



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JESSICA SCREMIN

**SENSORES VOLTAMÉTRICOS BASEADOS NA
MODIFICAÇÃO DE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO
COM *CARBON BLACK* DISPERSO EM DIFERENTES
SOLUÇÕES E SUAS APLICAÇÕES EM AMOSTRAS
FARMACÊUTICAS, BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS**

Londrina
2021

JESSICA SCREMIN

**SENSORES VOLTAMÉTRICOS BASEADOS NA
MODIFICAÇÃO DE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO
COM *CARBON BLACK* DISPERSO EM DIFERENTES
SOLUÇÕES E SUAS APLICAÇÕES EM AMOSTRAS
FARMACÊUTICAS, BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS**

Tese apresentada junto à Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial exigido pelo Programa de Pós-graduação em Química, curso de Doutorado em Química – Associação ampla UEL/UEPG/Unicentro, para a obtenção do título de Doutora em Química com área de concentração em Química analítica.

Orientador: Prof. ^a Dr.^a Elen Julciléia Romão Sartori Braz

Londrina
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

S433s Scremin, Jessica.

Sensores voltamétricos baseados na modificação de eletrodo de carbono vítreo com carbon black disperso em diferentes soluções e suas aplicações em amostras farmacêuticas, biológicas e ambientais / Jessica Scremin. - Londrina, 2021.
134 f. : il.

Orientador: Elen Julciléia Romão Sartori Braz.
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2021.
Inclui bibliografia.

1. Eletrodo modificado - Tese. 2. Carbon black - Tese. 3. Hidrocloreto de poli(animina) - Tese. 4. Botriosferana - Tese. I. Braz, Elen Julciléia Romão Sartori . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU 54

JESSICA SCREMIN

**SENSORES VOLTAMÉTRICOS BASEADOS NA
MODIFICAÇÃO DE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO
COM *CARBON BLACK* DISPERSO EM DIFERENTES
SOLUÇÕES E SUAS APLICAÇÕES EM AMOSTRAS
FARMACÊUTICAS, BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS**

Tese apresentada junto à Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial exigido pelo Programa de Pós-graduação em Química, curso de Doutorado em Química – Associação ampla UEL/UEPG/Unicentro, para a obtenção do título de Doutora em Química com área de concentração em Química analítica.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Orientadora: Prof.^a Dr.^a Elen Julciléia
Romão Sartori Braz
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Marcos Fernando de Souza Teixeira
Universidade Estadual Paulista – UNESP

Prof. Dr. Lucio César de Almeida
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Henrique de Santana
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof.^a Dr.^a Diana Nara Ribeiro de Sousa
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 10 de dezembro de 2021.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus,
por ser essencial na minha vida,
e aos meus pais Marcia e Otávio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele nada seria possível, por me dar forças e coragem nas horas difíceis, por sempre estar junto a mim quando precisei.

A Prof^a Dr^a Elen Sartori, minha orientadora e amiga de tantos anos, que vem acompanhando todo o meu progresso, sempre me ajudando a alcançar meus sonhos.

Ao Prof. Dr. Craig Banks, por me receber em seu grupo de pesquisa na Manchester Metropolitan University, onde me possibilitou um grande aprendizado.

Aos Profs Dr^a Anelli Barbosa-Dekker e Dr. Roberts Dekker pelo fornecimento da botriosferana.

Aos meus pais Marcia, Otavio e meus irmãos, que estiveram presentes sempre que precisei.

Aos meus avós Maria, Aneide e Otavio por sempre torcerem por mim, tenho muita sorte de tê-los em minha vida. Vocês são muito especiais para mim.

Aos meus amigos que estão comigo desde a graduação sempre me dando apoio: Bruna, Eduardo, Gustavo, Louise, Vanessa, Yasmin. Em especial, a minha grande amiga Jessica, que sempre esteve ao meu lado e sempre foi um porto seguro para mim.

As minhas amigas que trago da minha infância Ana Cláudia, Marina e Viviane, são muito especiais para mim.

Aos meus grandes amigos do LAES e LQP, Adriana, Bruna, Carlos, Gabriel, Giulio, Jaqueline, Kayque, Natália, Renan, Rodrigo e o Lucca nosso membro postigo.

Aos meus companheiros de laboratório de Manchester, Alejandro, Samuel e Mohin, em especial as amizades que levo comigo para a vida Jéssica, Hadil, Whitchuta, Mandeep e Ryan.

E por fim, mas não menos importante minhas amigas de Manchester, Isabela, Paula e Raquel, que se tornaram minha *Mancunian Family*. Saudades meninas.

Agradecimento a CAPES pela bolsa de doutorado cedida a mim e ao CNPq pela bolsa de doutorado sanduíche no exterior.

SCREMIN, Jessica. **Sensores voltamétricos baseados na modificação de eletrodo de carbono vítreo com carbon black disperso em diferentes soluções e suas aplicações em amostras farmacêuticas, biológicas e ambientais.** 2021. 147 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

RESUMO

Neste trabalho foi apresentado o *carbon black* (CB) como um agente modificador da superfície do eletrodo de carbono vítreo (ECV). O CB foi disperso em dois diferentes meios, em dimetilformamida (DMF) e em água ultrapura com o auxílio do hidrocloreto de poli(animina) (PAH). Em ambos foi possível observar uma dispersão total do CB na solução, e assim utilização dessas dispersões para a modificação do ECV. Foram desenvolvidos dois diferentes sensores eletroquímicos, o primeiro modificado com filme de CB em DMF e um exopolissacarídeo, a botriosferana (BOT) (CB-BOT/ECV); o segundo modificado somente com CB em filme de PAH (CB-PAH/ECV). Os sensores foram caracterizados eletroquimicamente e em todos os casos apresentaram uma melhora na resposta eletroquímica do sensor quando comparado ao ECV sem modificação. Foi também apresentada aplicações desses sensores na determinação de diversos analitos, sendo eles um relaxante muscular, a ciclobenzaprina; um neurotransmissor, a dopamina; um analgésico, o paracetamol; um anti-hipertensivo, o anlodipino; e uma estatina, a rosuvastatina. Por fim, os sensores foram aplicados na determinação desses analitos em amostras de soro sanguíneo de rato, amostras farmacêuticas e ambientais.

Palavras-chave: eletrodo modificado; *carbon black*; hidrocloreto de poli(animina); botriosferana; determinação simultânea.

