

Luiz Ricardo Guterres e Silva

Voltametria aplicada
ao controle de fármacos
em fertilizantes
orgânicos

Luiz Ricardo Guterres e Silva

Voltametria aplicada
ao controle de fármacos
em fertilizantes
orgânicos



**Universidade Federal
do Espírito Santo**



EDUFES
EDITORA

Editora Universitária – Edufes

Filiada à Associação Brasileira
das Editoras Universitárias (Abeu)

Av. Fernando Ferrari, 514
Campus de Goiabeiras
Vitória – ES · Brasil
CEP 29075-910

+55 (27) 4009-7852
edufes@ufes.br
www.edufes.ufes.br

Reitor

Eustáquio Vinicius Ribeiro de Castro

Vice-reitora

Sonia Lopes Victor

Chefe de Gabinete

Ana Paula Santana de Vasconcellos Bittencourt

Diretor da Edufes

Wilberth Salgueiro

Conselho Editorial

Ananias Francisco Dias Junior, Eliana Zandonade,
Eneida Maria Souza Mendonça, Fátima Maria
Silva, Gleice Pereira, Graziela Baptista Vidaurre,
José André Lourenço, Marcelo Eduardo Vieira
Segatto, Margarete Sacht Góes, Othon Souto
Campos, Rogério Borges de Oliveira, Rosana
Suemi Tokumaru, Sandra Soares Della Fonte

Secretaria do Conselho Editorial

Douglas Salomão

Administrativo

Josias Bravim, Washington Romão dos Santos

Seção de Edição e Revisão de Textos

Fernanda Scopel, George Vianna,
Jussara Rodrigues, Roberta Estefânia Soares

Seção de Design

Juliana Braga, Samira Bolonha Gomes

Seção de Livraria e Comercialização

Adriani Raimondi, Ana Paula Rubim,
Dominique Piazzarollo, Marcos de Alarcão,
Maria Augusta Postinghel

Produção Cultural

Déborah Pinto Corrêa



Este trabalho atende às determinações do Repositório Institucional do Sistema Integrado de Bibliotecas da Ufes e está licenciado sob a Licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial-SemDerivações 4.0 Internacional.

Para ver uma cópia desta licença, visite <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Preparação de texto

Fernanda Scopel

Capa

Juliana Braga

Projeto gráfico

Samira Bolonha Gomes

Diagramação

Bruno Ferreira Nascimento (Graúna Digital)

Revisão de texto

Jussara Rodrigues

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Editora Universitária – Edufes, ES, Brasil)

S586v Silva, Luiz Ricardo Guterres e.
Voltametria aplicada ao controle de fármacos em fertilizantes orgânicos [recurso eletrônicos] / Luiz Ricardo Guterres e Silva. - Dados eletrônicos. - Vitória, ES : Edufes, 2025.
139 p. : il. ; 23 cm. - (Coleção Prêmio Ufes de Teses e Dissertações; 5)

Inclui bibliografia.

ISBN: 978-85-7772-637-0

Publicado também em formato impresso.

Modo de acesso: <https://repositorio.ufes.br/handle/10/774>

1. Fertilizantes orgânicos. 2. Eletroanalítica.
3. Monitoramento ambiental. 4. Fármacos. I. Título. II. Série.

CDU: 543

Elaborado por Ana Paula de Souza Rubim – CRB-6 ES-000998/O

A PRIMEIRA EDIÇÃO DE UM PRÊMIO MUITO ESPECIAL

A Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes) e a sua editora têm a alegria de publicar as oito obras vencedoras da primeira edição do Prêmio Ufes de Teses e Dissertações, cujo objetivo foi premiar as melhores pesquisas de alunos de pós-graduação defendidas no quadriênio 2017-2020.

Foram contempladas obras de todas as Grandes Áreas existentes na Ufes: Ciências Agrárias; Ciências Humanas; Ciências da Saúde; Ciências Exatas e da Terra; Ciências Sociais Aplicadas; Engenharias; Linguística, Letras e Artes; e Multidisciplinar. A exceção ficou por conta da Grande Área de Ciências Biológicas, para a qual não houve indicação.

O processo de premiação se deu assim: cada programa participante indicou um trabalho de discente defendido entre 2017-2020, considerando os critérios de inovação, relevância e impacto; a seguir, foi constituída uma Comissão Julgadora, com docentes dos próprios programas de pós-graduação, que selecionou os trabalhos concorrentes; essa Comissão indicou, por fim, a dissertação ou tese vencedora. Entre as dezenas de programas da Ufes e entre as centenas de trabalhos defendidos no quadriênio, ter sua pesquisa contemplada como vencedora é, sem meias palavras, um feito.

Uma pesquisa não se faz da noite para o dia. Não é fruto de um acaso, nem de sorte. É um trabalho intenso de dedicação, de leituras, de *insights*, de cálculos, de engenhos, de reflexões, de criatividade, de organização. Embora haja cursos e livros

que nos auxiliam nas metodologias de pesquisa, o fato é que cada estudante acaba criando seu próprio método. E as áreas de saber, sendo tão diferentes, decerto produzem métodos também muito distintos. Uma leitura rápida dos títulos dos livros de imediato já dá a diversidade de interesses e caminhos dos – então – estudantes.

Desde o início, a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PRPPG), e em especial a Diretoria de Pós-Graduação (sob a condução da profa. Eliza Bartolozzi Ferreira), e a Edufes andaram de mãos dadas, cientes da importância deste Prêmio, cujo êxito praticamente exige sua continuidade.

Resta-nos parabenizar todos os autores, desejando que a pesquisa, agora em forma de livro, encontre os seus leitores. E isso decerto acontecerá, pois um feito desses – ter um estudo premiado entre tantos outros ao longo de longos quatro anos – é mesmo para atrair a atenção, a curiosidade, a leitura. E ter o livro lido é, sem dúvida, o maior dos prêmios.

Boa leitura!

Eustáquio Vinicius Ribeiro de Castro (Reitor – 2024-2028)

Sonia Lopes Victor (Vice-reitora – 2024-2028)

Paulo Sergio de Paula Vargas (Reitor – 2020-2024)

Roney Pignaton da Silva (Vice-reitor – 2020-2024)

Valdemar Lacerda Junior (Pró-reitor da PRPPG)

Wilberth Salgueiro (Diretor da Edufes)

PREMIADOS

Ciências Agrárias

Tratamento da leishmaniose cutânea canina: estudo com ciclodextrinas, de Suzana Gonçalves Carvalho

Ciências da Saúde

Hibridismo brincante: um estudo sobre as brincadeiras lúdico-agressivas na Educação Infantil, de Raquel Firmino Magalhães Barbosa

Ciências Exatas e da Terra

Voltametria aplicada ao controle de fármacos em fertilizantes orgânicos, de Luiz Ricardo Guterres e Silva

Ciências Humanas

Aprendizagem e desenvolvimento profissional de docentes de Educação Especial: estudo comparado sobre Brasil e Portugal, de Carline Santos Borges

Ciências Sociais Aplicadas

Lavagem de dinheiro e Hawala, de André Lovatti

Engenharias

Interação humano-máquina: reconhecendo e antecipando gestos e ações, de Clebeson Canuto

Linguística, Letras e Artes

Machado de Assis, poeta-tradutor, de Diego do Nascimento Rodrigues Flores

Multidisciplinar

Desenvolvimento de sinais em Libras para o ensino de Química Orgânica: um estudo de caso de uma escola de Linhares (ES), de Amanda Bobbio Pontara

A Deus, aos meus pais e a todos que contribuíram
para que este trabalho fosse realizado



SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| Apresentação | 15 |
| Agricultura orgânica e familiar | 19 |
| Fertilizantes orgânicos | 20 |
| Urina | 21 |
| Estruvita. | 22 |
| Propriedade de alguns fármacos e sua incidência como contaminantes | 25 |
| Dipirona | 25 |
| Norfloxacino | 27 |
| Etinilestradiol | 28 |
| Paracetamol | 29 |
| Técnicas eletroanalíticas | 31 |
| Voltametria cíclica | 32 |
| Voltametria de onda quadrada | 33 |
| Sensores eletroquímicos | 37 |
| Eletrodos impressos | 37 |
| Determinação voltamétrica de fármacos | 41 |
| Procedimento experimental | 46 |
| Reagentes | 46 |
| Soluções empregadas para o desenvolvimento das metodologias propostas | 47 |

| | |
|--|----|
| Preparo de amostra | 48 |
| Instrumentação e eletrodos | 49 |
| Determinação da concentração de dipirona em amostras de urina e estruvita por SWV e uso de eletrodos impressos de carbono (SPEC) | 50 |
| Medidas eletroquímicas | 50 |
| Preparação dos eletrodos SPEC-Ni e determinação da concentração de etinilestradiol em amostras de urina e estruvita por SWV | 51 |
| Eletrodeposição de níquel | 51 |
| Medidas eletroquímicas | 52 |
| Determinação da concentração de norfloxacino em amostras de urina e estruvita por voltametria de varredura linear | 55 |
| Medidas eletroquímicas | 55 |
| Determinação da concentração de paracetamol em amostras de urina e de estruvita por SWV | 56 |
| Medidas eletroquímicas | 56 |

| | |
|--|-----------|
| Determinação da concentração de dipirona em amostras de urina e estruvita | 59 |
| Estudo do perfil voltamétrico e influência do pH | 59 |
| Otimizações dos parâmetros da voltametria de onda quadrada | 61 |
| Avaliação da estabilidade do eletrodo | 64 |
| Curva analítica | 66 |
| Estudo de interferentes | 67 |
| Caracterização da estruvita por difração de raio-X | 69 |
| Determinação de dipirona e testes de recuperação | 71 |

| | |
|---|-----------|
| Determinação da concentração de etinilestradiol em amostras de urina e estruvita | 75 |
| Otimização das variáveis da eletrodeposição de níquel | 75 |
| Comportamento eletroquímico do etinilestradiol no SPEC e no SPEC-Ni | 79 |
| Influência do pH | 80 |
| Otimização dos parâmetros da voltametria de onda quadrada | 82 |
| Estudo de interferente | 86 |

| | |
|--|------------|
| Curva analítica | 87 |
| Determinação e teste de recuperação do etinilestradiol | 89 |
| Determinação da concentração de norfloxacino em amostras de urina e estruvita | 91 |
| Estudo do perfil voltamétrico e influência do pH. | 91 |
| Avaliação da estabilidade do eletrodo | 94 |
| Curva analítica | 95 |
| Estudo de interferentes | 98 |
| Determinação e teste de recuperação do norfloxacino | 98 |
| Determinação da concentração de paracetamol em amostras de urina e estruvita | 101 |
| Estudo do perfil voltamétrico e influência do pH. | 101 |
| Otimização dos parâmetros da voltametria de onda quadrada. | 104 |
| Avaliação da estabilidade do eletrodo | 107 |
| Curva analítica | 108 |
| Estudo de interferentes | 109 |
| Determinação e teste de recuperação do paracetamol | 110 |
| Comparação entre os métodos propostos e a literatura. | 113 |
| Dipirona | 113 |
| Etinilestradiol | 114 |
| Norfloxacino | 114 |
| Paracetamol | 115 |
| Conclusão | 117 |
| Referências | 121 |
| Sobre o autor | 133 |
| Índice remissivo | 135 |



Apresentação

A busca por segurança alimentar tornou-se um tópico amplamente discutido, principalmente devido ao uso excessivo de fertilizantes sintéticos, que podem trazer danos ambientais e à saúde humana. Por isso, a agricultura orgânica vem ganhando destaque ano após ano, já que é uma modalidade de cultivo que emprega fertilizantes naturais, visando assegurar a qualidade dos alimentos, bem como promover a sustentabilidade. Entre os fertilizantes naturais, a estruvita ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) destaca-se como um potencial fertilizante orgânico, um composto mineral que pode ser precipitado a partir da urina por adição de óxido de magnésio (MgO). Contudo, algumas substâncias tóxicas presentes na urina podem contaminar o solo, as culturas de alimentos e até mesmo os recursos hídricos. Entre estas substâncias tóxicas, destacam-se os fármacos. Os fármacos são classificados como contaminantes emergentes, já que podem difundir-se pelo ambiente aquático produzindo um efeito adverso no meio ambiente, bem como na saúde humana.

Diante disso, este livro apresenta um trabalho completo e focado em desenvolver metodologias eletroanalíticas portáteis em conjunto com sensores eletroquímicos impressos, com o objetivo de realizar o controle e monitoramento da concentração de fármacos (dipirona, etinilestradiol, norfloxacino e paracetamol) em amostras ambientais, farmacêuticas e biológicas, bem como em remédios e urina humana/estruvita utilizados na agricultura orgânica. Para tanto, será apresentada e discutida uma série de estudos analíticos que empregam diferentes técnicas voltamétricas. Tais estudos consistem em investigação de respostas e perfis analíticos, otimização

do procedimento de análise e caracterização dos parâmetros analíticos da metodologia desenvolvida frente à análise dos fármacos propostos. Por fim, serão realizados testes de análise em amostras reais para confirmação da empregabilidade das metodologias desenvolvidas.

O conteúdo do livro abarca diferentes temas, como agricultura orgânica e fertilizantes orgânicos, contaminantes emergentes e fármacos, novos métodos de análise e técnicas eletroanalíticas, sensores eletroquímicos e desenvolvimento de metodologias eletroquímicas. No capítulo “Agricultura orgânica e familiar”, será abordada a importância da modalidade de agricultura orgânica e familiar em um contexto nacional. Serão trazidos dados oficiais de órgãos de governo que demonstram a expansão desse modelo de agricultura tanto no Brasil quanto no Espírito Santo. Também serão apresentados dois tipos de fertilizante orgânico de suma importância e grande potencialidade, a urina humana e estruvita, as quais vêm sendo pesquisadas nos últimos anos pelo Núcleo de Bioengenharia Aplicada ao Saneamento, da Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes), com boas perspectivas de uso pelos agricultores.

Em “Propriedade de alguns fármacos e sua incidência como contaminantes”, discute-se sobre a incidência dos fármacos como contaminantes emergentes e seus efeitos colaterais devido à alta incidência deles no meio ambiente. Os fármacos abordados pertencem a três classes distintas, analgésicos/antipiréticos, hormônios e antibióticos, sendo eles a dipirona, o paracetamol, o etinilestradiol e o norfloxacino. Tais fármacos estão entre os mais consumidos em suas respectivas classes, com um destaque para dipirona e paracetamol, que são dois dos fármacos mais consumidos no mundo. Além disso, será correlacionada a importância da determinação desses fármacos em fertilizantes orgânicos, principalmente urina humana/estruvita, uma vez que a principal via de excreção desses fármacos é a uretra.

No capítulo “Técnicas eletroanalíticas”, serão abordados os conceitos fundamentais das técnicas eletroanalíticas, o modo como são utilizadas e as suas principais características e áreas de aplicação. Além disso, serão discutidas as suas vantagens e desvantagens frente às técnicas convencionais de análise. O estudo visa focar principalmente na voltametria cíclica e na voltametria de onda quadrada, que estão entre as principais técnicas empregadas na eletroanalítica. A voltametria cíclica pode ser considerada o carro-chefe e a primeira técnica que é utilizada quando se tem o objetivo de desenvolver uma metodologia, porque tem um caráter qualitativo, que permite

obter de forma rápida e simples características do analito de interesse frente ao sensor eletroquímico empregado. Por sua vez, a voltametria de onda quadrada é comumente escolhida para determinação de analitos de interesse em diferentes amostras.

O capítulo “Sensores eletroquímicos” traz uma breve contextualização de como é um sistema eletroquímico constituído por três eletrodos (eletrodos de referência, auxiliar e de trabalho). O foco deste tópico é a discussão dos diferentes tipos de eletrodos de trabalho, que é o principal eletrodo onde ocorrem as reações para análise dos compostos de interesse, sejam eles metais, compostos orgânicos ou inorgânicos, vírus e fármacos. Também serão exploradas as características essenciais de que os eletrodos de trabalho necessitam e os materiais mais empregados atualmente. Por fim, serão enfatizados os eletrodos impressos, que são comerciais, descartáveis, de baixo custo, miniaturizados e, portanto, ideais para realização de análise *in loco*.

Em “Determinação voltamétrica de fármacos”, apresenta-se uma parcela de trabalhos da literatura que buscaram desenvolver novos sensores eletroquímicos ou metodologias analíticas para a determinação de fármacos (paracetamol, dipirona, etinilestradiol e norfloxacin). Este tópico tem como objetivo destacar um apanhado das principais características analíticas alcançadas em cada trabalho e suas aplicabilidades. Além disso, visa explorar perspectivas futuras que apresentam potencial para desenvolvimento de novas metodologias eletroanalíticas com base no que já é conhecido. Tal contextualização da literatura é relevante, pois dá importância ao que já foi produzido e escrito, e que permite direcionar para novos caminhos na pesquisa.

Os capítulos que abrangem a determinação da concentração de dipirona, etinilestradiol, norfloxacin e paracetamol trazem a apresentação e a discussão de todos os resultados obtidos para o desenvolvimento das novas metodologias propostas. Serão discutidos os passos realizados, a obtenção do perfil voltamétrico dos analitos frente ao eletrodo impresso de carbono, a otimização do eletrólito de suporte a ser empregado e do pH utilizado, a otimização dos parâmetros operacionais das técnicas voltamétricas utilizadas para determinação do fármaco e a análise de amostras reais. Apresentam-se também os dados relacionados às curvas analíticas obtidas para os quatro analíticos propostos, bem como todos os parâmetros de desempenhos obtidos. Por fim, será discutida a análise de amostras reais fortificadas com os fármacos propostos, a fim de demonstrar a aplicabilidade real das metodologias desenvolvidas.

No capítulo final, “Comparação entre os métodos propostos e a literatura”, será apresentado um comparativo das principais características analíticas de diversos trabalhos da literatura que empregaram técnicas eletroquímicas e sensores eletroquímicos para determinação dos fármacos descritos neste livro. Este tópico irá abordar principalmente as capacidades de análise das metodologias (limites de detecção obtidos), fazendo um comparativo significativo entre os trabalhos previamente descritos e as novas metodologias propostas. Além disso, também serão discutidos os avanços e as diferenças significantes obtidas com as novas metodologias, tais como a miniaturização do sistema, a simplicidade, o custo e a capacidade de aplicação *in loco*.

Agricultura orgânica e familiar

O Brasil está se consolidando como um grande produtor de alimentos orgânicos. São, aproximadamente, 17 mil propriedades certificadas em todas as unidades da federação, sendo a maior parte da produção oriunda de pequenos produtores. Dados recentes estimam que cerca de 1 milhão de hectares são dedicados ao cultivo orgânico, com preponderância da região Sul, seguida das regiões Sudeste e Nordeste. Há uma tendência de crescimento médio de seu consumo estimada em cerca de 25 % ao ano (SERVIÇOS..., 2019).

Segundo o Ministério da Agricultura, para o cultivo ser classificado como orgânico, ele não deve conter substâncias que possam colocar em risco a saúde humana e o meio ambiente. Por isso, é proibido o uso de fertilizantes sintéticos solúveis, agrotóxicos, aditivos sintéticos e reguladores de crescimento. Neste tipo de cultivo é importante a utilização de fertilizantes naturais advindos da própria região, pois, deste modo, o produtor consegue saber qual é a procedência dos materiais (O QUE É AGRICULTURA..., 2017; O QUE SÃO PRODUTOS..., 2020). A Associação de Agricultura Orgânica do Brasil afirma que esta modalidade de cultivo promove a sustentabilidade por não fazer uso de agrotóxicos e por desenvolver tecnologias apropriadas à realidade das famílias (O QUE É AGRICULTURA..., 2017).

A agricultura familiar vem contribuindo para o desenvolvimento econômico do Brasil de forma significativa. O Censo Agropecuário (IBGE, 2006) apontou a agricultura familiar como a base da economia de 90 % dos municípios brasileiros com até 20 mil habitantes, sendo responsável pela renda de 40 % da população economicamente ativa do país e por mais de 70 % dos brasileiros ocupados no campo.

No Espírito Santo, o Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper) afirma que a agricultura familiar é de suma importância no cenário do agronegócio do estado, uma vez que cerca de 77 % dos estabelecimentos rurais capixabas são familiares (FEDERAÇÃO..., 2015). Diante disso, o estado tem grande potencial para ampliar a agricultura orgânica a partir da agricultura familiar nos moldes convencionais, para desenvolver tecnologias apropriadas à realidade das famílias e empregar o uso de fertilizantes naturais advindos da própria região.

Fertilizantes orgânicos

Os fertilizantes orgânicos devem ser constituídos de matéria-prima advinda de uma fonte vegetal ou mineral, apresentar custo de aquisição e produção baixo e ser produzidos a partir de matérias-primas próprias ou adquiridas de terceiros. Eles se diferenciam dos adubos convencionais pela sua atividade e atuação sobre o solo, as plantas e o ambiente. Normalmente, têm efeitos positivos como um todo, produzindo menores impactos que os fertilizantes convencionais. Além disso, “precisam ser homologados pela legislação e regulamentações das entidades certificadoras de agricultura orgânica”, nacional e internacionalmente (FERTILIZANTES..., 2022).

Tais fertilizantes são divididos nas seguintes classes, que correspondem à sua origem ou forma de fabricação: simples (vegetal ou animal), mistos, compostos e organominerais (O QUE SÃO FERTILIZANTES..., 2016). Entre os principais de origem animal e vegetal, encontram-se o esterco animal e a borra de café, respectivamente. Os mistos são provenientes da junção de dois ou mais fertilizantes orgânicos simples, como a mistura de cinzas (fonte principalmente de potássio) com torta de mamona (fonte principalmente de nitrogênio). Os compostos não são naturais, pois são obtidos por meio de um processo químico, físico, físico-químico ou bioquímico, porém devem sempre proceder de uma matéria-prima orgânica e podem ser fortificados com nutrientes de origem mineral. Por fim, a classe dos organominerais representa aqueles que não são submetidos a processos específicos, mas simplesmente originados da mistura de fertilizantes orgânicos com fertilizantes minerais. Estes devem ser naturais e de baixa solubilidade, para atender à legislação brasileira (SOUZA; ALCÂNTARA, 2008).

Urina

A urina bovina/humana é uma substância natural que pode substituir os fertilizantes químicos. É rica em minerais (potássio e nitrogênio) e apresenta compostos que melhoraram a saúde das plantas, proporcionando mais resistência às fitossanidades, pragas e doenças (PESAGRO-RIO, 2001). Os macronutrientes da urina se encontram na forma ideal para serem aproveitados pelas plantas, por exemplo, o nitrogênio na forma de ureia, o fósforo como ortofosfato e o potássio como íon livre (LIND; BAN; BYDÉN, 2001).

Esse fertilizante orgânico está amplamente disponível em muitas propriedades rurais e apresenta algumas vantagens em comparação com os fertilizantes sintéticos comerciais, tais como: baixo custo de aquisição (permitindo a integração das atividades da pecuária e da horticultura) e resultados positivos nas culturas de tomate, pimentão, pepino, feijão-vagem, couve, alface e beterraba de mesa (GADELHA; CELESTINO; SHIMOYA, 2003, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2009, 2010, 2012).

Para a urina ser utilizada no cultivo, é fundamental realizar o processo de estocagem em reservatórios fechados por períodos de tempo pré-determinados (em média trinta dias). Esse procedimento se faz necessário para que haja inativação dos micro-organismos, visto que as reações de amonificação, em que a ureia é convertida em amônia, provocam o aumento do pH para valores acima de 8,5. Assim, a urina estocada apresentará menor risco biológico quando aplicada à agricultura (JOHANSSON *et al.*, 2001).

Na literatura há diversos estudos a respeito do uso da urina em culturas alimentícias por meio de técnicas sustentáveis e de fácil manuseio (GADELHA; CELESTINO; SHIMOYA, 2003, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2009, 2010, 2012; PRADHAN *et al.*, 2010). Entre eles, destacam-se o trabalho de Pradhan e colaboradores (2010), que avaliaram os efeitos do uso da urina (com e sem a adição de cinzas) nas características químicas, microbiológicas e na qualidade do sabor de diversos vegetais, como o repolho, o tomate e a beterraba. Nos estudos com tomate e beterraba, os autores afirmam que a urina (com e sem adição de cinzas) pode ser utilizada de forma segura como substituto ao fertilizante sintético comercial.

Devido à composição da urina atender aos requisitos nutricionais para o crescimento das plantas, seu uso como fertilizante na agricultura sustentável é considerado viável tanto na forma líquida quanto na forma sólida, por meio da precipitação química de estruvita (LIND; BAN; BYDÉN, 2001; RIOS *et al.*, 2007).

Estruvita

A estruvita é cientificamente conhecida como fosfato de amônio e magnésio hexa-hidratado ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), uma substância cristalina branca, que pode ser precipitada a partir da urina humana ou bovina por meio da adição de óxido de magnésio (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Devido à grande quantidade de macronutrientes (N, P, K) presentes na urina, a produção de estruvita a partir desse insumo torna-se viável, apresentando características satisfatórias para o cultivo de diversas culturas (GUIDELINES..., 2008; SOUZA; ALCÂNTARA, 2008; UYSAL; YILMAZEL; DEMIRER, 2010).

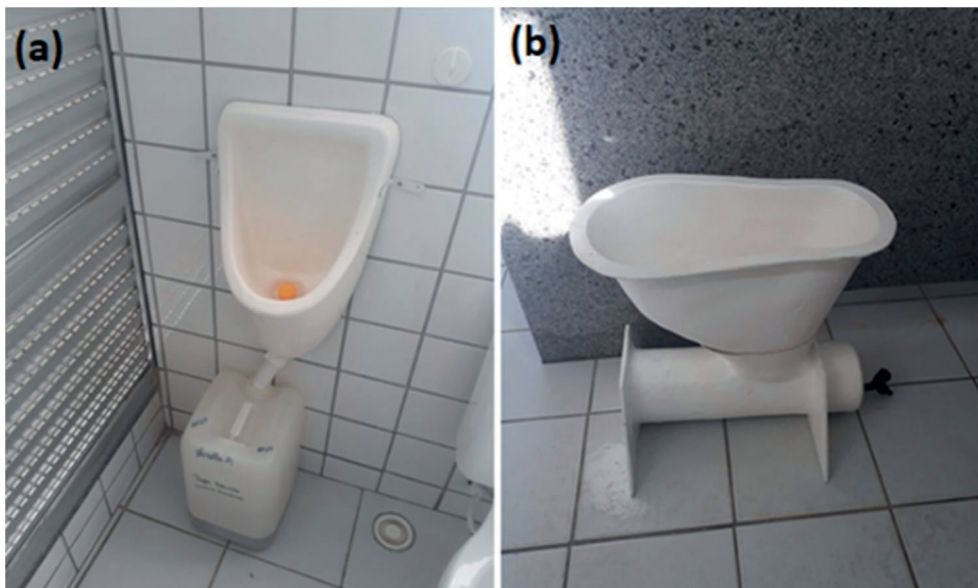
A estruvita possui baixa solubilidade em água, é altamente solúvel em soluções ácidas e praticamente insolúvel em soluções alcalinas. Sua precipitação ocorre quando as concentrações de seus íons excedem o limite do produto de solubilidade da estruvita, o qual, por sua vez, é controlado pelo pH do meio: à medida que o pH aumenta, a solubilidade da estruvita diminui, atingindo um mínimo por volta de pH 9. Por essa característica, o pH é um dos fatores mais importantes para a precipitação de estruvita e deve ser mantido na faixa de 8 a 10 (DOYLE; PARSONS, 2002).

Algumas substâncias presentes na urina podem contaminar o solo, as culturas de alimentos e até mesmo os recursos hídricos. Entre essas substâncias destacam-se: os antibióticos (ex. norfloxacino), os hormônios (ex. etinilestradiol) e os analgésicos/anti-inflamatórios (ex. dipirona e paracetamol). Por isso, é imperativo sempre monitorar e realizar o controle de qualidade da estruvita para determinar se em seu processo de produção ocorreu, de fato, a eliminação de todas as substâncias indesejadas, garantindo que não haja contaminação do solo e, por conseguinte, dos alimentos orgânicos nele produzido. Pouco é conhecido sobre o destino e o comportamento dessas substâncias no ambiente aquático, assim como não está claro quais organismos são afetados e em que grau (JORGENSEN; HALLING-SORENSEN, 2000).

Portanto, conhecer o processo de obtenção da estruvita é fundamental, visto que a obtenção deste produto de forma confiável e com qualidade agrega valor ao fertilizante e diminui os riscos de contaminação dos plantios e do meio ambiente.

No Núcleo de Bioengenharia Aplicada ao Saneamento da Ufes, a produção de estruvita é realizada a partir de urina humana e bovina. A coleta da urina humana é efetuada em dois banheiros (um masculino e um feminino), que possuem adaptações para coleta e armazenamento deste material, conforme se observa na Figura 1.

Figura 1



Fonte: Acervo pessoal.

Legenda: Mictórios confeccionados para a coleta de urina nos banheiros (a) masculino e (b) feminino localizados no Núcleo de Bioengenharia Aplicada ao Saneamento da Ufes.

