é consideravelmente menor que a constante de absorção da nimesulida [26]. O efeito adverso mais relevante relacionado à nimesulida é a hepatotoxicidade. Por isso, alguns países europeus, como o Reino Unido e República da Irlanda, proibiram o uso de NIM devido aos comprovados riscos associados à insuficiência hepática [33,34]. A excreção da NIM ocorre principalmente na urina, mas apenas 1 a 3% é excretado como composto inalterado e cerca de 30% da dose é excretada nas fezes após o metabolismo [6].

Há uma preocupação com a poluição ambiental relacionada a esse medicamento, devido tanto à sua excreção por humanos como também ao descarte indevido pelas indústrias farmacêuticas, podendo se acumular no solo e principalmente nos recursos hídricos [35–37]. Assim, o desenvolvimento de métodos rápidos e sensíveis para detectar NIM em amostras biológicas, bem como, em amostras ambientais tornam-se necessários para auxiliar tanto em diagnósticos clínicos, como no monitoramento de efluentes. Nos últimos anos, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos neste sentido.

Vários métodos utilizando as mais variadas técnicas já foram relatados para a determinação de NIM, incluindo cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC – do inglês, *high performance liquid chromatography*) com detector de arranjo de diodos [38], eletroforese capilar (CE – do inglês, *capillary electrophoresis*) com detector UV [39,40], fluorescência [41], espectrometria de infravermelho [42] e voltametria empregando diferentes eletrodos de trabalho [43–45].

O desenvolvimento de diferentes tipos de sensores para análises farmacêuticas e ambientais tornou-se uma área de pesquisa bastante ativa e robusta. Em comparação com outros métodos instrumentais, os que utilizam sensores eletroquímicos apresentam algumas características vantajosas uma vez que são economicamente mais baratos, fáceis de operar e proporcionam alta sensibilidade e seletividade para análise [46].

Nesse caso, a determinação de nimesulida por voltametria pode ser realizada por se tratar de uma molécula eletroativa, conforme mostrado na Figura 1, a NIM apresenta um grupo nitro ($-\text{NO}_2$) que pode sofrer processos de redução e um grupo $-\text{NH}$ que pode sofrer processos de oxidação.

Miranda et al. aplicaram a voltametria de pulso diferencial com redissolução catódica para determinação de NIM em águas do lago Itaipu. Para isso, utilizaram um eletrodo de gota de mercúrio pendente (HMDE – do inglês, *hanging mercury drop*

electrode), 60 s de tempo de pré-concentração e obtiveram valores de LOD e LOQ de $0,15 \mu\text{gL}^{-1}$ e $0,50 \mu\text{gL}^{-1}$, respectivamente [24].

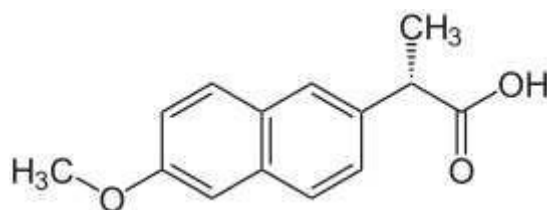
Também utilizando um eletrodo HMDE, Ribeiro et al. estudaram comportamento eletroquímico e desenvolveram um método para detecção de nimesulida e ofloxacina em formulações farmacêuticas – comprimidos, solução oral e solução oftálmica – empregando voltametria de onda quadrada (SWV – do inglês, *square wave voltammetry*) [47].

A eletro-oxidação da NIM foi investigada por Malode et al. empregando voltametria de pulso diferencial (DPV – do inglês, *differential pulse voltammetry*) e voltametria cíclica (CV – do inglês, *cyclic voltammetry*) em diferentes valores de pH no eletrodo de ouro. O processo de oxidação foi irreversível e exibiu um comportamento controlado por difusão, com um LOD de $1,11 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$. Esse método proposto foi aplicado para determinação quantitativa em produtos farmacêuticos e também para a detecção de nimesulida em, m urina como amostra real [48].

NAPROXENO

O naproxeno (NPX), ácido 2-(6-metoxinaftalen-2-il) propanóico (Fig. 2), também é um importante anti-inflamatório não esteroideal que apresenta ação analgésica, antipirética e anti-inflamatória[49]. É um medicamento amplamente prescrito para proporcionar alívio da artrite reumatóide, alívio dos sintomas nas crises agudas de gota e outras doenças reumáticas inflamatórias [50].

Figura 2. Representação da estrutura química do naproxeno (ácido 2-(6-metoxinaftalen-2-il) propanóico)



Fonte: O autor.

O NPX é metabolizado no fígado e eliminado na forma inalterada (10% da dose) ou como metabólitos (60% da dose) pela urina e fezes [13]. A principal via de metabolização do naproxeno é a hidroxilação, resultando no O-desmetilnaproxeno, seu principal metabólito [51].

As vantagens do NPX são sua rápida absorção e longa duração de ação, que resulta de seu longo tempo de meia-vida (aproximadamente 13h). É o medicamento preferencial para o tratamento da osteoartrite em pacientes de alto risco cardiovascular, pois, ao contrário de outros NSAIDs, inclusive os seletivos, quando usado em altas doses apresenta menor risco [52,53]. Essas vantagens, juntamente com o fato que o NPX pode ser adquirido sem receita médica, justificam sua popularidade no mercado farmacêutico, uma vez que há mais de 40 anos mantém uma posição forte em relação a outros NSAIDs [54,55]. Essa popularidade do NPX no tratamento da dor resultou em sua ocorrência no ambiente [54,56,57].

A nocividade da presença do NPX no ambiente é comumente associada ao seu potencial efeito de desregulador endócrino, onde o fármaco atua principalmente no sistema tireoidiano quando o organismo foi submetido a uma longa exposição ao fármaco, levando à bioacumulação e declínio nos níveis dos hormônios triiodotironina e tiroxina [58].

Um artigo de revisão de 2016 mostrou que o NPX foi detectado em águas superficiais, subterrâneas e/ou águas de torneira ou potável de 45 países em todo o mundo, com concentrações entre $0,050 \mu\text{gL}^{-1}$ e $32 \mu\text{gL}^{-1}$ [59]. O NPX foi detectado em águas superficiais em concentrações de até $32 \mu\text{gL}^{-1}$ no Paquistão, $4,5 \text{mgL}^{-1}$ no Canadá, $0,328 \text{mgL}^{-1}$ na China e $0,24 \text{mgL}^{-1}$ no Japão [60–62].

Além disso, investigações das águas da União Europeia indicaram que a concentração de naproxeno em estações de tratamento de águas residuais e em águas superficiais excede a concentração recomendada pela Agência Europeia de Medicamentos em 10 a 500 vezes [63].

Diversos métodos eletroanalíticos são relatados para a determinação de NPX em amostras ambientais, bem como em formulações farmacêuticas. Hendawy et al. desenvolveram um método eletroanalítico para determinação de NPX em formulações farmacêuticas e fluidos biológicos na presença de seu produto de degradação. Para isso, construíram eletrodos de pasta de carbono (CPE – do inglês, *carbon paste electrode*) modificados com diferentes materiais nanométricos de carbono: carbono vítreo em pó, nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs – do inglês, *multi-walled*

carbon nanotubes), nanotubos de paredes simples (SWCNTs – do inglês, *single-walled carbon nanotubes*), nanofolhas de grafeno e óxido de grafeno. Dois picos de oxidação anódica foram registrados em +0,89 e +1,18 V, apesar da fotodegradação do NPX ter resultado no desaparecimento do pico de oxidação em +1,18 V, foi possível a determinação de NPX na presença de seu produto de degradação obtendo um LOD de $6,25 \mu\text{mol L}^{-1}$ [64].

Um sensor fotoeletroquímico foi fabricado com filme de vanadato de bismuto modificado com óxido de cobre, formando o nanocompósito BiVO_4/CuO , para a determinação de naproxeno em amostras de esgoto. A fotocorrente gerada foi proporcional à concentração de NPX na faixa de 20 nmol L^{-1} a 480 nmol L^{-1} . O limite de detecção obtido foi de 5 nmol L^{-1} e os percentuais de recuperação ficaram acima de 95 % [58].

A eletrooxidação do NPX foi estudada utilizando eletrodo de diamante dopado com boro por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial em meio não aquoso por Suryanarayanan et al. Os resultados que os autores obtiveram foram comparados com GCE nas mesmas condições. O eletrodo de diamante dopado com boro forneceu voltamogramas cíclicos bem resolvidos e altamente reprodutíveis quando comparado ao GCE (do inglês *Glassy Carbon Electrode*). Além disso, a técnica de DPV foi capaz de determinar as concentrações de NPX na faixa de 0,5 a 50 mmol L^{-1} com limite de detecção de 30 nmol L^{-1} . Por fim, os autores relataram que rapidez, precisão e boa seletividade também foram obtidas para a determinação de NPX em formulações farmacêuticas [65].

ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS

Um eletrodo quimicamente modificado (CMEs – do inglês, *chemically modified electrode*) pode ser definido como um material condutor ou semicondutor que foi recoberto com uma espécie química monomolecular, multimolecular, iônica ou por filmes poliméricos que alteram uma ou mais propriedades eletroquímicas, ópticas ou outras propriedades da interface eletrodo-solução [66,67]. Nos últimos anos, os CMEs têm atraído atenção devido às suas potenciais aplicações em várias análises e sua relativa facilidade de fabricação e regeneração [68].

O principal objetivo de modificar a superfície de eletrodos é melhorar alguma(s) propriedade(s) eletroquímica(s), a qual normalmente não é possível ou é dificultada quando utilizados eletrodos convencionais, como por exemplo, a eletrocatalise [69]. Como se trata de uma reação (na superfície do eletrodo) envolvendo transferência de elétrons, a eletrocatalise reduz a energia de ativação da reação, fazendo com que o sistema redox seja capaz de realizar a troca de elétrons mais facilmente [70].

De maneira geral, superfícies modificadas geralmente podem resultar em:

1. Transferência de propriedades físico-químicas do modificador para o eletrodo;
2. Atividade eletrocatalítica aprimorada devido ao uso de materiais com grande área de superfície que, por sua vez, permite melhor sensibilidade;
3. Seletividade em relação ao analito devido a grupos funcionais imobilizados;
4. Cinética de difusão rápida no caso de alguns materiais e
5. Extração e acúmulo de um analito no eletrodo[71].

Para a fabricação de eletrodos quimicamente modificados, podem ser empregados diversos substratos como os eletrodos metálicos e eletrodos à base de carbono. O eletrodo de carbono vítreo (GCE – do inglês, *glassy carbon electrode*) tem sido comumente usado como substrato para a fabricação de vários CMEs pois fornece uma ampla janela de potencial com baixas correntes de fundo e é quimicamente estável[69].

Dentre os diversos métodos empregados para modificação de eletrodos com nanopartículas metálicas, podem ser destacados as técnicas de *drop coating*, eletrodeposição e *dipping*.

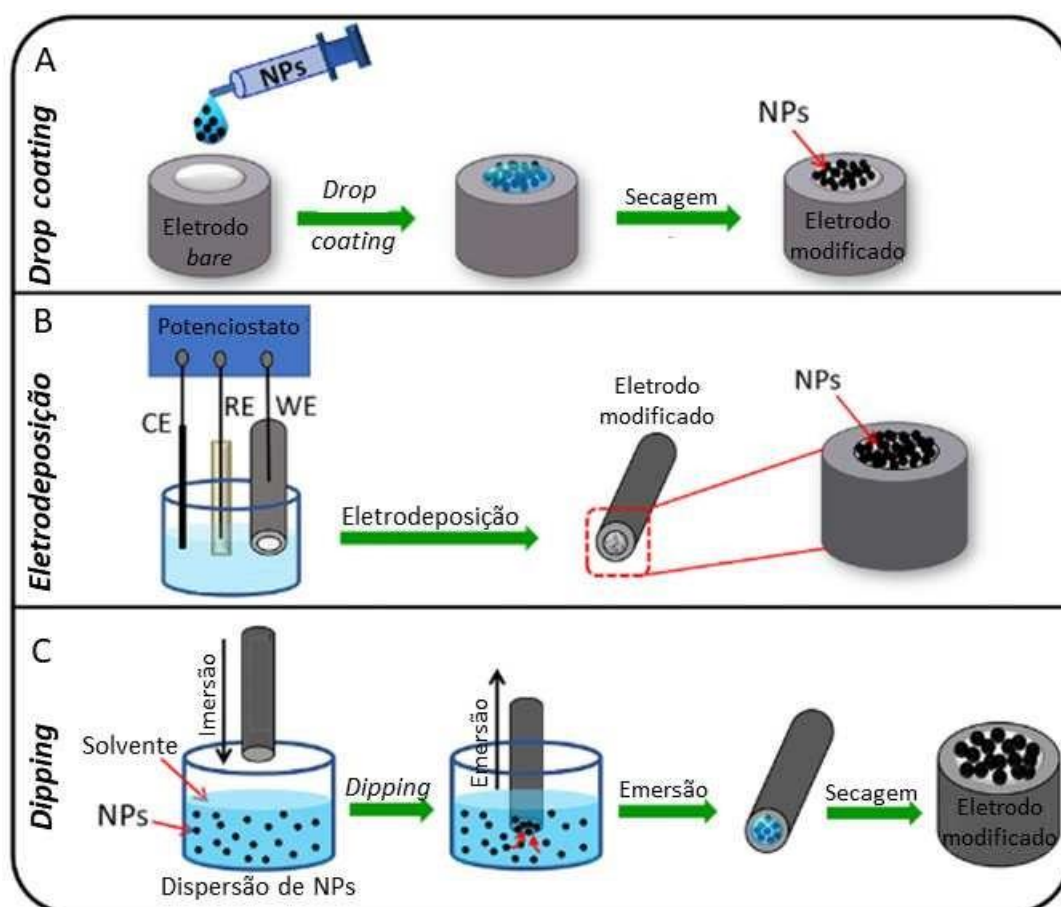
A técnica *drop coating* é um dos métodos mais utilizados, principalmente em rotina de laboratório, para preparar a superfície de eletrodos quimicamente modificados para posterior detecção química. Existem inúmeros artigos de pesquisa relatando a modificação de diferentes eletrodos com NPs usando este método. Um esquema mostrando as etapas do processo é exibido na Figura 3A. Durante esta técnica simples, uma quantidade específica de dispersão de NPs é colocada na superfície do eletrodo e é então deixada para secar em estufa. Este método oferece vantagens de curto tempo de fabricação, nenhum dano de NPs e superfície do eletrodo, simplicidade e reutilização [72,73].

Para a técnica de eletrodeposição (Figura 3B), o eletrodo é mergulhado em uma solução contendo um sal do metal desejado e então, um potencial fixo, corrente ou mesmo voltametria cíclica é aplicada ao eletrodo para reduzir os íons metálicos a metal na superfície do eletrodo. Usando esta técnica para a síntese de NPs, nanoestruturas

com tamanhos variáveis e composição e morfologia bem definidas podem ser obtidas. Porém, algumas desvantagens estão associadas a esta técnica e incluem controle deficiente sobre a distribuição de NPs e aglomeração de NPs na superfície do eletrodo [74].

O método de imersão ou *dipping* também tem sido reconhecido como uma abordagem simples para modificar eletrodos. Ele pode ser aplicado por imersão do eletrodo em uma dispersão contendo as partículas de interesse, conforme ilustrado na Figura 3C. A espessura do filme que revestirá o eletrodo pode ser controlada pelo tempo de imersão, agitação e concentração de partículas na suspensão. Embora este método seja barato, simples e tenha um baixo desperdício de material, uma desvantagem do revestimento por imersão é que o processo é lento e muitas vezes produz um revestimento parcial ou não homogêneo do substrato [75,76].

Figura 3. Ilustração esquemática das várias etapas de modificação do eletrodo com NPs usando (A) *drop coating*, (B) eletrodeposição e (C) *dipping*.



Fonte: Adaptado de ABBAS e AMIN., 2022. Copyright, Elsevier, 2022, Microchemical Journal.

O material utilizado na modificação do eletrodo pode desempenhar um papel crucial na construção de sensores eletroquímicos de alto desempenho. Os avanços em nanociência e nanotecnologia incentivaram os pesquisadores a integrar diferentes nanomateriais na fabricação de eletrodos para obter superfícies mais sensíveis e com seletividade mais aprimorada [77]. Este fato é evidente a partir do grande número de publicações que surgiram nos últimos anos relatando o uso de nanomateriais como modificadores de eletrodos para sensoriamento eletroquímico.

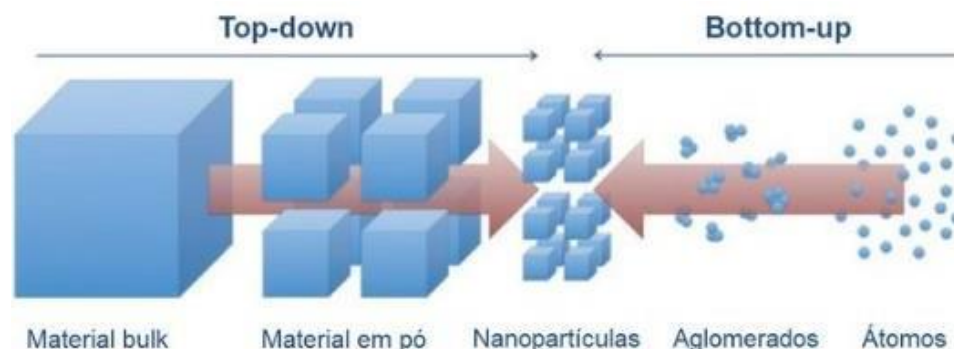
Dentre os nanomateriais empregados na modificação de sensores eletroquímicos, destacam-se a incorporação de nanopartículas metálicas à superfície do eletrodo. Os processos de transferências de elétrons podem ser facilitados com a introdução de certas nanopartículas metálicas na interface de sensores eletroquímicos. Nesse caso, há um efeito adicional atrelado ao aumento da área superficial ativa, com aumento da velocidade de transferência de elétrons, promovendo aumento de sensibilidade [78].

NANOPARTÍCULAS METÁLICAS NA ELETROANÁLISE

Em escala nanométrica, partículas metálicas podem apresentar propriedades físicas e químicas distintas do metal de origem com dimensões maiores que a nanoescala (*bulk*), como por exemplo, propriedades ópticas, magnéticas e catalíticas[79]. Em vista disso, nanopartículas metálicas (MNPs – do inglês, *metal nanoparticles*) apresentam diversas utilidades, como agentes antibacterianos [80] em terapias de câncer [81] e catalisadores de reações orgânicas [82], por exemplo.

Existem dois principais métodos pelas quais as MNPs podem ser preparadas, esquematizados na Figura 4. O primeiro deles, chamado de método físico (*top down*), consiste na subdivisão de metais, ou seja, as partículas são “quebradas” para formar partículas menores até ficarem na escala nanométrica. Já o segundo método, chamado de método químico (*bottom up*), a formação de nanopartículas ocorre com o crescimento de partículas atômicas obtidas a partir de precursores metálicos iônicos ou moleculares [83].

Figura 4. Ilustração dos métodos físico (top down) e químico (bottom up) de síntese de MNPs.



Fonte: Adaptado de VÁZQUEZ, 2015, Elsevier, Nano-and Microwires.

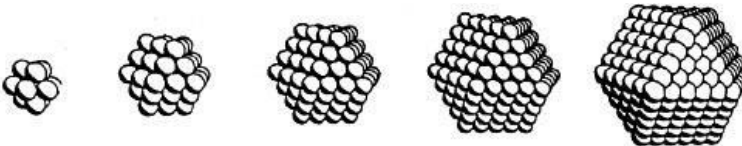
As MNPs preparadas pelo método químico, de modo geral, apresentam tamanho menor e são mais monodispersas que as obtidas com o método físico. Sua etapa mais importante é evitar que o crescimento prossiga, sendo então essencial, e necessário para síntese, o controle da agregação dessas nanopartículas [84].

Dentre os métodos químicos para síntese de MNPs, está a redução de sais precursores de metais de transição, que é um dos métodos mais clássicos, desenvolvido por Michael Faraday em 1857 [85]. O método se resume na adição de um agente redutor ao precursor metálico, na presença de um agente estabilizante. Nesse caso, o tamanho final das MNPs depende de diversos fatores, por exemplo, concentração, temperatura e tempo de reação, além do tipo de estabilizante, do sal metálico e do agente redutor [86]. Podem ser utilizados diversos tipos de redutores, como borohidreto de sódio, ácido gálico, citrato de sódio, entre outros.

Quando dispersas em solventes, nanopartículas metálicas formam suspensões coloidais, uma vez que a faixa de tamanho dessas partículas está compreendida entre 1 nm e 1 μ m. Acredita-se que uma das consequências mais importantes do tamanho reduzido das MNPs, principalmente para catálise, é a maximização da área superficial pois os átomos da superfície normalmente exibem mais reatividade em comparação com os átomos do interior. Logo, a grande área de superfície significa que mais átomos são expostos para as interações [87]. Além disso, a utilização de nanopartículas metálicas na fabricação de eletrodos pode melhorar a transferência de carga e, ao mesmo tempo, pode atuar como eletrocatalisadores na determinação dos analitos [88].

Para MNPs esféricas, o raio é inversamente proporcional à razão superfície/volume. Desse modo, quanto menor a partícula, maior a porcentagem de átomos na superfície, conforme ilustrado pela Figura 5 [89].

Figura 5. Ilustração da diminuição percentual de átomos na superfície com o aumento do raio.



Número de camadas	1	2	3	4	5
Número de átomos na NP	M ₁₃	M ₅₅	M ₁₄₇	M ₃₀₉	M ₅₆₁
Número de átomos na superfície	92%	76%	63%	52%	45%

Fonte: Adaptado de AIKEN et al., 1999. Copyright, 2022, Elsevier.

Além de novas propriedades adquiridas, as MNPs atraem interesse do ponto de vista econômico, pois custos podem ser reduzidos em comparação a eletrodos *bare*, visto que apenas uma fração de material *bulk* é necessária para o preparo de nanopartículas metálicas.

Em relação à determinação de NIM utilizando NPs na modificação de eletrodos, alguns trabalhos já foram publicados, como o de Ghavami e Navaee que sintetizaram nanopartículas de carbeto de silício (SiC) para modificar a superfície de um GCE e investigar as propriedades eletroquímicas do fármaco NIM via voltametria e cronoamperometria. A NIM sofreu redução em pH 2 com um potencial que é deslocado de -526 mV (no GCE) para -387 mV no eletrodo modificado. Simultaneamente, a sensibilidade é aumentada por um fator de 5,8 e o LOD foi de 30 nmol L⁻¹. Esse novo sensor foi aplicado para a determinação de NIM em amostras de soro humano [45].

Um GCE modificado com NPs de óxido de zinco dopado com bário foi usado para estudar o comportamento eletroquímico da NIM e posteriormente aplicado para sua determinação em comprimidos e urina. Nesse trabalho, Bukkitgar et al., constataram que o processo que ocorre na superfície do eletrodo foi controlado por difusão, em pH 7, e o LOD obtido foi de $1,79$ nmol L⁻¹ [44].

Os mesmos autores, Bukkitgar et al., também sintetizaram nanopartículas de TiO_2 para modificar a superfície do eletrodo de GCE para investigar o comportamento de oxidação da NIM utilizando CV e a técnica de DPV. Os LOD e LOQ obtidos foram de $3,37 \text{ nmol L}^{-1}$ e $11,2 \text{ nmol L}^{-1}$, respectivamente. Além disso, eles observaram que dois prótons e dois elétrons estavam envolvidos no mecanismo de reação irreversível e que o processo era controlado por difusão em pH 2 [43].

Há poucos relatos na literatura para determinação de NPX empregando nanopartículas metálicas ou de óxidos de metais.

Tashkhourian et al. desenvolveram um CPE que foi modificado com nanopartículas de ZnO e MWCNTs para a investigação da oxidação eletroquímica do naproxeno em pH biológico. O estudo foi realizado por meio das técnicas de CV, cronoamperometria e SWV. Naproxeno foi detectado em uma faixa de concentração linear de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ por SWV. O LOD obtido foi de $2,3 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e o eletrodo modificado mostrou boa seletividade em relação ao naproxeno na presença de alguns cátions inorgânicos e açúcares [90].

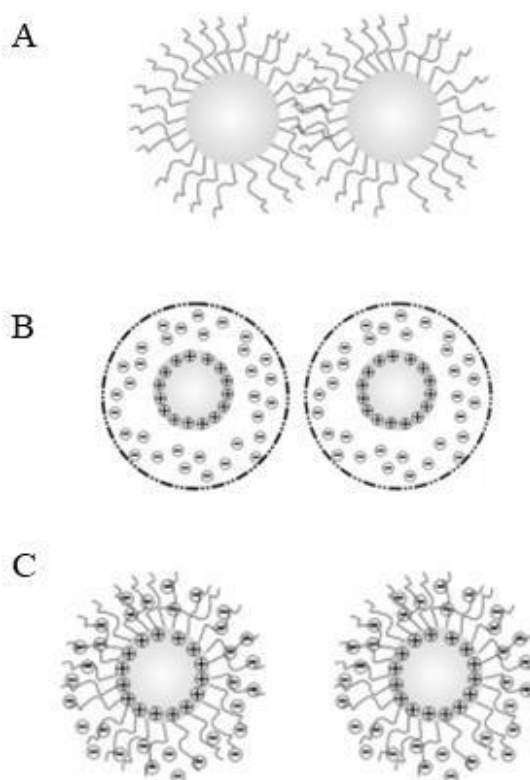
Um sensor eletroquímico modificado com nanopartículas de ouro para análise da composição enantiomérica de NPX foi relatado por Afkhami et al. O método é baseado na diferença entre as interações dos enantiômeros do NPX sobre uma superfície de eletrodo de ouro modificado com nanopartículas de ouro e monocamadas automontadas (SAMs) de L-cisteína. SEM, CV e EIS foram utilizadas para estudar a interação enantiosseletiva entre a superfície quiral e os enantiômeros do NPX. Os autores relataram que os resultados mostraram que o eletrodo modificado é mais estereosseletivo para S-NPX do que para R-NPX. Assim, a nova interface quiral foi empregada para determinar os enantiômeros NPX dentro de misturas, medindo a mudança na corrente de pico com diferentes composições de mistura. Por fim, os resultados sugeriram que o biossensor quiral proposto com alta sensibilidade e seletividade pode ser utilizado para o reconhecimento de enantiômeros do NPX [91].

A elevada área superficial das nanopartículas faz com que elas sejam termodinamicamente instáveis em solução, pois há uma alta energia associada à sua superfície. Como resposta, as mesmas tendem a formar aglomerados, atingindo um estado energético mais favorecido [92]. Essa aglomeração não é desejável, pois pode culminar na perda das novas propriedades apresentadas pelos materiais quando estes se encontram em escala nanométrica. Com o objetivo de prevenir o processo de

aglomeração, faz-se necessária a adição de estabilizantes na síntese de nanopartículas, que atuam via três mecanismos distintos, mostrados na Figura 6.

- A. Estabilização estérica: ocorre na presença de macromoléculas orgânicas ou polímeros volumosos adsorvidos na superfície das nanopartículas;
- B. Estabilização eletrostática: resultante da repulsão coulômbica de uma dupla camada de ânions e cátions que interagem com a superfície das nanopartículas;
- C. Estabilização eletroestérica: ao que se refere à combinação das outras duas formas de estabilização citadas acima, sendo utilizados como por exemplo, polímeros que possuam cargas em sua estrutura [93].

Figura 6. Tipos de estabilização de nanopartículas, (A) estérica, (B) eletrostática e (C) eletroestérica.



Portanto, existe a necessidade que haja uma estabilização adequada para evitar o processo de aglomeração, o que é possível fazendo-se uso de agentes estabilizantes. A escolha do estabilizante é de fundamental importância, pois no caso desse estar associado fracamente ao metal, a estabilização poderá ser ineficiente e poderá ocorrer agregação [94]. A eficácia desta estabilização ocorre pela compensação das forças atrativas de van der Waals, forças repulsivas e/ou eletrostáticas entre íons e contra íons associados [93].

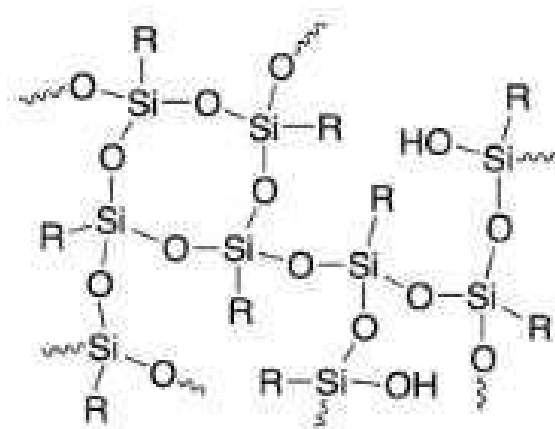
Dentre os estabilizantes existentes e reportados na literatura, podem-se citar polímeros, tais como polivinilpirrolidona (PVP) [95], polietilenoimina (PEI) [96], polietilenoglicol (PEG) [97], líquidos iônicos [98], materiais derivados de grafeno [99] e silsesquioxanos iônicos [100]. Polímeros do tipo silsesquioxano podem estabilizar nanopartículas metálicas, com a capacidade de formar filmes estáveis em substratos sólidos, além de possuírem muitas aplicações como, por exemplo, na fabricação de eletrodos modificados aplicados para fins eletroanalíticos.

SILSESQUIOXANO COMO ESTABILIZANTE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Materiais de sílica se mostram suportes adequados para nanopartículas metálicas, por apresentarem características próprias, tais como rigidez mecânica, inércia química, estabilidade térmica, transparência óptica, entre outros [100].

Os silsesquioxanos são uma classe de materiais híbridos orgânico-inorgânico que contém a estrutura repetida $\text{RSiO}_{1.5}$ onde R é um grupo orgânico ou H. São compostos por uma matriz inorgânica baseada em sílica e grupos pendentos orgânicos que permitem muitas funcionalidades, estão estruturalmente representados na Figura 7 [101].

Figura 7. Estrutura representativa de silsesquioxanos. Estrutura representativa de silsesquioxanos.



Fonte: Adaptado de KANEKO, 2018. Copyright, 2022, Elsevier.

Esses polímeros destacam-se na ciência dos materiais por suas múltiplas funcionalidades em diversas áreas, como adsorção [102], catálise [103] e eletroquímica [104–106].

Também já foi relatado que silsesquioxanos iônicos podem ser usados como estabilizadores de nanopartículas metálicas [100]. Devido ao fato que esses materiais híbridos contam com a presença de um grupo orgânico iônico, eles apresentam significativa solubilidade em água [107]. Portanto, da mesma forma que os líquidos iônicos, podem ser utilizados como estabilizadores de nanopartículas metálicas [108]. Porém, em comparação com os líquidos iônicos, os sistemas nanopartícula metálica/silsesquioxano iônico apresentam vantagens, pois os solventes podem ser evaporados, o material transformado em forma sólida, armazenados e completamente redispersos em água, sem alterações nas propriedades ópticas e morfológicas das nanopartículas metálicas [109]. Dessa maneira, esses sistemas abrem a possibilidade de utilizá-los em conjunto de nanopartículas metálicas na preparação de novos materiais.