SCREMIN, Jessica. **Voltammetric sensors based on the modification of glassy carbon electrode with carbon black dispersed in different solutions and their applications in pharmaceutical, biological and environmental samples.** 2021. 147 p. Thesis (Doctorate's degree in Chemistry) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

ABSTRACT

This work presents Carbon Black (CB) as a surface modifying agent for the glass carbon electrode (GCE). CB was dispersed in two different solutions, into dimethylformamide (DMF) and into ultrapure water with the aid of a dispersing agent, poly(animine) hydrochloride (PAH). For both materials, the CB dispersion was total, making it possible to use those dispersions to modify the GCE surface. Three different electrochemical sensors were developed, the first was modified with CB in DMF and an exopolysaccharide, botryosphan (BOT) (CB-BOT/GCE); the second was modified only with CB in PAH film (CB-PAH/GCE); and the third was modified with CB in PAH film integrated with silver nanowires (AgNWs) (AgNWs-CB(PAH)/GCE). The sensors were electrochemically characterized and in all cases showed an improvement in the electrochemical response when compared to bare GCE. These sensors were used to the determination of several analytes, including a muscle relaxant, cyclobenzaprine; a neurotransmitter, dopamine; an analgesic, acetaminophen; an antihypertensive, amlodipine, and a statin, rosuvastatin. A method for the determination of these analytes in real samples was developed employing the square wave voltammetry and linear sweep voltammetry techniques. Finally, the sensors were successfully applied for the quantification of these analytes in complex matrix samples such as: rat blood serum, pharmaceutical, and environmental samples.

Key words: modified electrode; carbon black; poly(animine) hydrochloride; botryosphan.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Representação (A) estrutural do plano de camada aromática com os grupos funcionais e (B) estrutural atômico do carbon black.....24
- Figura 2** – Representação estrutural da BOT, com suas ramificações de unidades glicosídicas e gentiobiosídicas a cada cinco unidades na cadeia principal27
- Figura 3** – Estrutura molecular da CIC30
- Figura 4** – Representação da estrutura química da dopamina.....32
- Figura 5** – Representação da estrutura molecular do paracetamol.....33
- Figura 6** – Representação da estrutura química do anlodipino37
- Figura 7** – Representação da estrutura molecular da rosuvastatina39

CAPÍTULO 1

- Figura 1** – Representação esquemática do preparo do sensor CB-BOT/ECV62
- Figura 2** – Imagens obtidas por MEV da dispersão de CB (A) sem e (B) com BOT65
- Figura 3** – Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) obtidos na presença do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, empregando como eletrodo de trabalho o ECV sem modificação (—), BOT/ECV (—), CB/ECV (—) e BOT-CB/ECV (—).....66
- Figura 4** – Diagramas de Nyquist para espectroscopias de impedância na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para (●) GCE, (●) BOT/GCE, (●) CB-BOT/GCE. *Inserido:* ampliações das áreas de altas frequências do (A) ECV e (B) CB-BOT/GCE.....68
- Figura 5** – Gráfico de BODE para (A) ECV, (B) BOT/ECV e (C) CB-BOT/ECV na presença de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CIC em solução de KCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $+1,0 \text{ V}$ 69
- Figura 6** – Gráfico de Nyquist para (A) ECV, (B) BOT/ECV e (C) CB-BOT/ECV na presença de CIC $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução KCl

	0,10 mol L ⁻¹ . Os equivalentes modelo de circuitos propostos para (D) ECV e BOT/ECV e (E) CB-BOT/ECV	71
Figura 7	– Gráfico de Nyquist para (A) BOT/ECV e (B) ECV, na ausência e na presença de CIC na concentração de 50 μmol L ⁻¹ em solução de KCl 0,10 mol L ⁻¹	72
Figura 8	– Voltamogramas cíclicos (50 mV s ⁻¹) na presença de 50 μmol L ⁻¹ de CIC em KCl 0,1 mol L ⁻¹ , utilizando como eletrodo de trabalho: ECV (—), BOT/ECV (—), CB/ECV (—) e BOT-CB/ECV (—). Concentrações de CB e BOT iguais a 2,0 mg mL ⁻¹ e 0,78 mg mL ⁻¹ , respectivamente.....	74
Figura 9	– Voltamogramas cíclicos (50 mV s ⁻¹) para o BOT-CB/ECV empregando CB nas concentrações de (—) 1,0 mg mL ⁻¹ , (—) 2,0 mg mL ⁻¹ e (—) 3,0 mg mL ⁻¹ , na presença de 50 μmol L ⁻¹ de CIC em KCl 0,1 mol L ⁻¹	75
Figura 10	– Voltamogramas cíclicos (50 mV s ⁻¹) do BOT-CB/ECV em KCl 0,1 mol L ⁻¹ na presença de 50 μmol L ⁻¹ de CIC, obtidos para as diferentes proporções de alíquotas de CB e BOT na formação do filme: (—) 2:4, (—) 3:3 e (—) 4:2 (v/v, CB:BOT).....	76
Figura 11	– Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes eletrólitos suportes: (—) KCl, (—) NaCl, (—) BaCl ₂ , (—) K ₂ SO ₄ e (—) Na ₂ SO ₄ na concentração de 0,1 mol L ⁻¹ , na presença de CIC 50 μmol L ⁻¹ , utilizando o CB-BOT/ECV	77
Figura 12	– Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura: (1 – 8) 5 – 250 mV s ⁻¹ , em NaCl 0,1 mol L ⁻¹ na presença de CIC 50 μmol L ⁻¹ , empregando o no CB-BOT/ECV.....	78
Figura 13	– (A) Gráfico da variação da corrente de pico com a velocidade de varredura e (B) Gráfico do logaritmo da variação da intensidade de corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura.....	79
Figura 14	– Representação esquemática proposta para a reação de oxidação da CIC no CB-BOT/ECV.....	80
Figura 15	– (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para as seguintes concentrações de CIC: (1) 0, (2) 2,0, (3) 2,99, (4) 4,98, (5) 6,95, (6) 9,90, (7) 12,8, (8) 16,7 e (9) 20,6 μmol L ⁻¹ em	

	solução de NaCl 0,1 mol L ⁻¹ , utilizando o CB-BOT/ECV; (B) respectiva curva analítica.....	82
Figura 16	– (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para as seguintes concentrações de CIC: (1) 0, (2) 16,0, (3) 17,7, (4) 20,6, (5) 25,3, (6) 34,7, (7) 49,4, (8) 71,5 e (9) 102,3 μmol L ⁻¹ em solução de NaCl 0,1 mol L ⁻¹ , utilizando o CB-BOT/ECV; (B) respectiva curva analítica.....	83
 CAPÍTULO 2		
Figura 1	– Representação esquemática das etapas para o preparo do CB-PAH/ECV	103
Figura 2	– Representação do esquema para o preparo das amostras farmacêutica de DA, PAR, ANL e RSV	105
Figura 3	– Imagens do MEV para as superfícies de (A) carbono vítreo e (B) carbono vítreo modificado com CB-PAH.....	107
Figura 4	– Voltamograma cíclico (50 mV s ⁻¹) empregando como eletrodo de trabalho (—) ECV, (—) PAH/ECV e (—) CB-PAH/ECV. Em solução 0,1 mol L ⁻¹ de KCl e 50 μmol L ⁻¹ de cloreto de hexaaminorutênio (III)	108
Figura 5	– Diagrama de Nyquist obtido empregando o () ECV, () PAH/ECV e () CB-PAH/ECV em solução de KCl 0,1 mol L ⁻¹ na presença de cloreto de hexaaminorutenio (III) na concentração de 1,0 mmol L ⁻¹ , na amplitude de 10 mV e uma faixa de frequência de 10 Hz a 100 kHz. (A) a o circuito proposto para o CB-PAH/ECV. Inserido: Ampliação na região da alta-frequência do espectro do ECV.....	110
Figura 6	– Voltamogramas cíclico (50 mV s ⁻¹) obtidos em solução tampão BR (pH 3,0) contendo 0,4 mmol L ⁻¹ de DA, PAR, ANL e RSV empregando como eletrodo de trabalho: (—) ECV sem modificação, (—) PAH/ECV e (—) CB-PAH/ECV. Inserido: ampliações dos voltamogramas cíclico do () ECV e () PAH/ECV	112
Figura 7	– Voltamogramas cíclico (50 mV s ⁻¹) em tampão BR na presença de DA, PAR, ANL e RSV a 40 mmol L ⁻¹ , nos pH (—) 2,0, (—)	