As amostras de urina humana são coletadas em bombonas de 20 L, conforme mostrado na Figura 1 e são classificadas em três tipos: fresca (quando utilizada imediatamente após a coleta), estocada (masculina ou feminina) e mista.

A coleta da urina bovina é realizada em propriedades rurais do município de Serra (ES). As amostras são coletadas em baldes de 20 L, previamente higienizados, e transferidas para bombonas de mesmo volume.

Posteriormente, ambas as matérias-primas são encaminhadas para o Núcleo de Bioengenharia Aplicada ao Saneamento, onde são transformadas em estruvita por um processo semi-industrial (usando um reator) ou laboratorial (usando vidrarias de bancada).

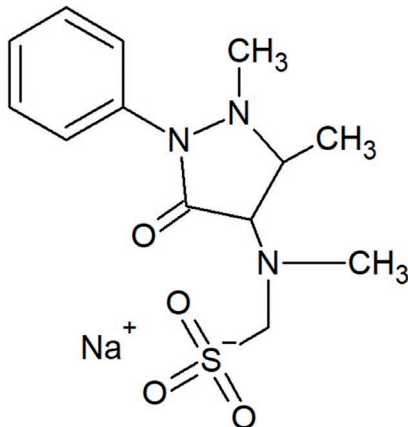


Propriedade de alguns fármacos e sua incidência como contaminantes

Dipirona

A dipirona (sal de sódio do 1-fenil-2,3-dimetil-4-metilaminometanossulfonato-5-pirazolona) é um fármaco não opioide derivado da pirazolona que apresenta propriedades analgésicas, antitérmicas e anti-inflamatórias relacionadas à inibição do sistema enzimático da cicloxigenase (FARMACOPEIA..., 2002). Trata-se de um pó cristalino de coloração branca, solúvel em água e álcool, ligeiramente solúvel em clorofórmio e praticamente insolúvel em éter. Quimicamente, conforme se observa na Figura 2, é um derivado do ácido 5-pirazolônico com a presença de um grupo metanossulfônico e um benzeno ligados a um heterocíclico nas posições 2 e 5 respectivamente (FUCHS; WANNMANCHER, 1998):

Figura 2



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: Estrutura química da dipirona sódica.

A dipirona é comercializada principalmente na forma sódica em diferentes formas de administração (solução oral, injetável, comprimidos e supositórios). Existem no Brasil cerca de 125 produtos à base de dipirona, sendo 71 em associação com outras substâncias. Comprovadamente, trata-se do principal analgésico e antipirético da terapêutica brasileira, com 31,8 % do mercado, sendo o paracetamol o segundo, com 29,7 %, e a aspirina o terceiro, com 27,1 % (DANIELLE; LEAL, 2003).

A dipirona age simultaneamente no sistema nervoso central e no periférico, e sua absorção é rápida, uniforme e quase completa (DIPIRONA..., 2019). O fármaco tem efeito de atuação de aproximadamente 15 minutos, e sua biotransformação ocorre no fígado, com duração de 4 a 7 horas, sendo excretado na urina após 24 horas da ingestão (NOVALGINA..., 2019). A quantidade de dipirona excretada na urina pode chegar a 60 % da quantidade originalmente ingerida, nas formas metabolizadas e hidrolisadas (BILA; DEZOTTI, 2003). A dose recomendada de dipirona para um adulto é de 0,5 g a 1,0 g, administrada três vezes ao dia. A dosagem prescrita pelo médico deve ser respeitada, pois a ingestão de 5,0 g deste fármaco pode ser letal (FUCHS; WANN-MANCHER, 1998). Contudo, é fator de preocupação que cerca de 80 % desse medicamento sejam vendidos sem prescrição médica (DIPIRONA, 2016). O estudo de Diogo (2003) destacou dois problemas envolvendo a ingestão não controlada de dipirona,

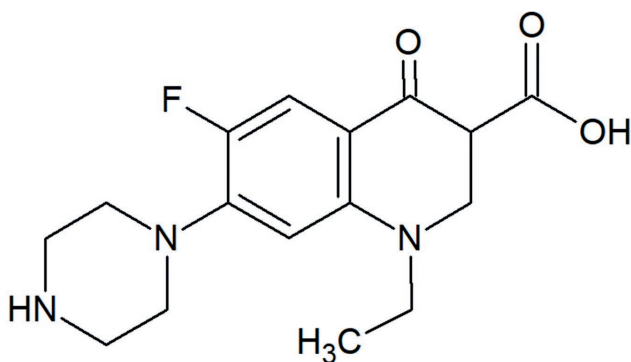
que incidem sobre a sua regulamentação sanitária: o risco elevado de casos de agranulocitose (doença rara, mas que pode ser letal) e a falta de métodos analíticos instrumentais para monitoramento de dipirona.

A farmacopeia brasileira preconiza a iodimetria para a determinação quantitativa da dipirona sódica. Esta metodologia se baseia na oxidação, em meio ácido, do grupo metanossulfônico a sulfato (FARMACOPÉIA..., 1977).

Norfloxacino

O norfloxacino (ácido 1-etil-6-fluor-1,4-diidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolinocarboxílico) é um antibiótico da família das fluoroquinolonas, cuja finalidade é tratar complicadas infecções no trato urinário, inflamação no estômago e intestino (gastrenterite) causados por alguns tipos de bactéria (DIOGO, 2003). É encontrado na forma de um pó cristalino, que apresenta coloração entre branco e amarelo pálido, com uma boa solubilidade em meio de ácido acético e de outros ácidos (ex. ácido clorídrico e ácido sulfúrico) e baixa solubilidade em álcool etílico e metanol. O norfloxacino contém dois grupos funcionais ionizáveis nomeadamente, o grupo 7-piperazina e o grupo 3-carboxílico (ANVISA, 2016), conforme apresentado na Figura 3:

Figura 3



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: Estrutura química do norfloxacino.

O uso abusivo de antibióticos contribui para um aumento da resistência dos micro-organismos a estes fármacos. O norfloxacino após metabolizado é excretado pela via urinária em sua forma inalterada, entre 33 % e 48 % da quantidade original administrada (FLOXACIN, 2013). Com isso, o grande consumo pode promover o aparecimento de substâncias ativas e de seus metabólitos no meio ambiente, fazendo com que os antibióticos estejam entre os contaminantes ambientais mais comuns (HIRSH *et al.*, 1999).

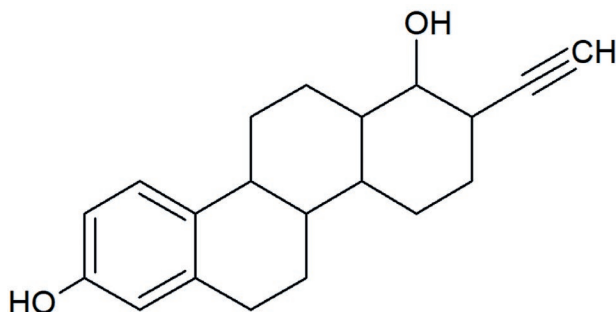
A principal fonte de antibióticos no meio ambiente é a excreção de substâncias ativas não metabolizadas por seres humanos e animais (BROWN *et al.*, 2005). Os antibióticos oriundos destas fontes são contaminantes que podem acarretar inúmeros problemas ao meio ambiente, como o desenvolvimento de bactérias resistentes, criando efeitos deletérios sobre a qualidade da água. Logo, o controle e monitoramento dos antibióticos é necessário para garantir a qualidade dos recursos hídricos, solos e fertilizantes (HUANG *et al.*, 2008).

As principais técnicas utilizadas no monitoramento do norfloxacino são: eletroforese capilar, cromatografia líquida, espectrofotometria, potenciometria e voltametria (ALNAJJAR; ABUSEADA; IDRIS, 2007; GOYAL; RANA; CHASTA, 2012; HUANG; XU; XIE, 2008; LIU *et al.*, 2008; RUFINO *et al.*, 2011; SILVA, 2012; VEIOPOULOU; IOANNOU; LIANIDOU, 1997). No entanto, a farmacopeia brasileira indica apenas a cromatografia líquida para determinação da pureza e a espectrofotometria para a identificação deste fármaco (NOVALGINA..., 2019).

Etinilestradiol

O etinilestradiol é um hormônio feminino que pode ser sintetizado e utilizado em diversos anticoncepcionais, sendo um dos mais consumidos em todo o mundo (FERNANDES *et al.*, 2011). É composto por um grupo fenol ligado a um poli-heterocíclico (3 ciclos) com adição de um radical hidroxila e um etinil nas posições 16 e 17, respectivamente:

Figura 4



Fonte: Elaboração própria.

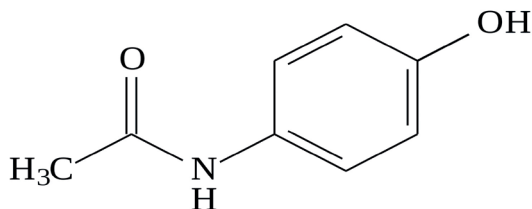
Legenda: Estrutura molecular do etinilestradiol.

Segundo Johnson e Williams (2004), o etinilestradiol é ingerido pelo organismo na proporção de 43 %, sendo o restante excretado em sua maioria na forma original pela urina ou pelas fezes. O etinilestradiol é um dos hormônios mais encontrados em ambientes aquáticos e pode causar diversas alterações nos organismos vivos, tal como a desregularização das glândulas endócrinas dos peixes, ocasionando a feminização de algumas espécies (MUNA *et al.*, 2014). Consequentemente, pode afetar o desenvolvimento de outros organismos vivos que estão acima dos peixes na cadeia alimentar, interferindo indiretamente na saúde daqueles (MUNA *et al.*, 2014; SENA *et al.*, 2015).

Paracetamol

O paracetamol ou acetaminofenol (N-acetil-p-aminofenol) é um dos principais compostos utilizados como princípio ativo de diversos fármacos com finalidade analgésica/antipirética. Trata-se do segundo fármaco mais consumido no Brasil e um dos mais consumidos no mundo (DANIELLE; LEAL, 2003). É encontrado na forma de um cristal branco inodoro ou um pó cristalino, moderadamente solúvel em água. Sua estrutura química apresenta um grupo fenol ligado a um radical amino, que por sua vez é ligado a um grupo acetato:

Figura 5



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: Estrutura química do paracetamol

O paracetamol tem efeitos analgésico e antipirético similares aos da aspirina, apresentando a vantagem de não irritar a mucosa gastrointestinal (MUIR *et al.*, 1997). Após a ingestão, é metabolizado no fígado, e a sua eliminação ocorre em nível renal. De acordo com dados da literatura, cerca de 58 a 68 % são excretados na urina durante o uso terapêutico (HUMBERTO, 2007; NIKOLAU; MERIC; FATTA, 2007).

A dose máxima recomendada de paracetamol é de 4 g por dia. Como ele é altamente danoso para o fígado devido ao seu alto potencial hepatotóxico, doses superiores a essa podem causar hemorragia digestiva, intoxicação exógena, hepatite e necrose hepática, podendo levar à morte (ANVISA, 2002). Além disso, ele é um medicamento alergênico para diversas pessoas (GALLI *et al.*, 2006). Por isso, o controle do paracetamol tanto em vias naturais quanto em formulações farmacêuticas é de suma importância.

Muitas das técnicas convencionais indicadas para análises de tais fármacos (dipirona, paracetamol, norfloxacino e etinilestradiol) requerem capacitação avançada para o uso, nem sempre permitem a sua aplicação *in loco*, têm custos elevados e/ou análises demoradas. Por exemplo, para efetuar um teste em amostra de urina *in loco*, algumas destas técnicas tornam-se inaplicáveis, pois exigem uma preparação de amostra morosa e laboriosa. Deste modo, os métodos eletroquímicos/eletroanalíticos apresentam diversas vantagens comparativamente a outras técnicas de análise, devido, principalmente, à sua simplicidade, seu baixo custo e à rapidez da análise (WANG, 2000).

Técnicas eletroanalíticas

O emprego de técnicas eletroanalíticas possibilita o desenvolvimento de metodologias de análise diretas, rápidas, com baixo custo e com menor influência de interferentes (BRETT; BRETT, 1998), permitindo o seu uso *in loco*. Uma gama variada de técnicas eletroanalíticas, como as voltametrias cíclica e de onda quadrada, tem sido utilizada para várias aplicações, entre elas o monitoramento ambiental, o controle de qualidade de produtos e processos industriais, combustíveis e alimentos (ALGHAMDI, 2010; BRULAND *et al.*, 2000; CARDOSO *et al.*, 2007; FONSECA *et al.*, 2011; JAIN *et al.*, 2010; LOCATELLI, 2011; LUTHER III *et al.*, 2008; MEDEIROS; ROCHA FILHO; FATIBELLO FILHO, 2010; PACHECO *et al.*, 2013; PIECH *et al.*, 2012).

Os métodos eletroanalíticos fazem uso de propriedades elétricas mensuráveis (corrente elétrica, diferenças de potencial, acúmulos interfaciais de carga, entre outras) a partir de fenômenos nos quais uma espécie redox interage física e/ou quimicamente com os demais componentes do meio, ou mesmo com interfaces. Tais interações são observadas quando se aplicam perturbações controladas ao sistema, como, por exemplo, uma diferença de potencial entre eletrodos de uma cela eletroquímica. Essas medidas, chamadas de sinais eletroanalíticos, podem ser relacionadas com algum parâmetro químico intrínseco da espécie (BAGOTSKY, 2001).

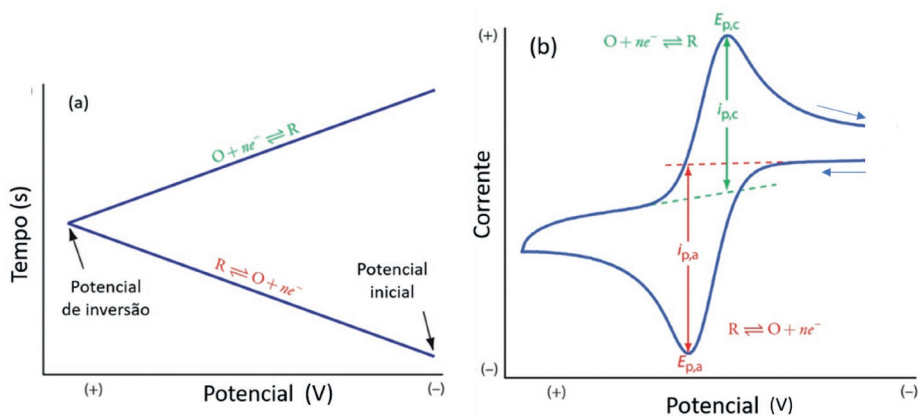
Esses métodos oferecem uma série de vantagens, como: (I) seletividade e especificidade das determinações – resultante da oxirredução das espécies analíticas de interesse em um potencial aplicado específico; (II) seletividade – decorrente dos processos de oxirredução do analito em eletrodo de trabalho feito com

material específico (material de eletrodo); (III) grande sensibilidade e baixos limites de detecção – resultante tanto das técnicas de pré-concentração quanto de modos de aquisição de sinal que proporcionam baixo sinal de fundo, entre outras (TRINIDADE; FERREIRA; ZANONI, 2007).

Voltametria cíclica

A voltametria cíclica é a técnica mais comumente usada para adquirir informações qualitativas sobre os processos eletroquímicos. A eficiência desta técnica está atrelada à rapidez com que fornece informações sobre a termodinâmica de processos redox, a cinética de reações heterogêneas de transferência de elétrons e as reações químicas acopladas a processos adsorptivos (BAGOTSKY, 2001). Na Figura 6, observam-se o sinal de excitação e o voltamograma característico para uma voltametria cíclica reversível.

Figura 6



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: Curvas obtidas por voltametria cíclica: (a) relação entre potencial e sinal de excitação; (b) voltamograma com seus respectivos parâmetros.

Em um experimento voltamétrico, inicia-se a aplicação do potencial em um valor no qual nenhuma reação ocorre. Com a variação de potencial para regiões mais

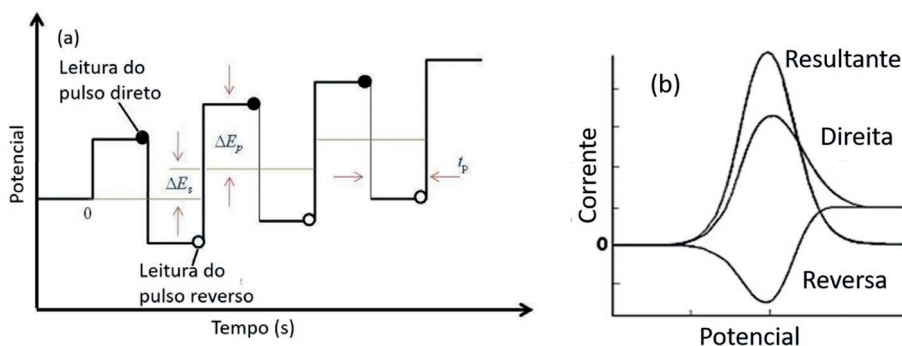
negativas (catódica), ocorre a redução do composto em solução, gerando um pico de corrente proporcional à concentração deste composto. Quando o potencial atinge um valor no qual nenhuma reação de redução ocorre, o potencial é varrido no sentido inverso até o valor inicial. No caso de uma reação reversível, os produtos que tiverem sido gerados no sentido direto (e se localizarem ainda próximos à superfície do eletrodo) serão oxidados, gerando um pico simétrico ao pico da redução. O perfil do voltamograma depende do mecanismo redox que o composto em questão sofre no eletrodo, o que faz da voltametria cíclica uma ferramenta valiosa para estudos mecanísticos (PACHECO *et al.*, 2013).

Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *square wave voltammetry*) é uma das técnicas de pulso mais rápidas e sensíveis, podendo alcançar a velocidade de $1,0 \text{ V s}^{-1}$. A SWV apresenta limites de detecção comparáveis aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas (10^{-7} a $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$), podendo atingir concentrações ainda menores ($10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$) quando associada a métodos de redissolução (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003; PACHECO *et al.*, 2013).

Nesta técnica ocorre uma variação de potencial, realizada na forma de uma escada (Figura 7a), em que pulsos de potencial (ΔE_p , incremento de potencial) de igual amplitude são sobrepostos a uma escada de potenciais de altura constante (ΔE_s , incremento de potencial) e duração de dois períodos. As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos direto (catódico) e reverso (anódico), originando um pico simétrico com posição, largura e altura características do sistema avaliado, que é um sinal obtido diferencialmente, conforme indicado na Figura 7b. Como consequência disso, a técnica apresenta excelente sensibilidade e alta rejeição a correntes capacitivas (SKOOG; HOLLER; WEST, 2005).

Figura 7



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: (a) forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada; (b) voltamograma esquemático de onda quadrada.

Uma das grandes vantagens da SWV em relação às outras técnicas voltamétricas é que sua resposta analítica leva em consideração as espécies eletroativas adsorvidas e as reações redox totalmente irreversíveis na superfície do eletrodo. Tais critérios de diagnóstico são muito importantes em eletroquímica, especialmente na análise de compostos orgânicos, em que os processos de adsorção provocam um efeito complexo nas respostas voltamétricas. A adsorção do produto e reagente surge a partir de uma difusão linear, com o coeficiente de transferência de massa aproximadamente planar, seguindo as Leis de Fick (SKOOG; HOLLER; WEST, 2005). Este efeito depende: da quantidade com que reagente, produto ou ambas as espécies adsorvem; da força; da dependência do potencial de adsorção; do eletrólito suporte utilizado; da forma de aplicação do potencial. Além disso, processos redox totalmente irreversíveis são muito comuns em diversos tipos de compostos orgânicos contendo anéis aromáticos homocíclicos ou heterocíclicos com grupos ligantes eletroativos. Tais grupos são superfícies ativas e sofrem reduções e/ou oxidações totalmente irreversíveis, devido à baixa velocidade de transferência de carga, ou, muitas vezes, por uma rápida desativação do produto de reação redox, devido a um processo de protonação irreversível seguido por uma transferência de carga (BARTON *et al.*, 2016; LAWRENCE *et al.*, 2002).

Uma das formas de aumentar a sensibilidade das técnicas eletroanalíticas é a partir do uso da otimização multivariada. Trata-se de uma ferramenta estatística que busca explorar as condições experimentais da técnica ou sistema. Ela aplica um baixo número de experimentos quando comparada às otimizações univariadas, calculando as contribuições das variáveis em estudo a partir das respostas analíticas obtidas (VANINI *et al.*, 2015). Nesse sentido, a otimização multivariada pode empregar o planejamento fatorial completo em uma etapa inicial, chamada de triagem, que seleciona as variáveis experimentais que influenciam significativamente na resposta analítica. E na etapa seguinte, as variáveis selecionadas são otimizadas por alguma ferramenta estatística que geram modelos quadráticos, por exemplo, o planejamento composto central (CCD) (SILVA *et al.*, 2008). Neste trabalho, uma otimização multivariada foi aplicada para o desenvolvimento da metodologia para determinação de etinilestradiol por SWV.



Sensores eletroquímicos

O desenvolvimento de sensores eletroquímicos é uma das áreas de maior e mais rápido crescimento dentro da química analítica, principalmente devido aos novos desafios impostos pela quantificação de substâncias de interesse industrial, clínico e ambiental. Este fato tem levado a uma crescente busca por sensores com melhores características, tais como altas sensibilidade, seletividade e estabilidade (BERGAMINI, 2007; BUDNIKOV, 2000; PRODROMIDIS; KARAYANNIS, 2002; ROSATTO *et al.*, 2001; SUZUKI, 2000; SVANCARA *et al.*, 2001; VO-DINH; CULLUM, 2000; WANG, 2001).

Atualmente, existem diversos tipos de eletrodos utilizados em determinações analíticas, sendo desenvolvidos dispositivos progressivamente com maior robustez, que permitem o uso de metodologias mais simplificadas (SACILOTO, 2014). Adaptações no tamanho e arranjo dos eletrodos permitem a utilização destes em análises em campo, e também na coleta do analito para determinação posterior. Desta forma, estes sistemas fornecem ao operador não só instrumentos mais econômicos, com respostas sensíveis e seletivas, mas também praticidade de uso e simplicidade do sinal analítico (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

Eletrodos impressos

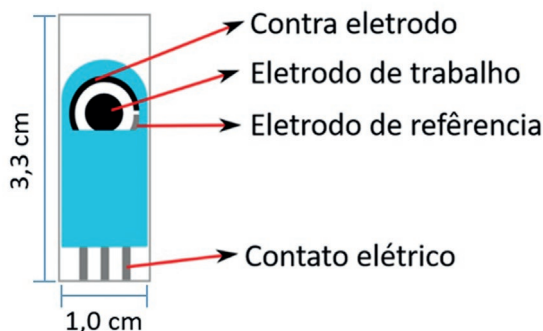
Com o intuito de aprimorar a sensibilidade das técnicas voltamétricas e miniaturizar os sistemas eletroquímicos, os eletrodos impressos (SPEs, do inglês *screen-printed*

electrodes) surgem como uma alternativa frente aos eletrodos convencionais. São formados pela deposição de um filme sobre um suporte inerte, coberto por uma segunda camada de material isolante elétrico, e incluem uma configuração de três eletrodos (trabalho, auxiliar e referência).

Esses dispositivos apresentam baixo custo, boa reprodutibilidade e baixos níveis de envenenamento, e raramente necessitam de pré-tratamento. Como consequência, têm mostrado alta versatilidade de aplicações. Além disso, há possibilidade de utilizar diversos materiais (carbono, prata, ouro, platina) em sua construção, para aumentar sua sensibilidade e seletividade (NASCIMENTO; ANGNES, 1998; TRINDADE, 2009).

Na Figura 8, observam-se o *design* e a configuração esquemática dos eletrodos impressos:

Figura 8



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: Configuração do SPE.

O material utilizado como substrato na confecção dos eletrodos impressos deve apresentar características específicas, tais como elevadas inércias química e eletroquímica, amplas faixas de potenciais, elevado sobrepotencial para produção de oxigênio e hidrogênio, baixa corrente residual, alta condutividade elétrica e fácil regeneração da superfície. Entre os materiais empregados na produção de SPEs, destaca-se o carbono, por ser relativamente barato e ter grande parte das características exigidas para um substrato (TRINDADE; ZANONI, 2009).

O eletrodo impresso de carbono (SPEC) consiste em um depósito de filme de carbono ou outro material condutor sobre um suporte inerte, geralmente PVC, cerâmica ou vidro. O filme é parcialmente coberto por uma segunda camada fina de um material isolante para definir uma área de contato elétrico numa extremidade e outra área para ser a superfície do eletrodo na outra extremidade (AGÚÍ; YÁÑEZ-SEDEÑO; PINGARRÓN, 2008; AJAYAN, 1999; BALADIN *et al.*, 2008; BOLOTIN *et al.*, 2008; CHEN; LI; SHI, 2013; FERREIRA, 2011; IJIMA, 1991; LEE *et al.*, 2008; LEWANDOWSKI; GALINSKI, 2007; MERKOÇI *et al.*, 2005; MOSES; WIER; MURRAY, 1975; PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002; RENEDO; ALONSO-LOMILLO; MARTINEZ, 2007; SOUZA FILHO; FAGAN, 2007; VAIRAVAPANDIAN; VICHCHULADA; LAY, 2008).



Determinação voltamétrica de fármacos

A revisão da literatura é um ponto-chave em todo trabalho científico. Echer (2001, p. 7) afirma que a partir dela

[...] poderemos ter ideia do que já foi e do que ainda necessita ser pesquisado. O problema pode, da mesma forma, surgir a partir de outros trabalhos, como nas recomendações apontadas em pesquisas, artigos, livros, periódicos e outros, o que não deixa de ser uma revisão.

Na Tabela 1 estão dispostas informações consideradas relevantes encontradas em artigos de determinação de dipirona que utilizaram técnicas voltamétricas com diferentes tipos de eletrodos (impressos ou sólidos) e diferentes materiais (carbono, diamante dopado com boro e mercúrio).

Tabela 1 – Informações dos métodos relatados na literatura para determinação de dipirona por meio de técnicas voltamétricas

| Autor | Ano | Eletrodo | Técnica | Linear range ($\mu\text{Mol L}^{-1}$) | Limite de detecção ($\mu\text{Mol L}^{-1}$) |
|--------------------------------|------------|---|---|---|---|
| Gomes e colaboradores | 2019 | Diamante dopado com boro | Voltametria de onda quadrada | 1,00 a 65,00 | 0,26 |
| Rumin e colaboradores | 2016 | Carbono vítreo modificado ^(a) | Voltametria de pulso diferencial | 0,15 a 15,00 | 0,013 |
| Smajdor, Paczosa-Bator e Piech | 2016 | Carbono vítreo modificado ^(b) | Voltametria linear | 1,00 a 13,00 | 0,023 |
| Ghica, Ferreira e Brett | 2015 | Eletrodo de filme de carbono ^(c) | Voltametria de pulso diferencial | 250 a 2.500 | 15,2 |
| Gopu e colaboradores | 2012 | Eletrodo de carbono vítreo ^(d) | Redissolução com voltametria de pulso diferencial | 750 a 1,20 | 0,06 |
| Ramadan, Mandil e Hafez | 2011 | Eletrodo de mercúrio | Voltametria de pulso diferencial | 3,8 a 50 | 1,0 |

Fonte: Elaboração própria.

Notas:

^(a) Eletrodo de carbono vítreo modificado com filme Nafion/Pedot: PSS;

^(b) Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubo de carbono de parede simples com filme composto de Nafion;

^(c) Eletrodo de filme de carbono modificado com paredes múltiplas de nanotubos de carbono e nanoestruturas de poli (tionina);

^(d) Eletrodo de carbono vítreo modificado com poli (3,4-etilenodioxitiofeno) de tamanho nanométrico.

Diante das informações da Tabela 1, nota-se o uso de diversos tipos de eletrodos modificados na detecção de dipirona nos últimos anos, com foco principal nas modificações feitas com nanotubos de carbono. Porém não há relatos na literatura sobre a utilização de eletrodos impressos ou de equipamentos portáteis.

A tabela a seguir mostra informações encontradas referentes à determinação de norfloxacino.

Tabela 2 – Informações dos métodos relatados na literatura para a determinação de norfloxacino por meio de técnicas voltamétricas

| Autor | Ano | Eletrodo | Técnica | Linear range ($\mu\text{Mol L}^{-1}$) | Limite de detecção ($\mu\text{Mol L}^{-1}$) |
|--------------------------|------------|--|---|---|---|
| Santos e colaboradores | 2019 | Eletrodo de carbono modificado | Voltametria de redissolução anódica com onda quadrada | 0,2 a 7,4 | 0,0066 |
| Liu e colaboradores | 2018 | Pasta de carbono modificado ^(a) | Voltametria de pulso diferencial | 0,03 a 1,00 | 0,016 |
| Hamnca e colaboradores | 2017 | Carbono impresso ^(b) | Voltametria de onda quadrada | 25,00 a 500 | 0,034 |
| Oliveira e colaboradores | 2015 | Carbono impresso | Voltametria de onda quadrada | 1,00 a 18,6 | 0,64 |
| Silva e colaboradores | 2015 | Carbono vítreo modificado ^(c) | Voltametria de onda quadrada | 0,1 a 8,0 | 0,0046 |
| Ye, Wang e Wen | 2015 | Oxido de grafeno | Voltametria de pulso diferencial | 0,001 a 7,000 | 0,005 |
| Zhang e colaboradores | 2013 | Pasta de carbono modificado ^(d) | Voltametria de pulso diferencial | 0,1 a 40 | 0,04 |

Fonte: Elaboração própria.