Adicionalmente, os silsesquioxanos iônicos possuem também o componente de sílica inorgânica, que contém grupos silanol polimerizáveis, permitindo a obtenção de materiais híbridos com conteúdo orgânico/inorgânico variado [110,111]. Assim sendo, possibilitam a obtenção de filmes de silsesquioxano ligados covalentemente sobre sílica ou outras superfícies de matrizes inorgânicas [107,108]. Em vista disso, com essas características combinadas, os silsesquioxanos iônicos, contendo nanopartículas

metálicas, tornaram-se promissores para a preparação de filmes fortemente aderidos sobre superfícies inorgânicas, para serem aplicados na área de sensores eletroquímicos.

Um material híbrido orgânico-inorgânico denominado nitrato de 3-*n*-propil (4-metilpiridínio)silsesquioxano ($\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$) foi utilizado como agente estabilizador de nanopartículas de prata. O material resultante foi aplicado como sensor eletroquímico para determinação de 4-nitrofenol em amostras de água de rio [112]. Além da capacidade de estabilizar nanopartículas metálicas, o $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ é um material atraente para modificação de superfície de eletrodos devido às propriedades de formação de filme deste material em substratos sólidos.

Gerent et al. também utilizaram um material silsesquioxano $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$ como estabilizantes de nanopartículas de magnetita e platina para a detecção eletroquímica individual e simultânea de isômeros de nitrofenol em amostras de água de chuva e urina humana [113].

Outro polímerohíbrido $\text{Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$, designado como cloreto de 3-*n*-propil-4-(dimetilamino)piridínio silsesquioxano, foi sintetizado e utilizado como suporte para o complexo tetrassulfonado de cobalto(II) (CoTsPc), empregado na modificação de um GCE. O sensor eletroquímico GCE/ $\text{CoTsPc-Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$ foi aplicado para determinação de nifedipina e seu metabólito (dehidronifedipina) [114].

Dentre as nanopartículas metálicas estabilizadas por materiais do tipo silsesquioxano estão $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ [115], AgNPs [112], AuNPs [116,117], entretanto, pouco se é conhecido da exploração de outras nanopartículas metálicas com estes materiais híbridos de silsesquioxano.

NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO

Nanopartículas de metais nobres podem ser usadas como catalisadores ou para modificar as superfícies de materiais semicondutores visando melhorar o desempenho de detecção de sensores eletroquímicos. Entre as nanopartículas de metais nobres, as nanopartículas de paládio (PdNPs) têm custos relativamente baixos em relação às nanopartículas de ouro e platina [118].

As PdNPs tem sido amplamente utilizadas em diversas áreas da química, como catalisadores homogêneos e heterogêneos de compostos nitroaromáticos em química orgânica [119–121], em células à combustível [122], no campo da biomedicina

[123,124] e na determinação de diversos analitos [125–127]. Além disso, devido à alta estabilidade térmica, estabilidade química, propriedades eletrônicas e propriedades ópticas, as PdNPs são amplamente utilizadas no desenvolvimento de sensores eletroquímicos [128].

Uma aplicação bastante explorada das PdNPs em sensores é na detecção de glicose. Niu et al. sintetizaram com sucesso novas nanofolhas de Pt-Pd (Pt-PdNFs) com uma grande superfície ativa em substratos de eletrodo de filme de ouro impresso em tela (SPGFE) por eletrodeposição. Os resultados revelaram que a nanoestrutura de Pt-Pd proposta pode fornecer atividade eletrocatalítica preeminente e excelente seletividade para detecção de glicose livre de enzimas em condições fisiológicas simuladas, principalmente devido à sua estrutura atrativa, grande superfície ativa e potencial aplicado apropriado. O Pt-PdNFs/SPGFE resultante ofereceu respostas lineares de corrente para glicose com o limite superior de concentração de 16 mmol L^{-1} [129].

Um material nanoestruturado baseado em PdNPs suportadas sobre grafeno reduzido foi sintetizado, caracterizado e aplicado na análise de sensibilidade de antidepressivos em amostras de urina por Cincotto et al.. A voltametria de pulso diferencial, em solução tampão fosfato a pH 7,0 permitiu o desenvolvimento de um método para determinar os níveis de desipramina no faixa de $0,3\text{--}2,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção (LOD) estimado em $1,04 \text{ nmol L}^{-1}$. Por fim, os autores relataram que o sistema foi adequado na detecção de desipramina em amostras de urina [130].

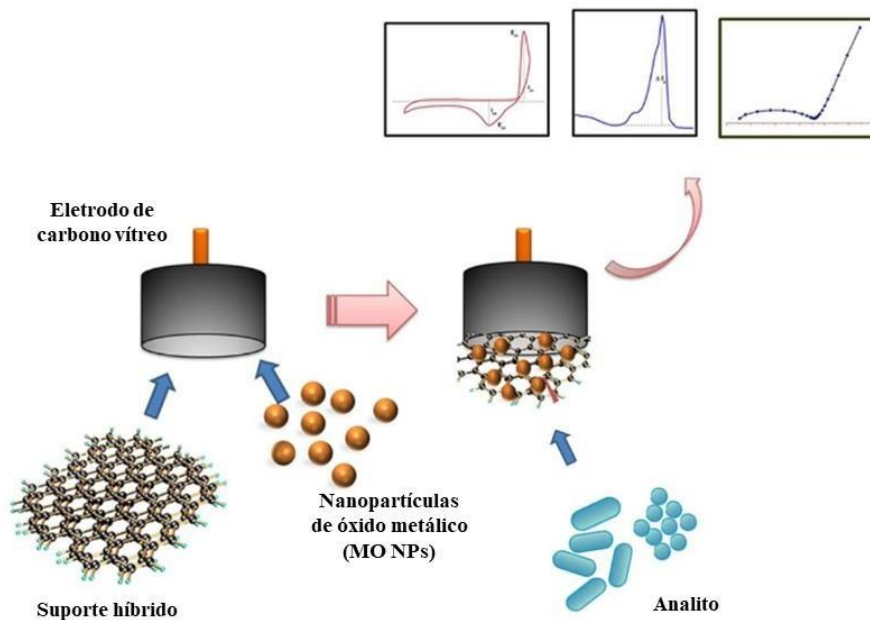
Wu et al. propuseram um GCE modificado com nanopartículas de paládio e grafeno funcionalizadas com poli (cloreto de dialildimetilamônio) (PDDA-Gr/PdNPs-GCE) para determinação de triclosan. A resposta eletroquímica do triclosan no PDDA-Gr/PdNP-GCE foi bastante aprimorada em comparação com o PDDA-Gr/GCE ou o GCE nu. O LOD foi estimado em $3,5 \text{ nmol L}^{-1}$. Além disso, o sensor eletroquímico apresentou reprodutibilidade superior, excelente desempenho quanto a seletividade e estabilidade a longo prazo. Além disso, os autores relataram que o método é promissor para a determinação de traços de triclosan em amostras de água [131].

NANOPARTÍCULAS DE COBALTITA DE NÍQUEL

Novos dispositivos baseados em nanopartículas de óxidos metálicos (MO NPs – do inglês, *metal oxide nanoparticles*) estão sendo amplamente explorados para o sensoriamento eletroquímico [132–136]. Essas MONPs exibem diversas propriedades elétricas e fotoquímicas devido ao seu tamanho, estabilidade e alta área superficial. As principais funções dessas nanopartículas metálicas em eletroanálise envolvem a robustez da interface condutora, as propriedades catalíticas das NPs permitindo sua expansão com metais [137].

Algumas desvantagens da utilização das MO NPs são que elas têm amplo *band gap* que as torna semicondutores ou mesmo isolantes, cinética de transporte iônico diminuída e a possível pulverização do filme do eletrodo, resultante da expansão e contração de volume pronunciada durante os processos de carga/descarga [138,139]. Entretanto, essas dificuldades podem ser facilmente superadas utilizando hibridização com materiais carbonáceos e polímeros (Figura 8).

Figura 8. Representação esquemática de nanopartículas de óxido metálico em sensoriamento eletroquímico.



Fonte: Adaptado de GEORGE, 2018. Copyright, 2022, Springer.

O acoplamento de duas espécies metálicas pode conferir às MO NPs melhor condutividade eletrônica e as tornarem vantajosas para aplicações eletroquímicas [140].

Por isso, diversas pesquisas estão focadas no extraordinário desempenho eletroquímico de óxidos metálicos mistos com estrutura espinélio como materiais de armazenamento de energia. Em particular, os óxidos de espinélio metálico à base de cobalto $M\text{Co}_2\text{O}_4$ ($M = \text{Ni}, \text{Cu}, \text{Zn}, \text{Mn}, \text{etc.}$) são de grande interesse tecnológico [88].

A cobaltita de níquel, NiCo_2O_4 , é considerada um material de destaque em virtude de seus atributos como baixo custo, baixa toxicidade e capacidade de se manifestar em diferentes nanoestruturas com propriedades eletroquímicas aprimoradas [141]. Uma vez que possui sítios eletroativos ricos, boa condutividade elétrica, estrutura espinélio estável e condutividade elétrica mais alta que as nanopartículas de NiO e Co_3O_4 . A condutividade elétrica tem a seguinte ordem: $\text{NiCo}_2\text{O}_4 > \text{NiO} > \text{Co}_3\text{O}_4$. Além disso, a estrutura mesoporosa dessas nanopartículas NiCo_2O_4 que fornece alta porosidade e sítios eletroativos mais disponíveis para moléculas alvo [142].

Nanopartículas de NiCo_2O_4 já foram fabricadas com várias morfologias, incluindo nanoflores [143], em forma de ouriço [144], nanofolhas [145], nanoagulhas [146], nanobastões [147], tipo dente-de-leão [148] e nanoesferas [149].

Em vista dessas diversas propriedades, as nanopartículas de NiCo_2O_4 são amplamente empregadas na fabricação de sensores eletroquímicos. Nanopartículas de NiCo_2O_4 foram preparadas por Huang et al. e mostraram ter uma nanoestrutura esférica oca e porosa. Os autores relataram que essa excelente estrutura permite que o material tenha uma grande área de superfície e uma forte capacidade de transferência de elétrons. Assim, as nanopartículas de NiCo_2O_4 foram utilizadas na modificação de uma GCE e aplicadas para determinação de glicose. O novo sensor de glicose não enzimático mostrou ter uma boa faixa linear de $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ a $2,24 \text{ mmol L}^{-1}$, e LOD de $0,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ [150].

Ainda, Cui et al. relataram que um GCE modificado com óxido de grafeno reduzido decorado com NiCo_2O_4 mesoporoso ($\text{NiCo}_2\text{O}_4/\text{rGO}$) foi aplicado pela primeira vez para a determinação eletroquímica de rutina. Segundo os autores, o sensor não apenas mostrou uma faixa linear satisfatória ($0,1\text{--}150 \text{ } \mu\text{ mol L}^{-1}$) e limite de detecção ($0,01 \text{ } \mu\text{ mol L}^{-1}$), mas também exibiu seletividade, baixo preço, alta estabilidade, bem como precisão e exatidão adequada [151].

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Desenvolver, caracterizar e aplicar novos eletrodos quimicamente modificados com nanopartículas de paládio e cobaltita de níquel, estabilizados em materiais de silsesquioxano, para serem empregados na determinação de dois fármacos da classe dos NSAIDs, nimesulida e naproxeno, em amostras ambientais de água e amostras simuladas de urina e soro.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Síntese e caracterização dos eletrodos modificados com Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ e NiCo₂O₄:TiO₂- Si4DMAP⁺Cl⁻

- Sintetizar nanopartículas de paládio, estabilizadas em Si4Pic⁺NO₃⁻, utilizando como precursor o sal acetato de paládio;
- Sintetizar as nanopartículas NiCo₂O₄:TiO₂ e estabilizar no polímero de silsesquioxano Si4DMAP⁺Cl⁻;
- Caracterizar morfologicamente as nanopartículas sintetizadas e estabilizadas nos polímeros de silsesquioxano empregando microscopia eletrônica de transmissão, UV-Vis, potencial zeta, infravermelho e DRX;
- Preparar eletrodos modificados com filmes de Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ e NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP⁺Cl⁻;
- Realizar caracterizações eletroquímicas da superfície dos GCE modificado com Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ e NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP⁺Cl⁻ através da voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica.

Determinação de nimesulida utilizando o eletrodo GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻

- Avaliar o comportamento eletroquímico da NIM sobre a superfície do eletrodo modificado GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻;
- Otimizar os parâmetros experimentais como pH, eletrólito suporte e técnica voltamétrica a fim de obter o melhor compromisso entre perfil e intensidade da resposta eletroanalítica;
- Obter a curva de calibração para determinação da NIM, a faixa linear e seus valores de LOD e LOQ;
- Quantificar NIM em amostras ambientais de água e em amostras de urina sintética e soro simulado;
- Avaliar a exatidão dos resultados obtidos utilizando o novo eletrodo modificado através de método comparativo.

Determinação de naproxeno utilizando o eletrodo GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP⁺Cl⁻

- Avaliar o comportamento eletroquímico do NPX sobre a superfície do eletrodo modificado GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP⁺Cl⁻;
- Otimizar os parâmetros experimentais como pH, eletrólito suporte e técnica voltamétrica a fim de obter o melhor compromisso entre perfil e intensidade da resposta eletroanalítica;
- Obter a curva de calibração para determinação do NPX, a faixa linear e seus valores de LOD e LOQ;
- Quantificar NPX em amostras ambientais de água e em amostras de urina sintética;
- Avaliar a exatidão dos resultados obtidos utilizando o novo eletrodo modificado através de testes de recuperação.

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

CAPÍTULO 3 - MATERIAIS E MÉTODOS

REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico e utilizados sem prévia purificação. As soluções aquosas foram todas preparadas com água ultrapura, obtidas em um sistema Milli-Q (Millipore, EUA) com resistividade de 18,2 M Ω cm. Soluções estoque de nimesulida e naproxeno na concentração de 5 mmol L⁻¹ foram preparadas em etanol para a realização dos experimentos. No Quadro 2 estão descritos os reagentes utilizados durante o trabalho.

Quadro 2. Reagentes utilizados nos processos de síntese e aplicação.

Reagente e solventes	Fórmula	Procedência	Pureza
Álcool etílico	C ₂ H ₅ OH	Vetec	≥99,5%
Ácido clorídrico	HCl	Synth	37,0%*
Hidróxido de sódio	NaOH	Vetec	99%
Borohidreto de sódio	NaBH ₄	Vetec	>98,0%
Nitrato de prata	AgNO ₃	Nuclear	99,8%
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	Ecibra	99,5%
Ácido acético	CH ₃ COOH	Vetec	99,7%
Ácido fosfórico	H ₃ PO ₄	F. Maia	85%
Fosfato de sódio monobásico	NaH ₂ PO ₄	Merck	99,0 – 102,0%
Fosfato de sódio dibásico	Na ₂ HPO ₄	Merck	≥99,0%
Pipes	C ₈ H ₁₈ N ₂ O ₆ S ₂	Sigma-Aldrich	≥99,0%
Formiato de amônio	NH ₂ HCO ₂	Merck	≥99,99%
Ácido etanossulfônico	C ₂ H ₆ O ₃ S	Vetec	99,5%
Ferricianeto de potássio	K ₃ (FeCN) ₆	Sigma-Aldrich	98,5%
Ferrocianeto de potássio	K ₄ (FeCN) ₆	Sigma-Aldrich	99%
Acetato de paládio	C ₄ H ₆ O ₄ Pd	Sigma-Aldrich	99,98%
Acetonitrila	C ₂ H ₃ N	Vetec	≥99,5%
Nimesulida	C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O ₅ S	Sigma-Aldrich	
Naproxeno	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	Sigma-Aldrich	

*Teor em água

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

Todas as medidas de pH foram realizadas usando um pHmetro da marca Ohaus, modelo Starter 3100. Um ultrassom UNIQUE (UNIQUE, São Paulo, Brasil) modelo Ultra Cleaner 800 foi utilizado no preparo de algumas soluções, para auxiliar na solubilização dos reagentes.

A espectrometria UV-Vis foi utilizada como método comparativo para fornecer dados para a avaliação da exatidão na determinação de nimesulida. As análises foram realizadas em um espectrofotômetro UV-1800 da marca Shimadzu e controlados por um computador com o software UVProbe (versão 2.50). Foi utilizada uma cubeta de quartzo de caminho ótico de 1,0 cm e a absorbância foi determinada a 390 nm para NIM [152] através do método de adição do padrão. Todas as medidas foram realizadas em triplicatas em temperatura ambiente.

As análises de microscopia foram obtidas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC, em um microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM-1011 operando a 100 kV. O preparo das amostras foi realizado com o gotejamento das dispersões sobre um *grid* de cobre recoberto com carbono (*300 mesh*) e mantida a temperatura ambiente até total evaporação de solventes. O tamanho das nanopartículas (diâmetro) foi determinado pela média de contagem manual de várias imagens utilizando o software ImageJ.

Experimentos de SAXS (espalhamento de raios X a baixo ângulo) foram realizados na linha de luz SAXS1 do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), em Campinas, SP. As suspensões de PdNP foram inseridas na célula assim que preparadas, iniciando-se as leituras. A célula é composta por duas janelas de mica, separadas por 1 mm, perpendicular ao feixe, sob vácuo e temperatura controlada.

Medidas de potencial- ζ para PdNPs foram realizadas em um espectrômetro Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK) em temperatura constante de 25 ± 1 °C.

A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi realizado em espectrofotômetro infravermelho Bruker, modelo Alpha, utilizando pastilha KBr.

As análises de raios X foram realizadas em um Xpert PRO MPD (Multi-Purpos e Diffractometer) com radiação Cu $K\alpha$ a uma velocidade de varredura de 0.1° s^{-1} $2\theta = 10$ - 100° .

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato Palm Sens® (Palm Instruments BV, The Netherlands), interfaceado a um computador com o software PSTrace versão 5.2 para a aquisição e processamento de dados. Utilizou-se uma

célula eletroquímica convencional de três eletrodos, sendo o eletrodo de Ag/AgCl saturado em KCl como eletrodo de referência; fio de platina (Pt) como contra eletrodo, e os eletrodos de trabalho denominados como GCE, GCE/Si4Pic⁺NO₃⁻ e GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ (para determinação de NIM); GCE, GCE/Si4DMAP⁺Cl⁻ e GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP (para determinação de NPX).

Para espectroscopia de impedância eletroquímica foi utilizada a sonda K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹ e medidas foram realizadas utilizando potenciostato/galvanostato Palm Sens³ (Palm Instruments BV, The Netherlands), interfaceado a um computador com o software PS Trace 5.2.

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Síntese e caracterização de PdNP estabilizadas em Si4Pic⁺NO₃⁻

A síntese e caracterização do polímero, utilizado como estabilizante, cloreto de 3-*n*-propil(4-metilpiridínio) silsesquioxano (Si4Pic⁺NO₃⁻) é conhecida e estudada por Crocomo et al. [112].

A síntese das Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ foi realizada a partir de 5,0 mL de uma solução aquosa contendo 100 mg do silsesquioxano, a qual foi misturada com 1,0 mL de uma solução 4 × 10⁻³ mol L⁻¹ de acetato de paládio Pd(OAc)₂ e mantida sob agitação por 10 minutos à temperatura ambiente. Foram então adicionados 5 mL de uma solução 0,02 mol L⁻¹ de borohidreto de sódio (NaBH₄) e a solução mantida em agitação por mais alguns minutos. Verificou-se a formação de nanopartículas de paládio através da mudança de coloração da solução, de transparente para marrom claro. A suspensão final foi armazenada a 4 °C.

Essa suspensão final foi caracterizada por UV-Vis, microscopia eletrônica de transmissão (TEM), espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS) e potencial-zeta (ζ).

Síntese e caracterização de NiCo₂O₄:TiO₂ estabilizadas em Si4DMAP⁺Cl⁻

A síntese e caracterização do cloreto de 3-*n*-propil-4-(dimetilamino)piridínio silsesquioxano (Si4DMAP⁺Cl⁻), polímero utilizado como estabilizante para essas nanopartículas, é conhecida e reportada na literatura por Winiarski et al. [114].

Nanopartículas de cobaltita de níquel foram sintetizadas pelo método de combustão usando ureia como combustível. Em um cadinho uma quantidade estequiométrica (1:2) de nitrato de níquel hexahidratado e nitrato de cobalto hexahidratado foram dissolvidos em 5 mL de água. A mistura foi agitada e foi adicionada ureia (4 eq.), após a homogeneização a mistura foi aquecida até o ponto de ignição, obtendo-se um sólido preto que se apresentou magnético

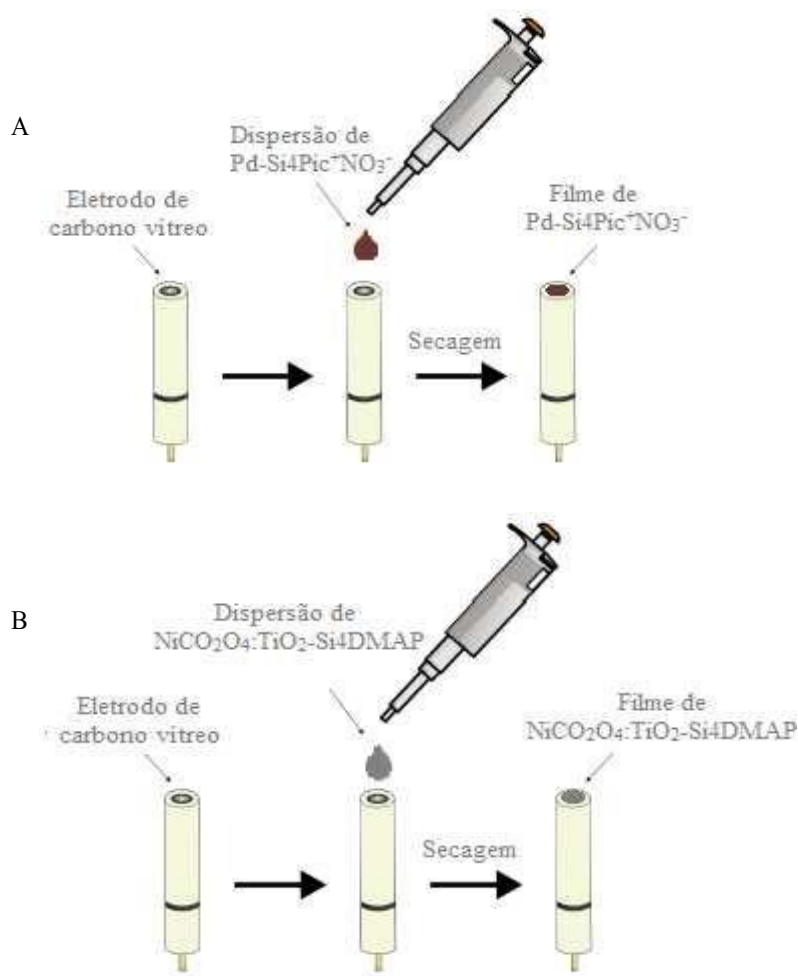
Após, procedeu-se com a síntese das nanopartículas de $\text{NiCo}_2\text{O}_4:\text{TiO}_2$, utilizadas nesse trabalho. Em um cadinho 135,3 mg de NiCo_2O_4 foram dispersas em 5,50 mL de metanol, posteriormente, adicionou-se 3,70 mL de etilenoglicol, 3,21 g de ácido cítrico (16,7 mmol) e 500 mL de TIP (1,69 mmol). Após a homogeneização, a mistura foi aquecida (110°C – 120°C) até a formação do gel que levou 12 h para ser formado. Então, macerou-se o gel e o material resultante foi calcinado a 350°C por 5 h.

As nanopartículas de $\text{NiCo}_2\text{O}_4:\text{TiO}_2$ foram caracterizadas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e difração de raio X (DRX).

Preparação de eletrodos de carbono vítreo modificados

Inicialmente, a superfície do GCE foi cuidadosamente polida com uma suspensão de alumina $0,05\ \mu\text{m}$, lavada e sonicada com água destilada por 5 minutos. Em seguida, os eletrodos modificados foram preparados pelo método *drop coating*, utilizando uma alíquota de $3\ \mu\text{L}$ da suspensão de $\text{Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ ou $\text{NiCo}_2\text{O}_4:\text{TiO}_2\text{-Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$ sobre o GCE. Após, o solvente foi evaporado em estufa a 30°C por aproximadamente 10 minutos. Os eletrodos modificados foram então designados como $\text{GCE/Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ e $\text{GCE/NiCo}_2\text{O}_4:\text{TiO}_2\text{-Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$. A Figura 9 ilustra o processo de modificação do eletrodo de carbono vítreo com (a) $\text{Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ e (b) $\text{NiCo}_2\text{O}_4:\text{TiO}_2\text{-Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$.

Figura 9. Esquema da preparação de eletrodos de carbono vítreo modificados com (A) Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ e (B) NiCo₂O₄:TiO₂- Si4DMAP⁺Cl⁻.



Fonte: O autor.

Eletroquímica da NIM e do NPX em diferentes arquiteturas de eletrodos

Medidas voltamétricas foram realizadas com os eletrodos modificados (GCE/Si4Pic⁺NO₃⁻ e GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻) na presença de nimesulida (concentração de 50 μmol L⁻¹), e nos eletrodos modificados (GCE/Si4DMAP⁺Cl⁻ e GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP⁺Cl⁻) na presença de naproxeno (concentração de 50 μmol L⁻¹). Todos os ensaios foram realizados em uma célula contendo 10,0 mL de eletrólito suporte (inicialmente uma solução tampão Britton-Robinson), na faixa de pH compreendida entre 2,0 e 10,0 à temperatura ambiente (23±1 °C). Também foram conduzidas medidas comparativas em um eletrodo sem modificação (GCE). A fim de evitar a interferência de oxigênio molecular nas

análises (para redução de NIM), N₂ gasoso foi borbulhado durante 7 minutos. Após, foram realizados estudos de velocidade de varredura, efeito de pH, influência do eletrólito suporte e diferentes técnicas voltamétricas. Os parâmetros da técnica voltamétrica escolhida foram otimizados e o método de adição padrão foi usado para construção das curvas de calibração. Por fim, foi realizada a determinação de nimesulida e de naproxeno em amostras ambientais e biológicas.

Preparo das amostras

As amostras ambientais de água foram coletadas próximo ao município de Santa Cruz do Sul – Linha Andreas (-29.69123,-52.49724), no estado do Rio Grande do Sul. As amostras foram filtradas para remover qualquer matéria sólida e armazenadas a 4°C.

As amostras de soro sanguíneo simulado foram preparadas de acordo com o método já descrito na literatura [153]. Para isso, foram adicionados os reagentes a seguir em um balão volumétrico de 250 mL: NaCl (1,3 g), NaHCO₃(0,16 g), glicina (2,3 mg), triptofano (3,5 mg), tirosina (3,7 mg), serina (3,2 mg), fenilalanina (6,6 mg), lisina (9,1 mg), histidina (6,3 mg), ácido aspártico (0,029 g), arginina (10 mg), alanina (9,1 mg) e cisteína (7,0 mg).

A urina sintética *Surine*TM é um material de referência certificado, adquirido da Sigma-Aldrich.

Todas as amostras foram fortificadas com NIM ou NPX com uma concentração conhecida dos analitos e uma alíquota foi adicionada à célula eletroquímica já contendo 10 mL do eletrólito suporte, conforme relatos anteriores [154].

CAPÍTULO 4
RESULTADOS E DISCUSSÃO -
DETERMINAÇÃO DE
NIMESULIDA

CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO DA DETERMINAÇÃO DE NIMESULIDA UTILIZANDO UM ELETRODO MODIFICADO COM NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO

Publicado em: **Journal of Electroanalytical Chemistry** 920 (2022) 116622.

Neste capítulo, serão apresentados e discutidos os resultados do método eletroanalítico desenvolvido para a determinação de nimesulida em amostras ambientais de água e amostras de fluidos biológicos simulados empregando o eletrodo modificado GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻.

4.1. CARACTERIZAÇÃO DAS PDNPS

A síntese e caracterização do cloreto de 3-n-propil(4-metilpiridínio) (Si4Pic⁺Cl⁻), aplicado como estabilizantes de nanopartículas de ouro [155] e platina [113], já é bem estabelecida na literatura. A estratégia inicial deste trabalho era preparar PdNPs usando Si4Pic⁺Cl⁻ e PdCl₂ como precursores. A síntese das PdNPs foi alcançada, porém, as nanopartículas eram instáveis e duas horas após o procedimento de síntese das PdNPs com Si4Pic⁺Cl⁻ a dispersão apresentou coloração alaranjada (característica do sal de paládio), indicando que a redução do Pd não foi efetiva. Esse resultado pode ser explicado pela constante de estabilidade do complexo [PdCl₄]²⁻ (logβ₄ = 11,54) [156], como o cloreto é o contra-íon na solução de Si4Pic⁺Cl⁻, o Cl⁻ presente desloca o equilíbrio para a formação de tetracloropaladato, tornando a dispersão das nanopartículas instável.

Como alternativa, a troca iônica de Cl⁻ para NO₃⁻ foi proposta, conforme já descrito por Crocomo et al [112], a fim de evitar esse deslocamento de equilíbrio e outro precursor de sal de paládio foi escolhido para a nova síntese. Assim, foram utilizados Pd(OAc)₂ e Si4Pic⁺NO₃⁻ como materiais de partida para a síntese das PdNPs.

Ao adicionar o agente redutor, NaBH₄, sobre a solução de Pd(OAc)₂ já em contato com a solução do polímero Si4Pic⁺NO₃⁻, observou-se uma mudança na coloração de amarelo claro para a marrom (Figura 10), sendo esse o primeiro indício da formação de nanopartículas, indicando a redução de Pd²⁺ para Pd⁰, formando PdNPs estabilizados em Si4Pic⁺NO₃⁻ (Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻).

Figura 10. Colorações da solução do material $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ e da suspensão de $\text{Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$.