)3,0, (—) 4,0, (—) 5,0 e (—) 6,0. CB-PAH/ECV empregado como eletrodo de trabalho.....113

Figura 8 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades (1-9: 5-350 mV s⁻¹) para DA, PAR, AML e RSV na concentração de 0,3 mmol L⁻¹ em solução de tampão fosfato (pH 2,0). Inserido: gráficos de (I) log I_{pa} vs. log v e (II) I_{pa} vs. v114

Figura 9 – (A) Voltamogramas de varredura linear obtidos empregando o CB-PAH/ECV para variação da concentração de (2 – 7) DA (1,0 – 22 $\mu\text{mol L}^{-1}$), PAR (2,4 – 27 $\mu\text{mol L}^{-1}$), ANL (12 – 90 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e RSV (7,8 – 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Respectivas curvas analíticas para (B) DA, (C) PAR, (D) ANL e (E) RSV119

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1** - Valores calculados do tempo de relaxação para os diferentes sensores produzidos70
- Tabela 2** - Parâmetros determinados a partir do fitting do espectro de espectroscopia de impedância eletroquímica na presença e ausência de CIC. O fitting foi baseado no circuito R(RC(RC)). Os erros apresentados para o ajustes foram menores de 2%72
- Tabela 3** - Parâmetros obtidos a partir do fitting do gráfico de espectroscopia de impedância eletroquímica na Figura 7. Os erros apresentados para o ajustes foram menores de 2%.....73
- Tabela 4** - Parâmetros das técnicas de VOQ e VPD, intervalo estudado e valores selecionados para a determinação de CIC81
- Tabela 5** - Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de CIC utilizando as técnicas de VOQ e VPD em solução de NaCl 0,1 mol L⁻¹84
- Tabela 6** - Comparação dos parâmetros analíticos obtidos por cromatografia, espectrofotometria e potenciometria em comparação com método voltamétrico proposto para a determinação de CIC85
- Tabela 7** - Determinação de CIC em formulações farmacêuticas utilizando o procedimento voltamétrico proposto e comparativo89

CAPÍTULO 2

- Tabela 1** - Amostras farmacêuticas e as respectivas concentração de cada analito104
- Tabela 2** - Parâmetros analíticos das curvas analíticas obtidas para a DA, PAR, ANL e RSV, empregando a voltametria cíclica em diferentes velocidades de varredura (10; 50; 75; 100 mV s⁻¹) utilizando como eletrodo de trabalho o CB-PAH/ECV em solução de tampão fosfato (pH 2,0)116
- Tabela 3** - Valores dos desvios padrões relativo e os slopes das curvas analítica obtidos quando empregado a voltametria de varredura

linear para a determinação de um analito na presença de uma mistura ternária dos outros analitos, sendo os analitos DA, PAR, ANL e RSV, o CB-PAH/ECV foi empregado como eletrodo de trabalho117

Tabela 4 - Parâmetros analíticos para determinação simultânea de DA, PAR, ANL e RSV por voltametria de varredura linear em solução de tampão fosfato (pH 2,0) empregando o CB-PAH/ECV119

Tabela 5 - Comparação das faixas lineares e limite de detecção para a determinação voltamétrica da DA, PAR, ANL e RSV empregando diferentes sensores121

Tabela 6 - Resultados obtidos para a determinação voltamétrica simultânea de DA, PAR, AML e RSV comparado com a determinação espectrofotométrica individual123

Tabela 7 - Valores obtidos para as amostras ambientais.....125

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANL	Anlodipino
BOT	Botriosferana
C	Capacitância
CB	Carbon black
CG	Cromatografia gasosa
CIC	Ciclobenzaprina
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CPE	Constante de fase
CPE2	Capacitância da adsorção
CPEdl	Capacitância da dupla camada eletrônica
DA	Dopamina
DMF	Dimetilformamida
ECV	Eletrodo de carbono vítreo
EIE	Espectroscopia de impedância eletroquímica
Epa	Potencial de pico anódico
Epa/2	Potencial de meio pico anódico
Epc	Potencial de pico catódico
EQM	Eletrodo quimicamente modificado
HMG-CoA	3-hidroxi-metilglutaril coenzima A
IUPAC	International union of pure and applied chemistry
LD	Limite de detecção
LDL	Colesterol de baixa densidade lipoprotéica
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
N	Número de elétrons
NFs	Nanofios metálico
NPsAu	Nanopartículas de ouro
NTsC	Nanotubos de carbono
NTsCPM	Nanotubos de carbono de parede múltiplas
NTsCPS	Nanotubos de carbono de parede simples
PAH	Hidrocloreto de polianimina
PAR	Paracetamol
R	Resistência

R Ω	Resistência da solução
R1	Resistência da transferência de carga
R2	Resistência da adsorção
RSV	Rosuvastatina
VC	Voltametria cíclica
VPD	Voltametria de pulso diferencial
VOQ	Voltametria de onda quadrada
W	Elemento de difusão

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	18
INTRODUÇÃO GERAL	20
1.1 SENSORES ELETROQUÍMICOS	21
1.1.1 Sensores Quimicamente Modificados	22
1.2 MATERIAIS À BASE DE CARBONO	24
1.2.1 Carbon Black	24
1.3 POLISSACARÍDEO	27
1.3.1 Botriosferana	27
1.4 HIDROCLORETO DE POLIALILAMINA	29
1.5 ANALITOS	30
1.5.1 Ciclobenzaprina	30
1.5.2 Dopamina	32
1.5.3 Paracetamol	34
1.5.4 Besilato de Anlodipino	37
1.5.5 Rosuvastatina Cálcica	39
REFERÊNCIAS	43
CAPÍTULO 1	58
RESUMO.....	60
1 INTRODUÇÃO	61
2 PARTE EXPERIMENTAL	65
2.1 REAGENTES E SOLUÇÕES	65
2.2 INSTRUMENTAÇÃO	66
2.3 OBTENÇÃO DE BOTRIOSFERANA	66
2.4 PREPARAÇÃO DO SENSOR	67
2.5 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS	68
2.6 PREPARO DAS AMOSTRAS	68
2.7 MÉTODO DE COMPARATIVO	69