Notas:

^(a) Eletrodo compósito de MWCNT-CPE/pRGO-ANSA/Au;

^(b) Eletrodo impresso de carbono modificado com ácido polymic e grafeno;

^(c) Eletrodo de carbono vítreo modificado com um polímero molecularmente impresso com deposição de paredes múltiplas de nanotubos de carbono;

^(d) Eletrodo de pasta de carbono modificado com polimerização da ciclodextrina e l-arginina.

Na Tabela 2 observa-se que, novamente, a quantidade de trabalhos com eletrodos modificados é predominante na determinação de norfloxacino por voltametria. Entretanto, nota-se que dois destes trabalhos empregam eletrodos impressos: um utilizando o SPE de carbono sem modificação e outro com modificação. O eletrodo impresso com modificação apresenta um LD melhor do que o não modificado. Os eletrodos impressos, principalmente os modificados com nanotubos de carbono e grafeno são uma proposta promissora para determinação de norfloxacino, uma vez que apresentam características intrínsecas excelentes provenientes do carbono e das modificações.

A próxima tabela apresenta dados relevantes dos artigos pesquisados sobre determinação de etinilestradiol associada com técnicas voltamétricas.

Tabela 3 – Informações dos métodos relatados na literatura para determinação de etinilestradiol por meio de técnicas voltamétricas

| Autor | Ano | Eletrodo | Técnica | Linear range (µMol L⁻¹) | Limite de detecção (µMol L⁻¹) |
|-------------------------|------------|---------------------------|--|---|---|
| Smajdor e colaboradores | 2017 | Carbono vítreo | Voltametria linear | 0,25 a 3,00 | 0,12 |
| Nunes e colaboradores | 2016 | Gota pendente de mercúrio | Voltametria de adsorção catódica com pulso diferencial | 0,006 a 0,297 | 0,00147 |
| Li | 2007 | Pasta de carbono | Voltametria de varredura linear | 0,05 a 20,0 | 0,03 |

Fonte: Elaboração própria.

Conforme a Tabela 3, nota-se que há poucos artigos referentes à determinação de etinilestradiol utilizando técnicas voltamétricas. Ademais, não há relatos na literatura de uso de equipamentos portáteis e/ou eletrodos impressos para este fim. Consequentemente, o emprego de eletrodos impressos associado a técnicas voltamétricas para determinação de etinilestradiol é uma proposta de trabalho interessante, uma vez que este fármaco é um dos hormônios mais encontrados em ambientes aquáticos.

Por fim, a tabela seguinte apresenta dados relevantes dos artigos pesquisados sobre determinação de paracetamol associado com técnicas voltamétricas.

Tabela 4 – Informações dos métodos relatados na literatura para determinação de paracetamol por meio de técnicas voltamétricas

| Autor | Ano | Eletrodo | Técnica | Linear range ($\mu\text{Mol L}^{-1}$) | Limite de detecção ($\mu\text{Mol L}^{-1}$) |
|-----------------------------------|------|---|----------------------------------|---|---|
| Meenakshi, Pandian e Gopinath | 2020 | Carbono vítreo ^(a) | Voltametria de pulso diferencial | 0,1 a 150 | 0,0043 |
| Sheikhshoaie, Nejadi e Beitollahi | 2019 | Eletrodo impresso de grafite ^(b) | Voltametria de pulso diferencial | 0,5 a 250 | 0,09 |
| Wei e colaboradores | 2019 | Eletrodo impresso de nanotubos ^(c) | Voltametria de varredura linear | 0,25 a 120 | 0,08 |
| Zhang e colaboradores | 2019 | Eletrodo impresso de carbono ^(d) | Voltametria de pulso diferencial | 0,25 a 2.000 | 0,048 |
| Tu e colaboradores | 2019 | Carbono vítreo ^(e) | Voltametria de pulso diferencial | 2 a 22 | 1,4 |

Fonte: Elaboração própria.

Notas:

^(a) Nanoflocos de grafeno eletrodo de carbono vítreo modificado;

^(b) $\text{La}^{3+}/\text{Co}_3\text{O}_4$ nanoflocos;

^(c) MWCNTs dopada com poli(glicina)(p-gly)/poli(ácido acrílico);

^(d) Eletrodo impresso modificado com MXene (MXene/SPE);

^(e) Estrutura imidazolato zeolítica-67.

Pela Tabela 4, observa-se que, novamente, a quantidade de trabalhos com eletrodos modificados é predominante na determinação de paracetamol por voltametria.

Entretanto, nota-se que a maioria destes trabalhos empregam eletrodos impressos, à base de carbono, grafite ou nanotubos de carbono. Com isso, constata-se que os eletrodos impressos são uma proposta promissora de trabalho, principalmente se empregados sem modificação, pois podem reduzir o custo do método e simplificar as análises realizadas.

Procedimento experimental

Reagentes

Todas as soluções empregadas neste estudo foram preparadas a partir de reagentes de grau analítico e água ultrapura obtida a partir de um sistema de purificação modelo H2O-MA-UV-T (Sartorius Arium® mini, Alemanha), resistividade de 18 MΩ cm a 25 °C.

A tabela a seguir apresenta os reagentes empregados em todas as metodologias eletroanalíticas e suas principais características (pureza, concentração e marca).

Tabela 5 – Reagentes empregados nas metodologias eletroanalíticas

| Reagentes | Pureza/Concentração | Marca |
|--|---------------------|----------------|
| Dípirona (C ₁₃ H ₁₆ N ₃ NaO ₄ S) | 98 % | Sigma-Aldrich® |
| Etinilestradiol (C ₂₀ H ₂₄ O ₂) | 98 % | Sigma-Aldrich® |
| Norfloxacino (C ₁₆ H ₁₈ FN ₃ O ₃) | 98 % | Sigma-Aldrich® |
| Paracetamol (C ₈ H ₉ NO ₂) | 98 % | Sigma-Aldrich® |
| Ácido clorídrico (HCl) | 37 % | Vetec® |
| Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄) | 97 % | Vetec® |
| Cloreto de potássio (KCl) | 99 % | Vetec® |
| Ácido bórico (H ₃ BO ₃) | 96 % | Vetec® |
| Ácido acético (CH ₃ COOH) | 96 % | Vetec® |
| Ácido fosfórico (H ₃ PO ₄) | 85 % | Vetec® |

(continua)

| | | |
|--|--------------------------|----------------|
| Hidróxido de sódio (NaOH) | 97 % | Vetec® |
| Cloreto de sódio (NaCl) | 99 % | Vetec® |
| Cloreto de potássio (KCl) | 99 % | Vetec® |
| Cloreto de cálcio di-hidratado (CaCl ₂ ·H ₂ O) | 99 % | Vetec® |
| Sulfato de sódio anidro (Na ₂ SO ₄) | 99 % | Vetec® |
| Fosfato de potássio monobásico (KH ₂ PO ₄) | 98 % | Vetec® |
| cloreto de amônio (NH ₄ Cl) | 99 % | Vetec® |
| Ureia (CH ₄ N ₂ O) | 99 % | Dinâmica® |
| Cobre (II)(Cu ²⁺) | 1.000 mg L ⁻¹ | Sigma-Aldrich® |
| Cádmio (II)(Cd ²⁺) | 1.000 mg L ⁻¹ | Sigma-Aldrich® |
| Cobalto (II)(Co ²⁺) | 1.000 mg L ⁻¹ | Sigma-Aldrich® |
| Zinco (II)(Zn ²⁺) | 1.000 mg L ⁻¹ | Sigma-Aldrich® |
| Níquel (II)(Ni ²⁺) | 1.000 mg L ⁻¹ | Sigma-Aldrich® |
| Ferro (III)(Fe ³⁺) | 1.000 mg L ⁻¹ | Sigma-Aldrich® |
| Chumbo (II)(Pb ²⁺) | 1.000 mg L ⁻¹ | Sigma-Aldrich® |
| Acetato de ciproterona (C ₂₄ H ₂₉ ClO ₄) | 98 % | Sigma-Aldrich® |
| Cefalexina (C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₄ S) | 98 % | Sigma-Aldrich® |
| Diclofenaco (C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂) | 98 % | Sigma-Aldrich® |
| Prednisona (C ₂₁ H ₂₆ O ₅) | 98 % | Sigma-Aldrich® |

Fonte: Elaboração própria.

Soluções empregadas para o desenvolvimento das metodologias propostas

Durante o desenvolvimento da metodologia para determinação de dipirona, uma solução estoque de dipirona 1 mmol L⁻¹ em HCl 0,1 mol L⁻¹ foi preparada para aplicação em todas as etapas desenvolvidas. Para a etapa do estudo da influência do pH, foi empregado HCl (0,1 e 0,01 mol L⁻¹), tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (ácido bórico, ácido

acético, ácido fosfórico e hidróxido de sódio), pH 3,0 a 9,0 (exceto 7,0) e KCl 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,0). A etapa do teste de interferentes foi realizada com auxílio de soluções (15, 30, 45 μmol L⁻¹) de Cu^{II}, Co^{II}, Cd^{II}, Fe^{III}, Ni^{II}, Pb^{II}, norfloxacino e etinilestradiol.

No desenvolvimento da metodologia para determinação de etinilestradiol, empregou-se uma solução estoque do hormônio na concentração de 1 mmol L⁻¹ em tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 8,0). A eletrodeposição de níquel sobre a superfície do eletrodo impresso de carbono (SPEC) foi realizada com emprego de soluções de Ni^{II}, Co^{II} e Cd^{II} (9,4 mmol L⁻¹) em tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 8,0). O estudo da influência do pH foi realizada com soluções de tampão BR 0,1 mol L⁻¹ de pH 3,0 a 12,0 (exceto 7,0) e para pH 7,0 foi empregado uma solução de KCl 0,05 mol L⁻¹. Para o teste de interferentes foram utilizadas soluções dos fármacos acetato de ciproterona, cefalexina, diclofenaco, dipirona, norfloxacino e prednisona, todos na concentração de 3,0 mmol L⁻¹ em tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 8,0).

O desenvolvimento da metodologia para determinação de norfloxacino foi realizado utilizando-se uma solução estoque do fármaco na concentração de 1 mmol L⁻¹ em H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹. A etapa do estudo da influência do pH foi realizada empregando-se as soluções de H₂SO₄ (0,1 e 0,01 mol L⁻¹), tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0 a 12,0, exceto 7,0) e KCl 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,0). Na etapa do estudo de interferente foram utilizadas as soluções dos fármacos cefalexina, etinilestradiol, dipirona, paracetamol e prednisona nas concentrações de 3 mmol L⁻¹ em H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹.

A metodologia para determinação de paracetamol foi desenvolvida empregando-se uma solução estoque do fármaco na concentração de 1 mmol L⁻¹ em HCl 0,1 mol L⁻¹. Na etapa do estudo da influência do pH, foram empregadas soluções de HCl (0,1 e 0,01 mol L⁻¹), tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0 a 12,0, exceto 7,0) e KCl 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,0). Para o teste de interferentes, foram utilizadas soluções padrões dos fármacos, cefalexina, diclofenaco, etinilestradiol, norfloxacino e prednisona nas concentrações de 3 mmol L⁻¹ em HCl 0,1 mol L⁻¹.

Preparo de amostra

As amostras de urina e estruvita foram gentilmente cedidas pelo Núcleo de Bioengenharia Aplicada ao Saneamento da Ufes. Nos ensaios analíticos, dois tipos de urina foram

utilizados: urina usada na produção de estruvita (UE) recolhida pelo Núcleo de Bioengenharia; e urina humana coletada de um indivíduo (UH) de 27 anos, sexo masculino e que não administrou nenhum tipo de medicação nos três meses anteriores à coleta.

Na amostra de UH para determinação de dipirona, o indivíduo ingeriu um comprimido de dipirona (500 mg) 10 horas antes da análise. Para os ensaios analíticos de etinilestradiol, norfloxacino e paracetamol em UH, três alíquotas de 1 mL da UH foram coletadas e diluídas nos eletrólitos de suporte das metodologias propostas até o volume final de 10 mL.

A amostra UE foi previamente processada por um reator com capacidade de 450 L de urina, acoplado a uma bomba centrífuga, que é utilizada para fazer a mistura com a solução de óxido de magnésio. Para o preparo da solução de estruvita, dois passos foram necessários: antes da pesagem, a amostra foi macerada para diminuir sua granulometria e, posteriormente, foi pesada uma massa de 80 mg de estruvita; em seguida, as amostras (80 mg cada) foram diluídas em soluções de 100 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹, tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 8,0) e H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, e agitadas em um agitador magnético até completa solubilização.

Uma amostra de urina sintética foi produzida com NaCl (0,73 g), KCl (0,40 g), CaCl₂.H₂O (0,27 g), Na₂SO₄ (0,56 g), KH₂PO₄ (0,35 g), NH₄Cl (0,25 g) e ureia (6,25 g), diluídos em água até um volume final de 250 mL. Nos ensaios com urina sintética foi aplicado o mesmo método de preparação de amostra para UH analisada nas metodologias de determinação de etinilestradiol, norfloxacino e paracetamol.

As amostras farmacêuticas (comprimidos) foram adquiridas em uma farmácia local e, de acordo com os fabricantes, os comprimidos de dipirona, etinilestradiol, norfloxacino e paracetamol continham 500 mg, 0,0025 mg, 400 mg e 750 mg, respectivamente. Os comprimidos foram completamente macerados e diluídos em 100 mL do eletrólito de suporte empregado em cada uma das metodologias propostas para análise.

Instrumentação e eletrodos

Todos os reagentes foram pesados utilizando-se uma balança semianalítica modelo AY220 (Shimadzu[®], Japão). Os ensaios eletroanalíticos foram realizados com o auxílio de um potenciostato/galvanostato portátil μ STAT 400 (Metrohm DropSens[®],

Espanha) controlado por um *laptop* com sistema operacional Windows 10® (processador Intel Core I5 e memória RAM de 8,0 GB), por meio do *software* DropView 8400®. As eletrodeposições foram realizadas com auxílio de um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT 128N (Metrohm Autolab® B.V., Holanda) controlado pelo *software* Nova 2.10.4®. A caracterização da amostra de estruvita foi realizada por difração de raio-X (DRX) em um difratômetro D8 Advance (Bruker®, Alemanha) com fonte de radiação $K\alpha$ de cobre ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) à temperatura ambiente, com difração de ângulo $2\theta = 10^\circ - 90^\circ$ e etapa de $0,01^\circ$. Os eletrodos impressos de carbono utilizados foram os de modelo 110 (DropSens®, Espanha).

Determinação da concentração de dipirona em amostras de urina e estruvita por SWV e uso de eletrodos impressos de carbono (SPEC)

Medidas eletroquímicas

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em triplicata empregando uma gota de solução (40 μL) na superfície do eletrodo de trabalho (SPEC), sem necessidade prévia de desaeração.

Inicialmente, foi realizado o estudo do perfil voltamétrico (por voltametria cíclica) do SPEC em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de dipirona $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Para este estudo, empregou-se uma janela de potencial de 0,1 a 0,8 V, que corresponde à faixa de potencial em que ocorrem os processos redox da dipirona (GHICA; FERREIRA; BRETT, 2015; GOMES *et al.*, 2019; GOPU *et al.*, 2012; RAMADAN; MANDIL; HAFEZ, 2011; RUMIN *et al.*, 2016; SMAJDOR; PACZOSA-BATOR; PIECH, 2016). Em seguida, foi realizado um estudo (por voltametria cíclica) variando o pH em uma faixa de 1,0 a 9,0, utilizando HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de dipirona. Para esta etapa, foram empregadas as mesmas condições anteriores, a fim de determinar a melhor relação da corrente de pico (I_{pico}) em função do pH para a dipirona.

Após a escolha do eletrólito de suporte e do pH ideal, foi realizada a otimização dos parâmetros experimentais da SWV (potencial de condicionamento, tempo

de condicionamento, tempo de equilíbrio, incremento de potencial, amplitude, frequência), aplicando-se experimentos univariados em uma solução de dipirona $10 \mu\text{mol L}^{-1}$. Em seguida, foi realizado o teste de estabilidade do eletrodo, a partir da realização de sucessivas varreduras de onda quadrada de uma solução de dipirona $0,75 \mu\text{mol L}^{-1}$. A partir da SWV otimizada, foi construída a curva analítica em uma faixa de concentração de $0,35$ a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de dipirona.

Para os ensaios de interferência, foi realizado um teste com diferentes íons metálicos – cobre (II), cádmio (II), chumbo (II), zinco (II), níquel (II), cobalto (II), ferro (III) – e compostos orgânicos (norfloxacino e etinilestradiol). Todos os interferentes foram estudados nas proporções de 1:1, 2:1 e 3:1. A concentração na proporção 1:1 utilizada foi de $15 \mu\text{mol L}^{-1}$ tanto para o interferente quanto para a dipirona.

Todos os testes em UH e UE foram realizados de forma direta sem tratamento prévio. Para determinação de dipirona em estruvita, foi construída uma curva de adição de padrão a partir da adição de cinco concentrações de dipirona ($0,35 \mu\text{mol L}^{-1}$, $0,75 \mu\text{mol L}^{-1}$, $1,50 \mu\text{mol L}^{-1}$, $3,06 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $6,12 \mu\text{mol L}^{-1}$). Por fim, foi aplicado o teste de recuperação na solução de estruvita, a partir de sua fortificação com três concentrações distintas de dipirona ($100,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, $12,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Preparação dos eletrodos SPEC-Ni e determinação da concentração de etinilestradiol em amostras de urina e estruvita por SWV

Eletrodeposição de níquel

O eletrodo impresso de carbono com níquel eletrodepositado (SPEC-Ni) foi preparado a partir dos seguintes passos:

I) Eletrodeposição por técnica de voltametria cíclica em uma janela de potencial de $-1,5$ a $-0,5$ V empregando as condições previamente otimizadas: solução de níquel ($9,4 \text{ mmol L}^{-1}$), número de ciclos (1.000 ciclos) e velocidade de varredura (5 V s^{-1});

II) Estabilização do SPEC-Ni por cronoamperometria direta no potencial de $-0,16$ V por 10 segundos, em uma solução mista de níquel, cádmio e cobalto ($9,4 \text{ mmol L}^{-1}$);

III) Ciclagem por voltametria cíclica na faixa de potencial de $-0,2$ a $0,7$ V, por 10 ciclos e empregando uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} em uma solução de níquel $9,4 \text{ mmol L}^{-1}$;

IV) Leitura do perfil voltamétrico do SPEC-Ni por voltametria cíclica na faixa de potencial de $-0,2$ a $0,5$ V, por 5 ciclos e empregando uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} em uma solução de tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0).

Medidas eletroquímicas

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em triplicata empregando-se uma gota de solução ($40 \text{ } \mu\text{L}$) na superfície do eletrodo de trabalho (SPEC-Ni), sem necessidade prévia de desaeração.

Para a otimização da eletrodeposição de níquel sobre o SPEC, inicialmente foi realizada a etapa de triagem, para investigar as significâncias das variáveis envolvidas na eletrodeposição de níquel sobre o SPEC. Para tanto, foi utilizado o planejamento fatorial completo para avaliar três variáveis: velocidade de varredura (x_1), concentração de níquel (x_2) e números de ciclos (x_3). Estas variáveis foram estudadas em dois níveis, sendo realizado um planejamento 2^3 com mais três repetições no ponto central (11 experimentos).

A Tabela 6 apresenta a matriz do planejamento 2^3 com as variáveis estudadas e seus respectivos níveis reais e normalizados. Os experimentos foram efetuados de forma aleatória para evitar erros sistemáticos (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010; TEÓFILO; FERREIRA, 2006). A resposta mensurada foi a corrente de pico de $70 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de etinilestradiol em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0).

Tabela 6 – Matriz do planejamento 2^3 , variáveis e seus níveis utilizados na etapa de eletrodeposição de níquel

| EXP | x_1 Velocidade de varredura ($V s^{-1}$) | x_2 Concentração de níquel ($mmol L^{-1}$) | x_3 Número de ciclos |
|-----|---|---|---------------------------|
| 1 | 1(-1) | 1(-1) | 200(-1) |
| 2 | 9(+1) | 1(-1) | 200(-1) |
| 3 | 1(-1) | 9(+1) | 200(-1) |
| 4 | 9(+1) | 9(+1) | 200(-1) |
| 5 | 1(-1) | 1(-1) | 1.000(+1) |
| 6 | 9(+1) | 1(-1) | 1.000(+1) |
| 7 | 1(-1) | 9(+1) | 1.000(+1) |
| 8 | 9(+1) | 9(+1) | 1.000(+1) |
| 9 | 5(0) | 5(0) | 600(0) |
| 10 | 5(0) | 5(0) | 600(0) |
| 11 | 5(0) | 5(0) | 600(0) |

Fonte: Elaboração própria.

Após a seleção das variáveis significativas na etapa de triagem, realizou-se a etapa de modelagem, usando o planejamento fatorial CCD. Nessa etapa, as variáveis selecionadas foram estudadas em um número maior de níveis, possibilitando a construção da superfície de resposta, que permitiu estabelecer as melhores condições de trabalho para a eletrodeposição de níquel sobre o SPEC.

Após otimização do preparo do SPEC-Ni, foi realizado um estudo eletroquímico (via voltametria cíclica) de uma solução $40 \mu mol L^{-1}$ de etinilestradiol em tampão BR $0,1 mol L^{-1}$ (pH 8,0) no SPEC e no SPEC-Ni. Para esse estudo, empregou-se uma janela de potencial de 0,1 a 0,8 V e uma velocidade de varredura de $50 mV s^{-1}$. Em seguida, foi realizado um estudo (via voltametria cíclica) da resposta analítica

do etinilestradiol em função do pH utilizando tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0 a 10, exceto 7,0) e KCl 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,0) na presença 10 µmol L⁻¹ de etinilestradiol.

Após a escolha do eletrólito de suporte e do pH ideal, foi realizada a otimização dos parâmetros experimentais da SWV (incremento de potencial, amplitude, frequência), em uma solução de etinilestradiol 25 µmol L⁻¹ em tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 8,0). Nesta etapa, avaliaram-se as significâncias das variáveis da SWV, aplicando o planejamento fatorial completo 2³ com réplicas do ponto central. Na Tabela 7, encontram-se a matriz do planejamento, as variáveis e seus respectivos níveis reais e normalizados. Posteriormente, as variáveis consideradas significativas foram otimizadas aplicando o planejamento CCD.

Tabela 7 – Matriz do planejamento 2³, variáveis e seus níveis utilizados na otimização da SWV

| EXP | x ₁ Incremento de potencial (mV) | x ₂ Amplitude (mV) | x ₃ Frequência (Hz) |
|-----|--|----------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 2 (-1) | 20 (-1) | 5 (-1) |
| 2 | 10 (+1) | 20 (-1) | 5 (-1) |
| 3 | 2 (-1) | 60 (+1) | 5 (-1) |
| 4 | 10 (+1) | 60 (+1) | 5 (-1) |
| 5 | 2 (-1) | 20 (-1) | 40 (+1) |
| 6 | 10 (+1) | 20 (-1) | 40 (+1) |
| 7 | 2 (-1) | 60 (+1) | 40 (+1) |
| 8 | 10 (+1) | 60 (+1) | 40 (+1) |
| 9 | 6 (0) | 40 (0) | 22,5 (0) |
| 10 | 6 (0) | 40 (0) | 22,5 (0) |
| 11 | 6 (0) | 40 (0) | 22,5 (0) |

Fonte: Elaboração própria.

Em seguida, o estudo de interferência foi avaliado comparando-se a corrente do sinal analítico do etinilestradiol na ausência e na presença de substâncias interferentes (acetato de ciproterona, cefalexina, diclofenaco, dipirona, norfloxacino e prednisona) na proporção de 1:100.

A partir da SWV otimizada, foi construída a curva analítica em uma faixa de concentração de 0,23 a 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de etinilestradiol em tampão BR 0,1 mol L^{-1} (pH 8,0) em uma faixa de potencial de 0,1 a 0,8 V (GHICA; FERREIRA; BRETT, 2015; RUMIN *et al.*, 2016; SMAJDOR; PACZOSA-BATOR; PIECH, 2016).

Para determinação de etinilestradiol foi aplicado o método de adição de padrão para quantificar o hormônio em estruvita em uma faixa de concentração de 0,93 a 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os testes de recuperação para verificar a precisão do método proposto foram aplicados em cinco matrizes diferentes (amostra farmacêutica, UH, urina sintética, UE e estruvita) a partir de três fortificações (12, 15 e 18 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e seus resultados foram expressos em porcentagem.

Determinação da concentração de norfloxacino em amostras de urina e estruvita por voltametria de varredura linear

Medidas eletroquímicas

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em triplicata empregando-se uma gota de solução (40 μL) na superfície do eletrodo de trabalho (SPEC), sem necessidade prévia de desaeração.

Inicialmente, foi realizado o estudo do perfil voltamétrico (por voltametria cíclica) do SPEC em H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} na presença de norfloxacino 1,0 mmol L^{-1} . Para este estudo, empregou-se uma janela de potencial de 0,1 a 0,8 V, que corresponde à faixa de potencial em que ocorre o processo de oxidação do norfloxacino 0,8 a 1,4 (HAMNCA *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2015; YE; WANG; WEN, 2015; ZHANG *et al.*, 2013). Em seguida, foi realizado um estudo (por voltametria cíclica) variando o pH em uma faixa de 1,0 a 12,0, utilizando H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} e 0,01 mol L^{-1} , tampão BR 0,1 mol L^{-1} e KCl 0,05 mol L^{-1} na presença 1,0 mmol L^{-1} de norfloxacino. Para esta etapa, foram empregadas as

mesmas condições anteriores, a fim de determinar a melhor relação entre a corrente de pico e o pico de oxidação em função do pH para o norfloxacin.

O teste de estabilidade do eletrodo foi realizado a partir de sucessivas varreduras de voltametria linear de uma solução de norfloxacin $0,8 \text{ mmol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, foi construída a curva analítica do norfloxacin em uma faixa de concentração variando de $3,71$ a $1.000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

O estudo de interferência foi avaliado comparando a corrente do sinal analítico do norfloxacin na ausência e presença de substâncias interferentes (cefalexina, dipirona, etinilestradiol, paracetamol e prednisona) na proporção de 1:100 (nofloxacin:interferente).

Para determinação do norfloxacin em esturvita foi aplicado o método de adição de padrão empregando fortificações com norfloxacin em uma faixa de concentração de $7,2$ a $125,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Os testes de recuperação para verificar a precisão do método proposto foram aplicados em cinco matrizes diferentes (amostra farmacêutica, UH, urina sintética, UE e esturvita) a partir de três fortificações com norfloxacin ($7,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $30,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e $125 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$), e seus resultados foram expressos em porcentagem.

Determinação da concentração de paracetamol em amostras de urina e de esturvita por SWV

Medidas eletroquímicas

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em triplicata empregando-se uma gota de solução ($40 \text{ } \mu\text{L}$) na superfície do eletrodo de trabalho (SPEC), sem necessidade prévia de desaeração.

Inicialmente, foi realizado o estudo do perfil voltamétrico (por voltametria cíclica) do SPEC em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de paracetamol $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Para este estudo, empregou-se uma janela de potencial de $0,0$ a $1,0 \text{ V}$, que corresponde à faixa de potencial em que ocorre a oxidação do paracetamol. Em seguida, foi realizado um estudo (por voltametria cíclica) variando o pH em uma faixa de $1,0$ a $12,0$, utilizando HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $0,0,5 \text{ mol L}^{-1}$

na presença $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de paracetamol. Para esta etapa, foram empregadas as mesmas condições anteriores, para determinar a melhor relação entre a corrente de pico e o pico de oxidação em função do pH para o paracetamol.

O teste de estabilidade do eletrodo foi realizado a partir de sucessivas varreduras de voltametria linear de uma solução de paracetamol $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, foi construída a curva analítica do paracetamol em uma faixa de concentração variando de $0,19$ a $100 \mu\text{mol L}^{-1}$.

O estudo de interferência foi avaliado comparando-se a corrente do sinal analítico do paracetamol na ausência e na presença de substâncias interferentes (cefalexina, diclofenaco, etinilestradiol, norfloxacino e prednisona) na proporção de 1:100 (paracetamol:interferente).