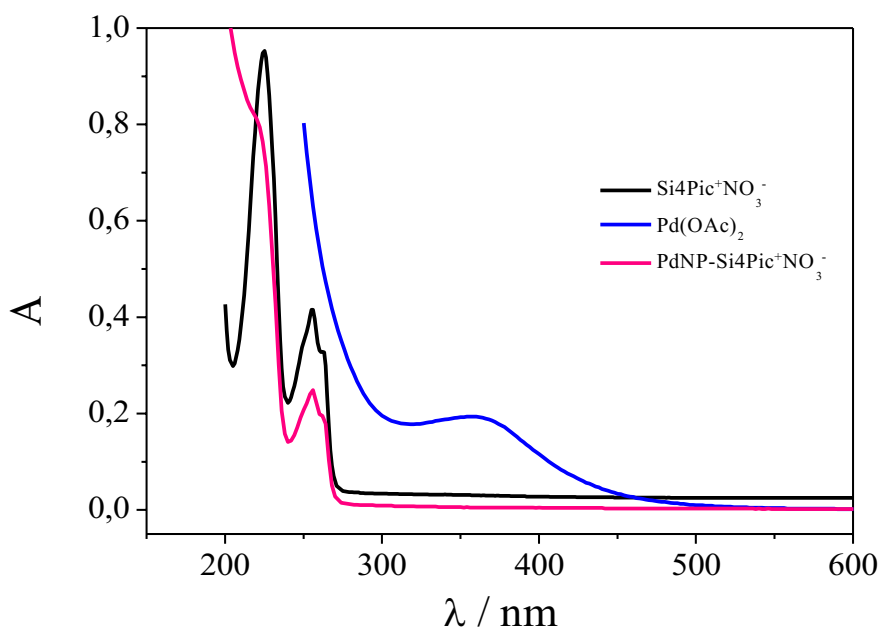


Fonte: O autor.

A caracterização por espectrofotometria no UV-Vis foi utilizada como técnica primária para verificar a formação das PdNPs (Figura 11). Os grupamentos orgânicos presentes no material $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ possuem cromóforos que apresentam absorção na região do ultravioleta-visível. Duas bandas na região ultravioleta podem ser observadas para o espectro de $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$, uma de menor energia em 256 nm, referente à transição $\pi-\pi^*$ do anel piridínico e outra de maior energia em 225 nm, atribuída à transição do tipo π -stacking dos diversos grupamentos piridínicos presentes no material [157]. Essas mesmas bandas estão presentes também no espectro para as PdNPs estabilizadas em $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ confirmando a estabilização das PdNPs pelo material de silsesquioxano.

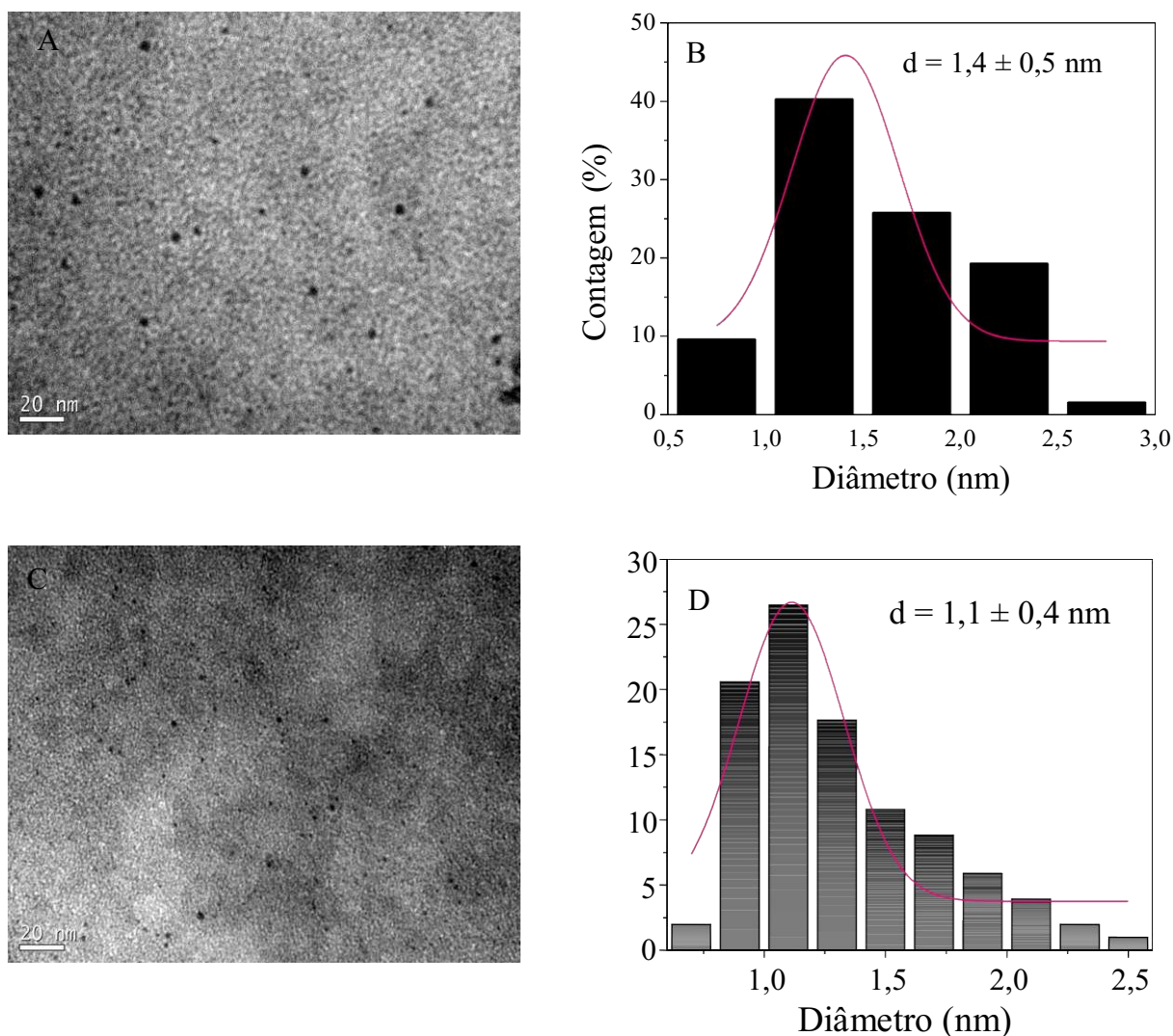
Além disso, o espectro de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ possui uma banda de absorbância na região de 360 nm que é atribuída à transferência de carga do ligante acetato para o íon metálico Pd^{2+} [158]. Logo, o desaparecimento dessa banda de absorção após a reação com NaBH_4 (curva de absorbância em rosa) sugere a redução dos íons Pd^{2+} para Pd^0 [159], além da mudança de coloração da suspensão já observada.

Figura 11. Espectro de absorção na região de UV-Vis do material $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$, do sal $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ e das nanopartículas de paládio estabilizadas no silsesquioxano $\text{Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$.



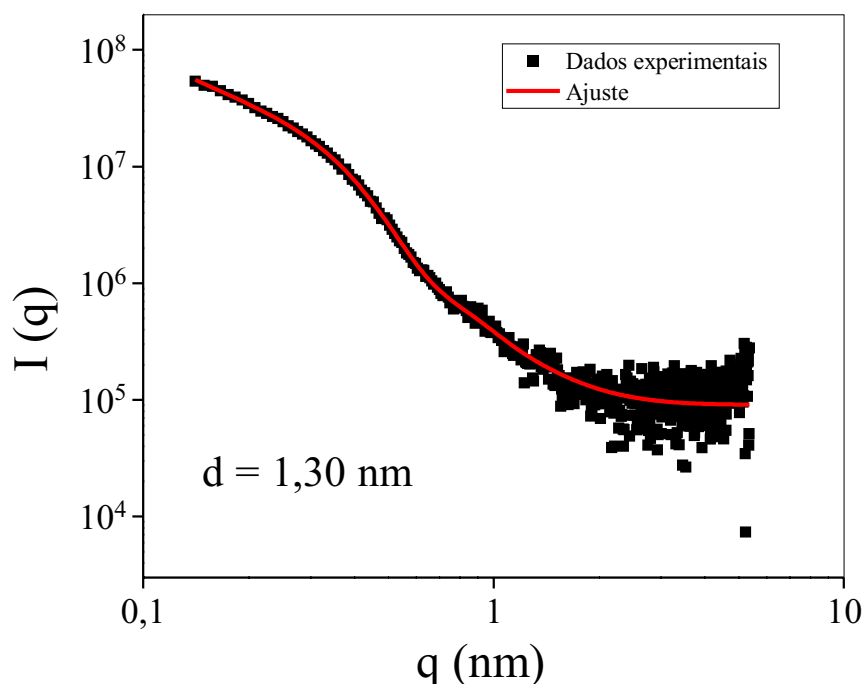
A caracterização de $\text{Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ também foi realizada por análise de TEM. A Figura 12A mostra a imagem de TEM para $\text{Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$, onde pode ser observado que as nanopartículas de paládio sintetizadas têm formato esférico e encontram-se dispersas no silsesquioxano. O tamanho médio das partículas de 1,4 nm foi estimado através do histograma de distribuição de tamanho de nanopartículas (Figura 12B) obtido pela medida do diâmetro de aproximadamente 100 nanopartículas de diferentes imagens. Além disso, as PdNPs apresentaram excelente estabilidade em $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ após dois anos, as imagens de TEM da mesma dispersão foram obtidas e a forma (Figura 12C) e o tamanho (Figura 12D) das PdNPs permaneceram os mesmos, indicando a ótima estabilização das PdNPs pelo polímero de silsesquioxano.

Figura 12. (A) Imagem de TEM e (B) distribuição do tamanho das PdNPs estabilizadas em $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$, (C) imagem de TEM de Pd- $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ após dois anos com mesma forma e (D) tamanho.



A técnica de espalhamento de raios X a baixos ângulos, SAXS, é utilizada para o estudo das características estruturais e físicas de materiais na faixa de tamanho correspondente a colóides, por meio da caracterização da forma e tamanho médio das partículas. Qualquer forma de espalhamento é definida por uma lei de reciprocidade, que fornece uma relação inversa entre o ângulo de espalhamento e o tamanho da partícula [160]. O ajuste dos dados experimentais da análise por SAXS mostrou concordância com o modelo esférico e levou a valores de 1,3 nm para o diâmetro médio das nanopartículas (Figura 13), que corrobora com os dados extraídos da análise por TEM.

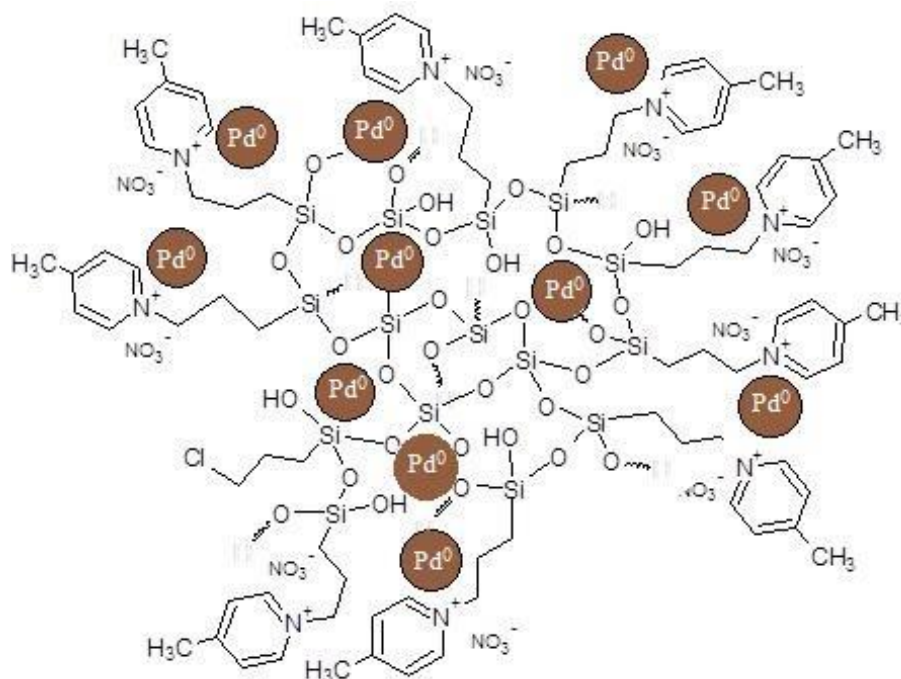
Figura 13. Curva de espalhamento ajustada pela contribuição dos modelos de Esfera e Beaucage.



O potencial- ζ mostra detalhes sobre as cargas superficiais e a estabilidade de nanopartículas e, por isso, pode ser empregado para estimar o tipo de estabilização que ocorre entre as nanopartículas e o agente estabilizante. Além disso, é geralmente utilizado como um índice da magnitude da interação eletrostática entre partículas coloidais [161]. O potencial- ζ foi medido para a dispersão de Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ e valor obtido foi de +30,2 mV, indicando que as nanopartículas estão com cargas positivas em sua superfície.

Os valores de potencial- ζ acima de 25 mV referem-se a partículas que apresentam superfícies altamente carregadas, entretanto, somente valores acima de 40 mV podem ser considerados estabilização totalmente eletrostática [162]. Como a suspensão obtida apresentou um valor de potencial- ζ abaixo deste valor, pode-se inferir que a estabilização estérica também contribui evitando a agregação das nanopartículas. Sendo assim, pode-se considerar que o material Si4Pic⁺NO₃⁻ atua como estabilizante eletroestérico das PdNP. Este tipo de estabilização já havia sido observado por Winiarski et al. que utilizaram o material silsesquioxano Si4Pic⁺Cl⁻ como estabilizante de AuNP. Como o tipo de estabilização é análogo, o esquema apresentado na Figura 14 é referente à estrutura do Si4Pic⁺NO₃⁻ e a estabilização do tipo eletrostática e estérica oferecida pela cadeia do silsesquioxano para as nanopartículas de paládio [155].

Figura 14. Esquema representativo da estabilização de PdNP utilizando o material $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ como agente estabilizante.



Fonte: o autor.

CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS ELETRODOS MODIFICADOS

A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS – do inglês *Electrochemical impedance spectroscopy*) foi empregada para caracterizar as propriedades interfaciais dos eletrodos modificados. A resistência à transferência de carga (R_{ct}) obtida da EIS fornece informações sobre a cinética do processo de transferência de elétrons na interface do eletrodo associado à sonda redox hexacianoferrato. O diagrama obtido é denominado diagrama de Nyquist e o diâmetro do semicírculo evidencia a resistência à transferência de carga, R_{ct} , logo, quanto menor o semicírculo, mais rápida a transferência eletrônica [163].

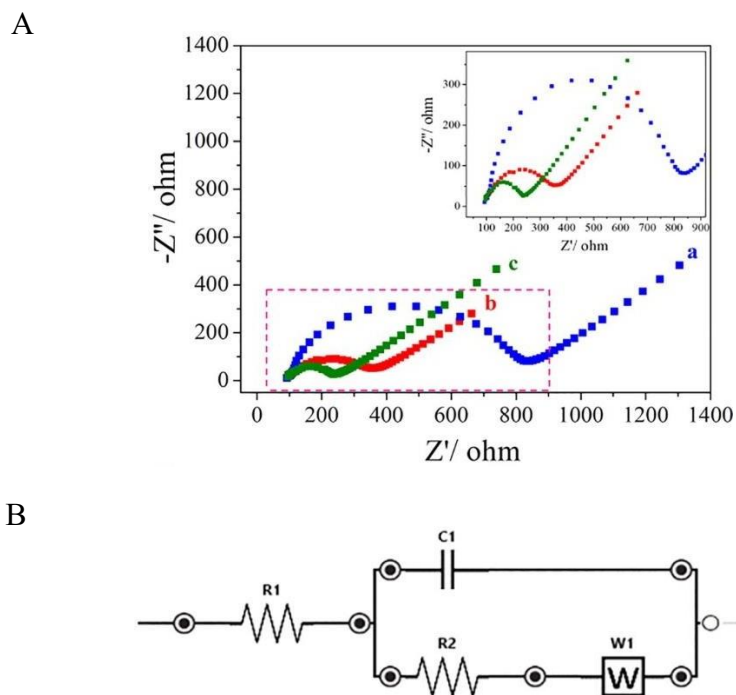
Sendo assim, a Figura 15A mostra os gráficos de Nyquist ($-Z''$ vs. Z') para (a) GCE, (b) GCE/ $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ e (c) GCE/ $\text{Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$. Observa-se que o GCE apresentou o maior valor de R_{ct} (740Ω), entretanto, após a incorporação do silsesquioxano, a resistência à transferência de carga diminuiu ($R_{ct}= 280\Omega$), o que pode estar associado às cargas positivas presentes no material, tornando o eletrodo mais condutor [112]. Notavelmente, a presença de PdNPs diminuiu mais ainda o R_{ct} , tornando o eletrodo menos resistivo ($R_{ct}= 140\Omega$). Com base na literatura, esse comportamento pode

ser atribuído às propriedades condutoras das PdNPs, que facilitam a transferência de elétrons na interface eletrodo-solução e diminuem a resistência de carga do eletrodo modificado [164].

Ainda, Zeng et al. já haviam observado a influência de nanopartículas de paládio na resistência do eletrodo. O eletrodo contendo nanotubos de carbono e nanofolhas de grafite (CNTs-GNSs) apresentou-se menos resistivo quando comparado ao eletrodo sem modificação. Porém, quando se adiciona as PdNPs, tem-se um decréscimo ainda maior na Rct. Os autores relataram que essa melhoria é principalmente atribuída ao efeito sinérgico do PdNFs, que facilita a transferência de elétrons na superfície do eletrodo e diminui a resistência de carga do eletrodo modificado [165].

A partir dos valores de Rct, plota-se um circuito elétrico equivalente (circuito de Randles) que melhor se ajusta ao perfil dos diagramas de Nyquist. A Figura 15B mostra o circuito obtido para esses dados, onde o resistor R1 representa a resistência da solução, R2 é a resistência de transferência de carga, C1 é a capacitância de dupla camada devido ao rearranjo de carga na interface eletrodo-solução e W1 é a impedância para transferência de massa, também chamada de impedância de Warburg [166].

Figura 15. Espectro de impedância eletroquímica para (A) GCE; (B) GCE/Si4Pic+NO₃⁻ e (C) GCE/Pd-Si4Pic+NO₃⁻ em solução de 0,1 mol L⁻¹KCl contendo 5,0 mmol L⁻¹[Fe(CN)₆]^{4-/3-}. O potencial aplicado foi de + 0,245 V vs Ag/AgCl. (B) Circuito equivalente obtido para os dados.



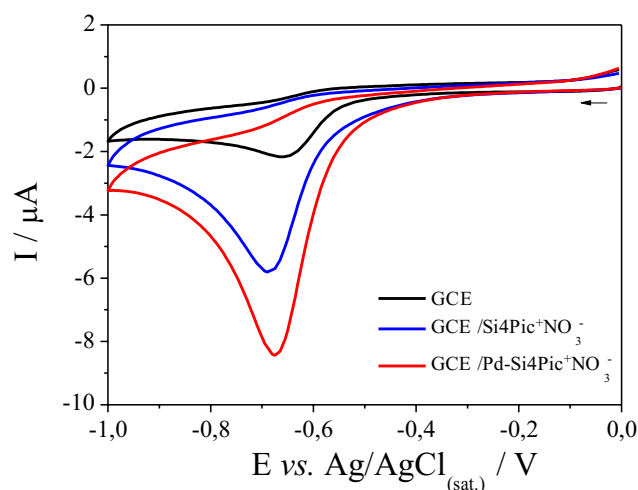
COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DA NIMESULIDA SOBRE SUPERFÍCIES ELETRÓDICAS

O comportamento eletroquímico do analito foi avaliado por CV na presença de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIM (tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0). Os dados foram coletados usando o GCE sem modificação e as novas plataformas eletroquímicas, GCE/Si4Pic⁺NO₃⁻ e GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻.

É importante destacar que a NIM apresenta dois centros redox, um deles é a porção -NH (amina) que é oxidada em potenciais mais positivos. Nesse caso, o processo de oxidação da NIM já é bem estabelecido na literatura [167,168] e são sugeridos mecanismos de eletro-oxidação envolvendo dois mols de elétrons e dois mols de prótons para esse processo [169,170]. O outro centro redox é o grupo -NO₂ (nitro) que pode sofrer processos de redução em potenciais mais negativos. Esta diretiva oferece vantagens sobre os procedimentos comumente relatados em relação à seletividade uma vez que avaliar o processo de redução do NIM minimiza a potencial interferência da matriz em águas naturais, o que é indispensável para aplicações como análises ambientais e clínicas. Em vista disso, no presente trabalho, a redução de -NO₂ foi escolhida para a coleta de dados.

Conforme mostrado na Figura 16, voltamogramas cíclicos foram obtidos na faixa de 0,0 a -1,0 V, seguidos por um retorno até 0,0 V a $50,0 \text{ mV s}^{-1}$. Verifica-se que um processo irreversível ocorre com um único pico de redução para todos os eletrodos de trabalho investigados nesta janela de potencial. Ainda, pode-se observar um pico de redução em cerca de -0,65 V com uma intensidade de corrente de $-2,17 \mu\text{A}$ para o GCE sem modificação. Usando o GCE/Si4Pic⁺NO₃⁻, um aumento na corrente de pico ($-5,79 \mu\text{A}$) é observado em -0,68 V. Já com a adição das nanopartículas na modificação, um pico mais definido é obtido, devido ao transporte de massa mais rápido, com intensidade de corrente mais pronunciada ($-8,46 \mu\text{A}$). Assim, a intensidade de corrente de pico para a investigação da redução do NIM foi cerca de quatro vezes maior usando o GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ comparado ao eletrodo não modificado. O aumento da corrente de pico catódico está associado à maior área eletroativa do eletrodo de trabalho modificado com o material nanoestruturado, o que aumenta o número de sítios redox disponíveis e maior condutividade proporcionada pelo composto de nanopaládio-silsesquioxano [78]. Desta forma, a plataforma eletroquímica GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ foi escolhida para futuras investigações.

Figura 16. Voltamogramas cíclicos para $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIM (pH 7,0), $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$. GCE sem modificação (preto); GCE modificado com o polímero $\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ (azul) e GCE modificado com $\text{Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ (vermelho).



ESTUDO DO PH, NATUREZA E CONCENTRAÇÃO DO ELETRÓLITO SUPORTE

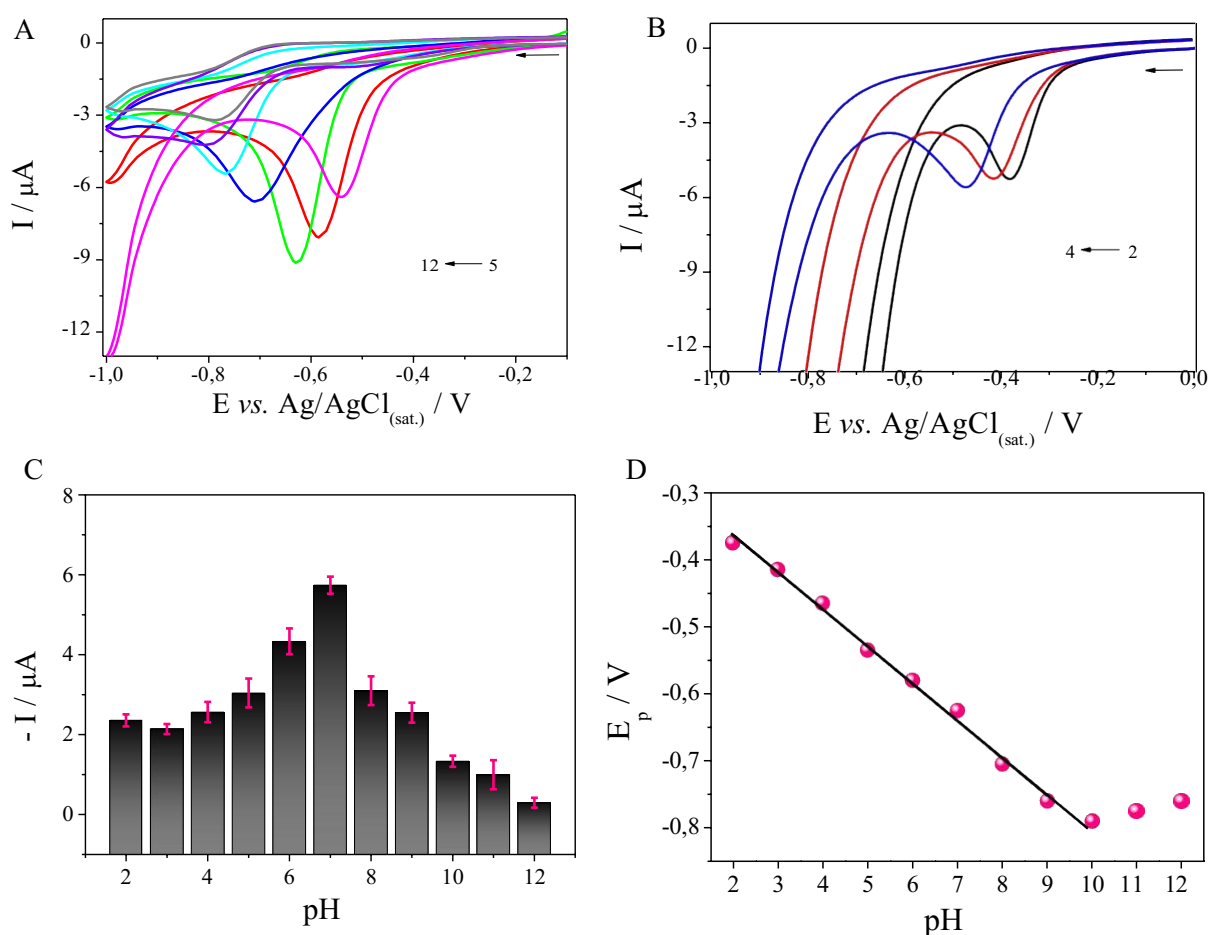
A influência do pH e a natureza do eletrólito suporte sobre a resposta eletroquímica da NIM foram estudados. A voltametria cíclica foi utilizada para avaliar o comportamento eletroquímico do analito em diferentes condições de pH e os dados foram coletados em solução tampão B-R $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (faixa de pH de 2,0–12,0) para $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIM. Como mostram as Figuras 17A e 17B, a redução do grupo nitro ocorre variando o pH de 2,0 a 12,0 e uma mudança para valores de potenciais mais negativos é observada com o aumento dos valores de pH, que é justificado pelo envolvimento de prótons no processo eletroquímico. Além disso, a redução da NIM apresenta um comportamento independente do pH em meio fortemente alcalino (pH 11,0–12,0). Segundo Ghavami et al., em tais condições, a primeira transferência eletrônica é caracterizada como a etapa mais lenta do processo de redução, sem etapas de protonação antes dessa transferência eletrônica [45].

O gráfico de barras (Figura 17C) destaca como as intensidades da corrente de pico variam em função do valor de pH do eletrólito suporte. Observa-se que os valores de corrente aumentam do pH 2,0 ao 7,0 e, acima destes valores, a corrente decresce. Além disso, um compromisso entre a intensidade da corrente de pico e a forma do pico para NIM foi obtido em valores de pH 6,0 e 7,0;

assim, esses valores foram selecionados para futuras investigações considerando a natureza do eletrólito de suporte.

A Figura 17D mostra uma relação linear dentro da faixa de pH 2,0–10,0, representada pela equação $E_p(V) = -0,25 - 0,054 \text{ pH}$ ($R^2 = 0,994$). A inclinação de -54 mV é característica de processos envolvendo o mesmo número de mols de prótons e elétrons ($59,2 \text{ mV}$) [171], o que sugere um processo com n prótons e n elétrons ocorrendo para redução da NIM, mecanismo similar ao já reportado na literatura por Ribeiro et al. [47].

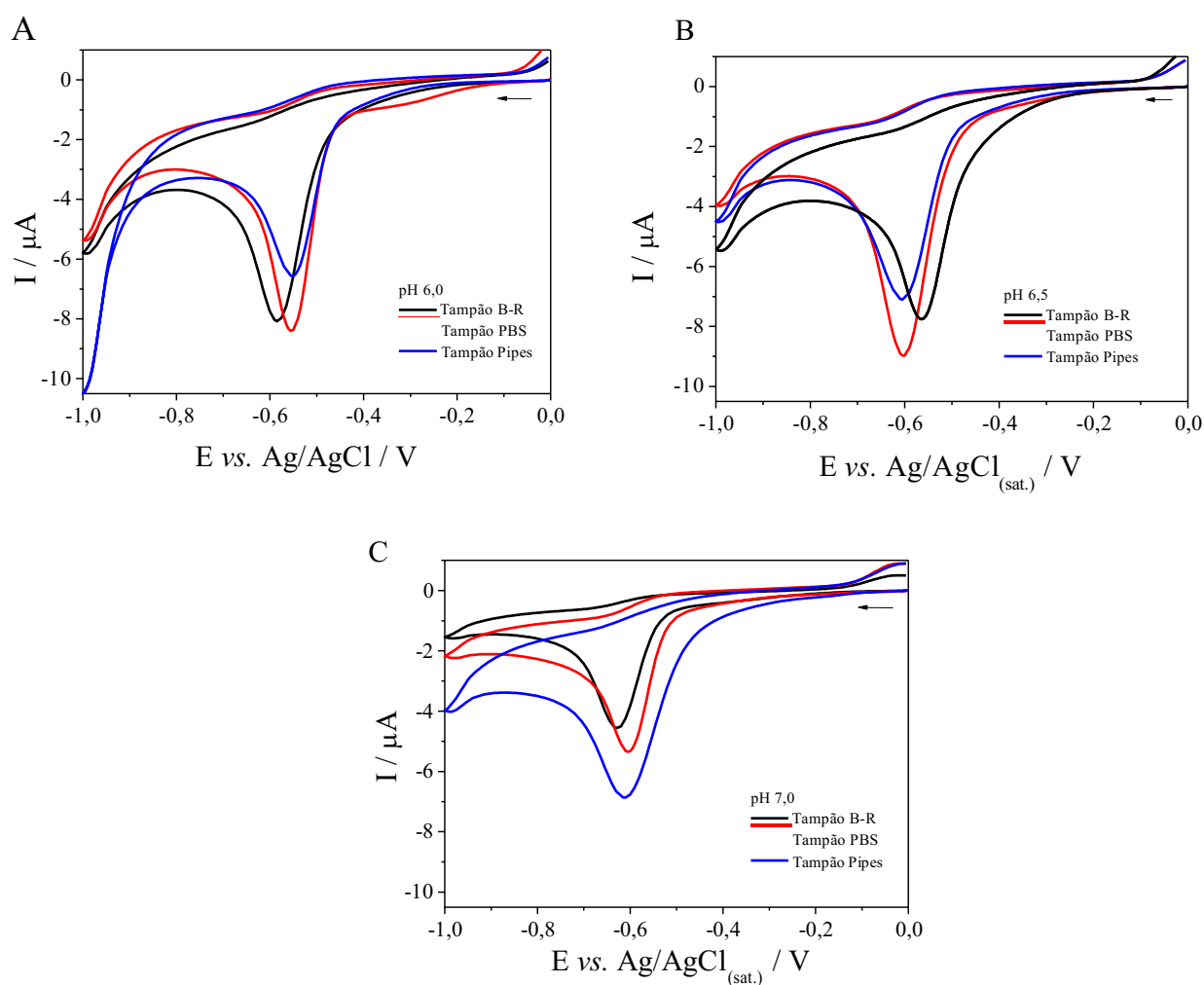
Figura 17. Voltamogramas cíclicos para $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIM em $\text{GCE/Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ em tampão B-R $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH: (A) de 5,0 a 12,0 e (B) de 2,0 a 4,0, (C) corrente de pico em função do valor de pH e (D) potencial de pico em função do valor de pH.