3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
3.1	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ELETROQUÍMICA DO CB-BOT/ECV	71
3.2	ESTUDOS ELETROQUÍMICOS DA CICLOBENZAPRINA NO ELETRODO DESENVOLVIDO.....	79
3.2.1	Comportamento Voltamétrico da CIC em Diferentes Eletrodos.....	79
3.2.2	Estudo da Composição do Filme de CB e BOT.....	81
3.2.3	Estudo do Eletrólito Suporte	82
3.2.4	Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura.....	83
3.3	DESENVOLVIMENTO DO PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DE CICLOBENZAPRINA	86
3.3.1	Seleção dos Parâmetros Instrumentais das Técnicas Voltamétricas de Pulso e Curva Analítica	86
3.3.2	Comparação com Outros Métodos Analíticos para Determinação de Ciclobenzaprina.....	90
3.3.3	Estudo da Estabilidade e Repetibilidade do CB-BOT/ECV.....	94
3.4	APLICAÇÃO ANALÍTICA.....	95
3.4.1	Estudo de Interferentes e Recuperação	95
3.4.2	Aplicação do CB-BOT/ECV para a Determinação de CIC em Formulações Farmacêuticas, Soro Sanguíneo de Rato e Amostras de Água	95
4	CONCLUSÃO	98
	REFERÊNCIAS	100
	CAPITULO 2	105
	RESUMO.....	107
1	INTRODUÇÃO	109
2	PARTE EXPERIMENTAL	112
2.1	REAGENTES E SOLUÇÕES.....	112
2.2	INSTRUMENTAÇÃO.....	112

2.3	PREPARAÇÃO DO CB-PAH/ECV.....	113
2.4	PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS.....	114
2.5	PREPARO DAS AMOSTRAS.....	115
2.5.1	Preparo das Amostras Farmacêuticas de DA, PAR, ANL e RSV.....	115
2.5.2	Preparo das Amostras Biológicas para a Determinação de DA e PAR.....	117
2.5.3	Preparo das Amostras Ambientais para a Determinação de DA, PAR, ANL e RSV.....	118
2.5.4	Métodos Comparativo e de Referência.....	118
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	120
3.1	ESTUDO ELETROQUÍMICO DO CB-PAH/ECV E SUA APLICAÇÃO ELETROANALÍTICA.....	120
3.1.1	Caracterização Morfológica.....	120
3.1.2	Caracterização Eletroquímica Por Voltametria Cíclica e Espectroscopia de Impedância Eletroquímica.....	121
3.1.3	Aplicação do CB-PAH/ECV para a Determinação Simultânea de Multianálitos.....	124
3.1.4	Estudo do pH, Eletrólito Suporte e Efeito da Velocidade de Varredura Sobre a Resposta Analítica da DA, PAR, ANL e RSV.....	126
3.1.5	Aplicação do CB-PAH/ECV para a Determinação Simultânea de DA, PAR, ANL e RSV.....	129
3.2	APLICAÇÃO ANALÍTICA.....	135
3.2.1	Estudo dos Interferentes.....	135
4	CONCLUSÃO.....	139
	REFERÊNCIAS.....	141
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	146

APRESENTAÇÃO

Esta tese é composta inicialmente por uma introdução geral, em que são abordados todos os materiais utilizados para a construção das novas plataformas para que o leitor possa conhecê-los melhor. Em seguida, são apresentados os sensores desenvolvidos, separados em 2 capítulos.

O capítulo 1 aborda o desenvolvimento de um sensor voltamétrico fabricado pela imobilização do *carbon black* (CB) sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo (ECV) empregando a botriosferana (BOT). Ele foi caracterizado eletroquimicamente de maneira aprofundada empregando voltametria cíclica (VC) e a técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). Por fim, foi aplicado no desenvolvimento de um método voltamétrico para a determinação individual de ciclobenzaprina em amostras de medicamento, plasma de rato e água de torneira e rio.

O capítulo 2 apresenta o desenvolvimento do segundo sensor voltamétrico. Neste o hidrocloreto de poli(alilamina) (PAH) foi empregado, pela primeira vez na literatura, como um agente dispersante de CB. Estudos comprovaram a eficiência do PAH tanto para a dispersão de CB em água quanto para a sua imobilização na superfície do ECV. Por fim, o sensor foi aplicado no desenvolvimento de um método voltamétrico para a determinação simultânea de um neurotransmissor, um analgésico, um anti-hipertensivo e uma estatina em amostras de medicamento, soro sanguíneo simulado e água de torneira e de rio.

INTRODUÇÃO GERAL

No atual cenário mundial as análises químicas são de extrema importância para a sociedade. As empresas farmacêuticas, por exemplo, são indústrias que necessitam diariamente de analisar os medicamentos a serem comercializados e liberados para consumo da população, realizando um controle de qualidade do produto final, a fim de garantir a segurança e a saúde de seus consumidores, bem como manter o padrão de excelência da mesma. Além das indústrias farmacêuticas, as análises químicas são aplicadas em análises clínicas, como o monitoramento de compostos na corrente sanguínea e na vigilância ambiental, no monitoramento da contaminação de córregos.

Para o controle de insumos e produtos farmacêuticos utilizam-se procedimentos técnicos oficiais, que estão descritos em farmacopeias (BRAZIL, 2010; BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION, 2013; UNITED STATES PHARMACOPOEIAL CONVENTION, 2007). No geral, esses procedimentos empregam cromatografia líquida com detecção espectrofotométrica UV-Vis. Nesse tipo de técnica, faz-se uso de grandes quantidades de solventes orgânicos, alto tempo de análise e etapas prévias de extração e de limpeza da amostra. Além disso, é uma técnica dispendiosa, o que torna as análises de rotina inviáveis em diversos laboratórios de pesquisa e em empresas de pequeno ou médio porte.

A química analítica moderna tem como premissa básica o desenvolvimento de sistemas analíticos simples e de baixo custo para o monitoramento de analitos em diferentes amostras. O 11º princípio da “Química Verde”, estabelecidos por Anastas e Warner, é focado no desenvolvimento de métodos de monitoramento e controle dentro do processo, seja ele industrial ou de pesquisa, em tempo real, antes da formação de substâncias nocivas (ANASTAS, 1999; ANASTAS; WARNER, 1998). Neste sentido, o desenvolvimento de procedimentos analíticos para a detecção ou determinação, focados em análises ecologicamente corretas e seguras, são de interesse global.

Desse modo, as técnicas eletroquímicas surgem como uma alternativa de relativo baixo custo para esta finalidade, além de serem simples, apresentarem menor tempo de análise, preparo simplificado de amostra (apenas dissolução ou diluição) e a possibilidade do uso de água como solvente, em que este proporciona métodos analíticos amigáveis ao meio ambiente. Além disso, as

técnicas voltamétricas, como a voltametria de varredura linear, voltametria de onda quadrada (VOQ) e voltametria de pulso diferencial (VPD) são técnicas com alta sensibilidade e seletividade e em conjunto com eletrodos a base de carbono, modificados com materiais nanoestruturados, podem ser uma alternativa bem interessante para a determinação de fármacos em medicamentos, plasma sintético, água de rio e torneira.