Para determinação do paracetamol em estruvita foi aplicado o método de adição de padrão empregando fortificações com paracetamol em uma faixa de concentração de $0,156$ a $12,5 \mu\text{mol L}^{-1}$. Os testes de recuperação para verificar a precisão do método proposto foram aplicados em cinco matrizes diferentes (amostra farmacêutica, UH, urina sintética, UE e estruvita) a partir de três fortificações com paracetamol ($0,41$; $3,91$ e $26,7 \mu\text{mol L}^{-1}$) e seus resultados foram expressos em porcentagem.

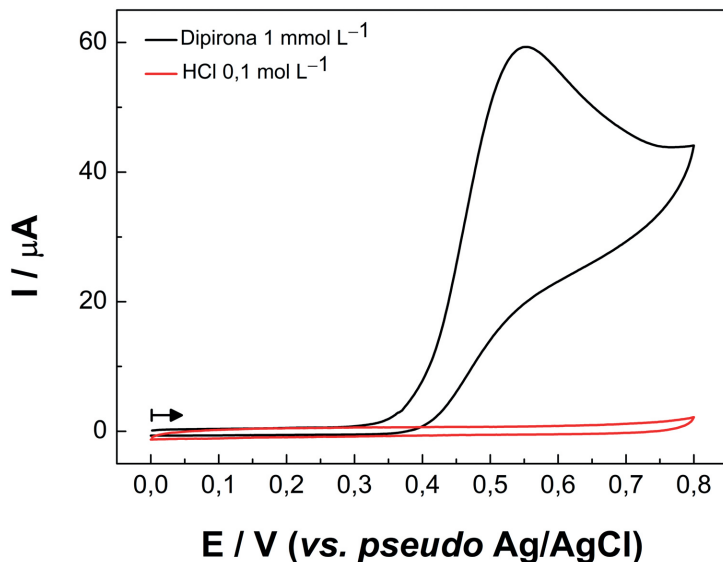


Determinação da concentração de dipirona em amostras de urina e estruvita

Estudo do perfil voltamétrico e influência do pH

Inicialmente, foi obtido o perfil voltamétrico da dipirona por voltametria cíclica no SPEC, para identificar os potenciais de oxirredução e possíveis reações químicas acopladas. A Figura 9 representa o voltamograma cíclico de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de dipirona em $\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0).

Figura 9



Fonte: Elaboração própria.

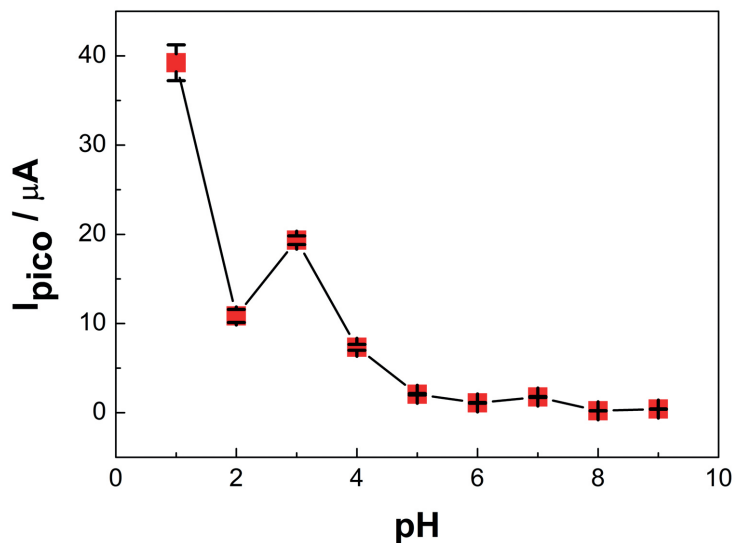
Legenda: Voltamograma cíclico de uma solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ e 1 mmol L⁻¹ de dipirona em HCl 0,1 mol L⁻¹. Intervalo de potencial aplicado 0,0 V até 0,8 V, velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. Sentido da varredura “→”.

A resposta obtida para o eletrólito de suporte (HCl 0,1 mol L⁻¹) indica que não há correntes de fundo significantes, processos interferentes ou quaisquer reações adjacentes no intervalo de potencial aplicado. Por outro lado, na presença de 1 mmol L⁻¹ de dipirona, o voltamograma cíclico apresentou um pico de oxidação irreversível em 0,54 V.

Em seguida, o estudo do efeito do pH foi realizado a partir da resposta voltamétrica do SPEC por voltametria cíclica em HCl, KCl e tampão BR 0,1 mol L⁻¹, contendo 1,0 mmol L⁻¹ de dipirona. Os voltamogramas cíclicos foram avaliados em uma faixa de pH entre 1,0 e 9,0. A metodologia visa a determinação de dipirona em estruvita, por isso, valores superiores de pH (> 9,0) não foram considerados em virtude da baixa solubilidade da estruvita nessas condições.

Os resultados exibiram diferentes comportamentos nos valores de corrente de pico anódico (I_{pa}) da dipirona (Figura 10). Em todas as medidas voltamétricas foram empregadas velocidades de varredura de 50 mV s⁻¹.

Figura 10



Fonte: Elaboração própria.

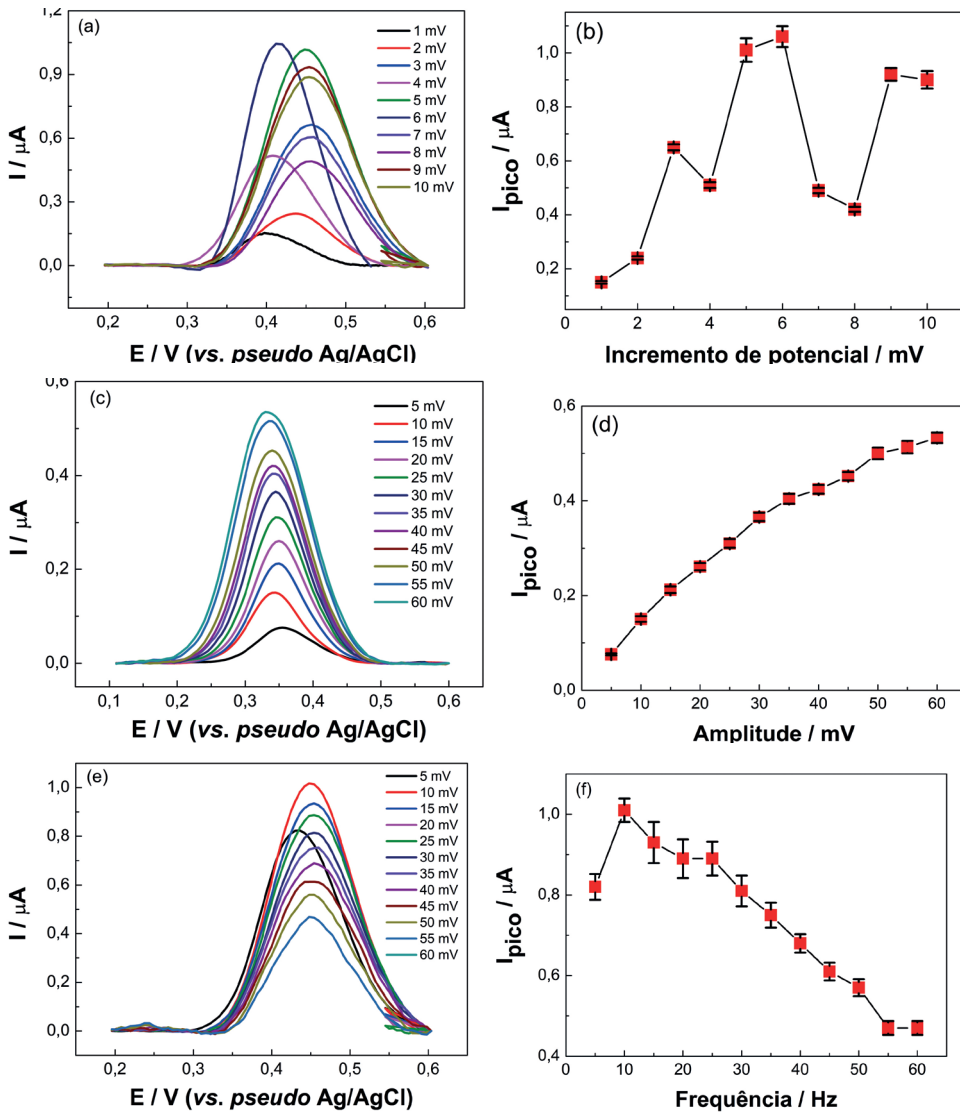
Legenda: Efeito do pH (1,0 a 9,0) na resposta voltamétrica da dipirona (corrente de pico) na presença de 1 mmol L⁻¹ de dipirona. Velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.

Na Figura 10, observa-se que o valor da I_{pico} diminui à medida que os valores de pH aumentam, alcançando um patamar em valores acima de pH 5,0. O valor máximo de corrente foi obtido em pH 1,0 (HCl 0,1 mol L⁻¹). Outros ácidos foram testados (H₂SO₄ e HNO₃) em diferentes concentrações, mas apresentaram I_{pico} inferiores aos obtidos em HCl 0,1 mol L⁻¹. Portanto, o ácido clorídrico (0,1 mol L⁻¹, pH 1,0) foi escolhido como o eletrólito de suporte ideal para os estudos posteriores.

Otimizações dos parâmetros da voltametria de onda quadrada

A partir da escolha do melhor eletrólito, os parâmetros da SWV foram otimizados (incremento de potencial, amplitude e frequência) univariadamente. A Figura 11 representa a resposta analítica de dipirona 10 µmol L⁻¹ em HCl 0,1 mol L⁻¹ para os diferentes valores estudados.

Figura 11



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução contendo $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de dipirona em $\text{HCl } 0,01 \text{ mol L}^{-1}$, (a) incremento de potencial, (c) amplitude e (e) frequência. Condições da SWV: (a) incremento de potencial 1 a 10 mV, amplitude 40 mV e frequência 5 Hz; (c) incremento de potencial 5 mV, amplitude 5 a 60 mV e frequência 5 Hz; (e) incremento de potencial 5 mV, amplitude 40 mV e frequência 5 a 60 Hz; I_{pico} em função de (b) incremento de potencial, (d) amplitude e (f) frequência.

A Tabela 8 resume todos os parâmetros operacionais da SWV, seus intervalos de estudo e os valores otimizados para sua aplicação em solução-padrão de dipirona $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 8 – Parâmetros experimentais otimizados para determinação de dipirona em solução-padrão de dipirona $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ por SWV

| Parâmetro estudado | Intervalo estudado | Valor ótimo |
|------------------------------|--------------------|-------------|
| Pré-tratamento | | |
| Potencial de condicionamento | -0,3 a 1,0 V | 0,0 mV |
| Tempo de condicionamento | 0 a 120 s | 0 s |
| Tempo de equilíbrio | 5 a 120 s | 60 s |
| Parâmetros SWV | | |
| Incremento de potencial | 1 a 10 mV | 6 mV |
| Amplitude | 5 a 60 mV | 50 mV |
| Frequência | 5 a 60 Hz | 10 mV |

Fonte: Elaboração própria.

Previamente à otimização dos parâmetros da SWV para a determinação da dipirona, foram avaliados os parâmetros da etapa de pré-tratamento (potencial de condicionamento, tempo de condicionamento e tempo de equilíbrio). Entre todos os parâmetros da etapa de pré-tratamento, o tempo de equilíbrio foi o único que apresentou influência direta nas correntes de picos obtidas, sendo que esse tempo representa o intervalo entre análises. Dessa forma, é possível observar que, para tempos de equilíbrio menores que 60 s, os voltamogramas apresentam correntes de pico aleatórias, interferindo na repetibilidade das análises de dipirona.

Na otimização dos parâmetros da SWV, foram escolhidos os seguintes valores: frequência = 10 Hz, amplitude = 50 mV e incremento de potencial = 6 mV. Os critérios de otimização levaram em consideração os valores que apresentavam maior sinal analítico com menor largura de potencial de meio pico e boa resolução.

No estudo do incremento de potencial, os valores de I_{pico} mostraram um comportamento crescente na faixa de 1 a 6 mV (Figura 11b). Não foi observado para esses valores um aumento substancial da largura de meio pico, sendo escolhido o valor máximo de 6 mV como ótimo (Figura 11a).

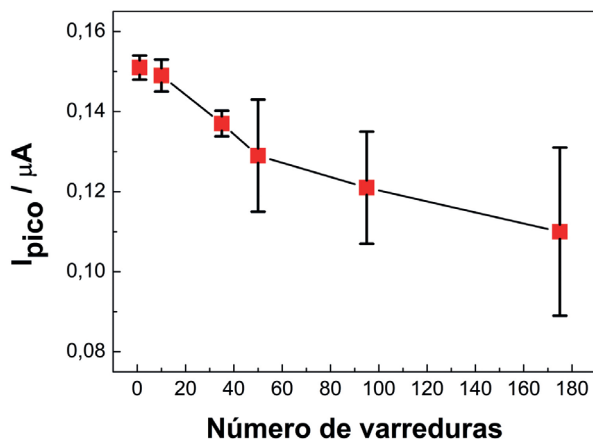
Na otimização da amplitude, foi constatado um aumento contínuo da corrente em toda a faixa do intervalo estudado. Para os valores de 55 e 60 mV foi verificado um alargamento substancial da largura de meio pico, apresentando um aumento em torno de 28 % em comparação com o valor ótimo (Figura 11c). Com isso, o valor de 50 mV para a amplitude foi escolhida como ótimo, uma vez que para valores superiores a esse há maiores chances de ocorrer uma convolução de picos referentes a outros analitos, isto é, uma sobreposição de dois picos referentes a processos faradaicos distintos.

Por fim, no estudo da frequência foi observado um valor ótimo de 10 Hz. Para valores superiores a 10 Hz, houve um decaimento progressivo da corrente de pico até o último ponto do intervalo (Figura 11f).

Avaliação da estabilidade do eletrodo

Após a otimização dos parâmetros experimentais da SWV, foi realizado um estudo para avaliar a estabilidade do SPEC. Esse estudo consiste na análise da variação da I_{pico} em função do número de varreduras. Para isso foram comparadas as I_{pico} obtidas pela técnica de SWV nas varreduras 1, 10, 35, 50, 95 e 175 a partir de uma solução dipirona $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos encontram-se representados na Figura 12.

Figura 12



Fonte: Elaboração própria.

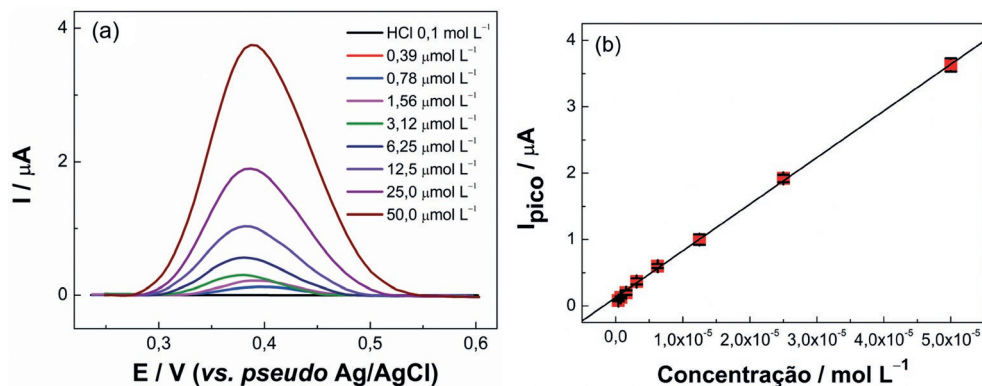
Legenda: Variação da I_{pico} versus número de varreduras ($n = 175$) para uma solução contendo $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de dipirona em $\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Condições da SWV: 6 mV (incremento de potencial); 50 mV (amplitude); 10 Hz (frequência).

Na Figura 12, observa-se que durante as primeiras 35 varreduras o eletrodo demonstrou uma boa estabilidade, apresentando I_{pico} inicial de $0,151 \mu\text{A}$ (DPR = 1,9 %, $n = 3$) e de $0,138 \mu\text{A}$ (DPR = 2,6 %, $n = 3$) na trigésima quinta varredura, representando uma perda de 8 % do valor do corrente pico inicial. Para as varreduras 50, 95 e 175, as I_{pico} apresentaram perdas de 15 % (DPR = 12 %, $n = 3$), 20 % (DPR = 14 %, $n = 3$) e 25,4 % (DPR = 19 %, $n = 3$), respectivamente, em relação à I_{pico} inicial. As varreduras 50, 95 e 175 apresentaram um alto desvio-padrão devido ao desgaste do eletrodo durante sucessivas utilizações. As varreduras de 1 a 35 apresentaram DPR 3,5 % ($n = 3$), portanto o número de 35 repetições para um mesmo SPEC foi definido como margem segura para que as análises não tivessem perda significativa de corrente. Cabe ressaltar que os SPEs são eletrodos descartáveis e, como demonstrado experimentalmente, podem realizar até 35 análises sem perda significativa no sinal analítico.

Curva analítica

A partir das condições previamente otimizadas, foi construída uma curva analítica para a dipirona no intervalo de concentração de 0,39 a 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 13).

Figura 13



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: (a) Voltamogramas de onda quadrada para adições de oito soluções de dipirona (0,35 a 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em HCl 0,1 mol L⁻¹. Parâmetros da SWV: 6 mV (incremento de potencial); 50 mV (amplitude); 10 Hz (frequência). (b) Curva analítica obtida a partir da variação da I_{pico} em função da concentração de dipirona.

Na Figura 13b observa-se uma faixa linear de resposta no intervalo de concentração de 0,39 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Esse resultado indica uma boa linearidade da técnica mesmo em baixas concentrações de dipirona, sem empregar nenhuma técnica de pré-concentração ou modificação na superfície do eletrodo. As principais características de desempenho obtidas a partir da curva analítica para a metodologia proposta são apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9 – Características de desempenho obtidas para a determinação de dipirona por SWV

| Características de desempenho | Valor |
|---|---------------------|
| Sensibilidade ($\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{ L}$) | $0,0652 \pm 0,0001$ |
| LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | $0,097 \pm 0,002$ |
| LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | $0,326 \pm 0,002$ |
| Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | 0,39 a 50 |
| R^2 | 0,996 |
| Repetibilidade (n = 10 para $1 \mu\text{mol L}^{-1}$) | 1,78 % |
| Entre eletrodos RSD (n = 3) | 3,23 % |
| Entre dias RSD (n = 3) | 4,72 % |

Fonte: Elaboração própria.

Nota: LD = limite de detecção, LQ = limite de quantificação, R^2 = coeficiente de determinação.

Analisando a Tabela 9, observa-se uma boa linearidade dos resultados ($R^2 > 0,99$) na faixa de trabalho proposta ($0,39$ a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$), o que indica que a metodologia possui a capacidade de gerar resultados lineares proporcionais à concentração do analito. A partir da inclinação da curva analítica, os limites de detecção e quantificação (LQ) foram calculados de acordo com as fórmulas: $\text{LD} = (3 \times \text{DP}_{\text{branco}}) / \text{slope}$ e $\text{LQ} = (10 \times \text{DP}_{\text{branco}}) / \text{slope}$, onde $\text{DP}_{\text{branco}}$ é o desvio-padrão de 10 medidas voltamétricas do branco e o *slope* é a inclinação da curva analítica.

Os testes de repetibilidade e reprodutibilidade apresentaram baixos desvios-padrões, indicando uma boa concordância entre as análises feitas em diferentes eletrodos e em um mesmo eletrodo durante diferentes dias.

Estudo de interferentes

Para complementar o trabalho, foi realizado um estudo da interferência de diferentes íons metálicos e compostos orgânicos que podem estar presentes na matriz

de interesse. Os interferentes avaliados foram os metais cobre (II), cádmio (II), chumbo (II), zinco (II), níquel (II), cobalto (II) e ferro (III) e os fármacos norfloxacino e etinilestradiol. Todos os interferentes foram estudados nas proporções de 1:1, 2:1 e 3:1 (relação interferente:dipirona), demonstrados em forma de perda (-) e ganho (+) de corrente em relação à corrente de pico da dipirona sem interferentes e expressos em porcentagem. A concentração na proporção 1:1 utilizada foi de $15 \mu\text{mol L}^{-1}$ tanto para interferente quanto para dipirona. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10 – Estudo de interferência de alguns metais e fármacos no sinal da SWV de dipirona

| Proporção interferente/dipirona | Corrente de pico (μA) | | | Variação de sinal (%) | | |
|---------------------------------|------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------------|--------|--------|
| | 1:1 | 2:1 | 3:1 | 1:1 | 2:1 | 3:1 |
| Dipirona | $1,18 \pm 0,07$ | $0,85 \pm 0,04$ | $0,68 \pm 0,02$ | - | - | - |
| Fe³⁺ | $1,23 \pm 0,12$ | $0,55 \pm 0,05$ | $0,53 \pm 0,10$ | +4,23 | -35,31 | -22,16 |
| Cd²⁺ | $1,15 \pm 0,04$ | $1,00 \pm 0,08$ | $0,50 \pm 0,06$ | -2,55 | +17,64 | -22,12 |
| Co²⁺ | $1,43 \pm 0,24$ | $0,67 \pm 0,05$ | $0,50 \pm 0,05$ | +21,18 | -21,23 | -26,31 |
| Cu²⁺ | $1,73 \pm 0,20$ | $0,93 \pm 0,05$ | $0,82 \pm 0,06$ | +46,61 | +9,41 | +20,58 |
| Ni²⁺ | $2,60 \pm 0,22$ | $0,63 \pm 0,05$ | $0,63 \pm 0,05$ | +120,33 | -26,03 | -7,24 |
| Pb²⁺ | $1,28 \pm 0,02$ | $0,93 \pm 0,05$ | $0,73 \pm 0,11$ | +8,47 | -9,22 | +9,29 |
| Zn²⁺ | $1,50 \pm 0,08$ | $0,73 \pm 0,05$ | $0,56 \pm 0,12$ | +27,11 | -14,82 | -17,32 |
| Norfloxacino | $1,24 \pm 0,06$ | $0,83 \pm 0,06$ | $0,62 \pm 0,07$ | +5,08 | -2,41 | -9,12 |
| Etinilestradiol | $1,23 \pm 0,08$ | $0,81 \pm 0,09$ | $0,66 \pm 0,07$ | +4,23 | -4,72 | -2,95 |

Fonte: Elaboração própria.

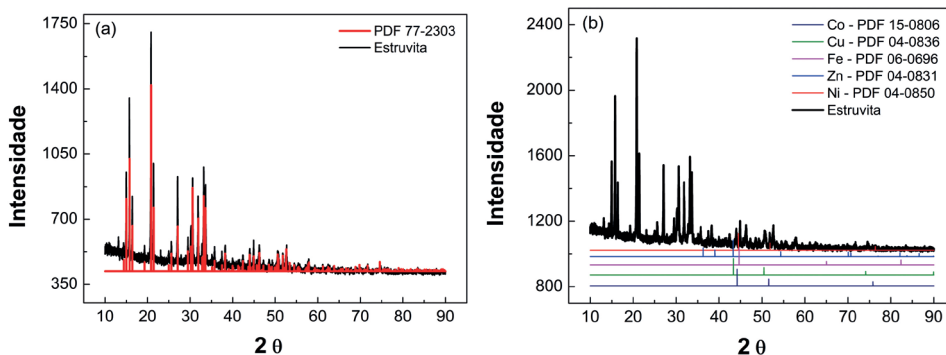
Conforme se observa na Tabela 10, a presença de chumbo (II), norfloxacino e etinilestradiol não promove interferências significativas em quaisquer proporções,

uma vez que as variações de correntes são estatisticamente iguais ou estão abaixo do desvio-padrão calculado. Os metais ferro (III) e cádmio (II) na proporção 1:1 também não geram interferências nas correntes de dipirona, devido ao fato de as variações de corrente estarem entre 2 e 5 % da corrente original (interferente/dipirona 1:1). Na proporção 2:1, os íons cobre (II) e zinco (II) não proporcionam interferências significativas, pois as variações nas correntes registradas estão abaixo dos desvios-padrões obtidos. Para a proporção 3:1, o níquel (II) não ocasionou interferência, uma vez que a variação de corrente registrada é menor que o desvio-padrão obtido. Porém os metais ferro (III), cádmio (II), cobre (II), zinco (II), cobalto(II) e níquel (II) promoveram interferências significativas em algumas das proporções ou em todas as análises – este é o caso do cobalto (II). Para esses interferentes, é possível atribuir a diminuição da corrente de pico a uma possível disputa por sítios ativos. Por outro lado, os metais com potenciais de oxidação próximos ao da dipirona podem ocasionar uma sobreposição dos picos, acarretando um aumento da corrente de pico da dipirona.

Caracterização da estruvita por difração de raio-X

Como os cristais de estruvita apresentam estruturas distintas, foi realizada a sua caracterização por difração de raio-X, a partir da correspondência entre a posição e intensidades dos picos obtidos e uma base de dados contendo padrões das estruturas cristalinas (DOYLE *et al.*, 2002). A estruvita foi identificada e comparada com o padrão estrutural cristalino e de metais (Mineral Data), para confirmar sua estrutura e a presença de possíveis interferentes, como indicado na Figura 14.

Figura 14



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: (a) difração de raio-X de estruvita produzida e padrão cristalino de estruvita; (b) difração de raio-X de padrões dos metais cobalto, cobre, ferro, zinco e níquel.

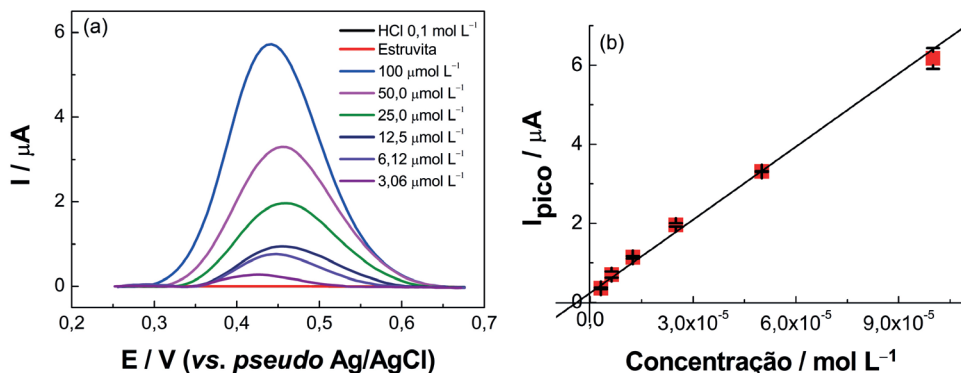
Na Figura 14a, observa-se o espectro obtido para estruvita utilizada no presente trabalho e para padrão do banco de dados. Os resultados obtidos por difração de raio-X indicam que a estruvita obtida pelo Núcleo de Bioengenharia apresenta uma estrutura cristalina ortorrômbica. Segundo Ravikumar e colaboradores (1999), amostras de estruvita com estrutura cristalina ortorrômbica apresentam uma menor estabilidade quando comparada à das amostras de estruvita que apresentam uma estrutural cristalina hexagonal. Tal comportamento pode ser atribuído ao tamanho menor dos íons e às ligações iônicas presentes, formadas durante o processo de obtenção da estruvita. Como apresentam cristais de tamanhos menores, estruturas cristalinas ortorrômbicas tendem a ter uma maior facilidade de conter impurezas, pois facilitam a penetração e o aprisionamento de substâncias indesejáveis (ex. metais) durante o processo de formação da estrutura cristalina (RUMIN *et al.*, 2016).

Na Figura 14b, observa-se que o espectro de raio-X da estruvita ($\frac{3}{4}$) apresenta respostas que correspondem às respostas dos padrões de alguns metais (Cu, Co, Ni, Zn e Fe). E esses metais são os mesmos interferentes que ocasionaram as interferências nas análises mencionadas no tópico anterior. Entretanto, conforme se observará na Tabela 11, apresentada no tópico seguinte, os valores de recuperação na estruvita são próximos a 100 %, o que indica que a amostra não apresenta interferência significativa para o sinal analítico da dipirona.

Determinação de dipirona e testes de recuperação

Para determinação de dipirona em estruvita, foi construída uma curva de adição de padrão. Os resultados estão representados na Figura 15.

Figura 15



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para a quantificação de dipirona na amostra de estruvita, a partir de seis adições (100 μmol L⁻¹, 50 μmol L⁻¹, 25 μmol L⁻¹, 12,5 μmol L⁻¹, 6,12 μmol L⁻¹ e 3,06 μmol L⁻¹) de solução-padrão de dipirona em HCl 0,1 mol L⁻¹. (b) Curva de adição do padrão da dipirona na estruvita. Parâmetros da SWV: 6 mV (incremento de potencial); 50 mV (amplitude); 10 Hz (frequência).

Na Figura 15a, observa-se uma representação do voltamograma de adição de padrão, obtido a partir de concentrações crescentes de dipirona (3,06 μmol L⁻¹, 6,12 μmol L⁻¹, 12,5 μmol L⁻¹, 25 μmol L⁻¹, 50 μmol L⁻¹, 100 μmol L⁻¹). A curva de adição de padrão para dipirona foi obtida com as médias aritméticas das correntes de pico, como mostrado na Figura 15b.