A natureza do eletrólito de suporte desempenha um papel essencial no comportamento de substâncias eletroquimicamente ativas. Portanto, tanto o tipo quanto a concentração do eletrólito de suporte foram investigados quanto à resposta eletroquímica da NIM com o eletrodo GCE/Pd-

$\text{Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$. Para esse fim, diferentes soluções tampão foram estudadas, B-R, PBS e PIPES (na concentração fixa de $0,20 \text{ mol L}^{-1}$). Os dados foram coletados para pH 6,0 (Fig. 18A), 6,5 (Fig. 18B) e 7,0 (Fig. 18C), sendo a maior intensidade de corrente e melhor definição do pico obtida usando tampão PBS como eletrólito de suporte em pH 6,5.

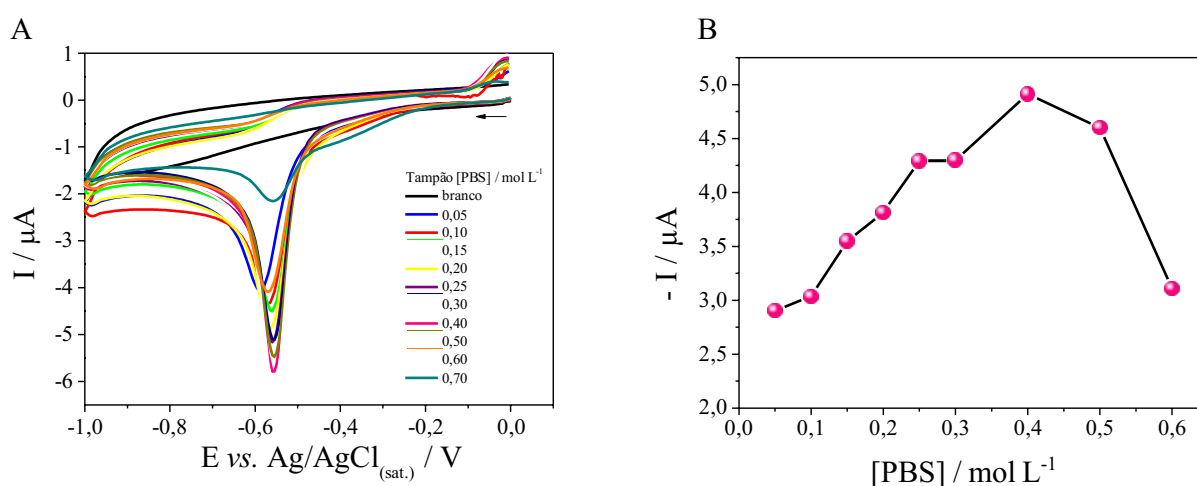
Figura 18. Voltamogramas cíclicos para $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIM em $\text{GCE/Pd-Si4Pic}^+\text{NO}_3^-$ em diferentes soluções tampão (A) pH 6,0, (B) pH 6,5 e (C) pH 7,0.



Após a fixação do tampão PBS como eletrólito suporte, foi realizado um estudo variando a concentração da solução tampão de $0,05$ a $0,60 \text{ mol L}^{-1}$, conforme mostrado na Figura 19. Na concentração de $0,40 \text{ mol L}^{-1}$, uma resposta eletroquímica mais pronunciada é observada com um perfil voltamétrico definido para o analito. Pode ser observado também que a resposta da corrente diminui à medida que a concentração aumenta após $0,40 \text{ mol L}^{-1}$. Esse fato pode estar associado à

alteração da viscosidade da solução aquosa e do raio da própria molécula (admitindo uma forma esférica para o analito), uma vez que esses fatores afetam o coeficiente de difusão das espécies segundo o modelo de Stokes-Einstein [172] e, conseqüentemente, a intensidade da corrente. Assim, o eletrólito suporte foi fixado como tampão PBS 0,40 mol L⁻¹.

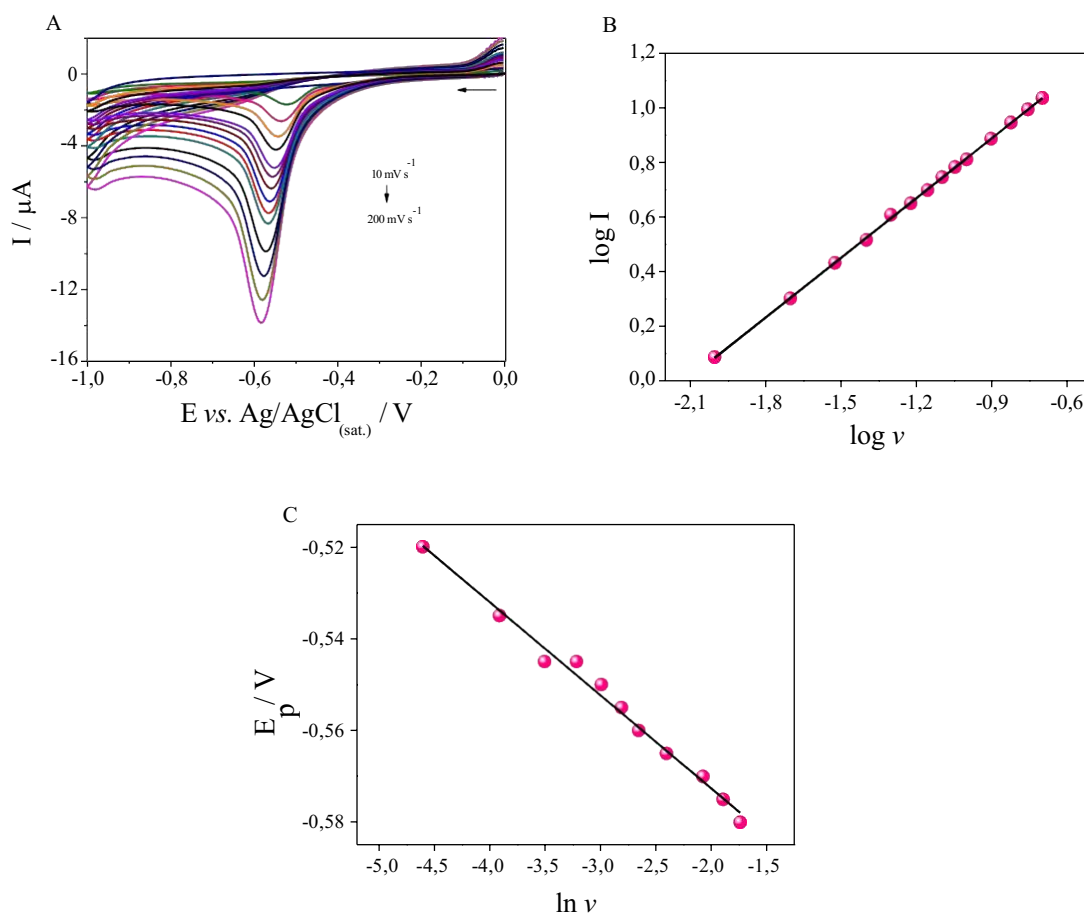
Figura 19. (A) Voltamogramas cíclicos para 50 μmol L⁻¹ de NIM em GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ em diferentes concentrações de solução tampão PBS pH 6,5 e (B) correlação da corrente de pico e concentração de PBS.



EFEITO DA VELOCIDADE DE VARREDURA

Experimentos de velocidade de varredura foram realizados para o conhecimento do processo determinante da transferência eletrônica para redução de NIM. Os voltamogramas correspondentes são mostrados na Figura 20A, onde pode ser observado que os valores da corrente de pico de redução aumentam linearmente com a velocidade de varredura na faixa de 10 – 200 mV⁻¹. A partir dos dados obtidos, foi plotado um gráfico do logaritmo da corrente de pico (log I) versus o logaritmo da velocidade de varredura (log v) (Fig. 20B) e observa-se uma relação linear com a equação $\log I = 1,54 + 0,73 \log v$ ($R^2 = 0,9996$). A inclinação obtida no valor de 0,73 está entre 0,5 e 1,0, o que confirma que ocorre um processo controlado por difusão com contribuição adsorbtiva envolvendo o analito e a interface eletrodo-solução [170]. Um comportamento similar para redução do grupo nitro já foi observado e relatado por Gerent et al. [173].

Figura 20. (A) Voltamogramas cíclicos da NIM no GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ com diferentes velocidades de varredura, (B) o logaritmo da corrente de pico ($\log I$) versus o logaritmo da velocidade de varredura ($\log v$), $R^2 = 0,9996$ e (C) relação entre o potencial de pico de redução (E_p) e o logaritmo neperiano da velocidade de varredura.



Além disso, o potencial de pico para a redução de nimesulida também foi dependente da velocidade de varredura. O potencial de pico mudou para valores mais negativos ao aumentar a velocidade de varredura, o que confirma a irreversibilidade do processo de redução. A Figura 20C mostra a relação entre o potencial de pico de redução (E_p) e o logaritmo neperiano da velocidade de varredura. E_p deslocou linearmente com $\ln v$, e de acordo com a equação de Laviron [171] para uma reação eletroquímica irreversível, a relação entre E_p e $\ln v$ pode ser expressa pela Equação (1):

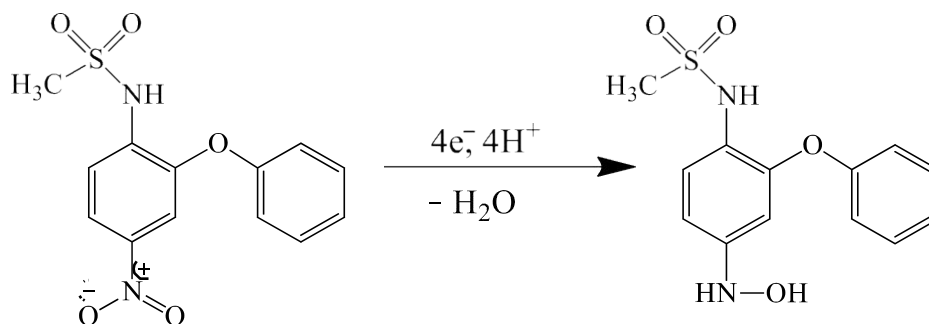
$$E_p = E^0 + \left(\frac{RT}{\alpha nF}\right) \ln \left(\frac{RTk^0}{\alpha nF}\right) + \left(\frac{RT}{\alpha nF}\right) \ln v \quad \text{Equação 1}$$

Onde, E^0 é o potencial formal redox, k^0 é a constante de velocidade padrão da reação; α é o coeficiente de transferência de elétrons, n é o número de elétrons envolvidos na etapa determinante da velocidade e R , T e F são notações padrão ($R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, $T = 296\text{K}$, $F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$).

De acordo com a correlação de E_p vs. $\ln v$ (Figura 20C), o coeficiente angular ($-0,01357$) desta regressão linear é igual a $RT/\alpha nF$. Desta maneira pôde-se determinar o número de elétrons (n) envolvidos na semi-reação de redução da NIM, sendo n igual a 3,8, o qual se pode considerar um valor muito próximo a 4. Logo, estima-se que 4 elétrons estão envolvidos na semi-reação de redução da NIM.

Portanto, o pico de redução está relacionado à redução do grupo nitro por meio de um processo de redução eletroquímica irreversível e envolve a participação de 4 elétrons e 4 prótons, $4 e^-/4 H^+$ [24], obtendo hidroxilamina como produto, como mostrado no Esquema 1.

Esquema 1. Processo de redução proposto da NIM sobre o GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻.

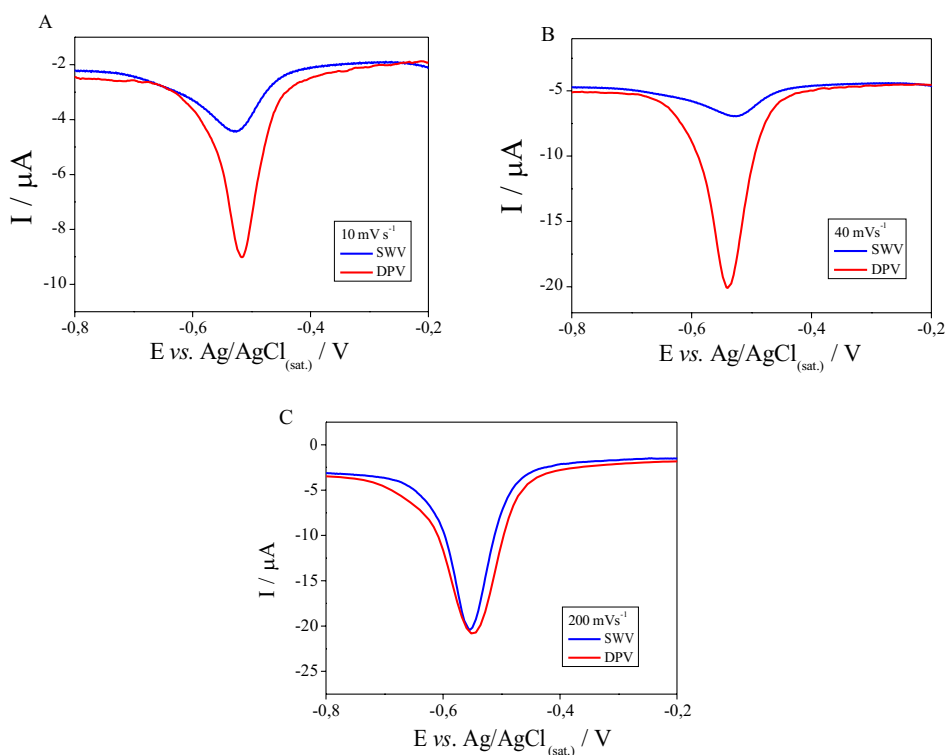


SELEÇÃO DA TÉCNICA VOLTAMÉTRICA E OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS EXPERIMENTAIS

Com a finalidade de desenvolver um método mais sensível para determinação de NIM, foram investigadas duas técnicas eletroanalíticas diferentes, a voltametria de onda quadrada (do inglês, *square wave voltammetry* – SWV) e voltametria de pulso diferencial (do inglês,

differential pulse voltammetry – DPV). Estas técnicas foram investigadas em três velocidades de varredura, conforme ilustrado na Figura 21, e observou-se que a SWV gera um sinal voltamétrico menos pronunciado quando comparada à DPV, tanto em velocidades mais baixas quanto em velocidades mais altas. Conseqüentemente, a DPV permitiu o melhor resultado, considerando a intensidade da corrente e a forma do pico, assim, a determinação de NIM usando GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ foi realizada por DPV.

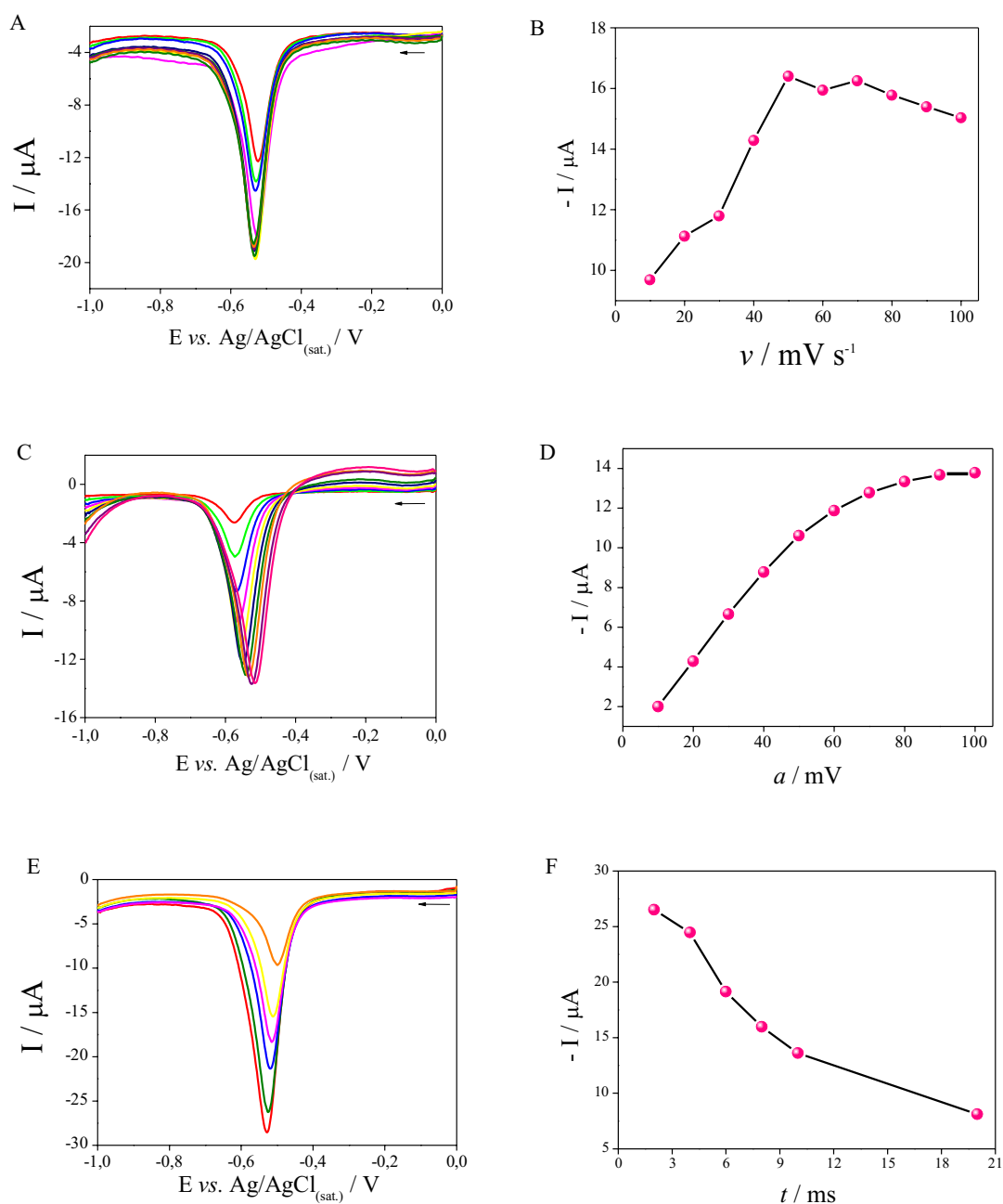
Figura 21. Voltamogramas para NIM (50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em 0,40 mol L⁻¹ de tampão PBS (pH 6,5) usando as técnicas DPV e SWV, em diferentes velocidades de varredura (A) 10 mV s⁻¹, (B) 40 mV s⁻¹, e (C) 200 mV s⁻¹.



Na seqüência, os parâmetros experimentais da DPV foram otimizados para melhorar a resposta analítica quanto à sensibilidade. A voltametria de pulso diferencial é definida pela aplicação de potenciais de mesma intensidade (mesma amplitude) sobrepostos a uma rampa linear de potencial, medindo a corrente antes e após a aplicação do pulso. Estas correntes são subtraídas, o que resulta em uma minimização da participação da corrente capacitiva no sinal obtido, tornando a DPV uma técnica mais sensível que a LSV por exemplo. Para a

otimização da técnica, os parâmetros experimentais avaliados foram: velocidade de varredura de potencial (ν), amplitude de pulso de potencial (E_{pulso}) e tempo de duração do pulso (t_{pulso}) [174]. Os intervalos estudados foram $\nu = 10 - 100 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{pulso}} = 10 - 100 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 2 - 20 \text{ ms}$. A Figura 22 apresenta os voltamogramas e as dependências das correntes de pico resultantes de acordo com as variações dos parâmetros experimentais da DPV. Os valores selecionados ($\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{pulso}} = 70 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 2 \text{ ms}$) apresentaram melhor resposta de corrente e foram usados em todas as investigações posteriores.

Figura 22. Voltamogramas de pulso diferencial com a variação dos parâmetros experimentais e dependência da corrente resultante com a variação da velocidade de varredura (A, B), amplitude (C, D) e tempo de pulso (E, F).

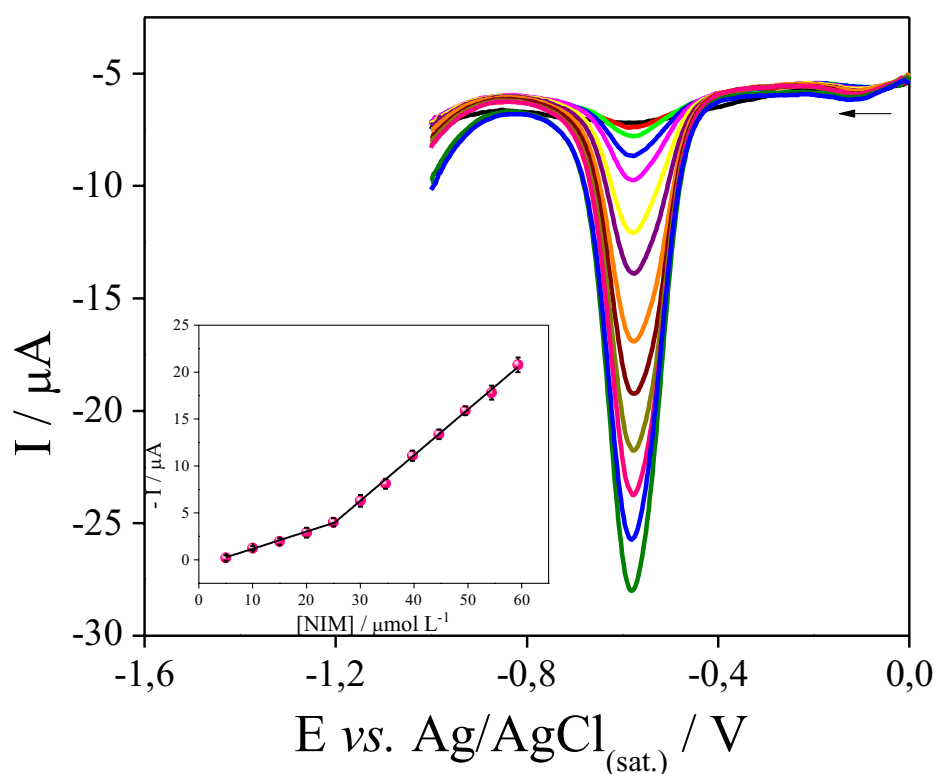


CURVA DE CALIBRAÇÃO E CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS

Sob condições otimizadas de DPV, construiu-se uma curva de calibração mediante adições de alíquotas de solução padrão de NIM ao eletrólito suporte. Conforme a Figura 23, um pico bem definido foi observado em cerca de $-0,58$ V vs. Ag/AgCl, e é evidente que a corrente aumenta com o aumento das concentrações de NIM. A linearidade foi observada em duas faixas, de 5 a $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ e 25 a $60 \mu\text{mol L}^{-1}$, conforme ilustrado na inserção da Figura 23. Esse comportamento está frequentemente relacionado a uma mudança no processo de transferência de massa, governado por difusão com uma contribuição de adsorção [171,175]. As equações que expressam as curvas de calibração são: $I / \mu\text{A} = 0,183 [\text{NIM}] - 6,69 \times 10^{-7}$ ($R^2 = 0,991$) ($n=5$); a segunda, como $I / \mu\text{A} = 0,486 [\text{NIM}] + 8,32 \times 10^{-6}$ ($R^2 = 0,997$) ($n=5$), onde I é a corrente de pico catódica e $[\text{NIM}]$ é a concentração de NIM em $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados para a primeira região de acordo com as recomendações da IUPAC [176], $\text{LOD} = (3 \text{ SD})/a$ e $\text{LOQ} = (10 \text{ SD})/a$, onde SD é o desvio padrão do coeficiente linear da equação e a é a inclinação da regressão linear. Os valores obtidos foram $\text{LOD} = 2,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $\text{LOQ} = 5,08 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Figura 23. Voltamogramas de pulso diferencial com diferentes concentrações de NIM, de 5 a $60,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. Condições: $0,40 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 6,5), DPV. Inserção: Curvas de calibração para NIM ($n = 5$) com as duas faixas lineares.

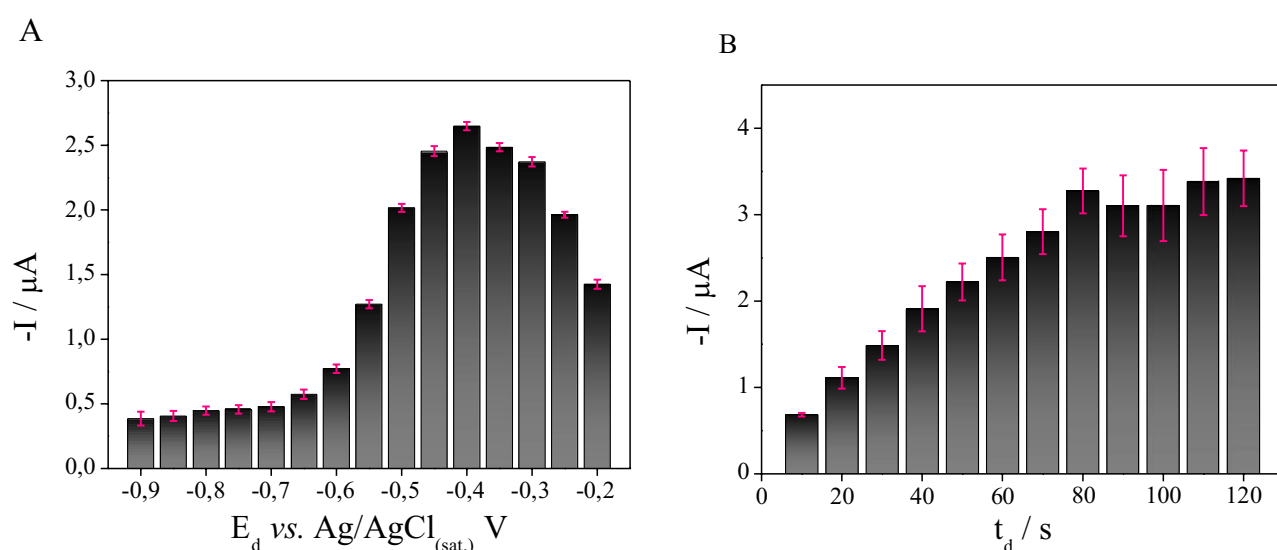


Com o objetivo de aumentar a sensibilidade do GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ para detecção de NIM, foi proposta uma etapa de pré-concentração precedente à medida eletroquímica. Nesta etapa, o eletrodo é deixado imerso por determinado tempo na solução da célula eletroquímica que contém o eletrólito suporte e o analito. Ao longo desse tempo, uma quantidade maior de moléculas do analito adsorve na superfície do eletrodo e, por isso, ocorre aumento na resposta analítica e consequente melhoria na sensibilidade do detector.

O efeito do potencial de deposição (E_d) e do tempo de deposição (t_d) na resposta da corrente de pico foi estudado por DPV, conforme mostrado nas Figuras 24A e 24B. Observa-se que a corrente de pico muda alterando as condições de potencial de $-0,2$ para $-0,9$ V e então atinge um máximo no potencial de $-0,4$ V. Assim, o potencial de acumulação de $-0,4$ V foi utilizado para fins eletroanalíticos.

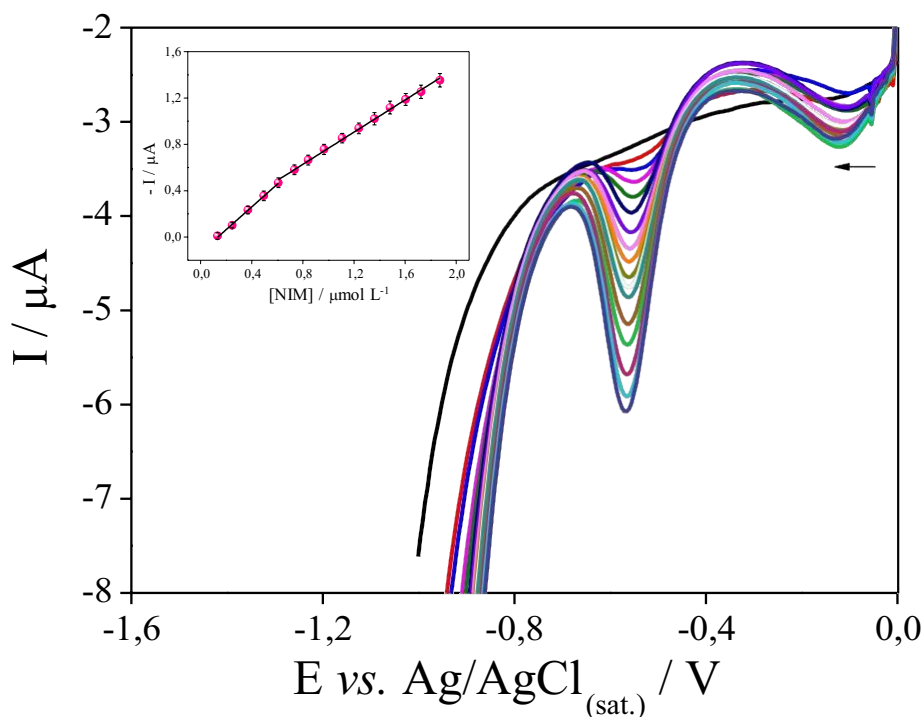
Conforme mostrado na Figura 24B, a corrente de pico aumentou com o aumento do tempo de deposição de 10 a 120 s, o que induziu a rápida adsorção do analito na superfície do eletrodo. Ainda, a corrente de pico atingiu um máximo após 80 s, e então um platô foi observado. Estes resultados estão de acordo com já relatado anteriormente na literatura [177] e indicam a saturação da superfície do eletrodo. Assim, o tempo de deposição de 80 s foi escolhido para determinação de NIM quanto à detecção de baixas concentrações do analito.

Figura 24. Efeito do (A) potencial de deposição (E_d) e (B) tempo de deposição (t_d) na resposta de corrente de pico da NIM usando GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ e DPV.



Após otimizar o potencial e o tempo de deposição da etapa de pré-concentração, as curvas de calibração foram construídas a partir de um gráfico da corrente resultante vs. concentrações NIM ($n=5$) (Fig. 25). Com a etapa de pré-concentração, observou-se linearidade nas faixas de 0,132 a 1,87 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Fig. 25, inserção). Os valores calculados de LOD e LOQ nestas condições foram 39 nmol L^{-1} e 0,132 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Figura 25. DPVs com diferentes concentrações de NIM, de 0,13 a 1,87 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Condições: PBS 0,40 mol L^{-1} (pH 6,5), $E_d = -0,4$ V, $t_d = 80$ s. Inserção: Curvas de calibração para NIM ($n = 5$) com duas faixas lineares.