1.1 SENSORES ELETROQUÍMICOS

Os sensores eletroquímicos são encontrados comercialmente e estão em contínuo desenvolvimento, uma vez que possuem importantes aplicações em diversas áreas, como, análises clínicas, industriais, ambientais e agrícolas (STRADIOTTO; YAMANAKA; ZANONI, 2003; WANG, Y. *et al.*, 2008). Frente a outros tipos de sensores químicos, como os óticos, magnéticos, térmicos e de massa (STRADIOTTO; YAMANAKA; ZANONI, 2003), os eletroquímicos se destacam devido a sua boa seletividade e sensibilidade, rapidez na detecção, simplicidade experimental e relativo baixo custo.

Segundo a IUPAC, os sensores eletroquímicos são capazes de transformar a interação eletroquímica entre o analito e o eletrodo em um sinal analítico útil (HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991). Esses sensores são constituídos de um reconhecedor, que tem a capacidade de transformar o sinal químico em elétrico e um transdutor que converte o sinal elétrico em um sinal analítico útil (LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006).

Um sensor eletroquímico pode ser classificado em eletrodo convencional, como por exemplo, ECV, eletrodo de diamante dopado com boro, eletrodo de ouro e eletrodo de platina, ou eletrodo modificado. Apesar das excelentes propriedades dos eletrodos convencionais, a modificação é realizada visando uma melhor seletividade e sensibilidade do sensor. Para isto, modificações químicas de sua superfície com materiais nanoestruturados são comumente realizadas e então aplicadas na determinação de fármacos em diversas matrizes (EISELE *et al.*, 2019; SCREMIN *et al.*, 2018; TALARICO *et al.*, 2015b)

1.1.1 Sensores Quimicamente Modificados

O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM) é empregado para designar eletrodo com espécies quimicamente ativas, imobilizadas na sua superfície com o objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução. Visa-se com essa modificação minimizar problemas com adsorção, bloqueio superficial e falta de sensibilidade e seletividade (MOSES; WIER; MURRAY, 1975; SOUZA, M. de F. B., 1997).

O primeiro trabalho que envolve modificação de superfícies de eletrodos foi relatado em 1973, quando Lane e Hubbard utilizaram quelatos de cadeias laterais olefínicas para modificarem a superfície de um eletrodo de platina (LANE; HUBBARD, 1973). Porém, foi somente em 1975 que Moses e colaboradores utilizaram o termo EQM quando modificaram um eletrodo de óxido de estanho com organossilanos (MOSES; WIER; MURRAY, 1975).

Os EQM são constituídos por duas partes, o eletrodo base e o modificador químico. A escolha do eletrodo base é um aspecto muito importante na construção de um EQM. O eletrodo deve apresentar características que sejam de interesse na eletroquímica, como, uma resposta estável e reprodutiva e não sofrer degradação (PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002). Eletrodos convencionais a base de carbono amplamente empregados na eletroanálise engloba o ECV (SARTORI; VICENTINI; FATIBELLO-FILHO, 2011; SCREMIN *et al.*, 2018), eletrodo de pasta (KARIMI-MALEH; AROTIBA, 2020; ZEINALI *et al.*, 2017), eletrodo de carbono impresso (DECHTRIRAT *et al.*, 2018; KARIMI-MALEH; AROTIBA, 2020) e eletrodos de metais, tais como, o eletrodo de ouro (WANG, M. *et al.*, 2015) e platina (BAGHAYERI; VEISI; GHANEI-MOTLAGH, 2017).

Dentre os agentes modificadores empregados, os materiais nanoestruturado se destacam, devido a sua grande área superficial, podendo assim aumentar a área eletroativa e condutividade do eletrodo, fornecendo melhora na sensibilidade e seletividade analítica. Na literatura, há trabalhos empregando nanotubos de carbono (NTsC) (QUEIROZ, D. *et al.*, 2018; SARTORI; TAKEDA; FATIBELLO-FILHO, 2011), CB (SMAJDOR *et al.*, 2018; WONG; SANTOS; FATIBELLO-FILHO, 2018), nanopartículas metálicas (RENEDO; MARTÍNEZ, 2007; SUHERMAN *et al.*, 2017) e nanocompósitos (BAGHAYERI; VEISI; GHANEI-MOTLAGH, 2017; SCREMIN *et al.*, 2018).

Outro aspecto importante no preparo de um EQM é o tipo de estratégia utilizada para a inserção do agente modificador sobre a superfície do eletrodo base, podendo-se citar os seguintes métodos: adsorção irreversível direta, ligação covalente, recobrimento do eletrodo com filmes poliméricos e o emprego de materiais compósitos (PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002; ZEN; SENTHIL KUMAR; TSAI, 2003).

A adsorção foi o método pioneiro no processo de modificação de superfícies de eletrodos e em consequência de sua simplicidade e eficiência em alguns casos, é empregado até hoje. Ele consiste na dissolução do agente modificador em um solvente apropriado e na exposição, em geral por imersão, do eletrodo à solução. Assim a adsorção ocorre por forças eletrostáticas, hidrofóbicas ou dispersivas sobre a superfície do eletrodo. Apesar de ser um método fácil, possui a desvantagem de ter um EQM com no máximo uma monocamada (PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002; ZEN; SENTHIL KUMAR; TSAI, 2003).

No método de ligação covalente, o agente modificador é ligado ao substrato do eletrodo por meio de ligações covalentes. Nos eletrodos a base de carbono, a ligação covalente ocorre nos grupos funcionais contendo oxigênio, álcoois, fenóis, anidridos e cetonas, frente a reagentes como aminas, organosilanos, cloreto de tionila, entre outros. Esse método resulta em uma interação muito mais efetiva em relação aos demais métodos, porém, é um método que exige mais tempo e maior dificuldade em sua execução (PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002; ZEN; SENTHIL KUMAR; TSAI, 2003).

Em filmes poliméricos, o recobrimento da superfície do eletrodo base se dá com filmes poliméricos, os quais devem ser condutores ou permeáveis ao eletrólito suporte e ao analito. Diferente dos outros métodos, esta modificação permite a imobilização de diversas monocamadas da espécie ativa sobre a superfície do eletrodo, sendo possível amplificar consideravelmente a resposta eletroquímica (PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002; ZEN; SENTHIL KUMAR; TSAI, 2003).

O método dos materiais compósitos consiste na combinação de dois ou mais materiais de diferente natureza. Os componentes mantêm suas características individuais e apresentam novas características físicas, químicas ou biológicas, resultantes dessa mistura. É um método excelente para a modificação de eletrodos de pasta (grafite, NTsC), por ter o substrato do eletrodo misturado com o

agente modificador, resultando em uma distribuição mais homogênea (PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002; ZEN; SENTHIL KUMAR; TSAI, 2003).

O material escolhido deve apresentar características eletroquímicas apropriadas como manter uma resposta estável e reprodutiva, não apresentar degradação, e não sofrer reações de oxirredução que possam alterar a sua estrutura bem como o resultado obtido na análise (PEREIRA et al., 2002).