As análises de quantificação nas amostras de urina e composição farmacêutica foram realizadas de forma direta, em triplicatas e a partir da interpolação das correntes de pico obtidas na curva analítica. As concentrações de dipirona na estruvita, UE, UH e amostra farmacêutica, bem como seus valores de recuperação, encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11 – Quantidade de dipirona presente nas amostras (estruvita e urina) e valores do teste de recuperação

| | Fortificação ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Valor esperado ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Valor encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Recuperação (%) | DPR (%) |
|-----------------|---|---|---|-------------------|---------|
| Estruvita | - | - | $0,47 \pm 0,02$ | - | 2,31 |
| EF ^a | 100,00 | 100,00 | $102,00 \pm 3,02$ | $102,00 \pm 2,96$ | 2,72 |
| EF ^a | 12,50 | 12,50 | $12,20 \pm 0,42$ | $99,00 \pm 3,44$ | 2,93 |
| EF ^a | 1,50 | 1,50 | $1,37 \pm 0,07$ | $91,00 \pm 5,11$ | 3,50 |
| | | | | | |
| UE ^b | - | - | $15,20 \pm 0,36$ | - | - |
| UH ^c | - | - | $590,00 \pm 15,22$ | - | - |
| UF ^d | 1.000,00 | 1.590,00 | $1.620,00 \pm 84,76$ | $102,00 \pm 5,23$ | 3,71 |
| Comprimido | - | 1.500,00 | $1.560,00 \pm 58,43$ | $104,00 \pm 3,74$ | 2,82 |

Fonte: Elaboração própria.

Notas:

- ^(a) estruvita fortificada;
- ^(b) urina utilizada na produção de estruvita;
- ^(c) urina após 10 horas de administração de dipirona (500 mg);
- ^(d) urina fortificada com dipirona.

De acordo com a Tabela 11 a concentração de dipirona encontrada na amostra de estruvita foi de $0,47 \mu\text{mol L}^{-1}$. A amostra de UE apresentou uma concentração de dipirona aproximadamente 32 vezes maior ($15,2 \mu\text{mol L}^{-1}$) que a encontrada na estruvita. Este resultado é esperado, uma vez que a técnica de precipitação da estruvita tem como objetivo a remoção de possíveis contaminantes presentes na urina. Conseqüentemente, o emprego do fertilizante na forma de estruvita pode promover uma redução de 97 % na quantidade de dipirona presente na matéria-prima. As análises das amostras fortificadas de estruvita apresentam valores de recuperação próximos a 100 %, variando de 91 a 102 %, o que indica que não houve efeito de matriz durante as análises.

A análise da UI apresentou uma concentração de $590 \mu\text{mol L}^{-1}$ de dipirona. Esse elevado valor pode ser atribuído a uma maior quantidade de dipirona residual presente na urina devido à ingestão de um comprimido dipirona (500 mg) 10 horas antes da coleta da amostra, demonstrando que 40 % da dipirona foi expe-
lida na urina. Esse resultado reforça a importância do emprego da estruvita em vez da urina como fertilizante direto. No teste de recuperação para a UI o valor encontrado foi de 102 %, o que indica a ausência do efeito de matriz e reforça a aplicabilidade da técnica de forma direta.

Por fim, a determinação de dipirona em comprimido farmacêutico (500 mg de dipirona mono-hidratada) apresentou valores satisfatórios de recuperação 104 %, o que evidencia que a amostra não sofre efeito de outros componentes presentes na composição final do produto. O método proposto demonstrou que o SPEC em conjunto com um potenciostato portátil podem ser usados de maneira simples e rápida na determinação de dipirona em amostras biológicas e diretamente no fármaco com um LD na ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$.



Determinação da concentração de etinilestradiol em amostras de urina e estruvita

Otimização das variáveis da eletrodeposição de níquel

A partir de cada experimento realizado no planejamento fatorial 2^3 , foi medida a resposta de intensidade de corrente na presença de $70 \mu\text{mol L}^{-1}$ de etinilestradiol em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0). Na Tabela 12 se encontram as respostas obtidas para cada experimento realizado.

Tabela 12 – Respostas de intensidade da corrente de pico obtidas na presença de $70 \mu\text{mol L}^{-1}$ etinilestradiol

| Experimento | $Y_{\text{etinilestradiol}}$ (μA) |
|-------------|---|
| 1 | 4,71 |
| 2 | 4,10 |
| 3 | 1,53 |
| 4 | 5,42 |
| 5 | 3,40 |
| 6 | 0,20 |
| 7 | 8,71 |
| 8 | 6,93 |
| 9 | 9,41 |
| 10 | 9,03 |
| 11 | 9,20 |

Fonte: Elaboração própria.

Conforme a Tabela 12, observa-se que os resultados do ponto central apresentam um baixo desvio-padrão, demonstrando a estabilidade do eletrodo e a reprodutibilidade dos resultados analíticos. Além disso, para os experimentos de 1 a 8, observam-se aumentos e decréscimos da I_{pa} , o que indica a eficácia da variação das variáveis de interesse de forma mútua. Os efeitos de primeira, segunda e terceira ordem foram calculados a partir das respostas obtidas no planejamento 2^3 . A Tabela 13 mostra os efeitos calculados para cada parâmetro do planejamento proposto.

Tabela 13 – Resultado dos efeitos calculados para o planejamento 2³

| Efeito ± erro | |
|------------------------|--------------|
| b₀ | 4,36 ± 0,45 |
| b₁ | -0,43 ± 0,45 |
| b₂ | 2,53 ± 0,45 |
| b₃ | 0,88 ± 0,45 |
| b₁₂ | 1,48 ± 0,45 |
| b₁₃ | -2,08 ± 0,45 |
| b₂₃ | 3,48 ± 0,45 |
| b₁₂₃ | -0,78 ± 0,45 |

Fonte: Elaboração própria.

Os resultados na Tabela 13 demonstram que as variáveis concentração de níquel (b_2) e números de ciclos (b_3) foram consideradas significativas, pelo fato de ambos os efeitos calculados não apresentarem o valor “zero” no intervalo de confiança (SMAJADOR; PACZOSA-BATOR; PIECH, 2016). A interação secundária entre elas (b_{23}) foi a que obteve o maior efeito calculado no nível de confiança de 95 %. O erro dos efeitos foi calculado a partir da triplicata do ponto central (MASSART *et al.*, 1997). A variável velocidade de varredura (b_1) foi fixada no valor de 5,0 V s⁻¹, pois se mostrou uma variável não significativa. O valor escolhido (ponto central) corresponde ao maior valor de corrente.

As duas variáveis significativas foram submetidas a um planejamento CCD, no qual cada uma foi estudada em cinco níveis diferentes. A Tabela 14 apresenta a matriz do planejamento CCD efetuado com os níveis reais e normalizados. É possível observar os valores de correntes de pico obtidos para uma solução de etinilestradiol 25 μmol L⁻¹ em tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 8,0).

Tabela 14 – Matriz do planejamento CCD, níveis reais e normalizados e a resposta obtida

| Experimento | Número de ciclos | Concentração de níquel (mmol L ⁻¹) | Resposta (µA) |
|-------------|------------------|--|---------------|
| 1 | 577(-1) | 7,9(-1) | 1,9 |
| 2 | 1.423(+1) | 7,9(-1) | 2,0 |
| 3 | 577(-1) | 12,1(+1) | 2,4 |
| 4 | 1.423(+1) | 12,1(+1) | 1,7 |
| 5 | 400(-1,42) | 11(0) | 1,7 |
| 6 | 1.600(+1,42) | 11(0) | 2,1 |
| 7 | 1.000(0) | 7(-1,42) | 2,2 |
| 8 | 1.000(0) | 13(+1,42) | 1,0 |
| 9 | 1.000(0) | 10(0) | 2,6 |
| 10 | 1.000(0) | 10(0) | 2,9 |
| 11 | 1.000(0) | 10(0) | 2,5 |

Fonte: Elaboração própria.

Depois da execução de todos os experimentos foi obtida a seguinte equação de segunda ordem:

$$Y = b_0 + b_1N + b_2C + b_1N^2 + b_1C^2 + b_1NC$$

onde:

Y = resposta da intensidade de corrente;

b_i = coeficientes para N (número de ciclos);

C = concentração de níquel;

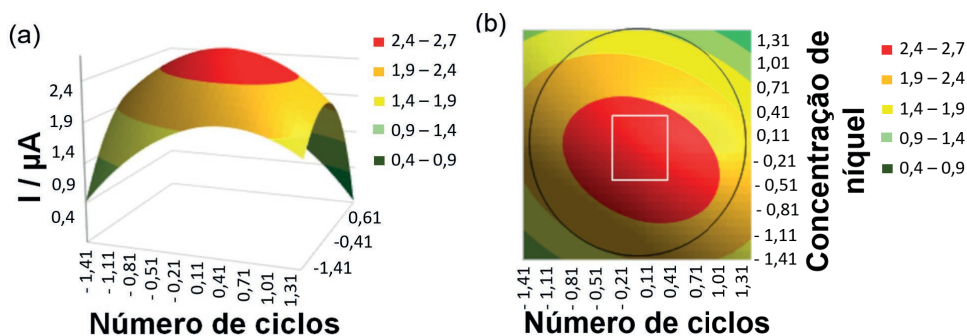
NC = interação entre as duas variáveis (número de ciclos e concentração de níquel).

Os coeficientes da equação do modelo foram obtidos via a seguinte equação (AJAYAN, 1999; MERKOÇI *et al.*, 2005; MOSES; WIER; MURRAY, 1975):

$$b = (X^tX)^{-1} (X^tY)$$

A partir do modelo gerado foi possível construir a superfície de resposta e a curva de nível (Figura 16) para o etinilestradiol.

Figura 16



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: (a) Superfície de resposta e (b) curva de nível obtida para a otimização das variáveis: número de ciclos e concentração de níquel em função da corrente na presença de etinilestradiol.

De acordo com a Figura 16, identificou-se a região de máxima corrente (região delimitada pelo quadrado na Figura 16b), que corresponde ao intervalo ótimo para as variáveis. Os valores ótimos escolhidos para o número de ciclos e a concentração de níquel para eletrodeposição foram, respectivamente, 1.000 ciclos e 9,4 mmol L^{-1} .

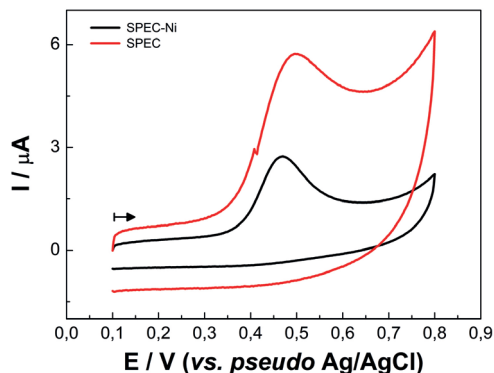
Testes com o SPEC-Ni otimizado foram realizados para estudar a estabilidade (repetibilidade e reprodutibilidade) do eletrodo, aplicando voltametria cíclica em uma velocidade de varredura 50 mV s^{-1} . Os resultados de estabilidade apresentaram um DP de $4,18 \pm 0,12 \mu\text{A}$ ($n = 5$), demonstrando uma baixa dispersão dos resultados.

Comportamento eletroquímico do etinilestradiol no SPEC e no SPEC-Ni

O comportamento eletroquímico do etinilestradiol foi estudado por voltametria cíclica no SPEC e no SPEC-Ni. Para esta etapa, foram comparadas as respostas em relação à corrente de pico anódica obtida e à estabilidade dos eletrodos na presença

de $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ de etinilestradiol em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0). A Figura 17 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos.

Figura 17



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: Voltamogramas cíclicos obtidos na presença de etinilestradiol $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) no SPEC e no SPEC-Ni. Velocidade de varredura 50 mV s^{-1} . Sentido da varredura “ \rightarrow ”.

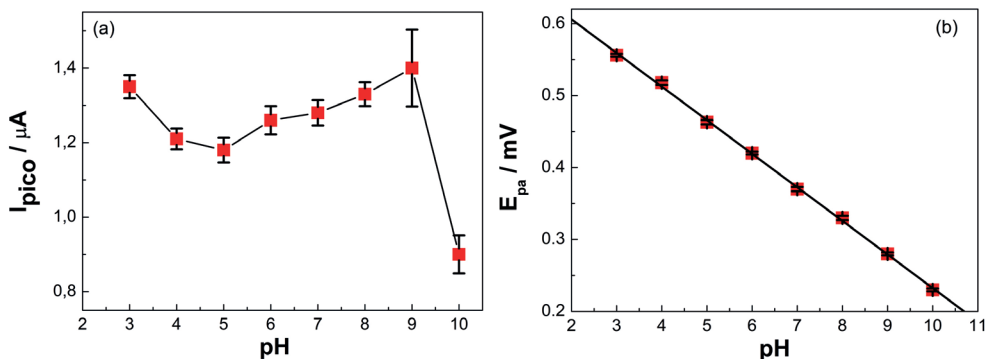
Na Figura 17, observam-se os perfis voltamétricos obtidos para o etinilestradiol no SPEC e no SPEC-Ni. A resposta do sinal analítico do etinilestradiol mostrou maior intensidade no SPEC-Ni, com uma corrente de pico de $3,84 \mu\text{A}$, e menor no SPEC, com $1,62 \mu\text{A}$. As respostas obtidas no ($\frac{3}{4}$) SPEC não mostraram uma boa repetibilidade tanto por VC quanto por SWV. Com isso, o SPEC-Ni mostrou-se mais eficaz, uma vez que apresenta corrente de pico maior, boa estabilidade do sinal analítico (repetibilidade e reprodutibilidade) e um fácil processo de eletrodeposição do níquel.

Influência do pH

O efeito do pH na resposta voltamétrica do SPEC-Ni foi avaliado por voltametria cíclica em KCl (pH 7,0) e tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, contendo $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de etinilestradiol. Os voltamogramas cíclicos foram avaliados em uma faixa de pH entre 3,0 e 10,0.

Na Figura 18 é apresentada a dependência da I_{pico} e do E_{pa} do etinilestradiol em função do pH. Em todas as medidas voltamétricas foram empregadas velocidades de varredura de 50 mV s^{-1} .

Figura 18



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: Dependência da (a) corrente de pico e (b) potencial de pico do etinilestradiol em função dos pHs medidos para os valores de pH na faixa de 3,0 a 10 na presença de $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de etinilestradiol em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

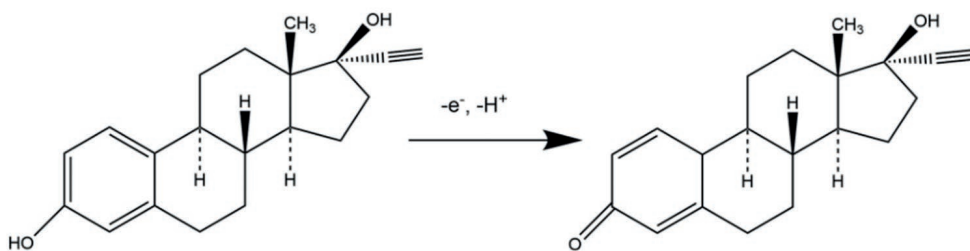
As mudanças de I_{pico} do etinilestradiol em soluções com pHs diferentes são pequenas (exceto pH 10,0), enquanto o E_{pa} depende fortemente do pH da solução. Os pHs 3,0 e 9,0 apresentaram as maiores I_{pico} , porém o pH 3,0 apresenta uma baixa solubidade do etinilestradiol e o pH 9,0 apresenta um alto desvio-padrão em comparação com os outros resultados. Com isso, o tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) foi escolhido como eletrólito de suporte a ser empregado, pois apresenta uma I_{pico} relativamente alta, boa solubidade e baixo desvio-padrão.

O E_{pa} do etinilestradiol muda para valores menos positivos com o aumento do pH do eletrólito de suporte, e a dependência desses valores é linear de acordo com a seguinte equação:

$$E_p = -0,051\text{pH} + 0,738$$

A inclinação da reta (0,051) obtida neste trabalho está próxima do valor (0,058) encontrado por Smajdor e colaboradores (2017), que sugerem que o número de elétrons trocados no processo de oxidação do etinilestradiol é igual ao número de prótons. Portanto, esta inclinação indica que ocorre a transferência de um elétron no processo de oxidação. O possível mecanismo para a oxidação do etinilestradiol que apresenta apenas um elétron transferido é indicado na Figura 19.

Figura 19



Fonte: Smajdor e colaboradores (2017).

Legenda: Mecanismo de oxidação do etinilestradiol.

Otimização dos parâmetros da voltametria de onda quadrada

A partir da condição otimizada para eletrodeposição de níquel no SPEC, fez-se a triagem das variáveis da SWV (incremento de potencial, amplitude e frequência). As respostas obtidas no planejamento 2^3 das variáveis da SWV e os efeitos calculados se encontram nas tabelas 15 e 16, respectivamente. Os onze experimentos da Tabela 15 foram realizados em ordem aleatória (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010; TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Tabela 15 – Respostas de intensidade da corrente de pico obtidas para cada experimento na presença de $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ etinilestradiol

| Experimento | $Y_{\text{etinilestradiol}}$ (μA) |
|-------------|---|
| 1 | 0,40 |
| 2 | 0,94 |
| 3 | 0,32 |
| 4 | 1,01 |
| 5 | 0,03 |
| 6 | 0,70 |
| 7 | 0,03 |
| 8 | 0,12 |
| 9 | 0,70 |
| 10 | 0,80 |
| 11 | 0,70 |

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 16 – Resultado dos efeitos calculados para o planejamento 2^3 das variáveis da SWV

| Efeito \pm erro | |
|-------------------|------------------|
| b_0 | $0,42 \pm 0,08$ |
| b_1 | $0,50 \pm 0,08$ |
| b_2 | $-0,15 \pm 0,08$ |
| b_3 | $-0,45 \pm 0,08$ |
| b_{12} | $0,10 \pm 0,08$ |
| b_{13} | $-0,10 \pm 0,08$ |
| b_{23} | $-0,15 \pm 0,08$ |
| b_{123} | $-0,20 \pm 0,08$ |

Fonte: Elaboração própria.

Os resultados na Tabela 16 mostram que as variáveis incremento de potencial (b_1) e frequência (b_3) foram consideradas significativas, uma vez que ambos os efeitos calculados não apresentaram o valor “zero” no intervalo de confiança (BOLOTIN *et al.*, 2008). O efeito calculado da variável amplitude (b_2) foi considerado não significativo, mesmo não apresentando o valor “zero” no intervalo de confiança, pois o efeito calculado da variável amplitude (b_2) foi inferior ao valor do efeito calculado da interação de terceira ordem (b_{123}) (NUNES *et al.*, 2016; SMAJDOR *et al.*, 2017). A variável amplitude foi fixada no valor de 40 mV (ponto central), e as duas variáveis selecionadas foram estudadas no planejamento CCD.

A Tabela 17 mostra a matriz do planejamento CCD utilizada para otimização das variáveis incremento de potencial e frequência. Os valores de correntes de pico obtidos para uma solução de etinilestradiol 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} (pH 8,0) também são apresentados.

Tabela 17 – Matriz do planejamento CCD para as variáveis da SWV, níveis reais e normalizados e a resposta obtida

| Experimento | Incremento de potencial (mV) | Frequência (Hz) | Resposta (μA) |
|-------------|------------------------------|-----------------|----------------------------|
| 1 | 6 (-1) | 10 (-1) | 0,92 |
| 2 | 10 (+1) | 10 (-1) | 1,03 |
| 3 | 6 (-1) | 20 (+1) | 1,24 |
| 4 | 10 (+1) | 20 (+1) | 7,85 |
| 5 | 5 (-1,42) | 15 (0) | 1,10 |
| 6 | 11 (+1,42) | 15 (0) | 1,08 |
| 7 | 8 (0) | 8 (-1,42) | 2,64 |
| 8 | 8 (0) | 22 (+1,42) | 5,31 |
| 9 | 8 (0) | 15 (0) | 0,61 |
| 10 | 8 (0) | 15 (0) | 0,66 |
| 11 | 8 (0) | 15 (0) | 0,58 |

Fonte: Elaboração própria.

De maneira similar à otimização da eletrodeposição de níquel, foi obtida uma equação de segunda ordem envolvendo as duas variáveis em estudo:

$$Y = b_0 + b_1I + b_2F + b_1I^2 + b_1F^2 + b_1IF$$

onde:

Y = resposta da intensidade de corrente;

b_i = coeficientes das variáveis i ;

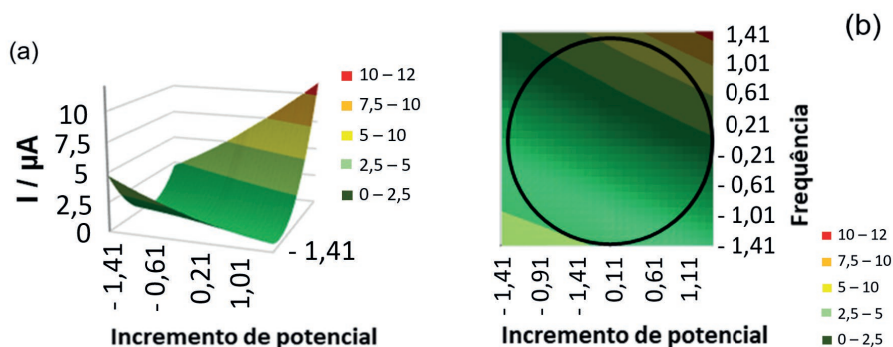
I = incremento de potencial;

F = frequência;

IF = interação entre as duas variáveis.

A partir da equação anterior foi possível calcular os coeficientes do modelo e, em seguida, a construção da superfície de resposta e da curva de nível, ilustrando o comportamento da corrente de pico na presença de etinilestradiol (Figura 20).

Figura 20



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: (a) Superfície de resposta e (b) curva de nível obtida para otimização das variáveis: incremento de potencial e frequência em função da corrente na presença de $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ etinilestradiol em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0).

A partir da Figura 20a, observa-se que a superfície de resposta apresentou uma região de mínimo de corrente (ponto central). Entretanto, a Figura 20b apresenta um comportamento segundo o qual a elevação dos valores das variáveis incremento

de potencial e frequência acarretam um acréscimo da corrente de pico referente ao etinilestradiol (ROSA; RODRIGUES; FERREIRA, 2016; VICENTINI *et al.*, 2011). De acordo com a Tabela 17, o experimento 4 obteve a maior resposta de corrente de pico na presença de $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ etinilestradiol em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0). Portanto, a condição otimizada para as variáveis da SWV (incremento de potencial e frequência) foi de 10 mV (+1) e 20 Hz (+1) , respectivamente. Por fim, para testar a repetibilidade e a estabilidade do sinal analítico do SPEC-Ni com a SWV otimizada, foram realizadas cinco leituras sucessivas empregando-se $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ de etinilestradiol em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) e obtendo-se um DPR $\pm 3,78 \%$ ($n = 5$).

Estudo de interferente

A seletividade do método proposto para a determinação do etinilestradiol foi testada pela avaliação do efeito de possíveis interferências de compostos que comumente ocorrem nas formulações farmacêuticas (comprimido) e na UH (devido a uma provável administração de medicamentos). As soluções desses compostos foram feitas na proporção 1:100 (etinilestradiol:interferente) com a concentração de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de etinilestradiol em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0). Os resultados obtidos se encontram na Tabela 18.

Tabela 18 – Efeito de alguns possíveis compostos interferentes na determinação de etinilestradiol

| Interferentes | Resposta obtida (%) |
|------------------------|---------------------|
| Acetato de ciproterona | $97,84 \pm 3,28$ |
| Cefalexina | $99,26 \pm 2,94$ |
| Diclofenaco | $98,29 \pm 1,83$ |
| Dipirona | $95,78 \pm 4,51$ |
| Norfloxacino | $98,35 \pm 2,77$ |
| Prednisolona | $98,73 \pm 4,93$ |

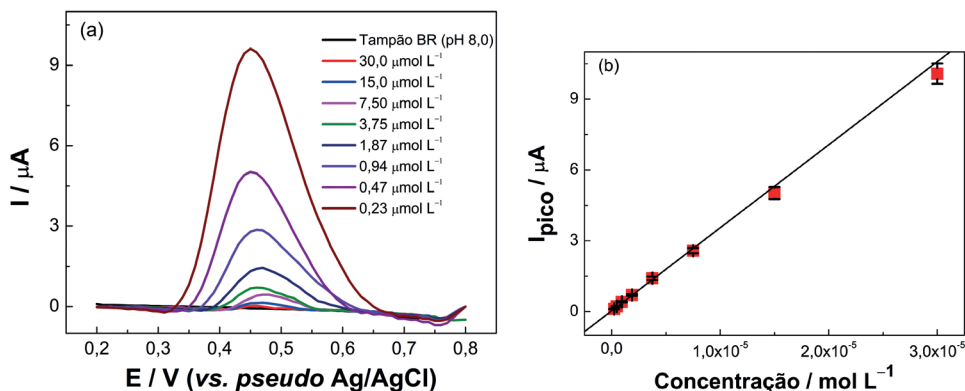
Fonte: Elaboração própria.

De acordo com a Tabela 18, é possível inferir que os interferentes avaliados não afetaram a I_{pico} do hormônio etinilestradiol na proporção testada.

Curva analítica

A partir das condições previamente otimizadas da SWV, foi realizada a construção de uma curva analítica para o etinilestradiol em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) no intervalo de concentração de $0,23$ a $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 21).

Figura 21



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: (a) Voltamogramas de onda quadrada empregando SPEC-Ni para adições de oito concentrações de etinilestradiol ($0,23$ a $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Parâmetros da SWV: 10 mV (incremento de potencial); 40 mV (amplitude); 20 Hz (frequência). (b) Curva analítica obtida a partir da variação da I_{pico} em função da concentração de etinilestradiol.

Na Figura 21b, observa-se uma faixa linear de resposta no intervalo de concentração de $0,23$ a $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Esse resultado indica uma boa linearidade da técnica mesmo em baixas concentrações de etinilestradiol e sem empregar nenhuma etapa de pré-concentração. As principais características de desempenho obtidas a partir da curva analítica para a metodologia proposta são apresentadas na Tabela 19.

Tabela 19 – Características de desempenho obtidas para a determinação de etinilestradiol em tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 8,0) por SWV

| Características de desempenho | Valor |
|---|-----------------|
| Sensibilidade (μA μmol ⁻¹ L) | 0,0209 ± 0,0001 |
| LD (μmol L ⁻¹) | 0,052 ± 0,003 |
| LQ (μmol L ⁻¹) | 0,171 ± 0,003 |
| Faixa linear (μmol L ⁻¹) | 0,23 a 30,0 |
| R ² | 0,996 |
| Repetibilidade (n = 10 para 30 μmol L ⁻¹) | 3,36 % |
| Entre eletrodos RSD (n = 3) | 4,23 % |
| Entre dias RSD (n = 3) | 4,72 % |

Fonte: Elaboração própria.

Nota: LD = limite de detecção, LQ = limite de quantificação, R² = coeficiente de determinação.

Analisando a Tabela 19, observa-se uma boa linearidade dos resultados (R² > 0,99) na faixa de trabalho proposta (0,23 a 30,0 μmol L⁻¹), o que demonstra que a metodologia possui a capacidade de gerar resultados lineares proporcionais à concentração do analito.

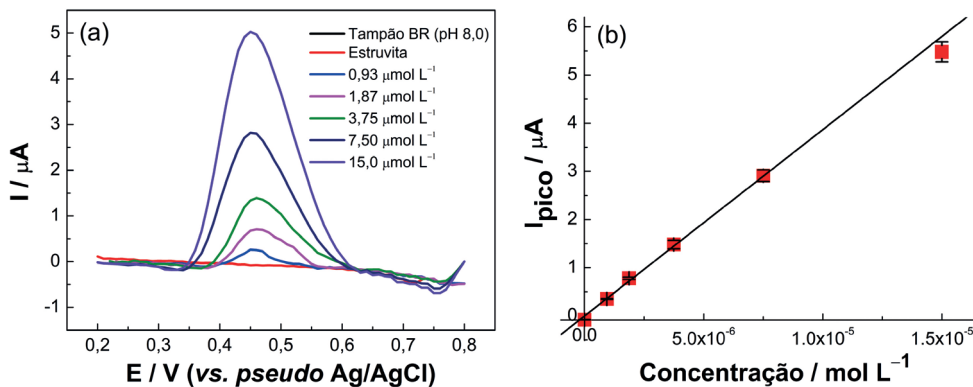
A partir da inclinação da curva analítica, os limites de detecção e quantificação foram calculados de acordo com as fórmulas $LD = (3 \times DP_{\text{branco}}) / \text{slope}$ e $LQ = (10 \times DP_{\text{branco}}) / \text{slope}$, onde DP_{branco} é o desvio-padrão de 10 medidas voltamétricas do branco e o *slope* é a inclinação da curva analítica.