As características analíticas extraídas da curva de calibração são mostradas e comparadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características analíticas obtidas a partir da curva de calibração com etapa de pré concentração para determinação de NIM empregando o eletrodo modificado GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻.

Parâmetro	Valor
Eletrólito suporte / pH	PBS / 6,5
Potencial do pico / V	-0,58
Faixa linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,13 – 1,87
Coefficiente de determinação (R^2)	0,9979
Desvio padrão do coeficiente angular / $\mu\text{A L mol}^{-1}$	0,031
Coefficiente linear / μA	-0,1319
Desvio padrão do coeficiente linear / μA	-0,01293
LOD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,039
LOQ / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,132

O eletrodo modificado proposto apresenta bom desempenho em comparação com outras arquiteturas de eletrodos, além de apresentar uma faixa linear abrangente, conforme resumido na Tabela 2. Além disso, as condições otimizadas do meio são desejáveis para procedimentos de análise direta de amostras em aplicações clínicas e ambientais, pois a natureza do eletrólito de suporte foi fixada como tampão PBS, pH 6,5.

Este é o primeiro relato de sensoriamento de NIM em amostras de água de rio usando o processo de redução. Ainda, considerando a sensibilidade e o processo de redução do analito, um dos limites de detecção mais baixos é alcançado com a modificação simples do eletrodo em uma etapa. É fundamental destacar que avaliar o processo de redução da NIM minimiza a potencial interferência da matriz em águas naturais, o que é indispensável para aplicações como análises ambientais e clínicas. O foco na oxidação acarreta interferência em aplicações ambientais considerando a presença de matéria orgânica dissolvida que pode sofrer processos de oxidação no eletrodo [178].

Tabela 2. Comparação do desempenho de diferentes eletrodos para determinação de NIM.

Eletrodo	Amostra	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Processo	LOD/ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
GCE/TiO ₂	Farmacêutica e urina fortificada	40 – 100	OXI	0,0034	[43]
GCE/Ba-ZnO	Farmacêutica e urina fortificada	0,1 – 10	OXI	0,0018	[44]
GCE/CB-DHP	Urina fortificada, água de lago e de torneira	0,35 – 5,0	OXI	0,016	[154]
CPE/NC	Farmacêutica e urina fortificada	0,01 – 0,35	OXI	0,0010	[169]
GO/CPE &rGO/CPE	Farmacêutica e urina fortificada	0,3 – 0,0001	OXI	0,0112	[179]
NS/CPE	Farmacêutica e urina fortificada	30 – 0,1	OXI	0,0014	[170]
BNC/CPE	Farmacêutica e urina fortificada	0,01 – 0,55	OXI	0,011	[180]
GCE /rGO- PEDOT: PSS	Farmacêutica e água de rio fortificada	0,08 – 1,9	OXI	0,0024	[181]
CD-GrOPUE	Água de rio	0,62 – 7,3	OXI	0,083	[182]
GCE/SiC-NPs	Soro fortificado	0,09 – 8,7	RED	0,03	[45]
HMDE	Farmacêutica	0,05 – 0,57	RED	0,004	[47]
GCE/MWCNTs	Farmacêutica	0,32 – 65	RED	0,16	[177]
GCE/Pd- Si ₄ Pic ⁺ NO ₃ ⁻	Soro simulado, urina sintética e água de rio fortificada	0,13 – 60	RED	0,039	Este trabalho.

GCE/TiO₂ – Eletrodo de carbono vítreo modificado com TiO₂;

GCE/Ba-ZnO – Eletrodo de carbono vítreo modificado com 5% de nanopartículas de óxido de zinco dopadas com bário; GCE/CB-DHP – Eletrodo de carbono vítreo modificado com negro de fumo imobilizado em filme de dihexadecilfosfato; CPE/NC – Eletrodo de pasta de carbono com mistura de nanoargila;

GO/CPE&rGO/CPE – Eletrodo de pasta de carbono utilizando modificadores óxido de grafeno e forma reduzida de grafeno modificado;

NS/CPE – Eletrodo de pasta de carbono modificada com nanossilica;

BNC/CPE – Eletrodo de pasta de carbono modificada com argila bentonítica;

GCE/rGO-PEDOT:PSS – Eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido e poli(3,4-etilenodioxitiofeno)-poli(estirenosulfonato);

CD-GrOPUE – Eletrodo de óxido de grafite-poliuretano modificado com β -ciclodextrina;

GCE/SiC-NPs – Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de carbeto de silício;

HMDE – Eletrodo de gota de mercúrio suspenso;

GCE/MWCNTs – Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas.

SELETIVIDADE, ESTABILIDADE E REPRODUTIBILIDADE

A seletividade é um parâmetro significativo ao avaliar o desempenho de um sensor eletroquímico. Desta forma, a seletividade do GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ para NIM foi estimada via condições otimizadas de DPV em tampão PBS (pH 6,5) 0,4 mol L⁻¹. Neste estudo, uma quantidade de 4,0 μmol L⁻¹ de NIM com a adição subsequente de potenciais interferentes (molécula orgânica e íons inorgânicos) em concentrações 10 e 100 vezes maiores foi adicionado individualmente na célula contendo o eletrólito suporte. Os interferentes avaliados incluem K⁺, Ca²⁺, Cd²⁺, NH₄⁺, Zn²⁺, Pb²⁺, Cu²⁺, SO₄²⁻, PO₄³⁻ e ácido húmico (HA), representando a contribuição da matéria orgânica em fontes de água de rio. As Figuras 26A e 26B mostram os dados. Os resultados indicam que todas as respostas foram alteradas em menos de 8% para todos os cátions e ânions e menos de 18% para o ácido húmico, sugerindo uma seletividade aceitável (Fig. 26C). Portanto, os resultados comprovam que o sensor eletroquímico proposto GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ possui excelente seletividade na detecção de NIM em amostras reais complexas.

Cinco diferentes eletrodos modificados foram preparados para investigar a estabilidade do filme Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ no substrato. Foi realizada a varredura contínua por vinte ciclos no eletrólito de suporte e os dados foram coletados. A porcentagem de degradação foi determinada usando a Equação 2 [183].

$$\text{Degradação\%} = \frac{I_{pn}}{I_{p1}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

I_{pn} e I_{p1} são correntes de pico catódicas n^{th} e 1^{st} , respectivamente. A porcentagem de degradação foi de 5,04%, indicando que o GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ apresenta boa estabilidade na solução eletrolítica suporte.

Além disso, cinco eletrodos foram preparados e utilizados em medições sucessivas no mesmo dia e medições consecutivas por cinco dias. A Figura 27 mostra os voltamogramas. O desvio padrão relativo (RSD) de medições subsequentes para repetibilidade intradia foi de 4,63% ($n=5$). Já para a repetibilidade interdia, o RSD foi calculado como 6,55% ($n=5$), indicando uma ligeira variação usando a nova plataforma eletroquímica.

Figura 26. Voltamogramas de pulso diferencial com $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ NIM com (A) concentrações 10 vezes maiores de potenciais interferentes e (B) concentrações 100 vezes maiores de cada interferente. (C) Resposta de corrente relativa de cada potencial interferente estudado. Condições: PBS $0,40 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,5). (--- NIM, — K^+ ; — Ca^{2+} ; — Cd^{2+} , — NH_4^+ , — Zn^{2+} , — Pb^{2+} , — Cu^{2+} , — SO_4^{2-} , — PO_4^{3-} and — HA).

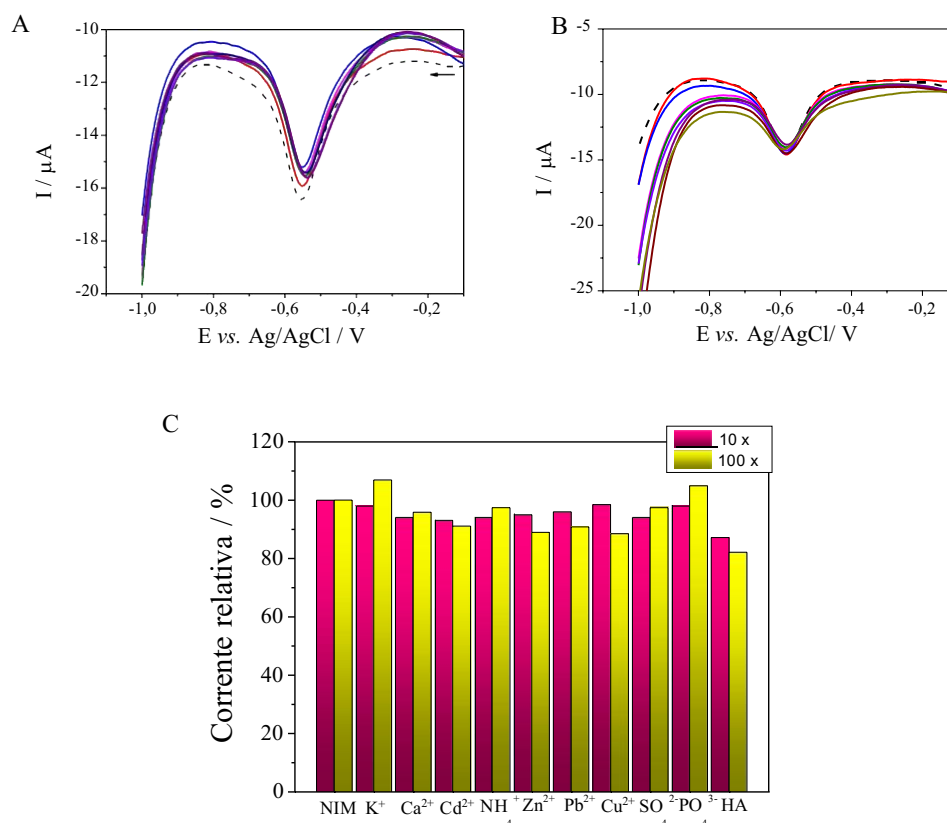
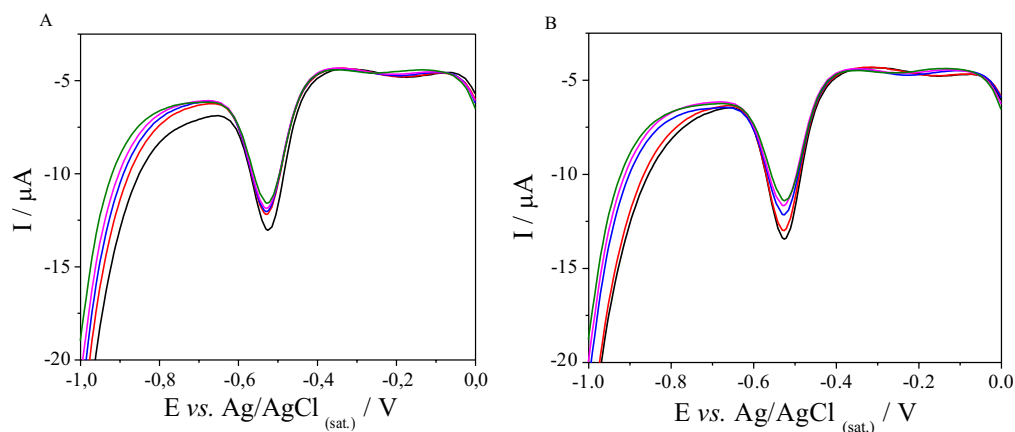


Figura 27. Voltamogramas de pulso diferencial com $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ NIM em tampão PBS $0,40 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,5) para (A) estudos de repetibilidade intradia e (B) interdia.

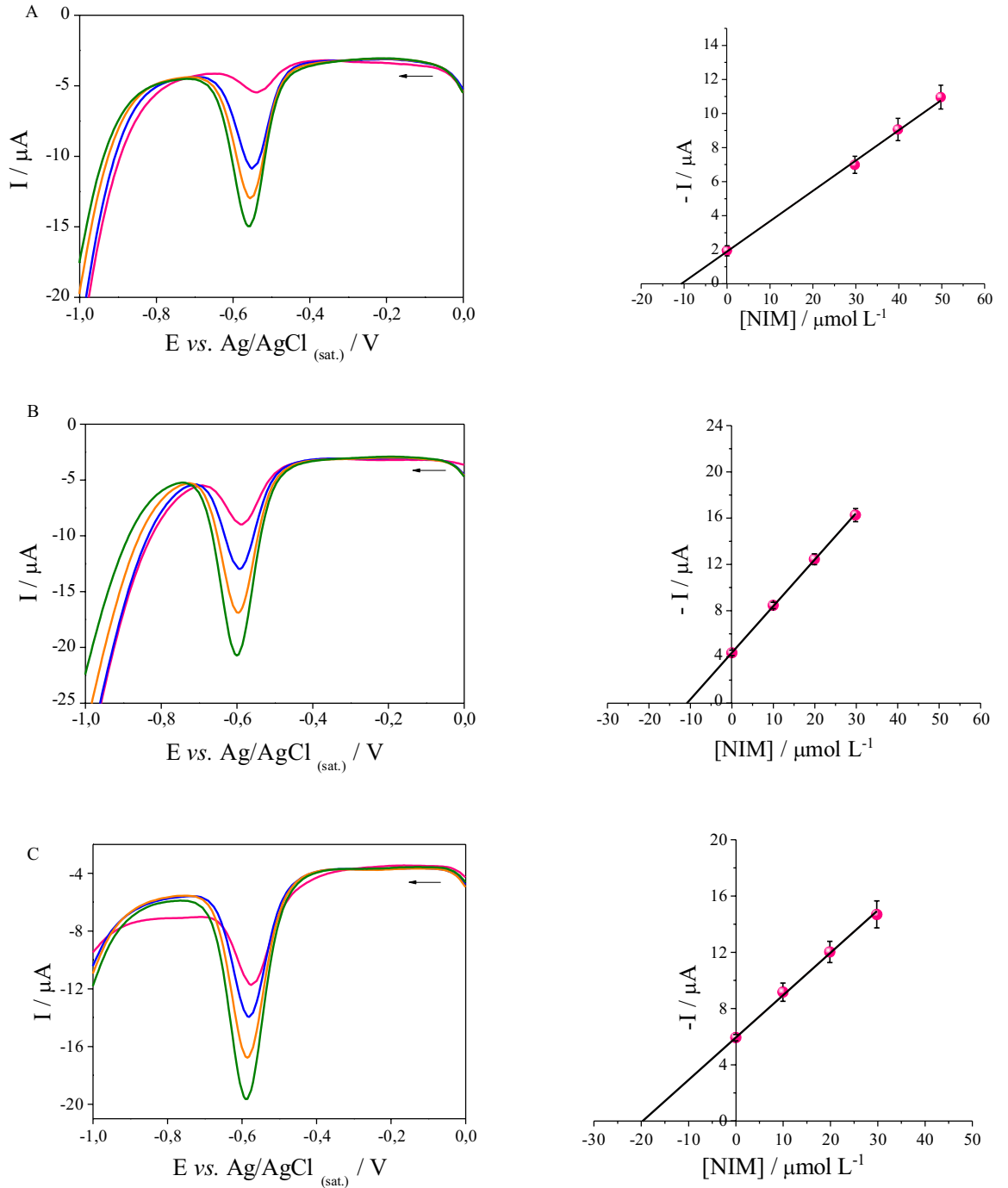


DETERMINAÇÃO DE NIM EM AMOSTRAS DE URINA, SORO E ÁGUA DE RIO

A aplicabilidade do novo sensor proposto foi investigada em amostras soro simulado, urina sintética e água de rio para determinação de NIM. Para a determinação eletroanalítica de NIM foi utilizado o método de adição de padrão, comumente empregado para minimizar o efeito de matriz. Os resultados de uma das replicatas para cada amostra investigada são representados na Figura 28.

A Figura 28A mostra os voltamogramas de pulso diferencial para amostra de urina sintética fortificada com NIM (primeira curva), e adições sucessivas de solução padrão de NIM. Para a curva com a amostra, o voltamograma exibiu um pico de redução da NIM em $-0,58$ V com as correntes de pico aumentando linearmente com as adições de solução padrão na célula eletroquímica. Nesta replicata, pela extrapolação da curva de adição do padrão, encontrou-se o valor de $10,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIM na célula eletroquímica. Do mesmo modo foi realizada para amostra de soro simulado fortificado com NIM, pela extrapolação da curva foi encontrado um valor de $10,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIM e, por fim, para amostra de água de rio, também fortificada com NIM, foi encontrado um valor de $19,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NIM na célula eletroquímica.

Figura 28. Voltamogramas de pulso diferencial para NIM usando GCE/Pd-Si4Pic⁺NO₃⁻ em 0,4 mol L⁻¹ de tampão PBS em amostras de (A) urina sintética, (B) soro simulado e (C) água do rio (n=3) e sucessivas adição de padrão de NIM.



A Tabela 3 mostra os dados obtidos por DPV e espectrometria de absorção molecular, a escolha de cada nível de concentração foi condicionada à sensibilidade da espectrometria de absorção molecular dentro das faixas lineares correspondentes.

Tabela 3. Dados comparativos para a determinação de NIM em amostras de urina sintética, soro simulado e água de rio usando DPV e espectrometria de absorção molecular ($n = 3$, $F_{\text{crítico}} = 19$; $t_{\text{crítico}} = 8,61$).

Amostra	DPV			UV-Vis		Teste t	Teste F
	Adicionado $\mu\text{mol L}^{-1}$	Encontrado $\mu\text{mol L}^{-1}$	RSD %	Encontrado $\mu\text{mol L}^{-1}$	RSD %		
Urina	11,5	10,7	2,3	9,50	2,1	3,29	4,77
Soro	9,80	10,9	4,6	10,6	1,8	8,49	4,74
Água de rio	17,7	19,7	3,9	–	–	–	–

Como pode ser visto, os teores de NIM determinados por DPV estão em boa correspondência com os verificados pelo método comparativo empregado. Além disso, o tratamento estatístico aplicado aos dados demonstra confiabilidade em termos de exatidão (teste t) e precisão (teste F) com nível de confiança de 99%. Portanto, esses resultados confirmam o excelente desempenho do novo método proposto em relação às aplicações em amostras biológicas e ambientais. Ainda, em relação às finalidades ambientais de anti-inflamatórios não esteroidais e contaminantes emergentes, a determinação de NIM em amostras de água de rio foi viável apenas com a abordagem eletroanalítica. A seletividade obtida com o método desenvolvido nesta matriz complexa pode estar relacionada ao agente estabilizador empregado e ao material catiônico de silsesquioxano. Este resultado também destaca a relevância da estratégia eletroquímica proposta para fins ambientais.

CAPÍTULO 5
RESULTADOS E DISCUSSÃO
- DETERMINAÇÃO DE
NAPROXENO

CAPÍTULO 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO DA DETERMINAÇÃO DE NAPROXENO UTILIZANDO UM ELETRODO MODIFICADO COM NANOPARTÍCULAS DE COBALTITA DE NÍQUEL

Neste capítulo, serão apresentados e discutidos os resultados do método eletroanalítico desenvolvido para a determinação de naproxeno em amostras ambientais de água e amostras de fluidos biológicos simulados empregando o eletrodo modificado GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP⁺Cl⁻.

CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS NiCo₂O₄ E NiCo₂O₄/TiO₂

A caracterização das nanopartículas de cobaltita de níquel (NiCo₂O₄-NPs) e das nanopartículas de cobaltita de níquel incorporadas na matriz de dióxido de titânio (NiCo₂O₄:TiO₂) foi realizada utilizando as técnicas de difração de raios-X, FTIR e TEM. Observa-se na Figura 29A os picos de difração que aparecem em valores de 2θ de 18,1°, 31,1°, 36,6°, 38,4°, 44,6°, 55,4°, 59° e 64,9°. Esses picos estão bem indexados aos planos cristalinos (111), (220), (311), (222), (400), (422), (511) e (440) (JCPDS n° 20-0781)[184,185]. Pode-se observar que não foram detectadas impurezas no padrão de difração nas nanopartículas de NiCo₂O₄, tais como os picos de NiO ou CoO₃, verificando que o material não sofreu processos de deterioração/oxidação. Além disso, a natureza das nanopartículas de NiCo₂O₄ não perdeu sua identidade quando incorporadas a matriz de TiO₂, como pode ser verificado no difratograma presente na Figura 29B. Observa-se que aparecem os planos cristalinos do TiO₂ (Anatase – JCPDS n°21 – 1272) caracterizando o sucesso da incorporação das NiCo₂O₄-NPs no material semiconductor [186].

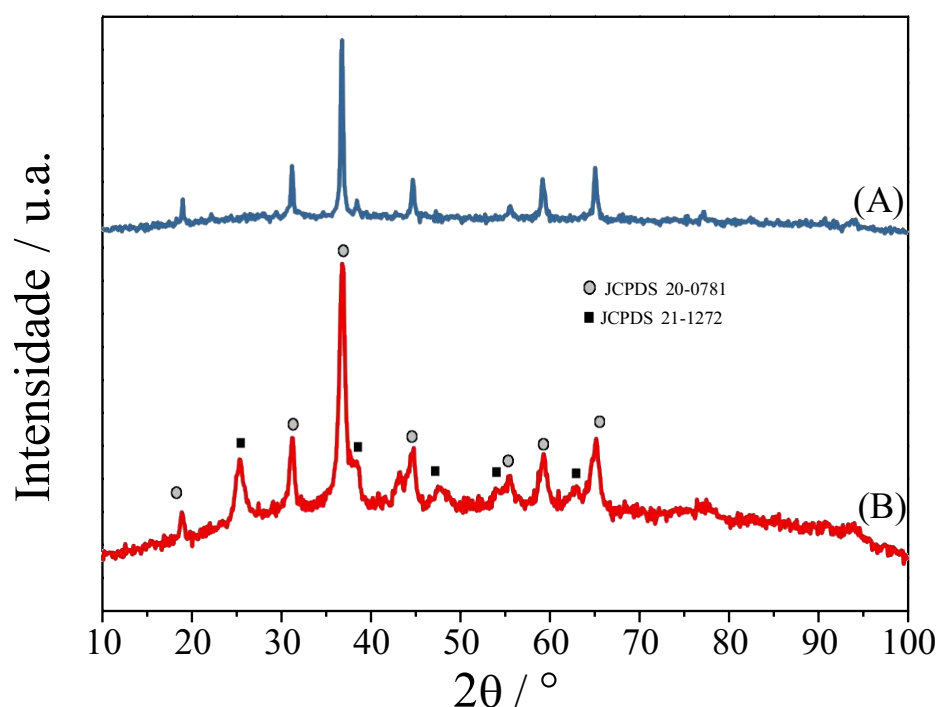
O tamanho do cristalito de NPs de NiCo₂O₄ e NiCo₂O₄:TiO₂ foi estimado usando a equação de Debye-Scherrer [187].

$$D = \frac{0,89 \lambda}{\beta \cos \theta} \quad \text{Equação 3}$$

onde D representa o tamanho do cristalito, λ é o comprimento de onda da radiação de raios X (1,542 Å), θ corresponde ao ângulo de difração de Bragg e β é o valor da largura do pico a

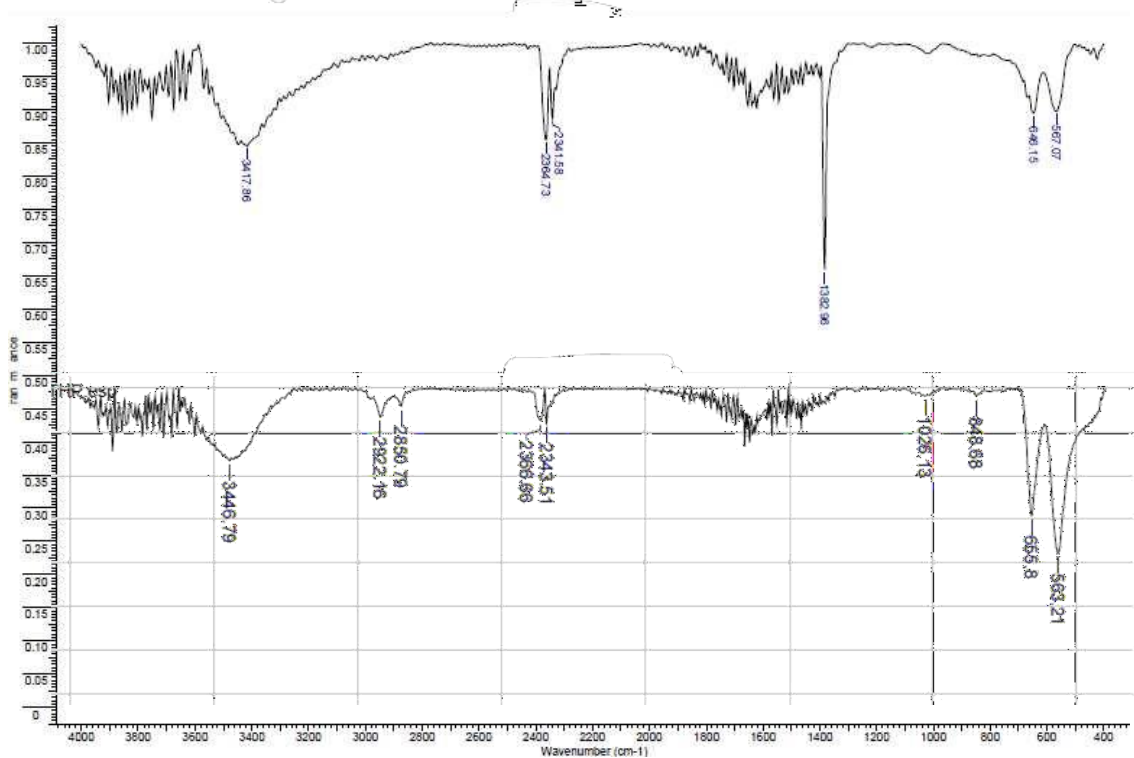
meia altura (FWHM – do inglês, *Full Width at Half Maximum*) [188]. O tamanho médio de cristalito de NiCo_2O_4 foi calculado em 38 nm, assim como o tamanho das NPs de $\text{NiCo}_2\text{O}_4:\text{TiO}_2$ foi de 36 nm para a NiCo_2O_4 e 8 nm para TiO_2 .

Figura 29. (A) Difratoograma das nanopartículas de cobaltita de níquel e (B) nanopartículas de cobaltita de níquel dopadas com TiO_2 .



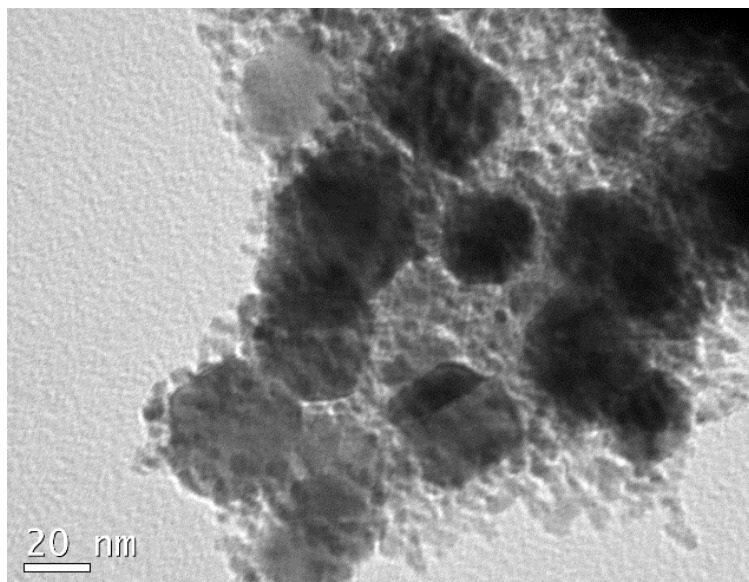
A Figura 30 mostra os espectros de IR registrados para as amostras (A) NiCo_2O_4 e (B) $\text{NiCo}_2\text{O}_4:\text{TiO}_2$. O espectro (A) mostra as bandas em 567 e 646 cm^{-1} , atribuídos às vibrações de estiramento Ni-O e Co-O correspondem aos sítios tetraédricos e octaédricos da NiCo_2O_4 , respectivamente [189,190]. A banda presente em 1382 cm^{-1} é devida ao modo de vibração H-O-H. Em (A) 2341 e 2364 cm^{-1} e (B) 2343 e 2366 cm^{-1} é atribuído à presença de CO_2 na análise. Para a banda em (A) 3417 cm^{-1} e (B) 3446 cm^{-1} observou-se moléculas de H_2O adsorvidas fisicamente - vibração de estiramento de grupos hidroxila (H-OH). Para a amostra (B) observou-se a presença das bandas referentes aos estiramentos Ni-O e Co-O e um ombro em torno de 450 cm^{-1} são para a ligação O-Ti-O na morfologia da anatase [191]. As bandas em 2922 e 2850 cm^{-1} podem estar relacionadas à presença de material orgânico que não é completamente removido durante o processo de calcinação.

Figura 30. (A) FTIR das nanopartículas de cobaltita de níquel e (B) nanopartículas de cobaltita de níquel incorporadas em TiO₂ em KBr usando modo transmitância.



A imagem obtida por TEM do nanomaterial de NiCo₂O₄:TiO₂ é mostrada na Figura 31. As partículas mais escuras representam a NiCo₂O₄ com formato esférico/hexagonal e as nanopartículas mais claras é a matriz de TiO₂ onde as NiCo₂O₄ estão incorporadas. Verifica-se uma dispersão uniforme das nanopartículas de cobaltita de níquel sob o TiO₂, com poucos aglomerados, mostrando que a síntese do material híbrido foi obtida com sucesso. As partículas têm um tamanho médio de 40 nm e 8 nm NiCo₂O₄ e TiO₂, respectivamente.

Figura 31. Imagem de TEM das nanopartículas de cobaltita de níquel incorporadas na matriz de nanopartículas de dióxido de titânio.



CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS ELETRODOS MODIFICADOS

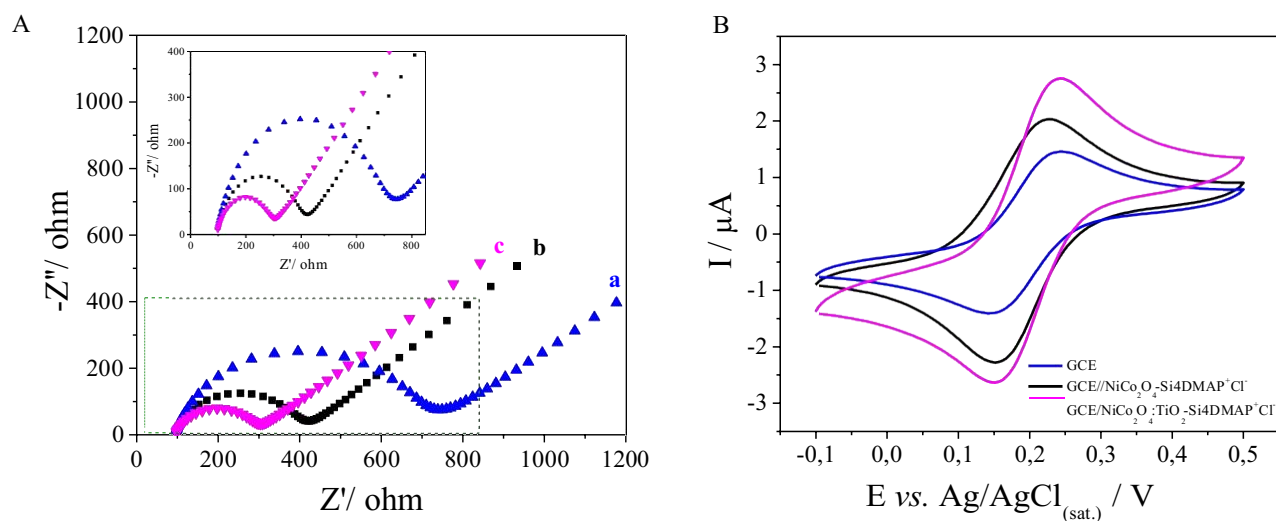
As técnicas de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) e voltametria cíclica (CV) foram empregadas com o par redox $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ nos diferentes eletrodos estudado para avaliar o quão promissor podem ser estes para aplicações eletroanalíticas. A Figura 32A mostra os diagramas de Nyquist ($-Z''$ vs. Z') para (a) GCE, (b) GCE/ $NiCo_2O_4$ - $Si_4DMAP^+Cl^-$ e (c) GCE/ $NiCo_2O_4:TiO_2$ - $Si_4DMAP^+Cl^-$ utilizando $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ como sonda redox. Para a investigação empregando o GCE (curva azul), um semicírculo foi obtido correspondendo a $R_{ct} = 640 \Omega$, sendo a maior resistência a transferência de carga registrada neste estudo. A R_{ct} teve um decréscimo quando utilizado o GCE modificado como filme das nanopartículas de cobaltita de níquel estabilizadas no polímero de silsesquioxano (GCE/ $NiCo_2O_4$ - $Si_4DMAP^+Cl^-$), curva em preto, sendo $R_{ct} = 320 \Omega$. Nesse caso, a diminuição da R_{ct} pode estar relacionada à alta condutividade elétrica das nanopartículas de $NiCo_2O_4$, além da estrutura mesoporosa dessas nanopartículas que fornece alta porosidade e sítios eletroativos mais disponíveis para moléculas alvo [141,142]. Já quando foi analisado o eletrodo modificado com o filme das nanopartículas de cobaltita de níquel dopadas com dióxido de titânio e estabilizadas no polímero de silsesquioxano (GCE/ $NiCo_2O_4:TiO_2$ -

Si4DMAP⁺Cl⁻), curva em rosa, os valores de impedância diminuíram para $R_{ct} = 200 \Omega$, resultado que pode ser atribuído ao efeito sinérgico causado pela presença das nanopartículas de TiO₂, uma vez que esse nanomaterial contribuiu para uma maior área superficial e alta condutividade do sensor eletroquímico [192].

Corroborando com os resultados obtidos com a EIS, voltamogramas cíclicos para K₄[Fe(CN)₆] 5,0 μmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹ sobre os diferentes eletrodos são apresentados na Figura 32B. As menores intensidades de correntes de pico foram obtidas com eletrodo sem modificação GCE ($I_{pa} = 0,70 \mu A$ e $I_{pc} = -0,71 \mu A$) (curva azul). Após a primeira modificação, para o eletrodo GCE/NiCo₂O₄-Si4DMAP⁺Cl⁻ (curva em preto), observa-se que as intensidades das correntes aumentaram para $I_{pa} = 1,42 \mu A$ e $I_{pc} = -1,44 \mu A$. Já usando o eletrodo modificado GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP⁺Cl⁻ (curva em rosa), foram obtidas as correntes $I_{pa} = 1,94 \mu A$ e $I_{pc} = -1,97 \mu A$, aproximadamente três vezes superiores às correntes obtidas pelo GCE.

Fornecendo menor resistência à transferência de carga e também maior intensidade de corrente, o eletrodo modificado GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP⁺Cl⁻ apresentou-se o dispositivo mais promissor para as futuras aplicações eletroanalíticas.

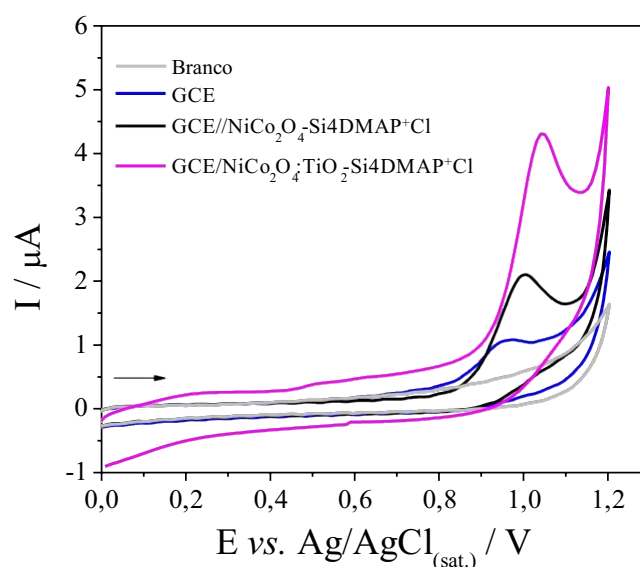
Figura 32. (A) Espectro de impedância eletroquímica para (a) GCE; (b) GCE/NiCo₂O₄-Si4DMAP⁺Cl⁻ e (c) GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP⁺Cl⁻ em solução de 0,1 mol L⁻¹ KCl contendo 5,0 mmol L⁻¹ [Fe(CN)₆]^{4-/3-}. (B) Voltamogramas cíclicos para [Fe(CN)₆]^{4-/3-} 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹ ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$) em diferentes eletrodos.



COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO NAPROXENO SOBRE SUPERFÍCIES ELETRÓDICAS

O comportamento eletroquímico do NPX foi investigado através de voltamétrica cíclica. Com uma concentração de NPX de $74 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R (pH 7,0) sobre a superfície das diferentes plataformas eletroquímicas construídas: (a) GCE; (b) GCE/ $\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{-Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$ e (c) GCE/ $\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{:TiO}_2\text{-Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$ com uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} , os voltamogramas obtidos para as diferentes arquiteturas de eletrodos são apresentados na Figura 33. Na faixa de potencial entre 0 V e + 1,2 V verifica-se um processo irreversível com um pico de oxidação em + 0,96 V para o GCE. Ao modificar o eletrodo com o filme das nanopartículas de cobaltita de níquel estabilizadas no polímero de silsesquioxano (GCE/ $\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{-Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$), observa-se o mesmo pico de oxidação com um aumento na resposta da corrente, em um potencial mais positivo (+1,00 V). Já a partir da modificação com o filme das nanopartículas de cobaltita de níquel e dióxido de titânio estabilizadas no polímero de silsesquioxano (GCE/ $\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{:TiO}_2\text{-Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$) verifica-se um pico de oxidação com um sinal de corrente mais pronunciado no potencial de + 1,04 V mostrando que as nanopartículas de NiCo_2O_4 e TiO_2 em conjunto com o material $\text{Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$, presentes na superfície do GCE, aumentam a intensidade do sinal voltamétrico para o NPX. Como pode ser observado, a incorporação do TiO_2 potencializa a resposta eletroquímica para a NPX, conforme já observado anteriormente com dados do EIS e CV.

Figura 33. Voltamogramas cíclicos para $74 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX (pH 7,0), $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. GCE sem modificação (curva azul); GCE modificado com o $\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{-Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$ (curva em preto e (c) GE modificado com o $\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{:TiO}_2\text{-Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$ (curva rosa).

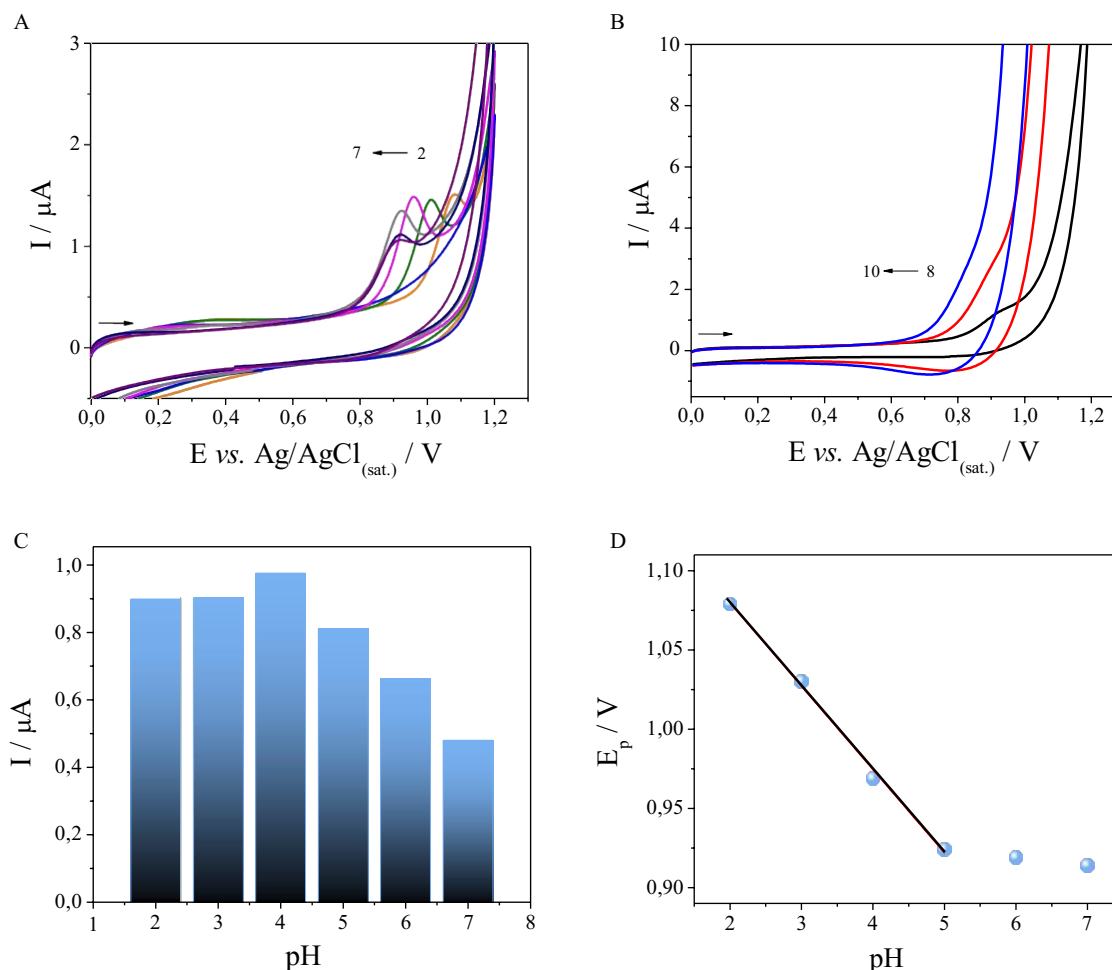


ESTUDO DO PH E NATUREZA DO ELETRÓLITO SUPORTE

A influência da natureza e do pH do eletrólito suporte sobre a resposta eletroquímica do NPX também foi investigada. Primeiramente, as respostas de corrente e potencial de pico foram avaliadas no intervalo de pH de 1,0 a 10,0, utilizando solução tampão B-R 0,2 mol L⁻¹, com pH ajustado previamente. Os voltamogramas obtidos para o NPX 25,0 μmol L⁻¹ sobre o GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si₄DMAP⁺Cl⁻ em cada um dos valores de pH são apresentados na Figura 34A e 34B.

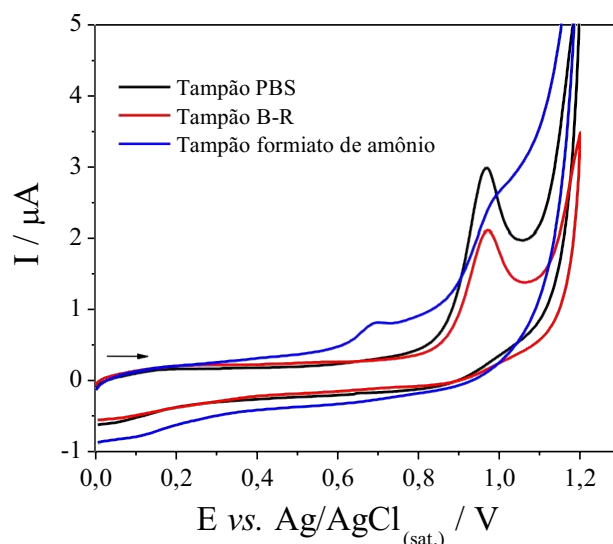
A partir dos voltamogramas apresentados na Figura 34A, observa-se um deslocamento do potencial de pico da oxidação do NPX para valores mais negativos quando se aumenta o valor de pH. A Figura 34B mostra os voltamogramas para valores de pH de 8,0 a 10,0 e pode ser observado a ausência de sinal de oxidação para o NPX, possivelmente porque há uma possibilidade de quebra da rede de sílica do Si₄DMAP⁺Cl⁻ em valores de pH acima de 8,0. Com a Figura 34C, a partir do gráfico de barras, pode ser melhor observado a obtenção de uma resposta mais acentuada de corrente em valores de pH 4,0, portanto, os próximos estudos foram realizados em pH 4,0. No gráfico que relaciona potencial e valor de pH, mostrado na Figura 34D, verifica-se uma relação linear para valores de pH entre 2,0 e 5,0, representada pela equação da reta $E \text{ (V)} = 1,184 - 0,052 \text{ pH}$ ($R^2 = 0,995$). Observa-se um valor de coeficiente angular (52 mV) próximo ao característico de processos que envolvam o mesmo número de prótons e elétrons (59,2 mV), sugerindo então um processo com n prótons e n elétrons [171], corroborando com demais trabalhos publicados na literatura [193,194].

Figura 34. Voltamogramas cíclicos para 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX sobre o GCE/ $\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{:TiO}_2\text{-Si}_4\text{DMAP}^+\text{Cl}^-$ em tampão B-R 0,2 mol L^{-1} em diferentes valores de pH: (A) de 2,0 a 7,0, (B) de 8,0 a 10,00. (C) Corrente de pico em função do valor de pH e (D) Variação dos potenciais de pico de oxidação do NPX em função do pH do eletrólito.



Na sequência, diferentes soluções tampão foram testadas como eletrólitos de suporte no valor de pH 4,0, conforme apresenta a Figura 35. A escolha de cada eletrólito testado foi baseada na faixa tamponante de cada uma das soluções. Foram testadas as seguintes soluções tampão: PBS, B-R e formiato de amônio, sendo todas as soluções preparadas na concentração de 0,1 mol L^{-1} . A maior intensidade de corrente foi obtida ao utilizar a solução tampão PBS em pH 4,0, por esse motivo, essa solução foi selecionada para análises posteriores.

Figura 35. Voltamogramas cíclicos para NPX $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o GCE/ $\text{NiCo}_2\text{O}_4\text{:TiO}_2\text{-Si}_4\text{DMAP}^+\text{Cl}^-$ em diferentes soluções tampão em pH 4,0.

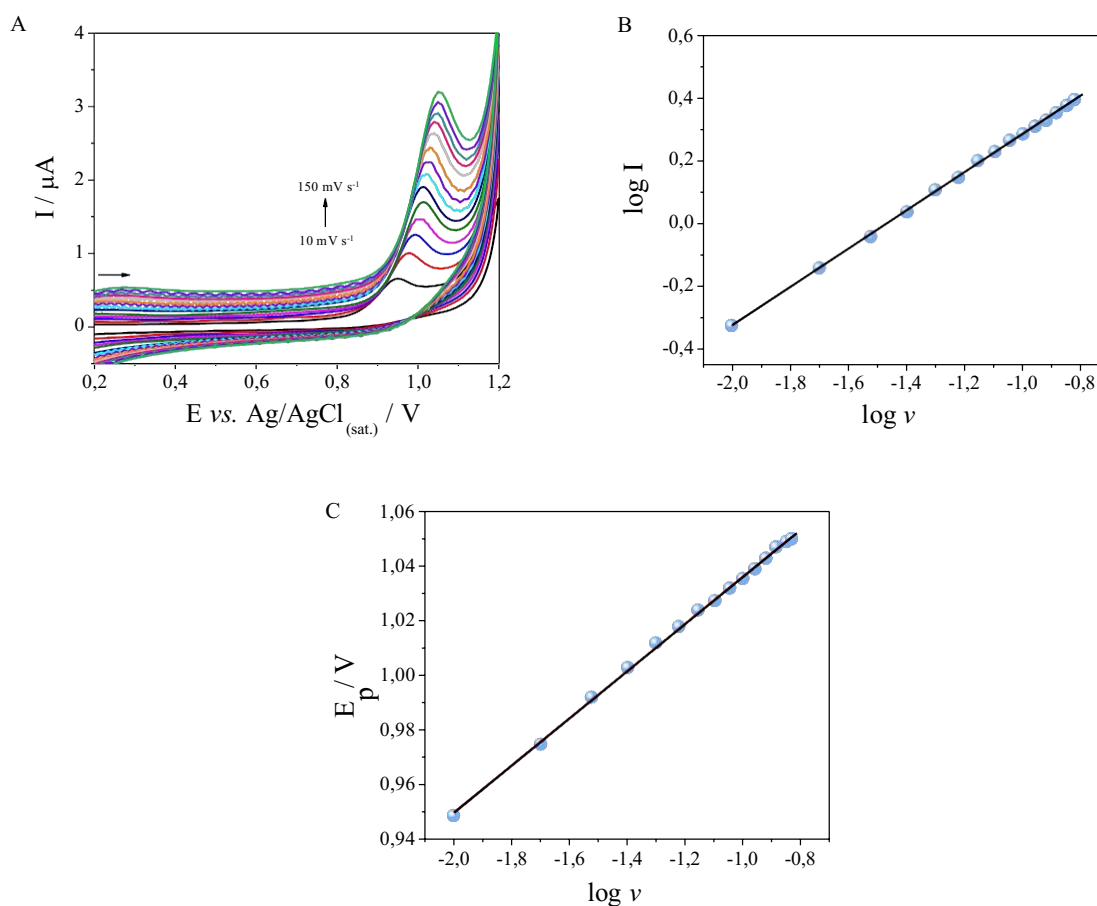


EFEITO DA VELOCIDADE DE VARREDURA

O comportamento eletroquímico do NPX sobre a superfície do eletrodo modificado foi estudado por CV em velocidades de varredura variando na faixa de 10 a 150 mV s^{-1} , em tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), com concentração fixa de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX. Os voltamogramas correspondentes são apresentados na Figura 36A, onde pode ser observado que as intensidades de correntes de pico de oxidação aumentaram com a variação da velocidade de varredura.

Com estes resultados, construiu-se um gráfico do logaritmo da corrente de pico ($\log I$) versus o logaritmo da velocidade de varredura ($\log v$), Figura 36B, onde é apresentado um comportamento linear para o analito, com equação da reta equação sendo $\log I = 0,89 + 0,54 \log v$ ($R^2 = 0,9997$). De acordo com a literatura, um coeficiente angular igual ou próximo ao valor de $0,5$ sugere que o processo redox é controlado por difusão [195]. Assim, como o valor obtido para o coeficiente angular foi de $0,54$, conclui-se que ocorre um processo difusional do analito NPX para superfície do eletrodo proposto.

Figura 36. (A) Voltamogramas cíclicos do NPX no GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si₄DMAP⁺Cl⁻ com diferentes velocidades de varredura, (B) o logaritmo da corrente de pico (log I) versus o logaritmo da velocidade de varredura (log v), R² = 0,9996 e (C) relação entre o potencial de pico de oxidação (E_p) e o logaritmo da velocidade de varredura (log v).

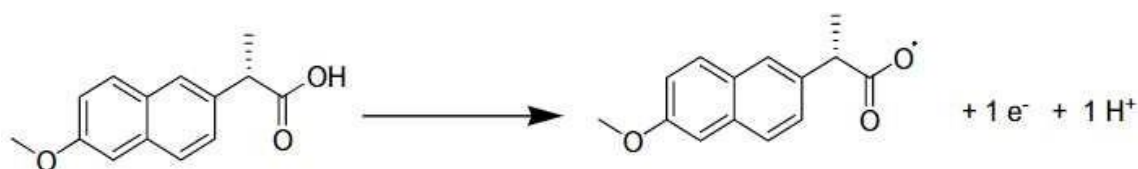


Além disso, a relação entre o potencial de pico (E_p) e o logaritmo da velocidade (log v) é apresentada na Figura 36C. Percebe-se um deslocamento linear (R² = 0,998) dos valores de E_p com relação ao log v, obtendo-se a equação E_p = 1,12 + 0,105 log v. De acordo com a equação de Laviron (Equação 4) para uma reação eletroquímica irreversível, a relação entre o E_p e log v pode ser expressa como se segue [196]:

$$E_{pr} = E^0 + \left(\frac{2,303RT}{\alpha z F}\right) \log \left(\frac{RTk^0}{\alpha z F}\right) + \left(\frac{2,303RT}{\alpha z F}\right) \log v \quad \text{Equação 4}$$

Onde: E° é o potencial padrão; k° é a constante de velocidade heterogênea da reação; α é o coeficiente de transferência de elétrons; z é o número de elétrons transferidos no processo; R , T e F são as notações usuais ($R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, $T = 298 \text{ K}$, $F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$). Conforme a regressão linear de E_p versus $\log v$, mencionado acima, o coeficiente angular de $+ 0,105$ é igual a $2,303 RT/\alpha zF$. Comumente, atribui-se a α o valor de 0,5 para processos irreversíveis[171], desta maneira pôde-se determinar o número de elétrons (z) envolvidos na semirreação de oxidação do NPX sobre a superfície do $\text{GCE}/\text{NiCo}_2\text{O}_4:\text{TiO}_2\text{-Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$ como sendo $z = 1,12$, um valor muito próximo a 1. Assim, considera-se que 1 elétron está envolvido na semirreação de oxidação do NPX, resultado que está de acordo com outros já descritos na literatura [90,197]. Como os resultados obtidos na Seção 5.4 mostraram que o mesmo número de prótons e elétrons estão envolvidos na reação de oxidação do NPX, pode-se afirmar que as reações envolveram um mol de prótons e um mol de elétrons para cada mol de substância, como já relatado na literatura [193,194]. O Esquema 2 representa o mecanismo de oxidação do NPX.

Esquema 2. Processo de oxidação proposto do NPX sobre o $\text{GCE}/\text{NiCo}_2\text{O}_4:\text{TiO}_2\text{-Si4DMAP}^+\text{Cl}^-$.

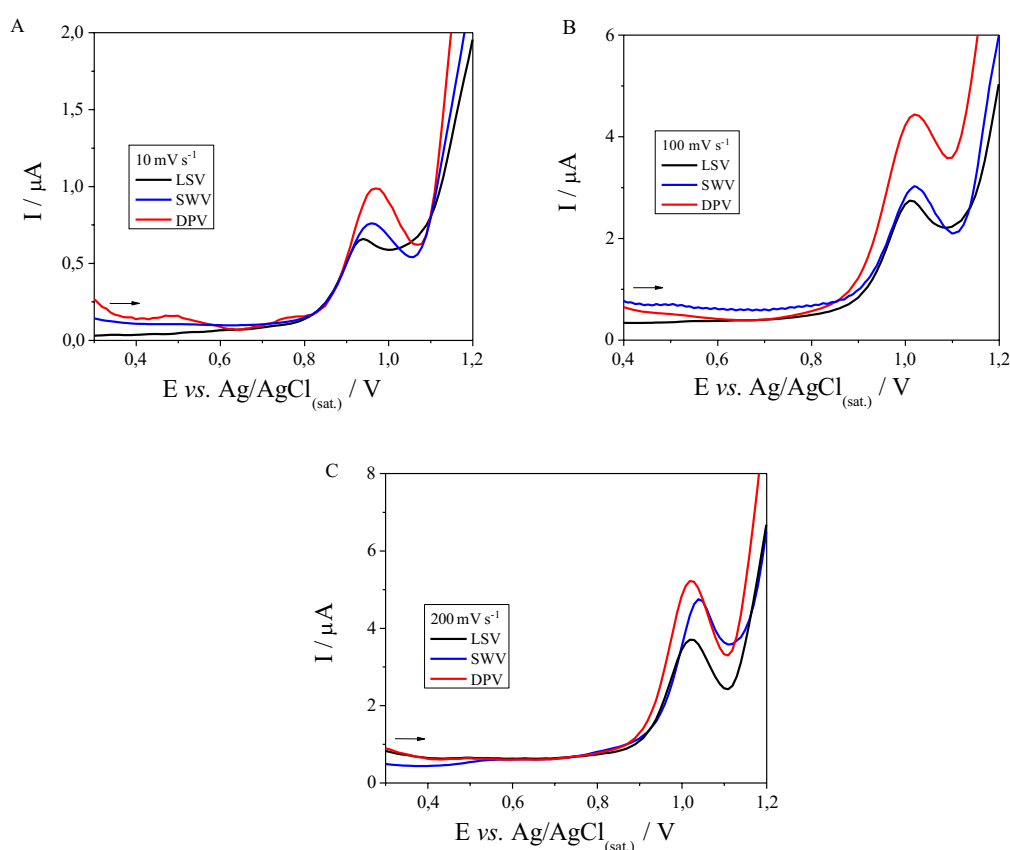


SELEÇÃO DA TÉCNICA VOLTAMÉTRICA E OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS EXPERIMENTAIS

Foram investigadas diferentes técnicas eletroanalíticas com o objetivo de avaliar a magnitude do sinal da oxidação do NPX sobre o eletrodo modificado. Para isso, avaliou-se as respostas da voltametria linear (LSV), de onda quadrada (SWV) e de pulso diferencial (DPV). Os parâmetros de cada técnica foram ajustados de modo a se obter a mesma velocidade de varredura durante todas as medidas. A Figura 37 apresenta os resultados obtidos utilizando as três técnicas em diferentes velocidades. As respostas de corrente de pico são mais intensas em DPV e SWV. Isto é coerente com o fato de que tais modos minimizam

a contribuição da corrente capacitiva ao registrar a corrente em dois momentos da aplicação do pulso, oferecendo uma maior sensibilidade às medidas. No entanto, observa-se que, tanto em velocidades de varredura mais baixas quanto em velocidades mais altas, a DPV forneceu melhor resposta, uma vez que apresenta maior valor de corrente de pico para uma mesma concentração de NPX quando comparada às outras duas técnicas. Logo, buscando uma melhor sensibilidade ao método estudado, selecionou-se a técnica de DPV para estudos posteriores.

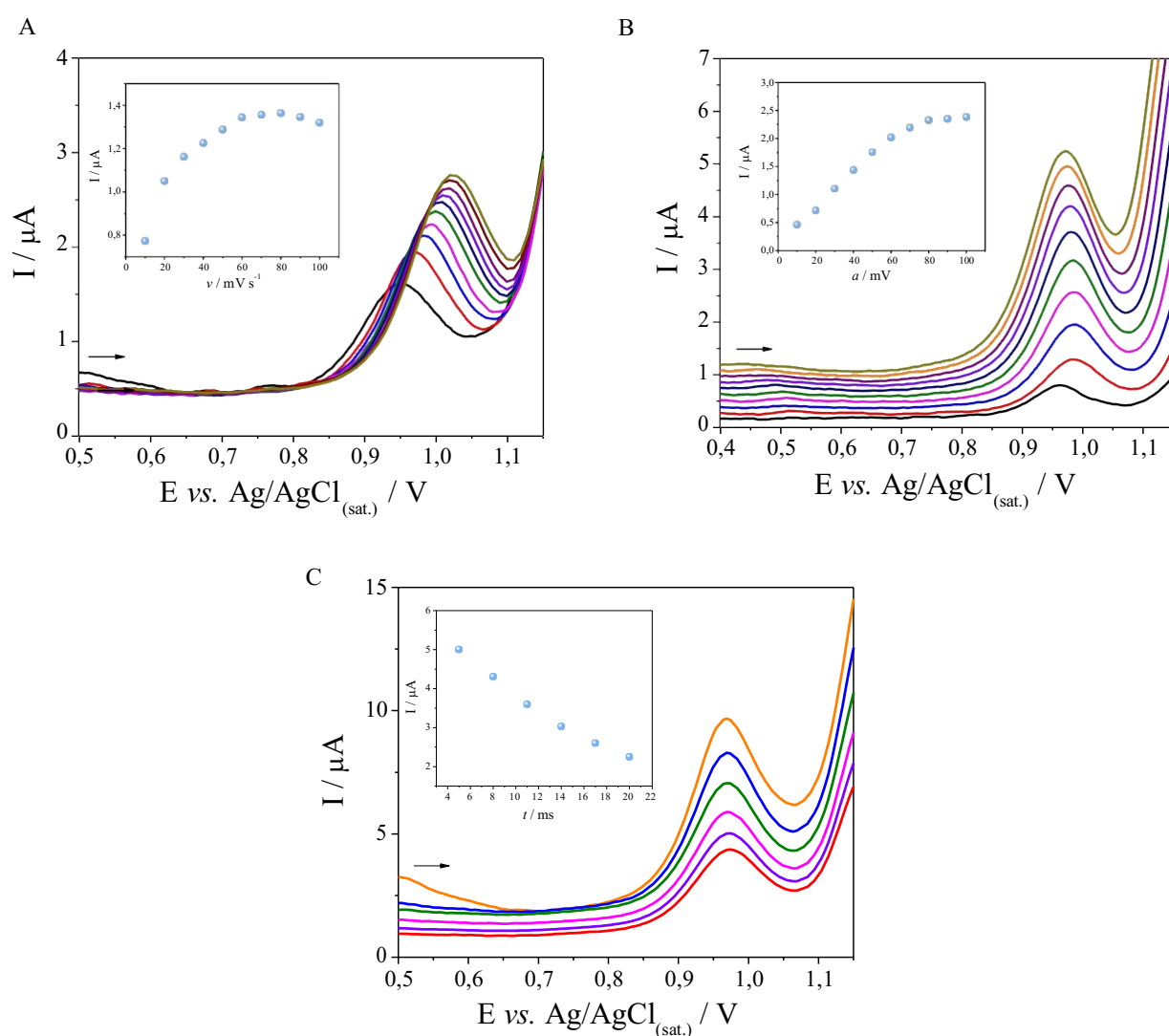
Figura 37. Voltamogramas para NPX ($20 \mu\text{mol L}^{-1}$) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão PBS (pH 4,0) usando as técnicas LSV, SWV e DPV, em diferentes velocidades de varredura (A) 10 mV s^{-1} , (B) 100 mV s^{-1} , e (C) 200 mV s^{-1} .