1.2 MATERIAIS À BASE DE CARBONO

A escolha do material transdutor é um aspecto importante para a construção de novas plataformas eletroquímicas, pois este é responsável em converter a resposta biológica em um sinal analítico quantificável. Neste sentido, os materiais a base de carbono vêm se destacando devido a suas excelentes propriedades eletroquímicas, entre eles, CB (ARDUINI *et al.*, 2015; FERNANDES; CHIORCEA-PAQUIM; OLIVEIRA-BRETT, 2020), NTsC (SALAMANCA-NETO *et al.*, 2020; WEI *et al.*, 2014), grafeno (KEMMEGNE-MBOUGUEN *et al.*, 2020), óxido de grafeno (MANI; PERIASAMY; CHEN, 2012) e nanofibras de carbono (WU, L.; ZHANG; JU, 2007). O CB é um novo material a base de carbono e que possui escalas nanométricas e será destaque nesta tese.

1.2.1 Carbon Black

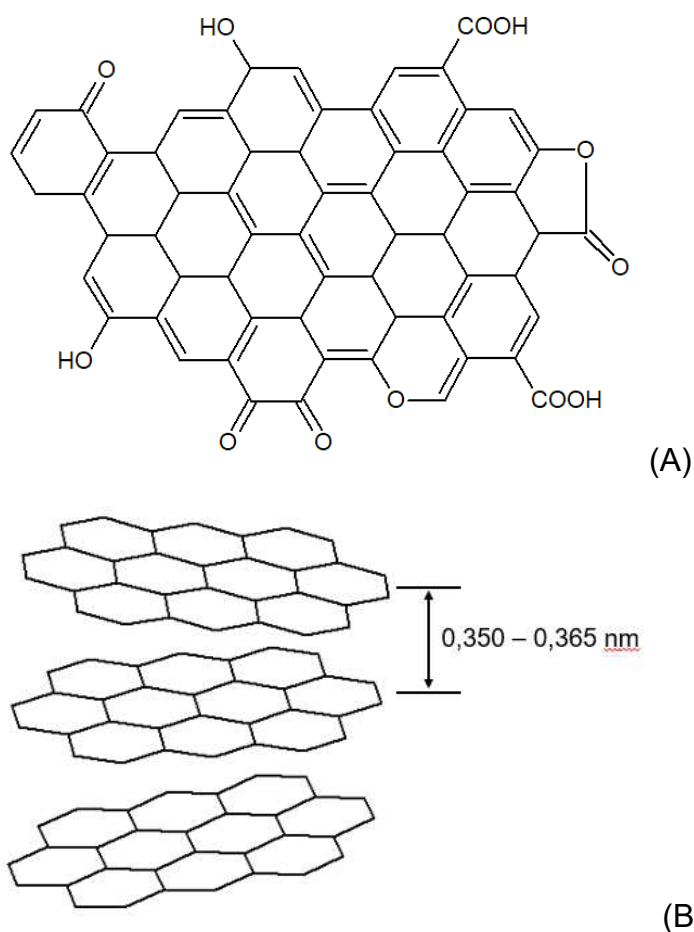
O CB é um nanomaterial que tem atraído a atenção de vários pesquisadores, pois atende todos os requisitos que um bom material transdutor deve ter, como elevada área superficial, excelente condutividade, estabilidade física e química. Além dessas características, o CB é um material de relativo baixo custo quando comparado com outros materiais a base de carbono utilizados na construção de novos sensores.

O CB também conhecido como negro de fumo é uma espécie de carbono amorfo, onde cerca de 70% de toda a sua produção é utilizado na indústria de borracha, sendo a grande parte para a produção de pneus e em proporção menor outros materiais de borracha (WANG, M.-J. *et al.*, 2003). Além disso, o CB é utilizado na indústria de tinta para pigmentação, como agente condutor elétrico de materiais

de alta tecnologia (HARRIS), fabricação de baterias (ALCÁNTARA *et al.*, 2001) e catalisadores para células à combustível (GUO, Y.; ZHENG; HUANG, 2008).

A estrutura química do CB é constituída por carbonos sp^2 e sp^3 (Figura 1A), apresentando uma microestrutura formada por camadas hexagonais de carbono, que tendem a acumular de três a quatro camadas de forma não paralela, formando estruturas cristalográficas (Figura 1B), similar à forma de um grafite desordenado (HUANG, J.-C., 2002; WANG, M.-J. *et al.*, 2003).

Figura 1 – Representação (A) estrutural do plano de camada aromática com os grupos funcionais e (B) estrutural atômica do *carbon black*.



Fonte: adaptado de WANG *et al.*, 2003.

A fabricação do CB pode ocorrer através do método de decomposição térmica ou composição parcial sob condições controladas, sendo hidrocarbonetos utilizados como matéria prima. Existem cinco tipos diferentes de fabricação de CB, e suas características químicas e físicas variam de acordo com seu tipo de produção (DONNET; BANSAL; WANG, 1993). A fornalha (do inglês,

furnace black) é o CB comumente aplicado na fabricação de borracha e plásticos, na qual a sua produção é realizada através da decomposição térmica do óleo de petróleo e produz CB com um diâmetro que variam de 10 a 100 nm. O processo térmico (do inglês, *termal black*) é o que produz maior tamanho de partícula, desse modo, não é utilizado como preenchedor para melhorar a condutividade elétrica (HUANG, J.-C., 2002). Outros métodos para fabricação do CB, é o de canal (do inglês, *channel black*) que possui na composição desse CB a maior porcentagem de grupos funcionais na superfície, sendo assim muito aplicado em tintas. O *lamp black* é também utilizado em tintas, porém é obtido a partir da fuligem da queima de óleos ou madeira de pinho. O negro de acetileno (do inglês, *acetylene black*) é um material com maior cristalinidade, produzido pela decomposição térmica do gás acetileno (DONNET; BANSAL; WANG, 1993).

Com a finalidade de descobrir qual CB possui melhores propriedades eletroquímicas, Vicentini e colaboradores, caracterizaram de forma física e morfológicamente três tipos de CB, Vulcan XC72R (VXC72R), BR 4750 e E2000 e compararam suas respostas eletroquímicas empregando diferentes analitos. De acordo com esses autores, o CB Vulcan XC-72R demonstrou ter um melhor desempenho eletroquímico, além de apresentar melhor recobrimento de superfície. O Vulcan XC72R é um CB do tipo fornalha com uma área superficial específica de $254 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e baixa resistividade elétrica (VICENTINI *et al.*, 2015).