Os testes de repetibilidade e reprodutibilidade apresentaram baixos desvios-padrões, indicando uma boa concordância entre as análises feitas em diferentes eletrodos e em um mesmo eletrodo durante diferentes dias.

Determinação e teste de recuperação do etinilestradiol

A determinação de etinilestradiol em estruvita foi feita pelo método de adição de padrão, conforme pode ser visualizado na Figura 22.

Figura 22



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para a quantificação de etinilestradiol na amostra de estruvita a partir de cinco adições ($0,93 \mu\text{mol L}^{-1}$, $1,87 \mu\text{mol L}^{-1}$, $3,75 \mu\text{mol L}^{-1}$, $7,50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $15,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) de solução-padrão de etinilestradiol em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0). (b) Curva de adição de padrão de etinilestradiol na estruvita. Parâmetros da SWV: 10 mV (incremento de potencial); 40 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).

A extrapolação da curva de adição de padrão apresentada na Figura 22b indica que a concentração do etinilestradiol está abaixo do limite de detecção da técnica ($0,052 \mu\text{mol L}^{-1}$) na estruvita.

A precisão do método SWV/SPEC-Ni e a possibilidade das interferências de matrizes complexas foram verificadas a partir da realização do teste de recuperação analítica. Para esta etapa as amostras foram fortificadas com três concentrações distintas de etinilestradiol (18 , 15 e $12 \mu\text{mol L}^{-1}$). Em seguida, as amostras de formulação farmacêutica, UH e urina sintética foram analisadas para obter suas porcentagens de recuperação. Os valores foram calculados a partir das concentrações reais e adicionadas e são apresentados na Tabela 20.

Tabela 20 – Resultado dos testes de recuperações de etinilestradiol em amostra de estruvita, UE, farmacêutica, UH e urina sintética

| Amostras | Adição ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Recuperação (%) |
|-----------------|-----------------------------------|---------------------------------------|-----------------|
| Estruvita | 18,0 | 16,9 \pm 0,2 | 93,9 \pm 1,3 |
| | 15,0 | 15,2 \pm 0,5 | 101,3 \pm 3,4 |
| | 12,0 | 11,6 \pm 0,2 | 96,7 \pm 1,7 |
| UE | 18,0 | 17,7 \pm 0,4 | 98,3 \pm 2,1 |
| | 15,0 | 15,3 \pm 0,5 | 102,3 \pm 3,3 |
| | 12,0 | 12,7 \pm 0,3 | 105,8 \pm 2,2 |
| Comprimido | 18,0 | 17,1 \pm 0,5 | 95,0 \pm 2,7 |
| | 15,0 | 15,7 \pm 0,6 | 104,6 \pm 3,8 |
| | 12,0 | 12,3 \pm 0,6 | 102,5 \pm 4,9 |
| UH | 18,0 | 19,4 \pm 0,7 | 107,5 \pm 3,6 |
| | 15,0 | 15,2 \pm 0,6 | 101,2 \pm 4,3 |
| | 12,0 | 11,7 \pm 0,3 | 97,5 \pm 2,8 |
| Urina sintética | 18,0 | 18,4 \pm 0,4 | 102,2 \pm 2,2 |
| | 15,0 | 14,2 \pm 0,2 | 94,6 \pm 1,1 |
| | 12,0 | 12,9 \pm 0,3 | 107,5 \pm 2,3 |

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Porcentagem de recuperação = (etinilestradiol encontrado/etinilestradiol adicionado) \times 100 %; n = 3.

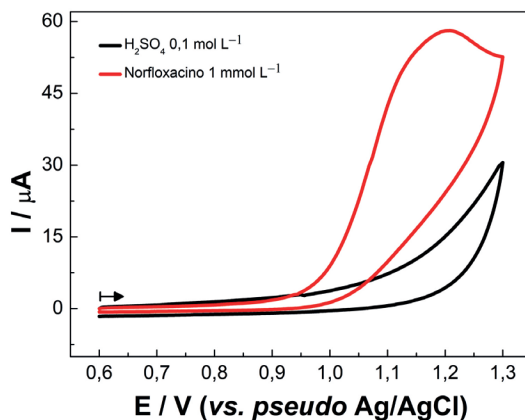
De acordo com o disposto na Tabela 20, observa-se que não houve efeito de matriz, uma vez que as porcentagens de recuperação variaram entre 93,9 e 107,5 %, o que reforça a importância do emprego da técnica analítica de forma rápida e direta. Portanto, o método se mostrou eficaz na aplicação da técnica em uma ampla variedade de amostras.

Determinação da concentração de norfloxacino em amostras de urina e estruvita

Estudo do perfil voltamétrico e influência do pH

Inicialmente, foi obtido o perfil voltamétrico do norfloxacino por voltametria cíclica no SPEC, para identificar os potenciais de oxirredução e possíveis reações químicas acopladas. A Figura 23 representa o voltamograma cíclico de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de norfloxacino em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0).

Figura 23



Fonte: Elaboração própria.

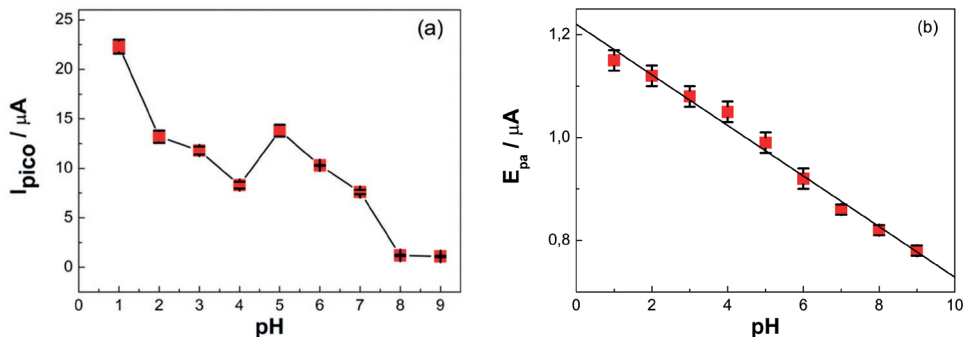
Legenda: Voltamograma cíclico de uma solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e solução de norfloxacin $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Intervalo de potencial aplicado $0,6 \text{ V}$ até $1,3 \text{ V}$, velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Sentido da varredura “ \rightarrow ”.

A resposta obtida para o eletrólito de suporte (H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) indica que não há correntes de fundo significativas em praticamente toda a janela de potencial aplicado. O potencial final aplicado ($1,3 \text{ V}$) está próximo da zona de desprendimento do oxigênio. Porém esse processo não apresenta interferência para análise de norfloxacin. Na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de norfloxacin, o voltamograma cíclico teve um pico de oxidação irreversível em $1,17 \text{ V}$ com intensidade de $60 \mu\text{A}$.

O efeito do pH na resposta voltamétrica do norfloxacin sobre o SPEC foi avaliado por voltametria cíclica em H_2SO_4 , KCl e tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de norfloxacin. Os voltamogramas cíclicos foram avaliados em uma faixa de pH entre $1,0$ e $9,0$. A metodologia visa a determinação de norfloxacin em estruvita, por isso valores superiores de pH ($> 9,0$) não foram considerados em virtude da baixa solubilidade da estruvita nessas condições.

Os resultados exibiram diferentes comportamentos nos valores de corrente de pico anódico (I_{pa}) e no potencial de pico anódico (E_{pa}) do norfloxacin em função da variação do pH (Figura 24). Em todas as medidas voltamétricas foram empregadas velocidades de varredura de 50 mV s^{-1} .

Figura 24



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: Dependência de (a) I_{pico} e (b) E_{pa} do norfloxacino em função do pH medido. Valores de pH na faixa de 1,0 a 9,0 na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de norfloxacino em H_2SO_4 , tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{KCl } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

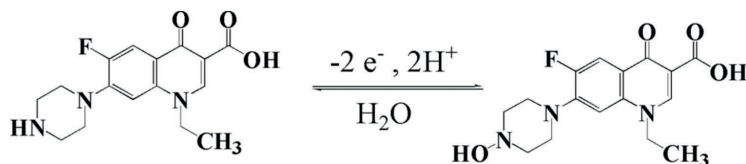
Na Figura 24, observa-se que o valor da I_{pico} diminui à medida que os valores de pH aumentam. A I_{pico} sofre um leve aumento em pH 5,0, voltando a decair até se estabilizar em pH > 8,0. O valor máximo de corrente foi obtido em pH 1,0 (H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Os ácidos HCl e HNO_3 também foram testados em diferentes concentrações, e ambos apresentaram I_{pico} inferiores aos obtidos em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Portanto, o ácido sulfúrico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 1,0) foi escolhido como o eletrólito de suporte ótimo para os estudos posteriores.

O E_{pa} do norfloxacino muda para valores menos positivos com o aumento do pH do eletrólito de suporte, e a dependência desses valores é linear de acordo com a seguinte equação:

$$E_{\text{pa}} = -0,052\text{pH} + 1,252$$

A inclinação da reta (0,052) obtida está de acordo com os resultados mostrados por Liu e colaboradores (2008), inclinação da reta = 0,056. Os autores sugerem que o processo de oxidação do norfloxacino envolve um número igual de prótons e elétrons, indicando que ocorre a transferência de dois elétrons no processo de oxidação. O mecanismo proposto pelos autores é indicado na Figura 25.

Figura 25



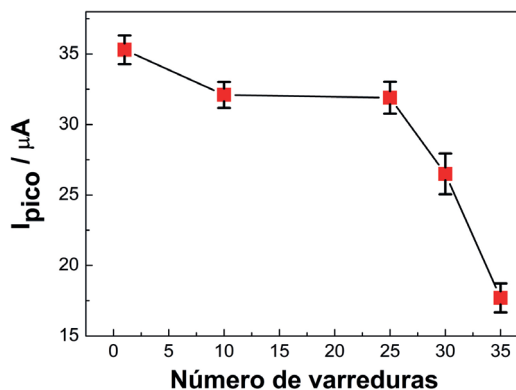
Fonte: Liu e colaboradores (2018).

Legenda: Mecanismo de oxidação do norfloxacino.

Avaliação da estabilidade do eletrodo

O estudo para avaliar a estabilidade do SPEC para a determinação de norfloxacino consiste na análise da variação da I_{pico} em função do número de varreduras. Para isso, foram comparadas as I_{pico} obtidas pela técnica de voltametria de varredura linear (LSV, do inglês *linear sweep voltammetry*) nas varreduras 1, 10, 25, 30 e 35 a partir de uma solução de norfloxacino $800,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos encontram-se representados na Figura 26.

Figura 26



Fonte: Elaboração própria.

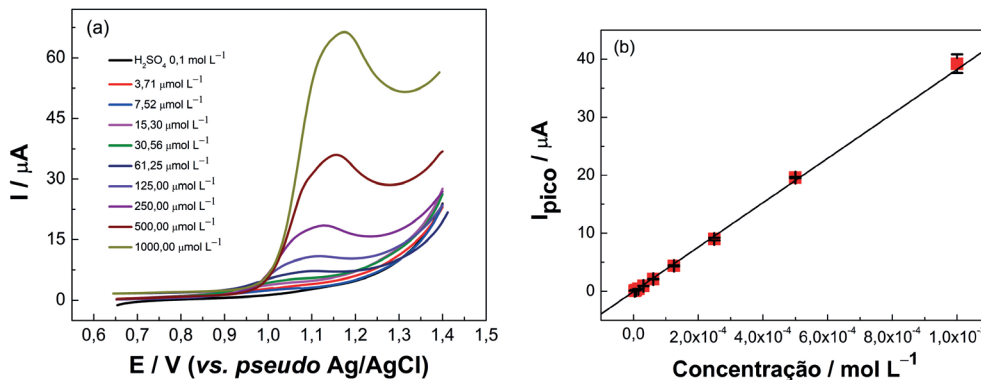
Legenda: Variação da I_{pico} versus número de varreduras ($n = 35$) para uma solução contendo $800,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de norfloxacino em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura 50 mV s^{-1} .

Na Figura 26, observa-se que durante as primeiras 25 varreduras o eletrodo demonstrou uma boa estabilidade, apresentando I_{pico} inicial de $35,3 \mu\text{A}$ (DPR = 2,9 %, $n = 3$) e de $32,1$ e $31,9 \mu\text{A}$ (DPR = 2,9 % e 4,1 %, $n = 3$) na décima e vigésima quinta varredura, respectivamente. A partir da vigésima quinta varredura a perda de sinal analítico é considerável, tornando inviável a aplicação do método com o mesmo eletrodo. Com isso, padronizou-se a utilização do SPEC por até 25 varreduras de LSV sucessivas, para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos.

Curva analítica

A aplicação da SWV e DPV para determinação do norfloxacino demonstrou sinais analíticos com baixa reprodutibilidade e repetibilidade, tornando-a inviável. Com isso, a LSV apresentou-se como uma alternativa viável, uma vez que teve boa resposta analítica, reprodutibilidade e repetibilidade. A velocidade de varredura de potencial empregada foi de 50 mV s^{-1} , pois teve bons resultados em relação ao sinal analítico e à largura do potencial de meio pico. Velocidades de varredura superiores a 50 mV s^{-1} apresentaram um aumento na largura do potencial de meio pico e sobreposição do sinal analítico da oxidação do norfloxacino à zona de desprendimento do oxigênio por completo, interferindo assim nas análises de I_{pico} . Deste modo, a curva analítica para o norfloxacino foi construída empregando-se LSV no intervalo de concentração de $3,71$ a $1.000 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 27).

Figura 27



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: (a) Voltamogramas de varredura linear para a adições de oito soluções-padrão de norfloxacino (3,71 a 1.000 $\mu mol L^{-1}$) em H_2SO_4 0,1 mol L⁻¹. Velocidade de varredura 50 mV s⁻¹.

Na Figura 27b, observa-se uma faixa linear de resposta da corrente de pico em função da concentração de norfloxacino no intervalo de concentração de 7,52 a 1.000 $\mu mol L^{-1}$. Esse resultado indica uma boa linearidade da técnica mesmo em baixas concentrações de norfloxacino e sem o emprego de nenhuma etapa de pré-concentração. As principais características de desempenho obtidas a partir da curva analítica para a metodologia proposta são apresentadas na Tabela 21.

Tabela 21 – Características de desempenho obtidas para a determinação de norfloxacino em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ por LSV

| Características de desempenho | Valor |
|---|---------------------|
| Sensibilidade ($\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{ L}$) | $0,0209 \pm 0,0001$ |
| LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | $0,81 \pm 0,02$ |
| LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | $2,68 \pm 0,02$ |
| Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | 3,71 a 1.000 |
| R^2 | 0,997 |
| Repetibilidade (n = 10 para $30 \mu\text{mol L}^{-1}$) | 2,74 % |
| Entre eletrodos RSD (n = 3) | 3,83 % |
| Entre dias RSD (n = 3) | 4,03 % |

Fonte: Elaboração própria.

Nota: LD = limite de detecção; LQ = limite de quantificação; R^2 = coeficiente de determinação.

Analisando a Tabela 21, observa-se uma boa linearidade dos resultados ($R^2 > 0,99$) na faixa de trabalho proposta ($3,71$ a $1.000 \mu\text{mol L}^{-1}$), o que demonstra que a metodologia possui a capacidade de gerar resultados proporcionais à concentração do analito.

A partir da inclinação da curva analítica, os limites de detecção e quantificação foram calculados de acordo com as fórmulas $LD = (3 \times DP_{\text{branco}})/\text{slope}$ e $LQ = (10 \times DP_{\text{branco}})/\text{slope}$, onde DP_{branco} é o desvio-padrão de 10 medidas voltamétricas do branco e o *slope* é a inclinação da curva analítica.

Os testes de repetibilidade e reprodutibilidade apresentaram baixos desvios-padrões, indicando uma boa concordância entre as análises feitas em diferentes eletrodos e em um mesmo eletrodo durante diferentes dias.

Estudo de interferentes

A seletividade do método proposto para a determinação do norfloxacino foi testada pela avaliação do efeito de possíveis interferências de compostos que comumente ocorrem nas formulações farmacêuticas (comprimido) e na UH (devido a uma possível administração de medicamentos). As soluções desses compostos foram feitas na proporção 1:100 (norfloxacino:interferente) com a concentração de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de norfloxacino em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos se encontram na Tabela 22.

Tabela 22 – Efeito de alguns possíveis compostos interferentes na determinação de norfloxacino

| Interferentes | Resposta obtida (%) |
|-----------------|---------------------|
| Cefalexina | $99,58 \pm 2,03$ |
| Etinilestradiol | $99,26 \pm 2,94$ |
| Dipirona | $95,78 \pm 4,51$ |
| Paracetamol | $97,39 \pm 3,01$ |
| Prednisolona | $99,36 \pm 2,83$ |

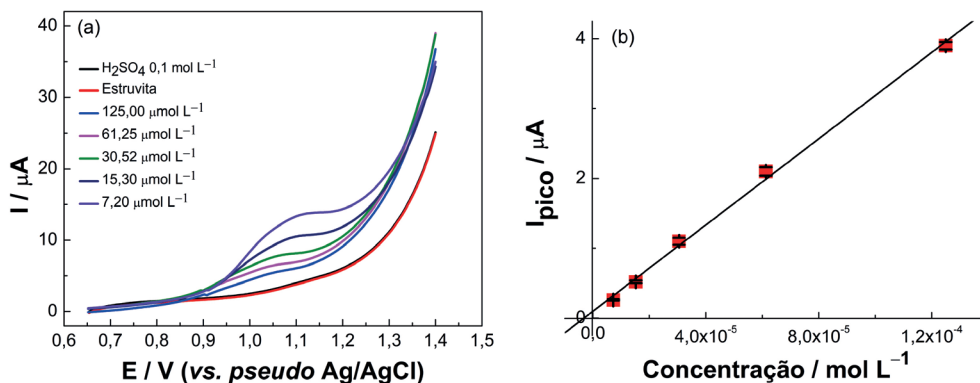
Fonte: Elaboração própria.

De acordo com a Tabela 22, conclui-se que os interferentes não afetaram a I_{pico} do norfloxacino sob a concentração testada.

Determinação e teste de recuperação do norfloxacino

A determinação de norfloxacino em esturvita foi feita pelo método de adição de padrão, conforme pode ser visualizado na Figura 28.

Figura 28



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: (a) Voltamogramas de varredura linear obtidos para a quantificação de norfloxacino na amostra de estruvita, a partir de cinco adições (7,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 15,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 30,52 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 61,25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 125,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de solução-padrão de norfloxacino em H_2SO_4 0,1 mol L⁻¹. (b) Curva de adição de padrão de norfloxacino na estruvita. Velocidade de varredura 50 mV s⁻¹.

A extrapolação da curva de adição de padrão apresentada na Figura 28b indica que a concentração do norfloxacino na estruvita está abaixo do limite de detecção da técnica (0,81 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

A precisão do método proposto e a possibilidade das interferências de matrizes complexas foram verificadas a partir da realização do teste de recuperação analítica. Para esta etapa, as amostras foram fortificadas com três concentrações distintas de norfloxacino (125, 30,5 e 7,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Em seguida, as amostras de estruvita, UE, formulação farmacêutica, UH e urina sintética foram analisadas para obter suas porcentagens de recuperação. Os valores foram calculados a partir das concentrações reais e adicionadas e são expressos na Tabela 23.

Tabela 23 – Resultado dos testes de recuperações de norfloxacino em amostra de estruvita, UE, farmacêutica, UH e urina sintética

| Amostras | Adição ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Recuperação (%) |
|-----------------|---|---|------------------------|
| Estruvita | 125,0 | 122,9 \pm 1,7 | 98,3 \pm 1,3 |
| | 30,5 | 30,4 \pm 1,1 | 99,7 \pm 3,4 |
| | 7,2 | 7,0 \pm 0,1 | 97,2 \pm 1,7 |
| UE | 125,0 | 123,9 \pm 2,6 | 99,1 \pm 2,1 |
| | 30,5 | 31,0 \pm 1,0 | 101,8 \pm 3,3 |
| | 7,2 | 7,1 \pm 0,2 | 98,8 \pm 2,2 |
| Comprimido | 125,0 | 121,8 \pm 3,4 | 97,4 \pm 2,7 |
| | 30,5 | 30,4 \pm 1,2 | 99,6 \pm 3,8 |
| | 7,2 | 7,1 \pm 0,4 | 98,9 \pm 4,9 |
| UH | 125,0 | 126,5 \pm 4,5 | 101,2 \pm 3,6 |
| | 30,5 | 30,9 \pm 1,3 | 101,4 \pm 4,3 |
| | 7,2 | 7,1 \pm 0,2 | 99,8 \pm 2,8 |
| Urina sintética | 125,0 | 123,2 \pm 2,8 | 98,6 \pm 2,2 |
| | 30,5 | 29,9 \pm 0,4 | 98,2 \pm 1,1 |
| | 7,2 | 7,0 \pm 0,2 | 97,3 \pm 2,3 |

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Porcentagem de recuperação = (norfloxacino encontrado/norfloxacino adicionado) \times 100 %; n = 3.

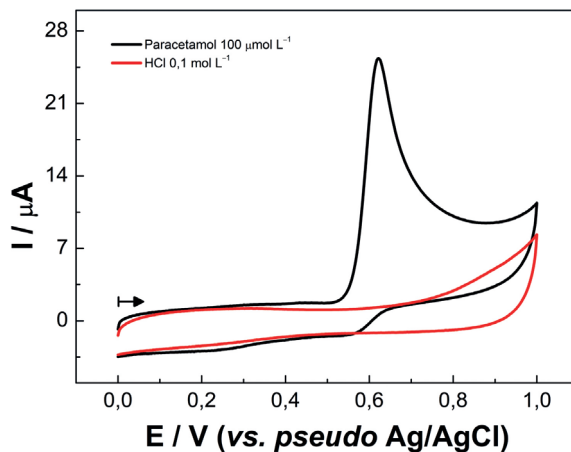
De acordo com a Tabela 23, observa-se que não houve efeito de matriz, uma vez que as porcentagens de recuperação variaram entre 97,2 e 101,8 %, o que reforça a importância do emprego da técnica analítica de forma rápida e direta. O método se mostrou eficaz na aplicação da técnica em uma ampla variedade de amostras.

Determinação da concentração de paracetamol em amostras de urina e estruvita

Estudo do perfil voltamétrico e influência do pH

Inicialmente, foi obtido o perfil voltamétrico do paracetamol por voltametria cíclica no SPEC, para identificar os potenciais de oxirredução e possíveis reações químicas acopladas. A Figura 29 representa o voltamograma cíclico de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de paracetamol em $\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,0).

Figura 29



Fonte: Elaboração própria.

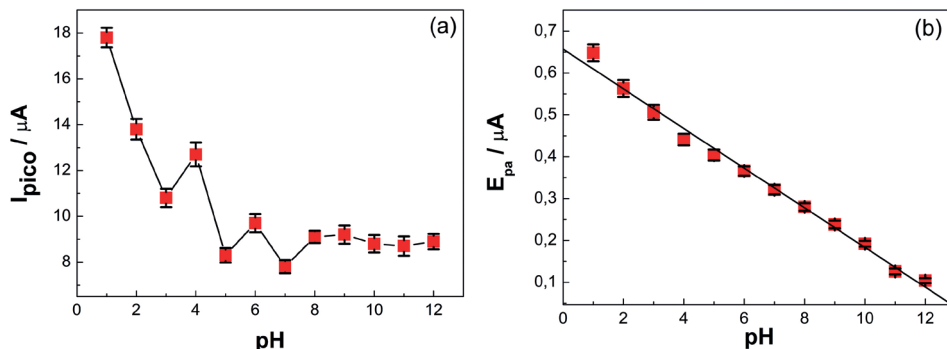
Legenda: Voltamograma cíclico de solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ e solução de paracetamol 100 μmol L⁻¹ em HCl 0,1 mol L⁻¹. Intervalo de potencial aplicado 0,0 até 1,0 V, velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. Sentido da varredura “→”.

A resposta obtida para o eletrólito de suporte (HCl 0,1 mol L⁻¹) indica que não há correntes de fundo significativas, processos interferentes ou quaisquer reações adjacentes no intervalo de potencial aplicado. Na presença de 100 μmol L⁻¹ de paracetamol, o voltamograma cíclico apresentou um pico de oxidação irreversível em 0,62 V.

O efeito do pH na resposta voltamétrica do paracetamol sobre o SPEC foi avaliado por voltametria cíclica em HCl, KCl e tampão BR 0,1 mol L⁻¹, contendo 100 μmol L⁻¹ de paracetamol. Os voltamogramas cíclicos foram avaliados em uma faixa de pH entre 1,0 e 12,0. A metodologia visa a determinação de paracetamol em estruvita, por isso, valores superiores de pH (> 9,0) não foram considerados em virtude da baixa solubilidade da estruvita nessas condições.

Os resultados exibiram diferentes comportamentos nos valores de corrente de I_{pa} e de E_{pa} do paracetamol em função da variação do pH (Figura 30). Em todas as medidas voltamétricas foram empregadas velocidades de varredura de 50 mV s⁻¹.

Figura 30



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: Dependência da (a) I_{pico} e (b) E_{pa} do paracetamol em função do pH medido. Valores de pH na faixa de 1,0 a 12,0 na presença de $100 \mu mol L^{-1}$ de paracetamol em HCl, tampão BR $0,1 mol L^{-1}$ e $KCl 0,05 mol L^{-1}$.

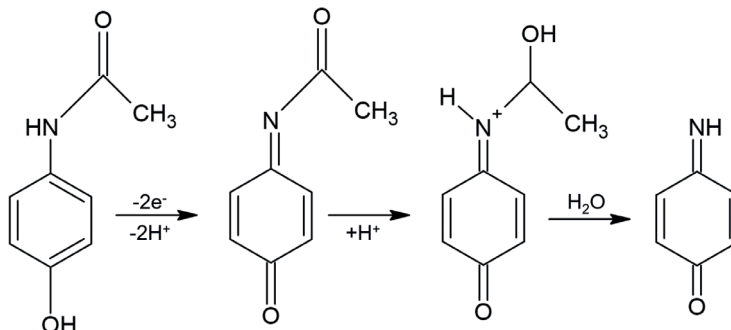
Na Figura 30a, observa-se que o valor da I_{pico} diminui à medida que os valores de pH aumentam. A corrente de pico sofre um leve aumento em pH 4,0, voltando a decair até se estabilizar em pH a partir de 8,0. O valor máximo de corrente foi obtido em pH 1,0 ($HCl 0,1 mol L^{-1}$). Os ácidos H_2SO_4 e HNO_3 também foram testados em diferentes concentrações, porém ambos apresentaram correntes de pico inferiores aos obtidos em $HCl 0,1 mol L^{-1}$. Portanto, $HCl 0,1 mol L^{-1}$ (pH 1,0) foi escolhido como o eletrólito de suporte ideal para os estudos posteriores.

O potencial de oxidação do paracetamol muda para valores menos positivos com o aumento do pH do eletrólito de suporte e a dependência desses valores é linear de acordo com a seguinte equação:

$$E_p = -0,051pH + 1,252 \text{ (V)}$$

A inclinação da reta ($0,051 V$) obtida neste trabalho está próxima do valor ($0,058$) encontrado por Wei e colaboradores (2019), que sugerem que o número de elétrons envolvidos no processo de oxidação do paracetamol é igual ao número de prótons. Esta inclinação indica que ocorre a transferência de dois elétrons no processo de oxidação. O mecanismo proposto pelos autores para a oxidação do paracetamol é indicado na Figura 31.

Figura 31



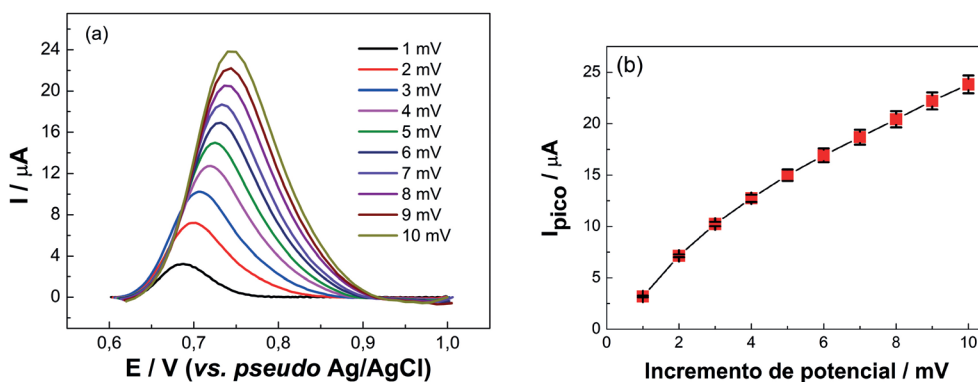
Fonte: Wei e colaboradores (2019).