Com a técnica de DPV escolhida para a determinação de NPX, otimizou-se os parâmetros experimentais, sendo eles: velocidade de varredura (v : $10 - 100 \text{ mV s}^{-1}$), amplitude de potencial de pulso (E_{pulse} : $10 - 100 \text{ mV}$) e tempo de aplicação do pulso ($t_p = 5 - 20 \text{ ms}$). O efeito dos parâmetros foi investigado utilizando $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX, em tampão

PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0). Como podem ser observados na Figura 38, considerando o perfil do sinal voltamétrico e a intensidade da corrente de pico, os melhores sinais voltamétricos foram obtidos em velocidade de varredura de 60 mV s⁻¹, amplitude de 70 mV e tempo de pulso de 5 ms, sendo estes fixados para os próximos estudos.

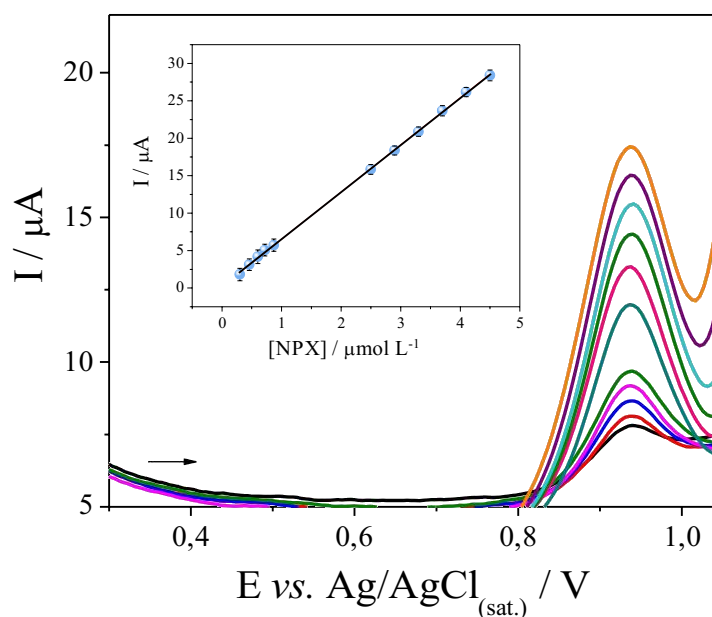
Figura 38. Voltamogramas de pulso diferencial com a variação dos parâmetros experimentais e dependência da corrente resultante com a variação da (A) velocidade de varredura, (B) amplitude e (C) tempo de pulso.



CURVA DE CALIBRAÇÃO E CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS

Após a otimização dos parâmetros, foi construída uma curva de calibração com adições sucessivas de NPX na célula empregando o GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si₄DMAP⁺Cl⁻. A Figura 39 apresenta os voltamogramas obtidos por DPV para várias concentrações de NPX no eletrólito de suporte PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0). Observa-se um sinal bem definido em +0,94 V correspondente à oxidação do NPX, onde a corrente aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração do analito no intervalo de 0,3 a 4,5 μmol L⁻¹. Na inserção da Figura 39 encontra-se a curva de calibração para o NPX e a equação que relaciona a concentração do analito e a corrente de pico é dada por $I / \mu\text{A} = 2,89 [\text{NPX}] + 0,22 \times 10^{-6}$ ($R^2 = 0,998$) ($n=3$), onde I é a corrente de pico anódico e $[\text{NPX}]$ é a concentração de NPX em μmol L⁻¹. Considerando o limite de detecção (LOD) como três vezes o desvio padrão do intercepto/inclinação e o limite de quantificação (LOQ) como dez vezes o desvio padrão do intercepto/inclinação [198], os valores de LOD e LOQ foram calculados para determinação de NPX como sendo 0,11 e 0,37 μmol L⁻¹ respectivamente.

Figura 39. Voltamogramas de pulso diferencial em 0,10 mol L⁻¹ PBS (pH 4,0), com diferentes concentrações de NPX, de 0,3 a 4,5 μmol L⁻¹. Inserção: Curva de calibração para NPX ($n = 3$).



O novo eletrodo proposto para determinação de NPX se mostra satisfatório em comparação com outros eletrodos modificados já descritos na literatura para determinação do mesmo analito, como pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4. Comparação do desempenho de diferentes eletrodos para determinação de NPX.

Eletrodo	Amostra	Faixa linear /($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD / ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
Pt	Farmacêutica	4,03–108	1,04	[197]
MWCNTs-Gr-IL/GCE	Plasma sanguíneo	1–100	0,125	[193]
SWCNTs/CPE	Farmacêutica e plasma sanguíneo	4,35–65,5	6,255	[64]
MWCNTs/GCE	Farmacêutica	10–100	0,60	[199]
ZnO/MWCNTs/CPE	Farmacêutica	0,1–200	0,23	[90]
NiO-CNTs-IL/CPE	Farmacêutica e urina	0,75 – 80	0,12	[200]
BDD	Farmacêutica	0,5 – 0,50	0,30	[65]
PLS/GCE	Ambiental de águas	4,3 – 65	0,69	[201]
GCE/NiCo ₂ O ₄ :TiO ₂ -Si ₄ DMAP ⁺ Cl ⁻	Soro simulado, urina sintética e água de rio fortificada	0,3 – 4,5	0,11	Este trabalho.

Pt – Eletrodo de platina;

MWCNTs-Gr-IL/GCE – Eletrodo híbrido carbono modificado com nanotubos de carbono de parede múltipla, grafeno e filme de nanocompósito de líquido iônico;

SWCNTs/CPE – Eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas;

MWCNTs/GCE – Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes simples;

ZnO/MWCNTs/CPE – Eletrodo de pasta de carbono modificado com nanopartículas de ZnO e nanotubos de carbono de paredes múltiplas; NiO-CNTs-IL/CPE – Eletrodo de pasta de carbono modificado com nanocompósito e NiO com nanotubos de carbono e líquido iônico;

BDD – Eletrodo de diamante dopado com boro;

PLS/GCE – Eletrodo de carbono vítreo modificado com poli(L-serina);

A repetibilidade das respostas de corrente obtidas com o GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si₄DMAP⁺Cl⁻ foi estimada em solução tampão PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) contendo NPX 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, empregando as condições otimizadas. Os valores de RSD ($n = 5$) das correntes resultantes para a repetibilidade intra dia e inter dia foram de 3,5% e 4,9%, respectivamente. Portanto, os valores obtidos indicaram que a determinação de NPX, utilizando o novo eletrodo modificado, apresenta uma boa repetibilidade no mesmo dia e em dias distintos.

Para avaliar a seletividade fornecida pelo eletrodo GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP⁺Cl⁻ e a possível interferência de moléculas orgânicas e íons inorgânicos nos ensaios, aplicou-se a DPV em solução tampão PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) contendo NPX 10 µmol L⁻¹. A concentração empregada de compostos orgânicos e íons inorgânicos foi 50 vezes maior que as concentrações do analito. O ácido húmico foi avaliado simulando a matéria orgânica encontrada em água de rio e a diminuição nas intensidades de corrente de oxidação do NPX foi menor que 10% na presença desse composto. Já para os interferentes inorgânicos estudados (K⁺, Ca²⁺, Cd²⁺, NH₄⁺, Zn²⁺, Pb²⁺, Cu²⁺, SO₄²⁻, PO₄³⁻), as respostas de corrente foram alteradas em torno de 6%. Logo, frente a esses resultados, pode-se afirmar que o eletrodo modificado aplicado nessa pesquisa possui seletividade aceitável na determinação de NPX em amostras reais. As características analíticas obtidas com o método proposto estão resumidas na Tabela 5.

Tabela 5. Características analíticas obtidas a partir da curva de calibração com para determinação de NPX empregando o eletrodo modificado GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si4DMAP⁺Cl⁻.

Parâmetro	Valor
Potencial de pico	+ 0,94
Faixa linear /µmol L ⁻¹	0,3 – 4,5
Coefficiente de determinação (R ²)	0,998
Desvio padrão do coeficiente angular /µA L mol ⁻¹	0,037
Coefficiente linear /µA	0,216
Desvio padrão do coeficiente linear /µA	0,107
LOD / µmol L ⁻¹	0,11
LOQ /µmol L ⁻¹	0,37
Repetibilidade intra-dia / RSD %	3,5
Repetibilidade inter-dia / RSD %	4,9

DETERMINAÇÃO DE NPX EM AMOSTRAS DE URINAE ÁGUA DE RIO

Amostras de urina sintética e amostras de água de rio enriquecidas com NPX foram analisadas para validar o procedimento proposto por meio de adição padrão (diluídas 100 x). Assim, foram adicionadas diferentes concentrações de NPX (em três níveis), conforme a Tabela 6. As correntes de pico de oxidação foram medidas por DPV nas condições otimizadas e os dados foram obtidos em triplicata utilizando o eletrodo modificado. Foram realizados testes de recuperação para estudo de exatidão e o percentual variou de 98 a 107%, demonstrando resultados satisfatórios de acordo com o diagrama de Horwitz [202].

Tabela 6. Determinação de NPX em urina e água de rio fortificada, empregando o eletrodo modificado GCE/NiCo₂O₄:TiO₂-Si₄DMAP⁺Cl⁻.

Amostra	NPX / $\mu\text{mol L}^{-1}$		Recuperação %
	Adicionado	Encontrado	
Urina	0,80	0,86 \pm 0,12	107,5
	1,25	1,23 \pm 0,05	98,4
	2,48	2,50 \pm 0,03	100,8
Água de rio	0,80	0,83 \pm 0,09	103,7
	1,25	1,31 \pm 0,06	104,8
	2,48	2,46 \pm 0,06	99,2

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi apresentado o desenvolvimento de dois eletrodos modificados à base de nanopartículas metálicas estabilizadas em polímeros de silsesquioxano, os quais foram avaliados e aplicados na determinação de anti-inflamatórios não esteroidais em amostras biológicas simuladas e amostras ambientais de água. A combinação das nanopartículas e os polímeros de silsesquioxano garantiram sensibilidade suficiente aos eletrodos, possibilitando uma quantificação satisfatória. Além disso, o polímero de silsesquioxano foi fundamental nesse processo, não apenas na função de estabilizar as nanopartículas, mas também no papel da formação de um filme estável sobre o substrato de carbono vítreo.

O primeiro eletrodo foi modificado com nanopartículas de paládio, estabilizado no polímero cloreto de 3-*n*-propil(4-metilpiridínio) silsesquioxano (Si₄Pic⁺NO₃⁻) e foi empregado para determinação de nimesulida em amostras de urina sintética, soro simulado e água de rio. Já o segundo eletrodo proposto foi modificado com nanopartículas de cobaltita de níquel e dióxido de titânio estabilizadas no polímero de cloreto de 3-*n*-propil-4-(dimetilamino)piridínio silsesquioxano (Si₄DMAP⁺Cl⁻) sendo empregado para determinação de naproxeno em amostras de urina sintética e água de rio.

Ainda, dada a pequena quantidade de material utilizada na modificação dos eletrodos, pode-se considerar que foram desenvolvidos sensores eletroquímicos de baixo custo, além do seu simples preparo, os quais podem ser adequadamente empregados em análises de rotina. Ambos os eletrodos apresentaram boa seletividade, repetibilidade e sensibilidade para as análises. A quantificação dos dois analitos foi realizada com êxito em amostras reais, resultando em valores de precisão e exatidão satisfatórios. Por fim, considerando o preparo simples dos eletrodos e a portabilidade do sistema utilizado nas medidas eletroanalíticas, pode-se destacar que os dois novos sensores modificados, além de mostraram-se ferramentas analíticas adequadas na determinação dos fármacos estudados, podem ser empregados para análises de campo.

REFERÊNCIAS

- [1] E.C.A. Monteiro, J.M. de F. Trindade, Â.L.B.P. Duarte, W.H. Chahade, Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), *Temas de Reumatologia Clínica*. 9 (2008) 53–63.
- [2] J.M. Silva, P.P. Mendonça, A.K. Partata, Anti-inflamatórios não-esteróides e suas propriedades gerais, *Revista Científica Do ITPAC*. 7 (2014).
- [3] M. Starek, J. Krzek, A review of analytical techniques for determination of oxicams, nimesulide and nabumetone, *Talanta*. 77 (2009) 925–942.
- [4] E. Maris, F. Muri, M. Matilde De Mello Sposito, L. Metsavaht, Antiinflamatórios não-esteroidais e sua farmacologia local. *Acta Fisiatr*. 16(2009) 186–190.
- [5] M. Batlouni. Anti-Inflamatórios Não Esteroides: Efeitos Cardiovasculares, Cérebro-Vasculares e Renais, *Arq Bras Cardiol*. (2009) 556–563.
- [6] A. Bernareggi, Clinical pharmacokinetics and metabolism of nimesulide, *Inflammapharmacology*. 9(2001) 81–89.
- [7] W. Badri, K. Miladi, Q.A. Nazari, H. Greige-Gerges, H. Fessi, A. Elaissari, Encapsulation of NSAIDs for inflammation management: Overview, progress, challenges and prospects, *Int J Pharm*. 515 (2016) 757–773.
- [8] S. Bindu, S. Mazumder, U. Bandyopadhyay, Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective, *Biochem Pharmacol*. 180 (2020).
- [9] W. Fan, X. Mao, M. He, B. Chen, B. Hu, Development of novel sol-gel coatings by chemically bonded ionic liquids for stir bar sorptive extraction - Application for the determination of NSAIDS in real samples, *Anal Bioanal Chem*. 406 (2014) 7261–7273.
- [10] P.K. Kalambate, J. Noiphung, N. Rodthongkum, N. Larpant, P. Thirabowonkitphithan, T. Rojanarata, M. Hasan, Y. Huang, W. Laiwattanapaisal, Nanomaterials-based electrochemical sensors and biosensors for the detection of non-steroidal anti-inflammatory drugs, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 143 (2021).
- [11] Y. Luo, W. Guo, H.H. Ngo, L.D. Nghiem, F.I. Hai, J. Zhang, S. Liang, X.C. Wang, A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment, *Science of the Total Environment*. 473–474 (2014) 619–641.
- [12] K. Świacka, A. Michnowska, J. Maculewicz, M. Caban, K. Smolarz, Toxic effects of NSAIDs in non-target species: A review from the perspective of the aquatic environment, *Environmental Pollution*. 273 (2021).
- [13] M. Parolini, Toxicity of the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) acetylsalicylic acid, paracetamol, diclofenac, ibuprofen and naproxen towards freshwater invertebrates: A review, *Science of the Total Environment*. 740 (2020).

- [14] M. Cycon, S. Borymski, B. Zolnierczyk, Z. Piotrowska-Seget, Variable effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on selected biochemical processes mediated by soil microorganisms, *Front Microbiol.* 7 (2016).
- [15] P. Izadi, P. Izadi, R. Salem, S.A. Papry, S. Magdouli, R. Pulicharla, S.K. Brar, Non-steroidal anti-inflammatory drugs in the environment: Where were we and how far we have come?, *Environmental Pollution.* 267 (2020).
- [16] H.F.D. Almeida, I.M. Marrucho, M.G. Freire, Removal of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs from Aqueous Environments with Reusable Ionic-Liquid-Based Systems, *ACS Sustain Chem Eng.* 5 (2017) 2428–2436.
- [17] S. Kleywegt, V. Pileggi, P. Yang, C. Hao, X. Zhao, C. Rocks, S. Thach, P. Cheung, B. Whitehead, Pharmaceuticals, hormones and bisphenol A in untreated source and finished drinking water in Ontario, Canada - Occurrence and treatment efficiency, *Science of the Total Environment.* 409 (2011) 1481–1488.
- [18] X. Peng, Y. Yu, C. Tang, J. Tan, Q. Huang, Z. Wang, Occurrence of steroid estrogens, endocrine-disrupting phenols, and acid pharmaceutical residues in urban riverine water of the Pearl River Delta, South China, *Science of the Total Environment.* 397 (2008) 158–166.
- [19] A.L. Spongberg, J.D. Witter, J. Acuña, J. Vargas, M. Murillo, G. Umaña, E. Gómez, G. Perez, Reconnaissance of selected PPCP compounds in Costa Rican surface waters, *Water Res.* 45 (2011) 6709–6717.
- [20] E. Vulliet, C. Cren-Olivé, M.F. Grenier-Loustalot, Occurrence of pharmaceuticals and hormones in drinking water treated from surface waters, *Environ Chem Lett.* 9 (2011) 103–114.
- [21] A.S. Stasinakis, S. Mermigka, V.G. Samaras, E. Farmaki, N.S. Thomaidis, Occurrence of endocrine disrupters and selected pharmaceuticals in Aisonas River (Greece) and environmental risk assessment using hazard indexes, *Environmental Science and Pollution Research.* 19 (2012) 1574–1583.
- [22] B. Petrie, R. Barden, B. Kasprzyk-Hordern, A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring, *Water Res.* 72 (2015) 3–27.
- [23] A. Eslami, M.M. Amini, A.R. Yazdanbakhsh, N. Rastkari, A. Mohseni-Bandpei, S. Nasseri, E. Piroti, A. Asadi, Occurrence of non-steroidal anti-inflammatory drugs in Tehran source water, municipal and hospital wastewaters, and their ecotoxicological risk assessment, *Environ Monit Assess.* 187 (2015) 1–15.
- [24] L. Miranda, V.C. Pereira, C.S. Machado, Y.R. Torres, V.E. dos Anjos, S.P. Quináia, Direct Determination of Nimesulide in Natural Waters and Wastewater by Cathodic Stripping Voltammetry, *Arch Environ Contam Toxicol.* 73 (2017) 631–640.
- [25] J. Song, X. Liang, Q. Ma, J. An, F. Feng, Fluorescent boron and nitrogen co-doped carbon dots with high quantum yield for the detection of nimesulide and fluorescence staining, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 216 (2019)

- [26] Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. (2009). Disponível em www.anvisa.gov.br
- [27] P. Roberto, B. Fallavena, E.S. Schapoval. pKa determination of nimesulide in metanol-water mixtures by potentiometric titrations. *International journal of pharmaceuticals*. 158(1997) 109–112.
- [28] S. Furlanetto, S. Orlandini, G. Aldini, R. Gotti, E. Dreassi, S. Pinzauti, Designing experiments to optimise and validate the adsorptive stripping voltammetric determination of Nimesulide. *Analytica Chimica Acta* 413(2000) 229–239.
- [29] C. Wang, X. Shao, Q. Liu, Q. Qu, G. Yang, X. Hu, Differential pulse voltammetric determination of nimesulide in pharmaceutical formulation and human serum at glassy carbon electrode modified by cysteic acid/CNTs based on electrochemical oxidation of l-cysteine, *J Pharm Biomed Anal.* 42 (2006)
- [30] W. Wei, V.I. Evseenko, M. v. Khvostov, S.A. Borisov, T.G. Tolstikova, N.E. Polyakov, A. v. Dushkin, W. Xu, L. Min, W. Su, Solubility, permeability, anti-inflammatory action and in vivo pharmacokinetic properties of several mechanochemically obtained pharmaceutical solid dispersions of nimesulide, *Molecules*. 26 (2021).
- [31] T. Güngör, A. Ozleyen, Y.B. Yılmaz, P. Siyah, M. Ay, S. Durdağı, T.B. Tumer, New nimesulide derivatives with amide/sulfonamide moieties: Selective COX-2 inhibition and antitumor effects, *Eur J Med Chem*. 221 (2021).
- [32] T. Ramesh, P.N. Rao, R.N. Rao, Simultaneous quantification of nimesulide, phenylpropanolamine, caffeine and chlorpheniramine in rat plasma by RP–HPLC/PDA method and application to pharmacokinetic studies in healthy rat subjects, *Arabian Journal of Chemistry*. 12 (2019) 2320–2327.
- [33] M. Papageorgiou, C. Kosma, D. Lambropoulou, 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*. 543 (2016) 547–569.
- [34] M. Antonio, R. Araujo, Hepatotoxicidade associada à nimesulida: uma revisão da literatura. *Revista brasileira de farmácia*. 93(2012) 283–289.
- [35] D.W. Kolpin, E.T. Furlong, M.T. Meyer, E.M. Thurman, S.D. Zaugg, L.B. Barber, H.T. Buxton, Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance, *Environ Sci Technol*. 36 (2002) 1202–1211.
- [36] T.A. Ternes. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Wat. Res.* 32 (1998) 3245–3260.
- [37] Ankley, G., Brooks, B., Huggett D, Sumpter J. Repeating History Pharmaceuticals in the environment. *Environmental Science & technology*. (2007).
- [38] A. Álvarez-Lueje, P. Vásquez, L.J. Núñez-Vergara, J.A. Squella, HPLC determination of nimesulide in tablets by electrochemical detection, *Anal Lett*. 31 (1998) 1173–1184.

- [39] A. Macià, F. Borrull, M. Calull, C. Aguilar, Capillary electrophoresis for the analysis of non-steroidal anti-inflammatory drugs, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 26 (2007) 133–153.
- [40] D. Dogrukol-Aka, M. Tuncela, H. Y. A capillary zone electrophoretic method for the determination of nimesulide in pharmaceutical preparation and serum. *J. Sep. Sci.* 24 (2001) 743–748.
- [41] D. Thomas, L. Lonappan, L. Rajith, S.T. Cyriac, K. Girish Kumar, Quantum dots (QDs) based fluorescent sensor for the selective determination of Nimesulide, *J Fluoresc.* 23 (2013) 473–478.
- [42] P. v. Ajayakumar, D. Chanda, A. Pal, M.P. Singh, A. Samad, FT-NIR spectroscopy for rapid and simple determination of nimesulide in rabbit plasma for pharmacokinetic analysis, *J Pharm Biomed Anal.* 58 (2012) 157–162.
- [43] S.D. Bukkitgar, N.P. Shetti, R.M. Kulkarni, S.B. Halbhavi, M. Wasim, M. Mylar, P.S. Durgi, S.S. Chirmure, Electrochemical oxidation of nimesulide in aqueous acid solutions based on TiO₂ nanostructure modified electrode as a sensor, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 778 (2016) 103–109.
- [44] S.D. Bukkitgar, N.P. Shetti, R.M. Kulkarni, M.R. Doddamani, Electro-oxidation of nimesulide at 5% barium-doped zinc oxide nanoparticle modified glassy carbon electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 762 (2016) 37–42.
- [45] R. Ghavami, A. Navaee, Determination of nimesulide in human serum using a glassy carbon electrode modified with SiC nanoparticles, *Microchimica Acta*. 176 (2012) 493–499.
- [46] P.K. Kalambate, Dhanjai, Z. Huang, Y. Li, Y. Shen, M. Xie, Y. Huang, A.K. Srivastava, Core@shell nanomaterials based sensing devices: A review, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 115 (2019) 147–161.
- [47] F.W.P. Ribeiro, T.R.V. Soares, S. do N. Oliveira, L.C. Melo, J.E. Soares, H. Becker, D. de Souza, P. de Lima-Neto, A.N. Correia, Analytical determination of nimesulide and ofloxacin in pharmaceutical preparations using square-wave voltammetry, *Journal of Analytical Chemistry*. 69 (2014) 62–71.
- [48] S.J. Malode, S.T. Nandibewoor, Electro-oxidation of nimesulide at gold electrode and its determination in pharmaceutical dosage form and human biological fluid, *Asian Journal of Pharmaceutical and clinical research*. 3 (2013).
- [49] C.S. Boynton, C.F. Dick, G.H. Mayor, NSAIDs: An overview, *J Clin Pharmacol.* 28 (1988) 512–517.
- [50] Ö. Güngör, Determination of naproxen by using differential pulse voltammetry with poly (aniline-2-sulfonic acid) modified boron doped diamond electrode, *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*. 41 (2022) 11–20.
- [51] R.S. Addison, S.L. Parker-Scott, W.D. Hooper, M.J. Eadie, R.G. Dickinson, Effect of naproxen co-administration on valproate disposition, *Biopharm Drug Dispos.* 21 (2000) 235–242.

- [52] D.J. Angiolillo, S.M. Weisman, *Clinical Pharmacology and Cardiovascular Safety of Naproxen*, *American Journal of Cardiovascular Drugs*. 17 (2017) 97–107.
- [53] C.A. Barcella, M. Lamberts, P. McGettigan, E.L. Fosbøl, J. Lindhardsen, C. Torp-Pedersen, G.H. Gislason, A.M.S. Olsen, Differences in cardiovascular safety with non-steroidal anti-inflammatory drug therapy—A nationwide study in patients with osteoarthritis, *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 124 (2019) 629–641.
- [54] C.M. Aguilar, I. Chairez, J.L. Rodríguez, H. Tiznado, R. Santillán, D. Arrieta, T. Poznyak, Inhibition effect of ethanol in naproxen degradation by catalytic ozonation with NiO, *RSC Adv*. 9 (2019) 14822–14833.
- [55] A. Dzionek, D. Wojcieszńska, K. Hupert-Kocurek, M. Adamczyk-Habrajska, U. Guzik, Immobilization of *Planococcus* sp. S5 strain on the loofah sponge and its application in naproxen removal, *Catalysts*. 8 (2018).
- [56] C. Xu, L. Niu, H. Guo, X. Sun, L. Chen, W. Tu, Q. Dai, J. Ye, W. Liu, J. Liu, Long-term exposure to the non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) naproxen causes thyroid disruption in zebrafish at environmentally relevant concentrations, *Science of the Total Environment*. 676 (2019) 387–395.
- [57] D. Wojcieszńska, U. Guzik, Naproxen in the environment: its occurrence, toxicity to nontarget organisms and biodegradation, *Appl Microbiol Biotechnol*. 104 (2020) 1849–1857.
- [58] T.M. do Prado, C.C. Badaró, R.G. Machado, P.S. Fadini, O. Fatibello-Filho, F.C. Moraes, Using Bismuth Vanadate/Copper Oxide Nanocomposite as Photoelectrochemical Sensor for Naproxen Determination in Sewage, *Electroanalysis*. 32 (2020) 1930–1937.
- [59] T. aus der Beek, F.A. Weber, A. Bergmann, S. Hickmann, I. Ebert, A. Hein, A. Küster, Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives, *Environ Toxicol Chem*. 35 (2016) 823–835.
- [60] G.L. Brun, M. Bernier, R. Losier, K. Doe, P. Jackman, H.-B. Lee, Pharmaceutically active compounds in atlantic canadian sewage treatment plant effluents and receiving waters, and potential for environmental effects as measured by acute and chronic aquatic toxicity. *Envir. Toxicology and Achem*. 25(2006) 2163–2176.
- [61] K. Komori, Y. Suzuki, M. Minamiyama, A. Harada, Occurrence of selected pharmaceuticals in river water in Japan and assessment of their environmental risk, *Environ Monit Assess*. 185 (2013) 4529–4536.
- [62] J.L. Zhao, G.G. Ying, Y.S. Liu, F. Chen, J.F. Yang, L. Wang, X.B. Yang, J.L. Stauber, M.S.J. Warne, Occurrence and a screening-level risk assessment of human pharmaceuticals in the pearl river system, South China, *Environ Toxicol Chem*. 29 (2010) 1377–1384.
- [63] P. Grenni, L. Patrolecco, N. Ademollo, A. Tolomei, A. Barra Caracciolo, Degradation of Gemfibrozil and Naproxen in a river water ecosystem, *Microchemical Journal*. 107 (2013) 158–164.

- [64] H.A.M. Hendawy, W.M. Salem, M.S. Abd-Elmonem, E. Khaled, Nanomaterial-Based Carbon Paste Electrodes for Voltammetric Determination of Naproxen in Presence of Its Degradation Products, *J Anal Methods Chem.* (2019).
- [65] V. Suryanarayanan, Y. Zhang, S. Yoshihara, T. Shirakashi, Voltammetric assay of naproxen in pharmaceutical formulations using boron-doped diamond electrode, *Electroanalysis.* 17 (2005) 925–932.
- [66] R.W. Murray, A.G. Ewing, R.A. Durst, Chemically Modified Electrodes Molecular Design for Electroanalysis, *Analytical Chemistry.* 59 (1987).
- [67] A.C. Pereira, A. de S. Santos, L.T. Kubota, Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalítica, *Quim Nova.* 25 (2002) 1012–1021.
- [68] I. Svancara, K. Vytras, J. Barek, J. Zima, Carbon paste electrodes in modern electroanalysis, *Crit Rev Anal Chem.* 31 (2001) 311–345.
- [69] M. Sajid, M.K. Nazal, M. Mansha, A. Alsharaa, S.M.S. Jillani, C. Basheer, Chemically modified electrodes for electrochemical detection of dopamine in the presence of uric acid and ascorbic acid: A review, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry.* 76 (2016) 15–29.
- [70] M. de F.B. Souza, Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem, *Química nova.* 20 (1997).
- [71] N. Jadon, R. Jain, S. Sharma, K. Singh, Recent trends in electrochemical sensors for multianalyte detection – A review, *Talanta.* 161 (2016) 894–916.
- [72] G. Liao, J. Fang, Q. Li, S. Li, Z. Xu, B. Fang, Ag-Based nanocomposites: Synthesis and applications in catalysis, *Nanoscale.* 11 (2019) 7062–7096.
- [73] F. de M. Morawski, N.B. Caon, K.A.P. Sousa, F.L. Faita, A.L. Parize, C.L. Jost, Hybrid chitosan-coated manganese ferrite nanoparticles for electrochemical sensing of bifenox herbicide, *J Environ Chem Eng.* 9 (2021).
- [74] A. Abbas, H.M.A. Amin, Silver nanoparticles modified electrodes for electroanalysis: An updated review and a perspective, *Microchemical Journal.* 175 (2022).
- [75] A.J. Bard, *Electroanalytical Chemistry*, Marcel Dekker, Inc, 1983. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.
- [76] M. Zhou, L. Han, D. Deng, Z. Zhang, H. He, L. Zhang, L. Luo, 4-mercaptobenzoic acid modified silver nanoparticles-enhanced electrochemical sensor for highly sensitive detection of Cu²⁺, *Sens Actuators B Chem.* 291 (2019) 164–169.
- [77] C. Zhu, G. Yang, H. Li, D. Du, Y. Lin, Electrochemical sensors and biosensors based on nanomaterials and nanostructures, *Anal Chem.* 87 (2015) 230–249.
- [78] F.W. Campbell, R.G. Compton, The use of nanoparticles in electroanalysis: An updated review, *Anal Bioanal Chem.* 396 (2010) 241–259.