Desse modo, a aplicação de CB na construção de novas plataformas de sensores eletroquímicos vem se destacando na quantificação dos mais diversos tipos de analitos, como por exemplo compostos organofosforados (CINTI, S. *et al.*, 2016; LEE *et al.*, 2010) e fenólicos (LOUNASVUORI; KELLY; FOORD, 2018; TALARICO *et al.*, 2015a), pesticidas (DEROCO, Patrícia Batista; LOURENCAO; FATIBELLO-FILHO, 2017) e fármacos (DEROCO, Patrícia B.; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018b; ŁAWRYWIANIEC *et al.*, 2017; SMAJDOR *et al.*, 2018). Conseqüentemente, o desenvolvimento deste trabalho de doutorado enfoca no uso do CB como agente químico modificador, disperso em diferentes meios para o desenvolvimento de novos sensores eletroquímicos e suas respectivas aplicações com diferentes analitos e amostras.

Na literatura, os trabalhos que descrevem a aplicação de CB para a construção de sensores eletroquímicos, utilizam apenas CB na modificação (DEROCO; LOURENCAO; FATIBELLO-FILHO, 2017; M. ŁAWRYWIANIEC *et al.*,

2017) ou numa mistura com outros materiais (PANDIAN *et al.*, 2019; RASHED *et al.*, 2021).

1.3 POLISSACARÍDEO

Os polissacarídeos, também conhecidos como glicanos, são polímeros naturais de açúcares que podem ter centenas ou milhares de unidades monossacarídicas. Sua diferenciação é possível através do tipo de unidades monossacarídicas, da ligação que os unem, do comprimento de suas cadeias, ou do grau de ramificação (NELSON; COX, 2014).

Esses polissacarídeos podem ser obtidos de diferentes origens, vegetal (celulose, amido), animal (heparina) e microbiológica (dextrana, goma xantana). Caso produzido por micro-organismos, como, fungos, bactérias e leveduras, os polissacarídeos podem participar da composição da parede celular, ou podem ser secretados no meio de extracelular, sendo denominados de expolissacarídeos (NELSON; COX, 2014; ZEN; SENTHIL KUMAR; TSAI, 2003).

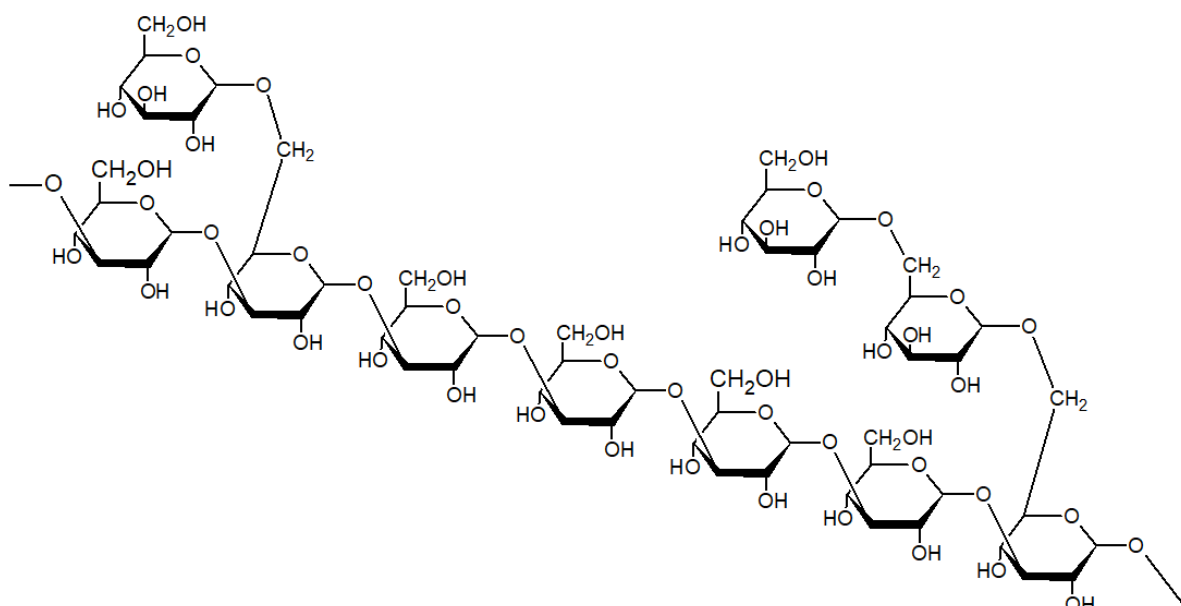
Nesse contexto, os polissacarídeos têm atraído atenção da comunidade científica para a construção de novos sensores, pois são atóxicos, biodegradáveis e aderentes a superfície sólidas (CROUZIER; BOUDOU; PICART, 2010; EIRAS *et al.*, 2007). O emprego de alguns exemplos de polímeros naturais na construção de novas plataformas para sensores tem sido reportado na literatura, como celulose (VELUSAMY *et al.*, 2017; ZINOUBI *et al.*, 2017), polianilina (GAUTAM; SINGH; YADAV, 2018), β -ciclodextrina (SIPA *et al.*, 2018) e goma xantana (DING *et al.*, 2018).

1.3.1 Botriosferana

As β -glucanas são expolissacarídeos constituídos por resíduos de glicose unidos por ligações glicosídicas, com configurações α e β , algumas de cadeias simples e outras mais complexas, com ramificações (BARBOSA *et al.*, 2003). A β -glucana pode ser isolada de cereais (cevada e aveia), fungos e leveduras, sendo essencial na manutenção da rigidez e integridade da parede celular de fungos e leveduras (BAUERMEISTER *et al.*, 2010).

Em 2003, Barbosa e colaboradores descreveram pela primeira vez na literatura sobre o fungo ascomiceto *Botryosphaeria rhodina* MAMB-05 que produz a β -D-glucana, recebendo a denominação de botriosferana (BOT; Figura 2). A BOT foi caracterizada estruturalmente como uma β -(1 \rightarrow 3; 1 \rightarrow 6)-D-glucana, sendo que a cadeia principal são ligações glicosídicas do tipo β -(1 \rightarrow 3) e as ligações do tipo β -(1 \rightarrow 6) são ramificações constituídas por resíduos de glucose e gentiobiose, que são aproximadamente 22% da composição da BOT (BARBOSA *et al.*, 2003).

Figura 2 – Representação estrutural da BOT, com suas ramificações de unidades glicosídicas e gentiobiosídicas a cada cinco unidades na cadeia principal.



Fonte: adaptado de Barbosa *et al.*, 2003.

A BOT tem despertado interesse dos cientistas devido as suas notáveis propriedades, como: atividades antioxidantes (GIESE *et al.*, 2015), anticancerígenas (QUEIROZ, E. A. I. F. *et al.*, 2015) e hipoglicemiantes (MIRANDANANTES *et al.*, 2011). Além disso, a BOT vem sendo empregada na eletroquímica com intuito de fabricar novas plataformas eletroquímicas. Cortes desenvolveu um biossensor a base de enzima lacase e BOT, ambos provenientes do *Botryosphaeria rhodina*, empregando a técnica de automontagem (do inglês *layer by layer*). Nesse trabalho, foram depositadas 30 bicamadas alternadas da BOT com policloreto de dialildimetilamônio sobre a superfície do óxido de estanho dopado com flúor (do inglês, *FTO: flúor doped tin oxide*), para a determinação de dopamina, utilizando

ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico) como mediador de elétrons (CORTES, 2008). França utilizou a mesma técnica para a produção de um biofilme contendo BOT e polianilina (FRANÇA, 2007).