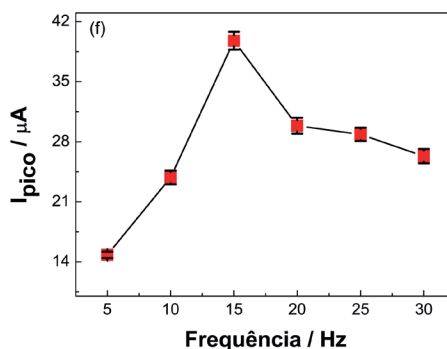
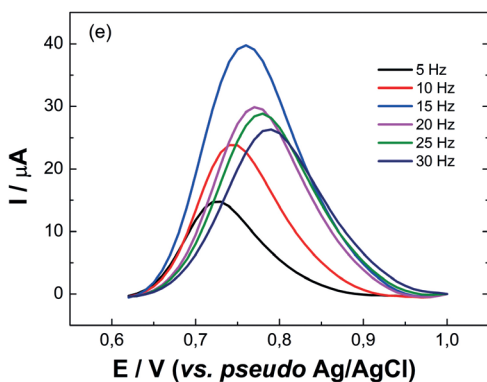
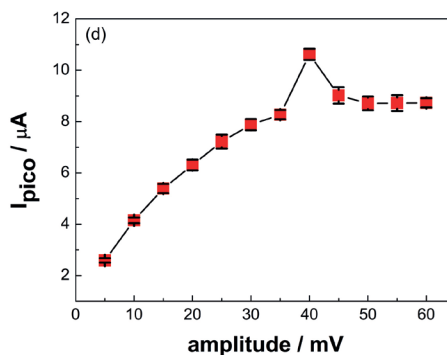
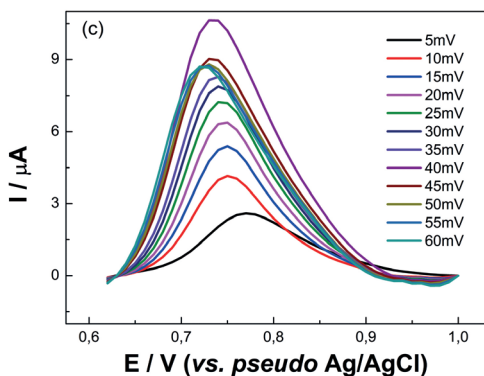
Legenda: Esquema da possível oxidação do norfloxacin.

Otimização dos parâmetros da voltametria de onda quadrada

A partir da escolha do melhor eletrólito, os parâmetros da SWV (incremento de potencial, amplitude e frequência) foram otimizados univariadamente. A Figura 32 apresenta a resposta analítica de paracetamol $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para os diferentes valores estudados.

Figura 32





Fonte: Elaboração própria.

Legenda: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução contendo $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de paracetamol em HCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, (a) incremento de potencial, (c) amplitude e (e) frequência. Condições da SWV: (a) incremento de potencial 1 a 10 mV, amplitude 40 mV e frequência 5 Hz; (c) incremento de potencial 5 mV, amplitude 5 a 60 mV e frequência 5 Hz; (e) incremento de potencial 5 mV, amplitude 40 mV e frequência 5 a 30 Hz. I_{pico} em função (b) incremento de potencial, (d) amplitude e (f) frequência.

A Tabela 24 sumariza todos os parâmetros operacionais da SWV, seus intervalos de estudo e os valores otimizados para sua aplicação em solução-padrão de paracetamol $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 24 – Parâmetros experimentais da SWV otimizados para determinação de paracetamol em solução-padrão de paracetamol $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$

| Parâmetro estudado | Intervalo estudado | Valor ótimo |
|-------------------------|--------------------|-------------|
| Incremento de potencial | 1 a 10 mV | 10 mV |
| Amplitude | 5 a 60 mV | 40 mV |
| Frequência | 5 a 30 Hz | 15 mV |

Fonte: Elaboração própria.

Na otimização dos parâmetros da SWV, foram escolhidos os seguintes valores: incremento de potencial = 10 mV, amplitude = 40 mV e frequência = 15 Hz. Os critérios de otimização levaram em consideração os valores que apresentavam maior sinal analítico com menor largura de potencial de meio pico e boa resolução.

No estudo do incremento de potencial, os valores de I_{pico} mostraram um comportamento crescente em toda faixa de estudo (1 a 10 mV) (Figura 32b). Para valores superiores ($> 10 \text{ mV}$) de incremento de potencial, ocorreram erros nas leituras, gerando sinais com grande ruído no potencial de oxidação do fármaco, por isso, não foram estudados valores superiores a 10 mV. Conseqüentemente, o valor de 10 mV foi escolhido como valor ótimo a ser empregado, uma vez que apresenta a maior I_{pico} e não foi observado aumento substancial da largura de meio pico (*vide* Figura 32a).

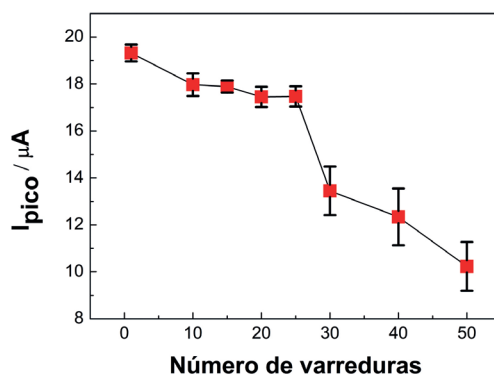
Na otimização da amplitude, foi observado um aumento contínuo da I_{pico} até o valor máximo em 40 mV (Figura 32d). Não foi observado aumento substancial da largura do potencial de meio pico que justifique a não escolha deste valor (Figura 32c). Com isso, o valor de 40 mV para a amplitude foi escolhido como valor ótimo.

Por fim, no estudo da frequência foi observado um valor ótimo de 15 Hz. Para valores superiores a esse, houve um decaimento progressivo da corrente de pico até o último ponto do intervalo (Figura 32f).

Avaliação da estabilidade do eletrodo

O estudo para avaliar a estabilidade do SPEC para determinação de paracetamol consiste na análise da variação da I_{pico} em função do número de varreduras. Para isso foram comparadas as I_{pico} obtidas pela técnica de SWV nas varreduras 1, 10, 15, 20, 25, 30, 40 e 50 a partir de uma solução paracetamol $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos encontram-se representados na Figura 33.

Figura 33



Fonte: Elaboração própria.

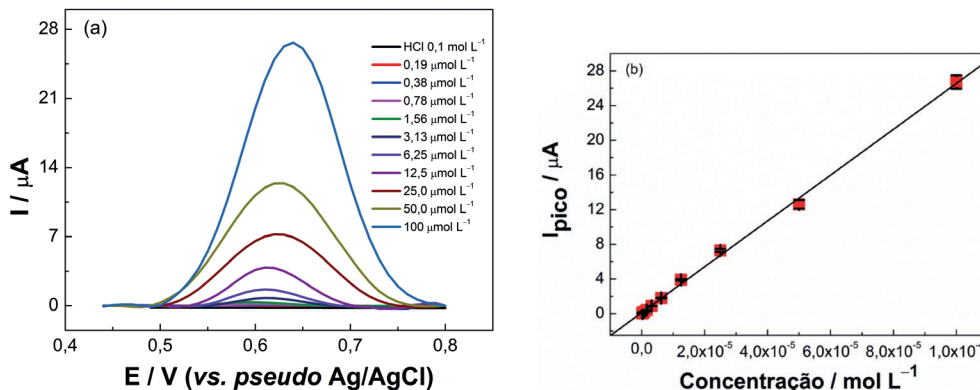
Legenda: Variação da I_{pico} versus número de varreduras ($n = 50$) para uma solução contendo $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de paracetamol em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Condições da SWV: 10 mV (incremento de potencial); 40 mV (amplitude); 15 Hz (frequência).

Na Figura 33 observa-se que durante as primeiras 25 varreduras o eletrodo demonstrou uma boa estabilidade, apresentando I_{pico} inicial de $19,32 \mu\text{A}$ (DPR = 1,9 %, $n = 3$) e de $17,97$ e $17,47 \mu\text{A}$ (DPR = 2,7 % e 1,3 %, $n = 3$) na décima e na vigésima quinta varredura, respectivamente. A partir da vigésima quinta varredura a perda de sinal analítico é considerável, tornando inviável a aplicação do método com o mesmo eletrodo. Portanto, a utilização do SPEC foi padronizada em até 25 varreduras de SWV sucessivas, para garantir a confiabilidade dos resultados obtido.

Curva analítica

A partir das condições previamente otimizadas, foi construída uma curva analítica para o paracetamol no intervalo de concentração de 0,19 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 34).

Figura 34



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: (a) Voltamogramas de onda quadrada para a adições de dez soluções de paracetamol (0,19 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em HCl 0,1 mol L^{-1} . Parâmetros da SWV: 10 mV (incremento de potencial); 40 mV (amplitude); 15 Hz (frequência). (b) Curva analítica obtida a partir da variação da I_{pico} em função da concentração de paracetamol.

Na Figura 34b, observa-se uma faixa linear de resposta no intervalo de concentração de 0,19 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Esse resultado indica uma boa linearidade da técnica mesmo em baixas concentrações de paracetamol, sem o emprego de nenhuma técnica de pré-concentração ou de alguma modificação na superfície do eletrodo. As principais características de desempenho obtidas a partir da curva analítica para a metodologia proposta são apresentadas na Tabela 25.

Tabela 25 – Características de desempenho obtidos para a determinação de paracetamol por SWV

| Características de desempenho | Valor |
|--|---------------------|
| Sensibilidade ($\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{L}$) | $0,0652 \pm 0,0001$ |
| LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | $0,046 \pm 0,002$ |
| LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | $0,156 \pm 0,002$ |
| Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | 0,19 a 100 |
| R^2 | 0,998 |
| Repetibilidade (n = 10 para $1 \mu\text{mol L}^{-1}$) | 2,31 % |
| Entre eletrodos RSD (n = 3) | 2,86 % |
| Entre dias RSD (n = 3) | 3,57 % |

Fonte: Elaboração própria.

Nota: LD = limite de detecção; LQ = limite de quantificação; R^2 = coeficiente de determinação.

Analisando a Tabela 25, observa-se uma boa linearidade dos resultados ($R^2 > 0,99$) na faixa de trabalho proposta ($0,19$ a $100 \mu\text{mol L}^{-1}$), o que demonstra que a metodologia possui a capacidade de gerar resultados lineares proporcionais à concentração do analito. A partir da inclinação da curva analítica, os limites de detecção e quantificação (LQ) foram calculados de acordo com as fórmulas: $\text{LD} = (3 \times \text{DP}_{\text{branco}}) / \text{slope}$ e $\text{LQ} = (10 \times \text{DP}_{\text{branco}}) / \text{slope}$, onde $\text{DP}_{\text{branco}}$ é o desvio-padrão de 10 medidas voltamétricas do branco e o *slope* é a inclinação da curva analítica.

Os testes de repetibilidade e reprodutibilidade apresentaram baixos desvios-padrões, indicando uma boa concordância entre as análises feitas em diferentes eletrodos e em um mesmo eletrodo durante diferentes dias.

Estudo de interferentes

A seletividade do método proposto para a determinação do paracetamol foi testada pela avaliação do efeito de possíveis interferências de compostos que comumente

ocorrem nas formulações farmacêuticas (comprimido) e na UH (devido a uma possível administração de medicamentos). As soluções desses compostos foram feitas na proporção 1:100 (paracetamol:interferente) com a concentração de 30 μmol de paracetamol em HCl 0,1 mol L⁻¹. Os resultados obtidos se encontram na Tabela 26.

Tabela 26 – Efeito de alguns possíveis compostos interferentes na determinação de paracetamol

| Interferentes | Resposta obtida (%) |
|----------------------|----------------------------|
| Cefalexina | 97,88 \pm 2,27 |
| Diclofenaco | 99,35 \pm 2,86 |
| Etinilestradiol | 97,04 \pm 3,19 |
| Norfloxacino | 98,28 \pm 4,33 |
| Prednisolona | 99,25 \pm 4,04 |

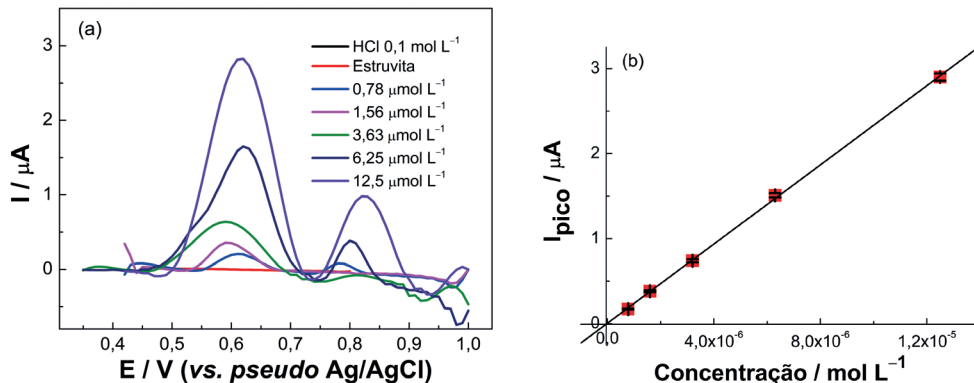
Fonte: Elaboração própria.

De acordo com a Tabela 26, conclui-se que os interferentes não afetaram a I_{pico} do paracetamol sob a concentração testada.

Determinação e teste de recuperação do paracetamol

A determinação de paracetamol em estruvita foi feita pelo método de adição de padrão. A Figura 35 apresenta a curva de adição de padrão obtida.

Figura 35



Fonte: Elaboração própria.

Legenda: (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para a quantificação de paracetamol na amostra de estruvita, a partir de cinco adições (1,56 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 3,13 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 6,25 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 12,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 25,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) de solução-padrão de paracetamol em HCl 0,1 mol L⁻¹. (b) Curva de adição de padrão de paracetamol na estruvita. Parâmetros da SWV: 10 mV (incremento de potencial); 40 mV (amplitude); 15 Hz (frequência).

A extrapolação da curva de adição de padrão apresentada na Figura 35b indica que a concentração do paracetamol na estruvita está abaixo do limite de detecção da técnica (0,046 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Na Figura 35a, observar-se um “pico” para concentrações superiores a 3,63 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o qual pode ser atribuído a impurezas do eletrodo impresso de carbono devido à mudança de “lote”. Entretanto, tais picos não apresentaram quaisquer interferências durante as análises e por isso foram desconsiderados.

A precisão do método e a possibilidade das interferências de matrizes complexas foram verificadas a partir da realização do teste de recuperação analítica. Para esta etapa as amostras foram fortificadas com três concentrações distintas de paracetamol (0,41, 3,91 e 26,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Em seguida, as amostras de UE, estruvita, UH, urina sintética e formulação farmacêutica foram analisadas a fim de obter suas porcentagens de recuperação. Os valores foram calculados a partir das concentrações reais e adicionadas e são apresentados na Tabela 27.

Tabela 27 – Resultado dos testes de recuperações de paracetamol em amostra de estruvita, UE, farmacêutica, UH e urina sintética

| Amostras | Adição ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$) | Recuperação (%) |
|-----------------|---|---|------------------------|
| Estruvita | 26,70 | $26,4 \pm 0,84$ | $98,9 \pm 3,21$ |
| | 3,91 | $3,63 \pm 0,11$ | $92,8 \pm 2,77$ |
| | 0,41 | $0,43 \pm 0,01$ | $104,9 \pm 3,18$ |
| UE | 26,70 | $24,8 \pm 0,64$ | $92,9 \pm 2,26$ |
| | 3,91 | $4,17 \pm 0,12$ | $106,6 \pm 2,82$ |
| | 0,41 | $0,43 \pm 0,01$ | $104,9 \pm 1,64$ |
| Comprimido | 26,70 | $27,2 \pm 0,63$ | $101,8 \pm 2,33$ |
| | 3,91 | $3,88 \pm 0,17$ | $99,2 \pm 3,53$ |
| | 0,41 | $0,41 \pm 0,01$ | $100,0 \pm 2,67$ |
| UH | 26,70 | $27,1 \pm 0,44$ | $101,4 \pm 1,63$ |
| | 3,91 | $3,71 \pm 0,07$ | $94,9 \pm 1,86$ |
| | 0,41 | $0,38 \pm 0,01$ | $92,7 \pm 1,56$ |
| Urina sintética | 26,70 | $28,4 \pm 0,71$ | $106,4 \pm 2,51$ |
| | 3,91 | $3,83 \pm 0,07$ | $97,9 \pm 1,93$ |
| | 0,41 | $0,41 \pm 0,01$ | $100,0 \pm 2,21$ |

Fonte: Elaboração própria.

De acordo com a Tabela 27, observa-se que não houve efeito de matriz, uma vez que as porcentagens de recuperação variaram entre 92,7 e 106,4 %, o que reforça a importância do emprego da técnica analítica de forma rápida e direta. O método se mostrou eficaz na aplicação da técnica em uma ampla variedade de amostras.

Comparação entre os métodos propostos e a literatura

Dipirona

Comparando-se os trabalhos descritos na Tabela 1, é possível destacar o de Rumin e colaboradores (2016) e o de Smajdor, Paczosa-Bator e Piech (2016), que descreveram a determinação de dipirona por voltametria de pulso diferencial e voltametria de varredura linear, respectivamente. Ambos utilizaram eletrodos de carbono vítreo modificado e técnicas voltamétricas associadas com etapas de pré-concentração. Nota-se que esses estudos apresentaram os menores LD relatados na literatura ($0,013$ e $0,023 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente), porém cabe ressaltar que foram desenvolvidos empregando modificações na superfície do eletrodo e elevados tempos de pré-concentração (90 s).

Neste trabalho, não foram realizadas modificações na superfície do eletrodo, muito menos foram aplicados potenciais de pré-concentração (tempo de pré-concentração = 0). A técnica empregada em conjunto com os SPEs apresenta um baixo consumo de reagente ($40 \mu\text{L}$), com uma detectibilidade ($\text{LD} = 0,097 \mu\text{mol L}^{-1}$) superior à dos demais trabalhos listados na Tabela 1 ou na mesma ordem de grandeza apresentada por eles. Além disso, empregou-se aqui um sistema portátil, que viabiliza a aplicação do método *in loco*.

Etinilestradiol

Comparando-se os trabalhos descritos na Tabela 3, destacam-se os estudos de Nunes e colaboradores (2016) e de Li (2007), que descreveram a determinação de etinilestradiol por voltametria de pulso diferencial e voltametria de varredura linear, respectivamente. Ambos utilizaram eletrodos de gota pendente de mercúrio e pasta de carbono na presença de brometo de etil piridina, com etapas de pré-concentração de 150 s em ambos os estudos. Nota-se que esses estudos apresentaram os menores LD relatados na literatura ($0,00147$ e $0,03 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente), porém cabe ressaltar que foram desenvolvidos empregando modificações na superfície do eletrodo e eletrodo de mercúrio (altamente tóxico para o meio ambiente) e elevados tempos de pré-concentração (150 s).

Neste trabalho, a modificação realizada na superfície do eletrodo foi uma eletrodeposição simples e rápida de níquel e não foram aplicados potenciais de pré-concentração (tempo de pré-concentração = 0). A técnica empregada em conjunto com os SPEs apresenta um baixo consumo de reagente ($40 \mu\text{L}$), com uma detectibilidade ($\text{LD} = 0,052 \mu\text{mol L}^{-1}$) próxima à dos demais trabalhos apresentados na Tabela 3, e empregando um sistema portátil, que viabiliza a aplicação do método *in loco*.

Norfloxacino

Comparando-se os trabalhos descritos na Tabela 2, é possível destacar primeiramente os estudos de Silva e colaboradores (2015) e de Ye, Wang e Wen (2015), que descreveram a determinação de norfloxacino por voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial, respectivamente. Ambos utilizaram eletrodos modificados. Nota-se que esses estudos apresentaram os menores LD relatados na literatura ($0,0046$ e $0,005 \mu\text{mol L}^{-1}$), porém cabe ressaltar que foram desenvolvidos empregando modificações complexas.

Outro estudo que merece destaque é o de Hamnca e colaboradores (2017), que aplicaram uma modificação na superfície de um eletrodo impresso de carbono modificado com ácido polímico e grafeno e obtiveram um LD de $0,034 \mu\text{mol L}^{-1}$.

A metodologia proposta neste trabalho apresenta um LD de $0,81 \mu\text{mol L}^{-1}$, sendo inferior às apresentadas na literatura. Além disso, a metodologia proposta é bem mais simples (sem modificação de eletrodo), apresenta um baixo consumo de reagente ($40 \mu\text{L}$) e faz aplicação direta do SPEC para análise de norfloxacino em diferentes matrizes, usando um sistema portátil, que viabiliza a aplicação do método *in loco*.

Paracetamol

Comparando-se os trabalhos descritos na Tabela 4, destacam-se os estudos de Meenakshi, Pandian e Gopinath (2020) e de Zhang e colaboradores (2019), que descreveram a determinação de paracetamol por voltametria de pulso diferencial. Ambos utilizaram eletrodos modificados, sendo que o segundo trabalho utilizou um eletrodo impresso. Nota-se que esses estudos apresentaram os menores LD relatados na literatura ($0,0043$ e $0,048 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Neste trabalho, não foram realizadas modificações na superfície do eletrodo. Além disso, a técnica empregada em conjunto com os SPEs apresenta um baixo consumo de reagente ($40 \mu\text{L}$), com uma detectibilidade ($\text{LD} = 0,046 \mu\text{mol L}^{-1}$) superior à dos demais trabalhos listados na Tabela 4 ou na mesma ordem de grandeza apresentada por eles. Ademais, aqui se empregou um sistema portátil, que viabiliza a aplicação do método *in loco*.



Conclusão

Os métodos eletroanalíticos propostos para as determinações eletroquímicas de dipirona, etinilestradiol, norfloxacino e paracetamol usando voltametria de onda quadrada (dipirona, etinilestradiol e paracetamol) e voltametria de varredura linear (norfloxacino) em conjunto com os SPECs permitem determinar o analito em concentrações tão baixas quanto $0,097 \mu\text{mol L}^{-1}$, $0,052 \mu\text{mol L}^{-1}$, $0,81 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,046 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Vale enfatizar que não foram utilizadas etapas de pré-concentração, as quais aumentam consideravelmente o tempo de análise e por muitas vezes requerem equipamentos extras e fontes de energia (além do *notebook* ou computador) e, com isso, dificultam a realização de análise *in loco*. Igualmente vale ressaltar que a etapa de eletrodeposição utilizada para o preparo do SPEC-Ni para determinar etinilestradiol é simples e rápida. A etapa de eletrodeposição para modificação do SPEC com níquel dura em torno de dez minutos, o que é relativamente baixo quando comparado com o já feito pelos outros trabalhos da literatura citados neste livro. Além disso, a modificação efetuada requer apenas uma solução de níquel e aplicação da técnica de voltametria cíclica, sem necessitar de quaisquer equipamentos externos ou ambientes controlados, facilitando assim o preparo.

Em relação à metodologia desenvolvida para a análise de dipirona, o teste de possíveis interferentes indicou que não há interferência significativa na proporção de 1:1 para a maior parte dos metais propostos como interferentes. Os compostos orgânicos testados como interferentes no sinal analítico da dipirona também não apresentaram quaisquer variações significativas no sinal analítico em nenhuma das

proporções estudadas. Em comparação com os resultados presentes na literatura, a metodologia para detecção de dipirona demonstrou ótimos resultados. Ademais, o teste de estabilidade do SPEC frente à análise de dipirona demonstrou que o método possui capacidade de utilização de um único SPEC diversas vezes (> 20).

A metodologia de análise do fármaco etinilestradiol empregando o SPEC-Ni também demonstrou ótimos resultados quando comparada com a literatura e, além disso, obteve ótimos valores de reprodutibilidade e repetibilidade. A análise de interferentes com diversos fármacos também apresentou ótimos resultados, demonstrando a capacidade do método de detectar o hormônio sem quaisquer interferências significativas. O teste de estabilidade do eletrodo gerou resultados satisfatórios, demonstrando a capacidade de utilizar um mesmo eletrodo por mais de dez vezes. Tais resultados reforçam que a modificação com níquel melhorou de forma significativa a capacidade da metodologia de detecção do hormônio.

Já a metodologia para detecção de norfloxacino foi a única em que não foi possível empregar a técnica de voltametria de onda quadrada, porque apresentou respostas analíticas pouco reprodutíveis e inconsistentes. Porém, mesmo utilizando uma técnica considerada menos sensível (voltametria de varredura linear), os resultados obtidos foram excelentes em relação às características analíticas do método, aos testes de interferentes realizados e ao teste de estabilidade do eletrodo, que demonstrou que um mesmo eletrodo pode ser utilizado por mais de vinte vezes para análise de norfloxacino.

Por fim, a metodologia desenvolvida para análise de paracetamol apresentou ótimos resultados também, estando par a par com resultados obtidos anteriormente nas outras metodologias em relação às características analíticas, aos testes de interferentes e à estabilidade do eletrodo impresso frente à análise de paracetamol.

Todas as metodologias foram testadas em diversas amostras reais. Este teste consistiu em “contaminar” as amostras com concentrações conhecidas dos fármacos e analisar essas amostras “contaminadas” para observar a capacidade real das metodologias. Deste modo, as análises demonstraram recuperação em valores próximos a 100 %, obtendo-se, portanto, sucesso em determinar as concentrações que foram adicionadas inicialmente, para todos os fármacos nas matrizes propostas: estruvita, UE, UH e amostra farmacêutica.

Assim, todas as metodologias desenvolvidas em conjunto com a utilização de um potenciostato portátil e dos SPEs reforçam a possibilidade de aplicação dos métodos propostos *in loco* de forma prática e rápida. Além disso, é de suma importância ressaltar que em nenhuma metodologia houve a necessidade de grandes quantidades de amostra e reagentes e nem de etapas de pré-tratamento de amostras, sendo possível analisá-las após diluí-las no eletrólito de suporte. Em relação à metodologia desenvolvida para detecção do hormônio etinilestradiol, a modificação do SPEC com níquel demonstra que não há nenhum empecilho nesta etapa ou fator que possa atrapalhar e dificultar sua execução. É possível, portanto, concluir que o emprego de SPEs em conjunto com as técnicas voltamétricas diretamente para as análises destes fármacos possui grande potencialidade frente às técnicas convencionais empregadas, demonstrando ser uma boa alternativa para o controle e monitoramento destes contaminantes emergentes.



REFERÊNCIAS

- AGÜÍ, P.; YÁÑEZ-SEDEÑO, P.; PINGARRÓN, J. M. Role of carbon nanotubes in electroanalytical chemistry. **Analytica Chimica Acta**, v. 622, n. 1-2, p. 11-47, 2008.
- AJAYAN, P. M. Nanotubes from carbon. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 7, p. 1787-1799, 1999.
- ALGHAMDI, A. H. Applications of stripping voltammetric techniques in food analysis. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 3, n. 1, p. 1-7, 2010.
- ALNAJJAR, A.; ABUSEADA, H. H.; IDRIS, A. M. Capillary electrophoresis for the determination of norfloxacin and tinidazole in pharmaceuticals with multi-response optimization. **Talanta**, v. 72, n. 2, p. 842-846, 2007.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta pública n. 240, de 1º de agosto de 2016**. Brasília, 2016. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/cp+240-2016+-proposta+de+norma+em+discuss%c3%a3o.pdf/d5d29229-eb9c-4cff-b49d-70f0528c6829>. Acesso em: 24 out. 2021.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Informe SNVS/Anvisa/Ufarm n. 2, de 25 de fevereiro de 2002**. Risco de intoxicação com analgésicos e anti-térmicos. Brasília, 2002.
- BAGOTSKY, V. S. **Fundamentals of electrochemistry**. 2. ed. Moscow: Wiley, 2001.
- BALADIN, A. *et al.* Superior thermal conductivity of single-layer graphene. **Nano Letters**, v. 8, n. 3, p. 902-907, 2008.

- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 4. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2010.
- BARTON, J. *et al.* Screen-printed electrodes for environmental monitoring of heavy metal ions: a review. **Microchimica Acta**, v. 183, p. 503-517, 2016.
- BERGAMINI, F. M. **Eletrodos impressos modificados com poli-histidina aplicados na construção de sensores eletroquímicos para crômio (VI) e fármacos**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2007.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.
- BOLOTIN, K. I. *et al.* Ultrahigh electron mobility in suspended graphene. **Solid State Commun**, v. 146, n. 9-10, p. 351-355, 2008.
- BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electroanalysis**. Oxford: Oxford University Press, 1998.
- BROWN, K. D. *et al.* Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico. **Science of the Total Environment**, v. 366, n. 2-3, p. 772-783, 2005.
- BRULAND, K. W. *et al.* Intercomparison of voltammetric techniques to determine the chemical speciation of dissolved copper in a coastal seawater sample. **Analytica Chimica Acta**, v. 405, n. 1-2, p. 99-113, 2000.
- BUDNIKOV, G. K. Biomedical aspects of electrochemical methods of analysis. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 55, p. 1014-1023, 2000.
- CARDOSO, C. E. *et al.* Voltammetric determination of copper and lead in gasoline using sample preparation as microemulsions. **Analytical Sciences**, v. 23, n. 9, p. 1065-1069, 2007.
- CHEN, J.; LI, C.; SHI, G. Graphene materials for electrochemical capacitors. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 4, n. 8, p. 1244-1253, 2013.
- DANIELLE, P.; LEAL, M. B. Avaliação e segurança da dipirona: uma revisão. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 84, p. 17-20, 2003.
- DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.