- [79] G.G. Schmid, *General Features of Metal Nanoparticles Physics and Chemistry. Metal Nanoclusters in Catalysis and Materials Science: The Issue of Size Control.* (2008).
- [80] N.B. Freire, L.C.S.R. Pires, H.P. Oliveira, M.M. Costa, Antimicrobial and antibiofilm activity of silver nanoparticles against *Aeromonas* spp. isolated from aquatic organisms, *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. 38 (2018) 244–249.
- [81] W. He, K. Ai, C. Jiang, Y. Li, X. Song, L. Lu, Plasmonic titanium nitride nanoparticles for in vivo photoacoustic tomography imaging and photothermal cancer therapy, *Biomaterials*. 132 (2017) 37–47.
- [82] C.H. Zhou, J.N. Beltramini, G.Q. Lu, Chemoselective catalytic conversion of glycerol as a biorenewable source to valuable commodity chemicals, *Chem Soc Rev*. 37 (2008) 527–549.
- [83] M. Zahmakiran, S. Özkar, Metal nanoparticles in liquid phase catalysis; From recent advances to future goals, *Nanoscale*. 3 (2011) 3462–3481.
- [84] N. Toshima, T. Yonezawa, Bimetallic nanoparticles - Novel materials for chemical and physical applications, *New Journal of Chemistry*. 22 (1998) 1179–1201.
- [85] X. The Bakerian Lecture. —Experimental relations of gold (and other metals) to light, *Philos Trans R Soc Lond*. 147 (1857) 145–181.
- [86] L.D. Pachón, G. Rothenberg, Transition-metal nanoparticles: Synthesis, stability and the leaching issue, *Appl Organomet Chem*. 22 (2008) 288–299.
- [87] N. Baig, M. Sajid, T.A. Saleh, Recent trends in nanomaterial-modified electrodes for electroanalytical applications, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 111 (2019) 47–61.
- [88] J.M. George, A. Antony, B. Mathew, Metal oxide nanoparticles in electrochemical sensing and biosensing: a review, *Microchimica Acta*. 185 (2018).
- [89] J.D. Aiken, R.G. Finke, A review of modern transition-metal nanoclusters: their synthesis, characterization, and applications in catalysis, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 145 (1999) 1–44.
- [90] J. Tashkhourian, B. Hemmateenejad, H. Beigizadeh, M. Hosseini-Sarvari, Z. Razmi, ZnO nanoparticles and multiwalled carbon nanotubes modified carbon paste electrode for determination of naproxen using electrochemical techniques, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 714–715 (2014) 103–108.
- [91] A. Afkhami, F. Kafrashi, M. Ahmadi, T. Madrakian, A new chiral electrochemical sensor for the enantioselective recognition of naproxen enantiomers using L-cysteine self-assembled over gold nanoparticles on a gold electrode, *RSC Adv*. 5 (2015) 58609–58615.
- [92] H.S. Ferreira, M. Do, C. Rangel, Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise, *Química nova*. 32 (2009) 1860–1870.
- [93] J. Hang, L. Shi, X. Feng, L. Xiao, Electrostatic and electrosteric stabilization of aqueous suspensions of barite nanoparticles, *Powder Technol*. 192 (2009) 166–170.

- [94] J.Z. Zhang, C. Noguez, Plasmonic optical properties and applications of metal nanostructures, *Plasmonics*. 3 (2008) 127–150
- [95] N. Gacem, P. Diao, Effect of solvent polarity on the assembly behavior of PVP coated rhodium nanoparticles, *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 417 (2013) 32–38.
- [96] B.L. Albuquerque, A. Denicourt-Nowicki, C. Mériadec, J.B. Domingos, A. Roucoux, Water soluble polymer-surfactant complexes-stabilized Pd(0) nanocatalysts: Characterization and structure-activity relationships in biphasic hydrogenation of alkenes and α,β -unsaturated ketones, *J Catal.* 340 (2016) 144–153.
- [97] E. Moczko, A. Guerreiro, E. Piletska, S. Piletsky, PEG-stabilized core-shell surface-imprinted nanoparticles, *Langmuir*. 29 (2013) 9891–9896.
- [98] S.A. Stratton, K.L. Luska, A. Moores, Rhodium nanoparticles stabilized with phosphine functionalized imidazolium ionic liquids as recyclable arene hydrogenation catalysts, *Catal Today*. 183 (2012) 96–100.
- [99] F.D. Souza, B.S. Souza, D.W. Tondo, E.C. Leopoldino, H.D. Fiedler, F. Nome, Imidazolium-based zwitterionic surfactants: Characterization of normal and reverse micelles and stabilization of nanoparticles, *Langmuir*. 31 (2015) 3587–3595.
- [100] M.R. Nunes, Y. Gushikem, R. Landers, J. Dupont, T.M.H. Costa, E. v. Benvenuti, Charged silsesquioxane used as a vehicle for gold nanoparticles to perform the synthesis of catalyst xerogels, in: *J Solgel Sci Technol*, (2012) 258–265.
- [101] Y. Kaneko, Ionic silsesquioxanes: Preparation, structure control, characterization, and applications, *Polymer (Guildf)*. 144 (2018) 205–224.
- [102] M.R. de Barros, O.R. Bittencourt, P.Z. Crocomo, G. Mafra, E. Carasek, H.A. Magosso, C.L. Jost, J.P. Winiarski, Adsorption of hazardous and noxious 4-nitrophenol by a silsesquioxane organic-inorganic hybrid material, *J Solgel Sci Technol*. 99 (2021) 402–412.
- [103] C.A. Didó, C.D.G. Caneppele, A.C. Schneid, M.B. Pereira, T.M.H. Costa, E. v. Benvenuti, Small gold nanoparticles with narrow size distribution achieved in SBA-15 pores by using ionic silsesquioxane instead of thiol group as stabilizer and adhesion agent, *Microporous and Mesoporous Materials*. 270 (2018) 48–56.
- [104] A.C. Ribicki, B.G. Chemin, V.J. van Haandel, J.P. Winiarski, T. de Castro Rozada, C.A. Pessoa, R.A. Estrada, B.C. Fiorin, S.T. Fujiwara, Sol gel synthesis of 3-n-propyl(4-aminomethyl)pyridinium silsesquioxane chloride and the enhanced electrocatalytic activity of LbL films, *J Solgel Sci Technol*. 87 (2018) 216–229.
- [105] J.P. Winiarski, R. Rampanelli, J.C. Bassani, D.Z. Mezalira, C.L. Jost, Multi-walled carbon nanotubes/nickel hydroxide composite applied as electrochemical sensor for folic acid (vitamin B9) in food samples, *Journal of Food Composition and Analysis*. 92 (2020).
- [106] E. Zapp, P.S. da Silva, E. Westphal, H. Gallardo, A. Spinelli, I.C. Vieira, Troponin T Immunosensor Based on Liquid Crystal and Silsesquioxane-Supported Gold Nanoparticles, *Bioconjug Chem*. 25 (2014) 1638–1643.

- [107] Y. Gushikem, E. v. Benvenutti, Y. v. Kholin, Synthesis and applications of functionalized silsesquioxane polymers attached to organic and inorganic matrices, in: *Pure and Applied Chemistry*, 2008: pp. 1593–1611.
- [108] E.W. de Menezes, M.R. Nunes, L.T. Arenas, S.L.P. Dias, I.T.S. Garcia, Y. Gushikem, T.M.H. Costa, E. v. Benvenutti, Gold nanoparticle/charged silsesquioxane films immobilized onto Al/SiO₂ surface applied on the electrooxidation of nitrite, *Journal of Solid State Electrochemistry*. 16 (2012) 3703–3713.
- [109] A.C. Schneid, E.W. Roesch, F. Sperb, U. Matte, N.P. da Silveira, T.M.H. Costa, E. v. Benvenutti, E.W. de Menezes, Silver nanoparticle-ionic silsesquioxane: A new system proposed as an antibacterial agent, *J Mater Chem B*. 2 (2014) 1079–1086.
- [110] L.T. Arenas, A. Langaro, C.C. Moro, E. v Benvenutti, T.M. Costa, 3-n-Propyl-1-azonia-4-azabicyclo[2.2.2]octanechloride Silsesquioxane: A New Water Soluble Polymer, (2003).
- [111] E.W. de Menezes, E.C. Lima, B. Royer, F.E. de Souza, B.D. dos Santos, J.R. Gregório, T.M.H. Costa, Y. Gushikem, E. v. Benvenutti, Ionic silica based hybrid material containing the pyridinium group used as an adsorbent for textile dye, *J Colloid Interface Sci*. 378 (2012) 10–20.
- [112] P.Z. Crocomo, J.P. Winiarski, M.R. de Barros, E. Latocheski, G.R. Nagurniak, R.L.T. Parreira, D.A. Siebert, G.A. Micke, H.A. Magosso, C.L. Jost, Silver Nanoparticles-Silsesquioxane Nanomaterial Applied to the Determination of 4-Nitrophenol as a Biomarker, *Electroanalysis*. 31 (2019) 2319–2329.
- [113] G.G. Gerent, A. Spinelli, Magnetite-platinum nanoparticles-modified glassy carbon electrode as electrochemical detector for nitrophenol isomers, *J Hazard Mater*. 330 (2017) 105–115.
- [114] J.P. Winiarski, M.R. de Barros, G.S. Wecker, G.R. Nagurniak, R.L.T. Parreira, R.F. Affeldt, R.A. Peralta, C.L. Jost, A novel hybrid organic-inorganic silsesquioxane and cobalt(ii) tetrasulphophthalocyanine material as an efficient electrochemical sensor for the simultaneous determination of the anti-hypertensive nifedipine and its metabolite, *J Mater Chem C Mater*. 8 (2020) 6839–6850.
- [115] E.R. Santana, C.A. de Lima, J. v. Piovesan, A. Spinelli, An original ferroferric oxide and gold nanoparticles-modified glassy carbon electrode for the determination of bisphenol A, *Sens Actuators B Chem*. 240 (2017) 487–496.
- [116] J.P. Winiarski, M.R. de Barros, H.A. Magosso, C.L. Jost, Electrochemical reduction of sulfite based on gold nanoparticles/silsesquioxane-modified electrode, *Electrochim Acta*. 251 (2017) 522–531.
- [117] P.S. da Silva, B.C. Gasparini, H.A. Magosso, A. Spinelli, Gold nanoparticles hosted in a water-soluble silsesquioxane polymer applied as a catalytic material onto an electrochemical sensor for detection of nitrophenol isomers, *J Hazard Mater*. 273 (2014) 70–77.
- [118] Y. Qin, Y. Kong, Y. Xu, F. Chu, Y. Tao, S. Li, In situ synthesis of highly loaded and ultrafine Pd nanoparticles-decorated graphene oxide for glucose biosensor application, *J Mater Chem*. 22 (2012) 24821–24826.

- [119] F.D. Souza, H. Fiedler, F. Nome, Zwitterionic Surfactant stabilized palladium nanoparticles as catalysts in aromatic nitro compound reductions, *J Braz Chem Soc.* 27 (2016) 372–381.
- [120] M. Shokouhimehr, K. Hong, T.H. Lee, C.W. Moon, S.P. Hong, K. Zhang, J.M. Suh, K.S. Choi, R.S. Varma, H.W. Jang, Magnetically retrievable nanocomposite adorned with Pd nanocatalysts: Efficient reduction of nitroaromatics in aqueous media, *Green Chemistry.* 20 (2018) 3809–3817.
- [121] B. Lakshminarayana, A.K. Manna, G. Satyanarayana, C. Subrahmanyam, Palladium Nanoparticles on Silica Nanospheres for Switchable Reductive Coupling of Nitroarenes, *Catal Letters.* 150 (2020) 2309–2321.
- [122] E. Antolini, Palladium in fuel cell catalysis, *Energy Environ Sci.* 2 (2009) 915–931.
- [123] T.T.V. Phan, T.C. Huynh, P. Manivasagan, S. Mondal, J. Oh, An up-to-date review on biomedical applications of palladium nanoparticles, *Nanomaterials.* 10 (2020).
- [124] S.B. Yaqoob, R. Adnan, R.M. Rameez Khan, M. Rashid, Gold, Silver, and Palladium Nanoparticles: A Chemical Tool for Biomedical Applications, *Front Chem.* 8 (2020).
- [125] Y.E. Silina, N. Apushkinskaya, N. v. Talagaeva, M.G. Levchenko, E. v. Zolotukhina, Electrochemical operational principles and analytical performance of Pd-based amperometric nanobiosensors, *Analyst.* 146 (2021) 4873–4882.
- [126] S. Bozkurt, B. Tosun, B. Sen, S. Akocak, A. Savk, M.F. Ebeoğlugil, F. Sen, A hydrogen peroxide sensor based on TNM functionalized reduced graphene oxide grafted with highly monodisperse Pd nanoparticles, *Anal Chim Acta.* 989 (2017) 88–94.
- [127] S. Renjini, P. Abraham, T.J. Kumar, V.A. Kumary, P.G. Chithra, Graphene oxide supported palladium nanoparticle as an electrochemical sensor for epinephrine, in: *AIP Conf Proc, American Institute of Physics Inc.*, (2019).
- [128] Q. Zhao, H. Yu, D. Hu, L. Li, J. Jin, M.J. Ai, J. Wei, K. Song, Recent advances in electrochemical sensors based on palladium nanoparticles, *Chinese Journal of Analytical Chemistry.* 50 (2022).
- [129] X. Niu, M. Lan, C. Chen, H. Zhao, Nonenzymatic electrochemical glucose sensor based on novel Pt-Pd nanoflakes, *Talanta.* 99 (2012) 1062–1067.
- [130] F.H. Cincotto, D.L.C. Golinelli, S.A.S. Machado, F.C. Moraes, Electrochemical sensor based on reduced graphene oxide modified with palladium nanoparticles for determination of desipramine in urine samples, *Sens Actuators B Chem.* 239 (2017) 488–493.
- [131] T. Wu, T. Li, Z. Liu, Y. Guo, C. Dong, Electrochemical sensor for sensitive detection of triclosan based on graphene/palladium nanoparticles hybrids, *Talanta.* 164 (2017) 556–562.
- [132] D.M. Fernandes, M. Costa, C. Pereira, B. Bachiller-Baeza, I. Rodríguez-Ramos, A. Guerrero-Ruiz, C. Freire, Novel electrochemical sensor based on N-doped carbon nanotubes and Fe₃O₄ nanoparticles: Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid, *J Colloid Interface Sci.* 432 (2014) 207–213.

- [133] G. Ran, X. Chen, Y. Xia, Electrochemical detection of serotonin based on a poly(bromocresol green) film and Fe₃O₄ nanoparticles in a chitosan matrix, *RSC Adv.* 7 (2017) 1847–1851.
- [134] L. Hu, C.C. Fong, X. Zhang, L.L. Chan, P.K.S. Lam, P.K. Chu, K.Y. Wong, M. Yang, Au Nanoparticles Decorated TiO₂ Nanotube Arrays as a Recyclable Sensor for Photoenhanced Electrochemical Detection of Bisphenol A, *Environ Sci Technol.* 50 (2016) 4430–4438.
- [135] B. Li, Y. Zhou, W. Wu, M. Liu, S. Mei, Y. Zhou, T. Jing, Highly selective and sensitive determination of dopamine by the novel molecularly imprinted poly(nicotinamide)/CuO nanoparticles modified electrode, *Biosens Bioelectron.* 67 (2015) 121–128.
- [136] F. Tadayon, Z. Sepehri, A new electrochemical sensor based on a nitrogen-doped graphene/CuCo₂O₄ nanocomposite for simultaneous determination of dopamine, melatonin and tryptophan, *RSC Adv.* 5 (2015) 65560–65568.
- [137] E. Katz, I. Willner, J. Wang, Electroanalytical and Bioelectroanalytical Systems Based on Metal and Semiconductor Nanoparticles, *Electroanalysis.* 16 (2004) 19–44.
- [138] N. Li, C.J. Patrissi, G. Che, C.R. Martin, Rate Capabilities of Nanostructured LiMn₂O₄ Electrodes in Aqueous Electrolyte, *Journal of The Electrochemical Society*, 147(2000).
- [139] Y. Li, B. Tan, Y. Wu, Mesoporous Co₃O₄ nanowire arrays for lithium ion batteries with high capacity and rate capability, *Nano Lett.* 8 (2008) 265–270.
- [140] R. Kumar, NiCo₂O₄ Nano-/Microstructures as High-Performance Biosensors: A Review, *Nanomicro Lett.* 12 (2020).
- [141] S.M. Mahadik, N.R. Chodankar, Y.K. Han, D.P. Dubal, S. Patil, Nickel Cobaltite: A Positive Electrode Material for Hybrid Supercapacitors, *ChemSusChem.* 14 (2021) 5384–5398.
- [142] Z. Wu, Y. Zhu, X. Ji, NiCo₂O₄-based materials for electrochemical supercapacitors, *J Mater Chem A Mater.* 2 (2014) 14759–14772.
- [143] L. Yang, Y. Hu, Q. Wang, Y. Dong, L. Zhang, Ionic liquid-assisted electrochemical determination of pyrimethanil using reduced graphene oxide conjugated to flower-like NiCo₂O₄, *Anal Chim Acta.* 935 (2016) 104–112.
- [144] Z. Qin, Q. Cheng, Y. Lu, J. Li, Facile synthesis of hierarchically mesoporous NiCo₂O₄ nanowires for sensitive nonenzymatic glucose detection, *Appl Phys A Mater Sci Process.* 123 (2017).
- [145] K.K. Naik, A. Gangan, B. Chakraborty, C.S. Rout, Superior non-enzymatic glucose sensing properties of Ag-/Au-NiCo₂O₄ nanosheets with insight from electronic structure simulations, *Analyst.* 143 (2018) 571–579.
- [146] M. Hussain, Z.H. Ibupoto, M.A. Abbasi, X. Liu, O. Nur, M. Willander, Synthesis of three dimensional nickel cobalt oxide nanoneedles on nickel foam, their characterization and glucose sensing application, *Sensors (Switzerland).* 14 (2014) 5415–5425.

- [147] M. Saraf, K. Natarajan, S.M. Mobin, Multifunctional porous NiCo₂O₄ nanorods: Sensitive enzymeless glucose detection and supercapacitor properties with impedance spectroscopic investigations, *New Journal of Chemistry*. 41 (2017) 9299–9313.
- [148] H. Yin, T. Zhan, D. Qin, X. He, Q. Nie, J. Gong, Self-assembly of dandelion-like NiCo₂O₄ hierarchical microspheres for non-enzymatic glucose sensor, *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*. 47 (2017) 1560–1567.
- [149] B. Wang, Y. Cao, Y. Chen, X. Lai, J. Peng, J. Tu, X. Li, Rapid synthesis of rGO conjugated hierarchical NiCo₂O₄ hollow mesoporous nanospheres with enhanced glucose sensitivity, *Nanotechnology*. 28 (2017).
- [150] W. Huang, Y. Cao, Y. Chen, J. Peng, X. Lai, J. Tu, Fast synthesis of porous NiCo₂O₄ hollow nanospheres for a high-sensitivity non-enzymatic glucose sensor, *Appl Surf Sci*. 396 (2017) 804–811.
- [151] S. Cui, J. Zhang, Y. Ding, S. Gu, P. Hu, Z. Hu, Rectangular flake-like mesoporous NiCo₂O₄ as enzyme mimic for glucose biosensing and biofuel cell, *Sci China Mater*. 60 (2017) 766–776.
- [152] M. Narayana Reddy, K. Sasira Reddy, D. Gowri Shankar, K. Sreedhar, Spectrophotometric Determination of pKa of Nimesulide, *Indian J Pharm Sci*. 60 (1998) 172–175.
- [153] H. Parham, B. Zargar, Determination of isosorbide dinitrate in arterial plasma, synthetic serum and pharmaceutical formulations by linear sweep voltammetry on a gold electrode, *Talanta* 55(2001) 255–262.
- [154] P.B. Deroco, R.C. Rocha-Filho, O. Fatibello-Filho, A new and simple method for the simultaneous determination of amoxicillin and nimesulide using carbon black within a dihexadecylphosphate film as electrochemical sensor, *Talanta*. 179 (2018) 115–123.
- [155] J.P. Winiarski, M.R. de Barros, H.A. Magosso, C.L. Jost, Electrochemical reduction of sulfite based on gold nanoparticles/silsesquioxane-modified electrode, *Electrochim Acta*. 251 (2017) 522–531.
- [156] L.I. Elding, Palladium(II) halide complexes. I. Stabilities and spectra of palladium(II) chloro and bromo aqua complexes, *Inorganica Chim Acta*. 6 (1972) 647–651.
- [157] A. Doshi, A. Sundararaman, K. Venkatasubbaiah, L.N. Zakharov, A.L. Rheingold, M. Myahkostupov, P. Piotrowiak, F. Jäkle, Pentafluorophenyl copper-pyridine complexes: Synthesis, supramolecular structures via cuprophilic and π -stacking interactions, and solid-state luminescence, *Organometallics*. 31 (2012) 1546–1558.
- [158] S. Qin, L. Dong, Z. Chen, S. Zhang, G. Yin, Non-redox metal ions can promote Wacker-type oxidations even better than copper(II): A new opportunity in catalyst design, *Dalton Transactions*. 44 (2015) 17508–17515.
- [159] G. Li, Y. Li, Z. Wang, H. Liu, Green synthesis of palladium nanoparticles with carboxymethyl cellulose for degradation of azo-dyes, *Mater Chem Phys*. 187 (2017) 133–140.

- [160] L. Boldon, F. Laliberte, L. Liu, Review of the fundamental theories behind small angle X-ray scattering, molecular dynamics simulations, and relevant integrated application, *Nano Rev.* 6 (2015) 25661. <https://doi.org/10.3402/nano.v6.25661>.
- [161] B. White, S. Banerjee, S. O'Brien, N.J. Turro, I.P. Herman, Zeta-potential measurements of surfactant-wrapped individual single-walled carbon nanotubes, *Journal of Physical Chemistry C.* 111 (2007) 13684–13690.
- [162] W. Yu, H. Xie, A review on nanofluids: Preparation, stability mechanisms, and applications, *J Nanomater.* 2012 (2012).
- [163] J. Muñoz, R. Montes, M. Baeza, Trends in electrochemical impedance spectroscopy involving nanocomposite transducers: Characterization, architecture surface and bio-sensing, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry.* 97 (2017) 201–215.
- [164] M.R. de Barros, J.P. Winiarski, W.C. Elias, C.E.M. de Campos, C.L. Jost, Au-on-Pd bimetallic nanoparticles applied to the voltammetric determination and monitoring of 4-nitroaniline in environmental samples, *J Environ Chem Eng.* 9 (2021).
- [165] W. Zeng, D. Manoj, H. Sun, R. Yi, X. Huang, Y. Sun, One-pot synthesis of high-density Pd nanoflowers decorated 3D carbon nanotube-graphene network modified on printed electrode as portable electrochemical sensing platform for sensitive detection of nitroaromatic explosives, *Journal of Electroanalytical Chemistry.* 833 (2019) 527–535.
- [166] X. Xie, R. Holze, Experimental methods in corrosion research, *ChemTexts.* 4 (2018).
- [167] M. Łysoń, A. Górska, B. Paczosa-Bator, R. Piech, Nimesulide Determination on Carbon Black-Nafion Modified Glassy Carbon Electrode by Means of Adsorptive Stripping Voltammetry, *Electrocatalysis.* 12 (2021) 641–649.
- [168] E.M. Materon, A. Wong, L.M. Gomes, G. Ibáñez-Redín, N. Joshi, O.N. Oliveira, R.C. Faria, Combining 3D printing and screen-printing in miniaturized, disposable sensors with carbon paste electrodes, *J Mater Chem C Mater.* 9 (2021) 5633–5642.
- [169] N.P. Shetti, S.J. Malode, D.S. Nayak, S.D. Bukkitgar, G.B. Bagihalli, R.M. Kulkarni, K.R. Reddy, Novel nanoclay-based electrochemical sensor for highly efficient electrochemical sensing nimesulide, *Journal of Physics and Chemistry of Solids.* 137 (2020) 109210.
- [170] N.P. Shetti, S.J. Malode, S.D. Bukkitgar, G.B. Bagihalli, R.M. Kulkarni, S.B. Pujari, K.R. Reddy, Electro-oxidation and determination of nimesulide at nanosilica modified sensor, *Mater Sci Energy Technol.* 2 (2019) 396–400.
- [171] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical methods: fundamentals and applications*,
- [172] C.A. Hampel, R.M. Burns, *The Encyclopedia of Electrochemistry*, *J Electrochem Soc.* 112 (1965).
- [173] G.G. Gerent, A. Spinelli, Environmentally-friendly in situ plated bismuth-film electrode for the quantification of the endocrine disruptor parathion in skimmed milk, *J Hazard Mater.* 308 (2016) 157–163.

- [174] F. Scholz, *Voltammetric techniques of analysis: the essentials*, ChemTexts. 1 (2015).
- [175] C.M.A. Brett, A.M.Oliveira. Brett, *Electrochemistry: principles, methods, and applications*, Oxford University Press, 1993.
- [176] G long, A D Winefordner. Limit of detection – A closer look at the IUPAC definition. *Analytical chemistry* 55 (1983).
- [177] J. Zhang, X. Tan, D. Zhao, S. Tan, Z. Huang, Y. Mi, Z. Huang, Study of nimesulide and its determination using multiwalled carbon nanotubes modified glassy carbon electrodes, *Electrochim Acta*. 55 (2010) 2522–2526.
- [178] F. Thomas, G. Henze, *Introduction to Voltammetric Analysis: Theory and Practice*, CSIRO Publishing, (2001).
- [179] A. Todakar, N.P. Shetti, U.S. Devarushi, S.M. Tuwar, Electro oxidation and analytical applications of valacyclovir at reduced graphene oxide modified carbon paste electrode, *Mater Today Proc*. 18 (2019) 550–557.
- [180] K. Prabhu, S.J. Malode, R.S. Veerapur, N.P. Shetti, Clay-based carbon sensor for electro-oxidation of nimesulide, *Mater Chem Phys*. 272 (2021).
- [181] A. Wong, A.M. Santos, O. Fatibello-Filho, Determination of piroxicam and nimesulide using an electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and PEDOT:PSS, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 799 (2017) 547–555.
- [182] A. Wong, A.M. Santos, M. Baccarin, É.T.G. Cavaleiro, O. Fatibello-Filho, Simultaneous determination of environmental contaminants using a graphite oxide – Polyurethane composite electrode modified with cyclodextrin, *Materials Science and Engineering C*. 99 (2019) 1415–1423.
- [183] S. Chitravathi, B.E. Kumara Swamy, G.P. Mamatha, B.S. Sherigara, Electrochemical behavior of poly (naphthol green B)-film modified carbon paste electrode and its application for the determination of dopamine and uric acid, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 667 (2012) 66–75.
- [184] X.F. Zhang, X.H. Zuo, W.J. Zhu, P.L. Che, D.W. Shi, S.S. Chen, Morphology and electrochemical properties of NiCo₂O₄ powders prepared by a facile hydrothermal method, *Ceram Int*. 48 (2022) 20984–20995.
- [185] J. Pang, H. Fu, W. Kong, R. Jiang, J. Ye, Z. Zhao, J. Hou, K. Sun, Y. Zheng, L. Chen, Design of NiCo₂O₄ nanoparticles decorated N, S co-doped reduced graphene oxide composites for electrochemical simultaneous detection of trace multiple heavy metal ions and hydrogen evolution reaction, *Chemical Engineering Journal*. 433 (2022).
- [186] W. Chen, L. Wei, Z. Lin, Q. Liu, Y. Chen, Y. Lin, Z. Huang, Hierarchical flower-like NiCo₂O₄@TiO₂ hetero-nanosheets as anodes for lithium ion batteries, *RSC Adv*. 7 (2017) 47602–47613.
- [187] A.O. Bokuniaeva, A.S. Vorokh, Estimation of particle size using the Debye equation and the Scherrer formula for polyphasic TiO₂ powder, *J Phys Conf Ser*. 1410 (2019).

- [188] J.F. Marco, J.R. Gancedo, M. Gracia, J.L. Gautier, E. Ríos, F.J. Berry, Characterization of the nickel cobaltite, NiCo₂O₄, prepared by several methods: An XRD, XANES, EXAFS, and XPS study, *J Solid State Chem.* 153 (2000) 74–81.
- [189] B. Jacob, M. Mohan, D. K.C., H. Thomas, NiCo₂O₄ nanoparticles anchored on reduced graphene oxide with enhanced catalytic activity towards the reduction of p-Nitrophenol in water, *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 643 (2022).
- [190] Y. Yulizar, I. Abdullah, R. Marcony Surya, N. Parwati, D.O.B. Apriandanu, Two-phase synthesis of NiCo₂O₄ nanoparticles using *Bryophyllum pinnatum* (Lam) Oken leaf extract with superior catalytic reduction of 2,4,6-trinitrophenol, *Mater Lett.* 311 (2022).
- [191] T. Barazandeh Behrooz, M. Esmaeili-Zare, H. Talkhab, M. Behpour, Ultrasonic-assisted synthesis of NiCo₂O₄/TiO₂ ceramic as an efficient and novel hydrogen storage material, *Journal of the Iranian Chemical Society.* 18 (2021) 2613–2623.
- [192] S.D. Bukkitgar, N.P. Shetti, R.M. Kulkarni, S.B. Halbhavi, M. Wasim, M. Mylar, P.S. Durgji, S.S. Chirmure, Electrochemical oxidation of nimesulide in aqueous acid solutions based on TiO₂ nanostructure modified electrode as a sensor, *Journal of Electroanalytical Chemistry.* 778 (2016) 103–109.
- [193] K. Sarhangzadeh, Application of multi wall carbon nanotube-graphene hybrid for voltammetric determination of naproxen, *Journal of the Iranian Chemical Society.* 12 (2015).
- [194] P. Mohammadzadeh Jahani, H. Akbari Javar, H. Mahmoudi-Moghaddam, Development of a novel electrochemical sensor using the FeNi₃/CuS/BiOCl nanocomposite for determination of naproxen, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics.* 31 (2020) 14022–14034.
- [195] Y. Shih, J.M. Zen, A.S. Kumar, P.Y. Chen, Flow injection analysis of zinc pyrithione in hair care products on a cobalt phthalocyanine modified screen-printed carbon electrode, *Talanta.* 62 (2004) 912–917.
- [196] E. Laviron, General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems, (1979).
- [197] N. Adhoum, L. Monser, M. Toumi, K. Boujlel, Determination of naproxen in pharmaceuticals by differential pulse voltammetry at a platinum electrode, *Anal Chim Acta.* 495 (2003) 69–75
- [198] A. Methods Committee, W.H. Evans, D.W. Lord, B.D. Ripley and Dr R Wood, with J. J Wilson as Secretary, Recommendations for the Definition, Estimation and Use of the Detection Limit, (1987).
- [199] R.H.O. Montes, J.S. Stefano, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, Exploring Multiwalled Carbon Nanotubes for Naproxen Detection, *Electroanalysis.* 26 (2014) 1449–1453.
- [200] H. Beitollahi, R. Yoonfar, Fabrication of a Novel Electrochemical Nanosensor for Voltammetric Determination of Naproxen, *Anal. Bioanal. Electrochem.* 8(2016) 29–37.

[201] C.M. Hung, C.P. Huang, S.K. Chen, C.W. Chen, C. di Dong, Electrochemical analysis of naproxen in water using poly(L-serine)-modified glassy carbon electrode, *Chemosphere*. 254 (2020).

[202] J.-M. Mermet, M. Otto, M. Valcárcel Cases, *Analytical chemistry : a modern approach to analytical science*, Wiley-VCH, 2004