- DIOGO, A. N. M. **Dipirona**: segurança do uso e monitoramento da qualidade de comprimidos orais. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2003.
- DIPIRONA. **Portal Educação**, 2016. Disponível em: <https://www.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/farmacia/dipirona/24124>. Acesso em: 13 jul. 2019.
- DIPIRONA sódica. **Anvisa**, 2019. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmvisualizarbula.asp?Pnutransacao=9505472013&pidanexo=1860179. Acesso em: 13 jul. 2019.
- DOMÍNGUEZ RENEDO, O.; ALONSO-LOMILLO, M. A.; ARCOS MARTÍNEZ, M. J. Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications. **Talanta**, v. 73, n. 2, p. 202-219, 2007.
- DOYLE, J. D. *et al.* Struvite formation and the fouling propensity of different materials. **Water Research**, v. 36, n. 16, p. 3971-3978, 2002.
- DOYLE, J. D.; PARSONS, S. A. Struvite formation, control and recovery. **Water Research**, v. 36, n. 16, p. 3925-3940, 2002.
- ECHER, I. C. A revisão de literatura na construção do trabalho científico. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, Porto Alegre, v. 22, n. 2, p. 5-20, 2001.
- FARMACOPÉIA brasileira. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1977.
- FARMACOPEIA brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. pt. II, fasc. 3.
- FEDERAÇÃO de Agricultura do ES prevê que 2016 será difícil para o agro. **Sociedade Nacional de Agricultura**, 29 dez. 2015. Disponível em: <http://sna.agr.br/federacao-de-agricultura-do-es-preve-que-2016-sera-dificil-para-o-agro/>. Acesso em: 17 out. 2022.
- FERNANDES, A. N. *et al.* Remoção dos hormônios 17β -estradiol e 17α -etinilestradiol de soluções aquosas empregando turfa decomposta como material adsorvente. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 9, p. 1526-1533, 2011.
- FERREIRA, O. P. **Nanotubos de carbono**: preparação e caracterização. Monografia de qualificação (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.
- FERTILIZANTES: adubação orgânica – introdução e vantagens. **Agrolink**, 3 mar. 2022. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/fertilizantes/adubacao->

organica/adubacao-organica---introducao-e-vantagens_361468.html. Acesso em: 17 dez. 2022.

- FLOXACIN. Responsável técnico: Fernando C. Lemos. Campinas: MSD, 2013.1 bula de remédio.
- FONSECA, C. A. *et al.* Exploiting ion-pair formation for the enhancement of electroanalytical determination of pyridoxine (B₆) onto polyurethane-graphite electrodes. **Microchemical Journal**, v. 99, n. 2, p. 186-192, 2011.
- FUCHS, F. D.; WANNMANCHER, L. **Farmacologia clínica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1998.
- GADELHA, R. S. S.; CELESTINO, R. C. A.; SHIMOYA, A. Efeito da urina de vaca na produtividade de abacaxi. **Pesquisa Agropecuária & Desenvolvimento Sustentável**, v. 1, p. 91-95, 2002.
- GADELHA, R. S. S.; CELESTINO, R. C. A.; SHIMOYA, A. Efeito da utilização de urina de vaca na produção da alface. **Pesquisa Agropecuária & Desenvolvimento Sustentável**, v. 1, p. 179-182, 2003.
- GALLI, A. *et al.* Electroanalytical techniques for the determination of pesticides in foods. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 105-112, 2006.
- GHICA, M. E.; FERREIRA, G. M.; BRETT, C. M. Poly(thionine)-carbon nanotube modified carbon film electrodes and application to the simultaneous determination of acetaminophen and dipyrone. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 19, p. 2869-2881, 2015.
- GOMES, R. N. *et al.* Understanding the dipyrone oxidation allying electrochemical and computational approaches. **Analytica Chimica Acta**, v. 1051, p. 49-57, 2019.
- GOPU, G. *et al.* Determination of three analgesics in pharmaceutical and urine sample on nano poly (3, 4-ethylenedioxythiophene) modified electrode. **Ionics**, v. 18, p. 231-239, 2012.
- GOYAL, R. N.; RANA, A. R. S.; CHASTA, H. Electrochemical sensor for the sensitive determination of norfloxacin in human urine and pharmaceuticals. **Bioelectrochemistry**, v. 83, p. 46-51, 2012.
- GUIDELINES on the use of urine and faeces in crop production. **EcoSanRes**, May 2008. Disponível em: http://www.ecosanres.org/pdf_files/ESR-factsheet-06.pdf. Acesso em: 17 out. 2022.

- HAMNCA, S. *et al.* Electrochemical determination of neomycin and norfloxacin at a novel polymer nanocomposite electrode in aqueous solution. **Analytical Letters**, v. 50, n. 12, p. 1887-1896, 2017.
- HIRSH, R. *et al.* Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **Science of Antibiotics in the Aquatic Environment**, v. 225, n. 1-2, p. 109-118, 1999.
- HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6. ed. Porto Alegre: Bookmam, 2009.
- HUANG, K. J. *et al.* Electrochemical behavior and voltammetric determination of norfloxacin at glassy carbon electrode modified with multi walled carbon nanotubes/ Nafion. **Colloids and Surfaces B: biointerfaces**, v. 64, n. 2, p. 269-274, 2008.
- HUANH, K. J.; XU, C. X.; XIE, W. Z. Electrochemical behavior of norfloxacin and its determination at poly (methyl red) film coated glassy carbon electrode. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 29, n. 5, p. 988-992, 2008.
- HUMBERTO, L. M. J. **Eletrodos voltamétricos e amperométricos para a determinação de espécies de interesse farmacêutico**. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade de São Carlos, São Carlos, 2007.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006**: agricultura familiar. Primeiros resultados. Brasília, 2006. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/50/agro_2006_agricultura_familiar.pdf. Acesso em: 6 set. 2018.
- IJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. **Nature**, v. 354, p. 56-58, 1991.
- JAIN, R. *et al.* Voltammetric determination of cefixime in pharmaceuticals and biological fluids. **Analytical Biochemistry**, v. 407, n. 1, p. 79-88, 2010.
- JOHANSSON, M. *et al.* **Urine separation**: closing the nutrient cycle. Stockholm: Stockholm Water Company, 2001.
- JOHNSON, A. C.; WILLIAMS, R. J. A model to estimate influent and effluent concentrations of estradiol, estrone, and ethinylestradiol at sewage treatment works. **Environmental Science & Technology**, v. 38, n. 13, p. 3649-3658, 2004.
- JORGENSEN, S. E.; HALLING-SORENSEN, B. Drugs in the environment. **Chemosphere**, v. 40, n. 7, p. 691-699, 2000.
- LAWRENCE, N. S. *et al.* Advances in the voltammetric analysis of small biologically relevant compounds. **Analytical Biochemistry**, v. 303, n. 1, p. 1-16, 2002.

- LEE, C. *et al.* Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene. **Science**, v. 321, n. 5887, p. 385-388, 2008.
- LEWANDOWSKI, A.; GALINSKI, M. Practical and theoretical limits for electrochemical double-layer capacitors. **Journal Power Sources**, v. 173, n. 2, p. 822-828, 2007.
- LI, C. Voltammetric determination of ethinylestradiol at a carbon paste electrode in the presence of cetyl pyridine bromine. **Bioelectrochemistry**, v. 70, n. 2, p. 263-268, 2007.
- LIND, B; BAN, Z.; BYDÉN, S. Volume reduction and concentration of nutrients in human urine. **Ecological Engineering**, v. 16, n. 4, p. 562-566, 2001.
- LIU, Y. M. *et al.* Determination of levofloxacin and norfloxacin by capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection and applications in human urine. **Electrophoresis**, v. 29, n. 15, p. 3207-3212, 2008.
- LIU, Z. *et al.* High-sensitive electrochemical sensor for determination of Norfloxacin and its metabolism using MWCNT-CPE/pRGO-ANSA/Au. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 257, p. 1065-1075, 2018.
- LOCATELLI, C. Catalytic-adsorptive stripping voltammetric determination of ultra-trace iridium (III). Application to fresh- and sea-water. **Talanta**, v. 85, n. 1, p. 546-550, 2011.
- LUTHER III, G. W. *et al.* Use of voltammetric solid-state (micro)electrodes for studying biogeochemical processes: laboratory measurements to real time measurements with an *in situ* electrochemical analyzer (ISEA). **Marine Chemistry**, v. 108, n. 3-4, p. 221-235, 2008.
- MASSART, D. L. *et al.* **Handbook of chemometrics and qualimetrics**: part A. New York: Elsevier, 1997.
- MEDEIROS, R. A; ROCHA FILHO, R. C; FATIBELLO FILHO, O. Simultaneous voltammetric determination of phenolic antioxidants in food using a boron-doped diamond electrode. **Food Chemistry**, v. 123, n. 3, p. 886-891, 2010.
- MEENAKSHI, S.; PANDIAN, K.; GOPINATH, S. C. B. Quantitative simultaneous determination of pentoxifylline and paracetamol in drug and biological samples at graphene nanoflakes modified electrode. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 107, p. 15-23, 2020.
- MERKOÇI, A. *et al.* New materials for electrochemical sensing VI: carbon nanotubes. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 9, p. 826-838, 2005.

- MOSES, P. R.; WIER, P.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 1882-1886, 1975.
- MUIR, N. *et al.* Comparative bioavailability of aspirin and paracetamol following single dose administration of soluble and plain tablets. **Current Medical Research and Opinion**, v. 13, n. 9, p. 491-500, 1997.
- MUNA, G. W. *et al.* Electrochemical detection of steroid hormones using a nickel-modified glassy carbon electrode. **Electroanalysis**, v. 26, n. 10, p. 2145-2151, 2014.
- NASCIMENTO, V. B.; ANGNES, L. A. Eletrodos fabricados por "silk-screen". **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 5, p. 614-629, 1998.
- NIKOLAU, A.; MERIC, S.; FATTA, D. Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, p. 1225-1234, 2007.
- NOVALGINA. Dipirona monoidratada. **Anvisa**, 2019. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmvisualizarbula.asp?Pnutransacao=24854142016&pidanexo=4018378. Acesso em: 18 jul. 2019.
- NUNES, C. N. *et al.* Rapid screening method for detecting ethinyl estradiol in natural water employing voltammetry. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2016, article ID 3217080, 2016.
- O QUE É AGRICULTURA orgânica? **Associação de Agricultura Orgânica**, 2017. Disponível em: <http://aao.org.br/aao/agricultura-organica.php>. Acesso em: 20 fev. 2018.
- O QUE É AGRICULTURA orgânica? **Portal Sebrae**, 2016. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/sites/portalsebrae/artigos/o-que-e-agricultura-organica,69d9438af1c92410vgnvcm100000b272010arcrd>. Acesso em: 21 fev. 2018.
- O QUE SÃO FERTILIZANTES orgânicos, vantagens e desvantagens. **Ecycle**, 2016. Disponível em: <https://www.ecycle.com.br/6424-fertilizantes-organicos.html>. Acesso em: 17 out. 2022.
- O QUE SÃO PRODUTOS orgânicos? **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/organicos/o-que-sao-produtos-organicos>. Acesso em: 10 out. 2022.
- OLIVEIRA, L. H. *et al.* Comparação de processamentos matemáticos de dados voltamétricos: aplicação na determinação simultânea de fluoroquinolonas. **Química Nova**, São Paulo, v. 38, n. 10, p. 1300-1306, 2015.

- OLIVEIRA, N. L. C. *et al.* Efeito da urina de vaca no estado nutricional da alface. **Revista Ceres**, v. 57, n. 4, p. 506-515, 2010.
- OLIVEIRA, N. L. C. *et al.* Soil and leaf fertilization of lettuce crop with cow urine. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 431-437, 2009.
- OLIVEIRA, N. L. C. *et al.* Uso de urina de vaca no cultivo da beterraba de mesa. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 2, n. 2, p. 7-13, 2012.
- PACHECO, W. F. *et al.* Voltametrias: uma breve revisão sobre os conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516-537, 2013.
- PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6a, p. 1012-1021, 2002.
- PESAGRO-RIO. Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro. **Urina de vaca: alternativa eficiente e barata**. Niterói, 2001. (Documentos, v. 68).
- PIECH, R. *et al.* Fast cathodic stripping voltammetric determination of elemental sulfur in petroleum fuels using renewable mercury film silver based electrode. **Fuel**, v. 97, p. 876-878, 2012.
- PRADHAN, S. K. *et al.* Human urine and wood ash as plant nutrients for red beet (*Beta vulgaris*) cultivation: impacts on yield quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 3, p. 2034-2039, 2010.
- PRODROMIDIS, M. I.; KARAYANNIS, M. I. Enzyme based amperometric biosensors for food analysis. **Electroanalysis**, v. 14, n. 4, p. 241-261, 2002.
- RAMADAN, A. A.; MANDIL, H.; HAFEZ, B. Determination of dipyrone in pure form and pharmaceutical formulations by differential pulse polarographic analysis. **Asian Journal of Chemistry**, v. 23, n. 1, p. 403-406, 2011.
- RAVIKUMAR, R. V. S. S. N. *et al.* Orthorhombic site symmetry of Cr^{3+} in $ZnNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ crystals. **Crystal Research & Technology**, v. 34, n. 7, p. 911-914, 1999.
- RIOS, E. C. *et al.* Utilização de águas amarelas como fertilizante natural no cultivo agrícola. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 24., 2-7 set. 2007, Belo Horizonte. **Anais** [...]. Belo Horizonte: Abes, 2007.
- ROSA, T. R.; RODRIGUES, J. G. A.; FERREIRA, R. Q. Uso do planejamento experimental para otimização de um procedimento voltamétrico para determinação simultânea das concentrações dos metais Zn, Cd, Pb e Cu livres em água de coco. **Química Nova**, São Paulo, v. 39, n. 2, p. 221-228, 2016.

- ROSATTO, S. S. *et al.* Biossensores amperométricos para determinação de compostos fenólicos em amostras de interesse ambiental. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 77-86, 2001.
- RUFINO, J. L. *et al.* Sequential injection analysis with spectrophotometric detection for determination of norfloxacin and ciprofloxacin in pharmaceutical formulations. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 256-261, 2011.
- RUMIN, M. *et al.* Voltammetry and flow injection analysis with amperometric detection for sensitive sodium metamizole determination on glassy carbon electrode modified with SWCNTs/Nafion. **ECS Journal of Solid State Science and Technology**, v. 5, n. 8, p. M3005-M3011, 2016.
- SACILOTO, T. R. **Desenvolvimento e aplicação de eletrodos compósitos impressos a base de grafite e poliuretano**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.
- SANTOS, A. M. *et al.* Square-wave adsorptive anodic stripping voltammetric determination of norfloxacin using a glassy carbon electrode modified with carbon black and CdTe quantum dots in a chitosan film. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 3, article n. 148, 2 Feb. 2019.
- SENA, A. S. *et al.* Determinação de paracetamol em amostras farmacêuticas e ambientais utilizando a técnica eletroquímica de voltametria. **Revista Brasileira de Biodiversidade e Biotecnologia**, v. 2015, 2015.
- SERVIÇOS de entrega de orgânicos estão mais acessíveis. **Bio Brazil Fair**, 2019. Disponível em: <https://www.biobrazilfair.com.br/pt-br/noticias/96-mercado/403-servicos-de-entrega-de-organicos-estao-mais-acessiveis>. Acesso em: 13 jul. 2019.
- SHEIKHSHOAI, I.; NEJADI, F. G.; BEITOLLAHI, H. An electrochemical acetaminophen sensor based on La³⁺/Co₃O₄ nanoflowers modified graphite screen printed electrode architecture. **International Journal of Nano Dimension**, v. 20, p. 154-162, 2019.
- SILVA, F. H. **Detecção eletroquímica da norfloxacin e trimetoprim em amostras de urina utilizando polímero molecularmente impresso modificado e grafeno**. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto Superior de Engenharia do Porto, Porto, 2012.
- SILVA, H. *et al.* Molecularly imprinted sensor for voltammetric detection of norfloxacin. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 219, p. 301-307, 2015.

- SILVA, J. A. *et al.* Aplicação da metodologia de planejamento fatorial e análise de superfícies de resposta para otimização da fermentação alcoólica. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1073-1077, 2008.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; WEST, D. M. **Fundamentos de química analítica**. São Paulo: Cengage Learning, 2005.
- SMAJDOR, J. *et al.* Sensitive voltammetric determination of ethinyl estradiol on carbon black modified electrode. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 164, n. 13, p. H885-H889, 2017.
- SMAJDOR, J.; PACZOSA-BATOR, B.; PIECH, R. Voltammetric electrode based on Nafion and poly(2,3-dihydrothieno-1,4-dioxin)-poly(styrenesulfonate) film for fast and high sensitive determination of metamizole. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 163, n. 5, p. B146-B152, p. 146-152, 2016.
- SOUZA, R. B. D.; ALCÂNTARA, F. A. D. Adubação do sistema orgânico de produção de hortaliças. **Circular Técnica**: Embrapa Hortaliças, Brasília, n. 65, p. 1-8, jul. 2008. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPH-2009/34838/1/ct_65.pdf. Acesso em: 17 out. 2022.
- SOUZA FILHO, A. G.; FAGAN, S. B. Funcionalização de nanotubos de carbono. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 7, p. 1695-1703, 2007.
- SUZUKI, H. Miniaturized electroanalytical sensor systems in micromachined structure. **Electroanalysis**, v. 12, n. 9, p. 631-639, 2000.
- SVANCARA, I. *et al.* Carbon paste electrodes in modern electroanalysis. Critical review. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 4, p. 311-345, 2001.
- TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 338-350, 2006.
- TRINDADE, M. A. G. **Métodos eletroanalíticos e cromatográficos aplicados na análise de corantes usados como marcadores em combustíveis**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2009.
- TRINDADE, M. A. G.; FERREIRA, V. S.; ZANONI, M. V. B. A square-wave voltammetric method for analysing the colour marker quinizarine in petrol and diesel fuels. **Dyes and Pigments**, v. 74, n. 3, p. 566-571, 2007.

- TRINDADE, M. A. G.; ZANONI, M. V. B. Voltammetric sensing of the fuel dye marker Solvent Blue 14 by screen-printed electrodes. **Sensors And Actuators B: Chemical**, v. 138, n. 1, p. 257-263, 2009.
- TU, N. T. T. *et al.* Microwave-assisted synthesis and simultaneous electrochemical determination of dopamine and paracetamol using ZIF-67-modified electrode. **Journal of Materials Science**, v. 54, p. 11654-11670, 2019.
- UYSAL, A.; YILMAZEL, Y. D.; DEMIRER, G. N. The determination of fertilizer quality of the formed struvite from effluent of a sewage sludge anaerobic digester. **Journal of Hazardous Materials**, v. 181, n. 1-3, p. 248-254, 2010.
- VAIRAVAPANDIAN, D.; VICHCHULADA, P.; LAY, M. D. Preparation and modification of carbon nanotubes: review of recent advances and applications in catalysis and sensing. **Analytica Chimica Acta**, v. 626, n. 2, p. 119-129, 2008.
- VANINI, G. *et al.* Multivariate optimisation of ICP OES instrumental parameters for Pb/Ba/Sb measurement in gunshot residues. **Microchemical Journal**, v. 120, p. 58-63, May 2015.
- VEIOPOULOU, C. J.; IOANNOU, P. C.; LIANIDOU, E. S. Application of terbium sensitized fluorescence for the determination of fluoroquinolone antibiotics pefloxacin, ciprofloxacin and norfloxacin in serum. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 15, n. 12, p. 1839-1884, 1997.
- VICENTINI, F. C. *et al.* Planejamento fatorial e superfície de resposta: otimização de um método voltamétrico para a determinação de Ag (I) empregando um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 825-830, 2011.
- VO-DINH, T.; CULLUM, B. Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostics. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 366, n. 6-7, p. 540-551, 2000.
- WANG, J. **Analytical electrochemistry**. 2. ed. New Jersey: Wiley-VCH, 2000.
- WANG, J. Electrochemical detection for microscale analytical systems: a review. **Talanta**, v. 53, n. 2, p. 223-231, 2001.
- WEI, Z. *et al.* Simultaneous determination of acetaminophen and tyrosine using screen-printed electrochemical sensor based on MWCNTs-doped poly(glycine)/poly(acrylic acid) conducting polymers. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 14, p. 6748-6758, 2019.

- YE, Z.; WANG, L.; WEN, J. A simple and sensitive method for determination of Norfloxacin in pharmaceutical preparations. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 2, p. 429-437, 2015.
- ZHANG, F. *et al.* A novel sensor based on electropolymerization of β -cyclodextrin and L-arginine on carbon paste electrode for determination of fluoroquinolones. **Analytica Chimica Acta**, v. 770, p. 53-61, 2013.
- ZHANG, Y. *et al.* Simultaneous voltammetric determination of acetaminophen and isoniazid using MXene modified screen-printed electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 130, p. 315-321, 2019.

SOBRE O AUTOR

Luiz Ricardo Guterres e Silva é doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais (PPGCM-So) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), *campus* Sorocaba; mestre em Química (Eletroquímica e Eletroanalítica); e graduado (Licenciatura) em Química pela Universidade Federal do Espírito Santo. Tem experiência nas áreas de ciência dos materiais e química analítica, com ênfase em desenvolvimento de filamentos condutivos aplicados na eletroanalítica/eletroquímica, atuando principalmente com os seguintes temas: desenvolvimento de compósitos condutivos e novas rotas de fabricação, produção de dispositivos eletroquímicos impressos em 3D, (bio)sensores eletroquímicos e *screen printed electrodes*.



ÍNDICE REMISSIVO

A

- adubo orgânico, *ver* fertilizante orgânico
agricultura familiar 19, 20
agricultura orgânica 15, 16, 20
agrotóxico 19
análise *in loco* 17, 18, 30, 113, 114, 115, 117,
119
análise portátil 15, 42, 44, 49, 73, 113, 114,
115, 119

C

- contaminante emergente 15, 16, 119

D

- determinação de fármacos 16, 17, 18, 27, 28,
35, 37, 41-57, 59, 60, 63, 67, 71, 73, 75,
86, 88, 89, 91, 92, 94, 95, 97, 98, 101,
102, 106, 107, 109, 110, 113, 114, 115
difração de raio-X 50, 69, 70

- dipirona 15, 16, 17, 22, 25-27, 30, 41, 42, 46,
47, 48, 49, 50, 51, 55, 56, 59-73, 86, 98,
113, 117

E

- eletroanálise, *ver* eletroanalítica
eletroanalítica 15, 16, 17, 30, 31-35, 46, 49,
117
eletrodeposição 48, 50, 51-52, 53, 75, 79, 80,
82, 85, 114, 117
eletrodo de trabalho 17, 50, 52, 55, 56
eletrodo impresso de carbono com níquel ele-
trodepositado (SPEC-Ni) 51, 52, 53,
79, 80, 86, 89, 117, 118
eletrodo impresso de carbono (SPEC) 39,
43, 45, 48, 50, 52, 53, 55, 56, 59, 60,
64, 65, 73, 79, 80, 82, 91, 92, 94, 95,
101, 102, 107, 111, 114, 115, 117, 118, 119
eletrodo impresso (SPE) 17, 37-39, 41, 42,
44, 46, 50, 65, 113, 114, 115, 118, 119

eletrodo miniaturizado 17, 18, 37
eletrodo quimicamente modificado 42, 43,
44, 45, 113, 114, 115
eletroquímica 30, 31, 34, 38
estruvita 15, 16, 21, 22, 23, 48, 49, 50, 51, 55,
56, 57, 60, 69, 70, 71, 72, 73, 89, 90,
92, 98, 99, 100, 102, 110, 111, 112, 118
etinilestradiol 15, 16, 17, 22, 28, 29, 30, 35,
44, 46, 48, 49, 51-55, 56, 57, 68, 75-90,
98, 110, 114, 117, 118, 119

F

fármaco 15, 16, 17, 18, 25-30, 44, 48, 68, 73,
106, 118, 119
farmacopeia brasileira 27, 28
fertilizante orgânico 15, 16, 19, 20, 21
fertilizante sintético 15, 19, 21

I

interferente 31, 48, 51, 55, 56, 57, 60, 68, 69,
70, 86, 87, 98, 102, 109, 110, 117, 118

N

norfloxacino 15, 16, 17, 22, 27, 28, 30, 43,
44, 46, 48, 49, 51, 55, 56, 57, 68, 86,
91-100, 110, 114, 115, 117, 118
Núcleo de Bioengenharia Aplicada ao Sanea-
mento 16, 22, 23, 48

O

otimização multivariada 35

P

paracetamol 15, 16, 17, 22, 26, 29, 30, 45, 46,
48, 49, 56, 57, 98, 101-112, 115, 117, 118

Q

química analítica 37

S

screen-printed electrode (SPE), *ver* eletrodo
impresso (SPE)
sensor eletroquímico 15, 16, 17, 18, 37-39
square wave voltammetry (SWV), *ver* voltame-
tria de onda quadrada

T

técnica voltamétrica, *ver* voltametria

U

urina 15, 16, 21, 22, 23, 26, 29, 30, 48, 49,
50, 51, 55, 56, 57, 71, 72, 73, 89, 99, 111

V

voltametria 15, 16, 17, 28, 31, 32, 33, 34, 37,
41, 42, 43, 44, 45, 50, 51, 52, 53, 55, 56,
57, 59, 60, 79, 80, 88, 91, 92, 94, 97,
101, 102, 109, 113, 114, 115, 117, 118, 119
voltametria cíclica 16, 31, 32, 33, 42, 50, 51,
52, 53, 55, 56, 59, 60, 79, 80, 91, 92,
101, 102, 117
voltametria de onda quadrada 16, 17, 31, 33-
35, 42, 43, 50, 51, 54, 55, 56, 57, 61, 63,
64, 80, 82, 86, 87, 89, 95, 104, 105, 106,
107, 114, 117, 118

voltametria de pulso diferencial 42, 43, 45,
113, 114, 115
voltametria de varredura linear 44, 45, 55,
56, 94, 113, 114, 117, 118
voltametria linear 42, 44, 56, 57

Este livro apresenta os resultados do estudo realizado durante o período de mestrado em Química do autor (2018-2020). A inspiração para o trabalho tem a ver com o fato de o estado do Espírito Santo ter um alto índice de pequenos agricultores orgânicos e familiares que empregam o uso de fertilizantes orgânicos diariamente. Entretanto, o controle de qualidade para que os fertilizantes orgânicos estejam livres de contaminantes nocivos ao meio ambiente e aos seres humanos torna-se um empecilho devido ao alto custo das análises e à impossibilidade de realização desses testes *in loco*. Com isso, há uma urgente necessidade de novos métodos eficazes e simples para monitorar os contaminantes, tais como os fármacos, pois atualmente estes são uma classe de contaminantes emergentes que podem causar danos severos ao meio ambiente e à saúde humana. Diante desse cenário, esta obra foca no desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas ecologicamente amigáveis, portáteis e com possibilidade de aplicação *in loco*, empregando sensores eletroquímicos impressos e descartáveis para monitorar fármacos em fertilizantes orgânicos.



Luiz Ricardo Guterres e Silva é doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais (PPGCM-So) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), *campus* Sorocaba; mestre em Química (Eletroquímica e Eletroanalítica); e graduado (Licenciatura) em Química pela Universidade Federal do Espírito Santo. Tem experiência nas áreas de ciência dos materiais e química analítica, com ênfase em desenvolvimento de filamentos condutivos aplicados na eletroanalítica/eletroquímica, atuando principalmente com os seguintes temas: desenvolvimento de compósitos condutivos e novas rotas de fabricação, produção de dispositivos eletroquímicos impressos em 3D, (bio)sensores eletroquímicos e *screen printed electrodes*.

Este livro foi vencedor do **1º Prêmio Ufes de Teses e Dissertações**, como o melhor trabalho da Grande Área **Ciências Exatas e da Terra** defendido no quadriênio 2017-2020.

A expansão da agricultura orgânica é crescente nos últimos anos e a quantidade de fertilizantes orgânicos usada tem aumentado, tornando, por conseguinte, cada vez mais necessária a aplicação de métodos que possam garantir que esses adubos estejam livre de contaminantes. Os fármacos são considerados uma classe emergente de contaminantes e necessitam de um controle rigoroso devido ao alto índice de problemas ambientais e de saúde que podem ocasionar. Desse modo, torna-se de suma importância a criação de novas metodologias ecologicamente amigáveis, que requeiram uma baixa quantidade de amostras e de reagentes e que sejam portáteis, rápidas, simples e de baixo custo. Com esse intuito, esta obra apresenta, passo a passo, o desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas empregando eletrodos impressos descartáveis para o monitoramento de fármacos em fertilizantes orgânicos.