Mattos e colaboradores empregaram a BOT para imobilização da enzima lacase sobre a superfície de um eletrodo de pasta de CB. O novo biossensor foi utilizado para a determinação de hidroquinona em cremes dermatológicos, urina e água de rio. O biossensor apresentou uma resposta analítica na faixa de concentração de hidroquinona de 2,00 – 56,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,474 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os autores atribuíram a boa resposta analítica do biossensor ao uso da BOT, uma vez que a mesma proporcionou uma imobilização natural da enzima sobre a superfície do CB (MATTOS, Gabriel J. *et al.*, 2019). Coelho e colaboradores também empregaram a BOT para a imobilização da enzima lacase com nanotubos de carbono com parede múltiplas (NTsCPM) sobre a superfície do ECV para a determinação de DA. Em conjunto com a VOQ os autores observaram uma resposta analítica linear na faixa de concentração de 2,99 – 38,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,127 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A aplicação da BOT para a imobilização da enzima permitiu o desenvolvimento de um biossensor seletivo e assim a determinação de DA na presença de ácido úrico e ácido ascórbico, nas amostras biológicas e ambientais (COELHO *et al.*, 2019).

1.4 HIDROCLORETO DE POLIALILAMINA

O hidrocloreto de polialilamina (PAH) é um polieletrólito catiônico contendo vários grupos amino ($-\text{NH}_2$) ionizáveis em sua cadeia, estando protonado em meio neutro e ácido e totalmente desprotonado em soluções ligeiramente básicas, dado que seu valor de pK_a é 8,5 em solução aquosa (WANG, B.; NOGUCHI; ANZAI, 2007). Dessa forma, por exemplo, em pH 8,0 somente uma fração de grupos $-\text{NH}_2$ na estrutura do PAH está protonado e torna-se $-\text{NH}_3^+$. Por outro lado, em pH 4,0 ele está quase totalmente protonado. No geral, este polieletrólito tem sido usado em combinação com um polieletrólito aniônico para a obtenção de sensores e biossensores de camadas automontadas (layer-by-layer), empregados em diversas aplicações analíticas (MAXIMINO *et al.*, 2016; YE *et al.*, 2016).

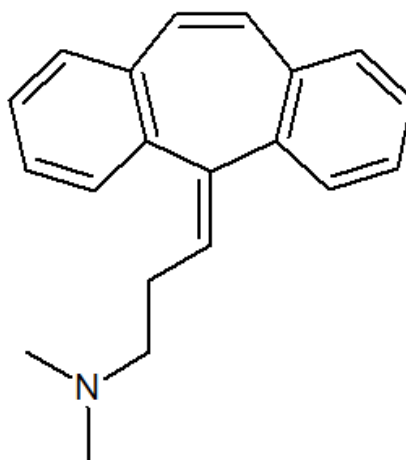
O PAH proporciona excelente aderência de nanomateriais no ECV, bem como estabilidade, permitindo a transferência eletrônica entre o analito e a interface eletrodo/solução. Isto foi constatado nos trabalhos de Sartori *et al.*, no qual realizaram modificações do ECV com PAH para aplicação como sensores e biossensores eletroquímicos. Esses autores modificaram um ECV com NTsC e nanopartículas de ouro (NPsAu) em filme de PAH para a imobilização da enzima polifenol oxidase. O biossensor mostrou uma linearidade no intervalo de concentração de 0,5 – 22 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o sulfito, com um LD de 0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (SARTORI; VICENTINI; FATIBELLO-FILHO, 2011). Além disso, o PAH pode estabilizar nanomateriais a base de partículas metálicas. Vieira e colaboradores utilizaram PAH na confecção de um biossensor eletroquímico no intuito de estabilizar as NPsAu e este imobilizar a enzima lacase para a determinação de dopamina em amostras farmacêuticas. O biossensor desenvolvido mostrou linearidade para a dopamina no intervalo de concentração de 0,49 – 23,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,26 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os autores atribuíram o bom desempenho analítico do biossensor a facilidade da transferência de elétrons entre a proteína e a superfície do eletrodo, consequência da utilização das NPsAu estabilizadas em PAH (SILVA, T. R.; VIEIRA, 2016).

1.5 ANALITOS

1.5.1 Ciclobenzaprina

A ciclobenzaprina (CIC) é um relaxante muscular de ação central, em que sua fórmula estrutural é similar aos antidepressivos tricíclicos (Figura 3) e designado pela IUPAC com o nome de 3-(5H-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-ilideno)-N,N-dimetil-1-propanina (LINDEN *et al.*, 1983; PUBCHEM: OPEN CHEMISTRY DATABASE, 2013). É um sal amino tricíclico, cristalino, solúvel em água e etanol, ligeiramente solúvel em clorofórmio e praticamente insolúvel em hidrocarbonetos.

Figura 3 – Estrutura molecular da CIC.



Este fármaco foi originalmente sintetizado em 1960 para o tratamento da depressão, em que as doses diárias eram de 75 a 150 mg. Além do uso contra a depressão, a CIC foi utilizada, porém sem muito sucesso, para o tratamento de esquizofrenia, ansiedade, cefaleia crônica e rigidez devido à doença de Parkinson. Somente em 1977, o fármaco foi utilizado para o alívio do espasmo muscular associado a dor musculoesquelética aguda (KATZ; DUBE, 1988; LINDEN *et al.*, 1983).

No atual cenário farmacêutico, a CIC é prescrita para dores associadas com a hiperatividade musculoesquelética e distúrbios do sono, associados com a fibromialgia (KOBAYASHI; HASEGAWA; ONO, 1996). No organismo humano, a CIC inibe a recaptção neuronal pré-sináptica de norepinefrina e serotonina e em altas concentrações a CIC parece ser capaz de efetuar a liberação de catecolaminas endógenas dos neurônios pré-sinápticos. O relaxamento do músculo é resultado de uma inibição mediada por um tronco encefálico dos neurônios motores (LINDEN *et al.*, 1983).

A CIC não necessita de receita médica para ser adquirida comercialmente, sendo amplamente utilizada pela população. Dessa forma, faz-se necessário um método rigoroso, simples, preciso e exato para o controle de qualidade de medicamentos que contenham este fármaco, a fim de que o mesmo tenha a quantidade declarada em seu rótulo. Em 1983, Linden e colaboradores relataram três casos de overdoses com CIC, sendo observados sintomas como

arritmia cardíaca, alucinações, desorientação e comportamentos anormais, além de apresentarem pele e boca seca (LINDEN *et al.*, 1983).

Diversos métodos analíticos foram desenvolvidos para a determinação de CIC em medicamentos e plasma, entre eles, cita-se espectrofotometria (KASSEM; GUESMI, 2016), cromatografia gasosa (CG) acoplada a espectrometria de massa (ADAMOWICZ; KAŁA, 2010) e com detector de nitrogênio (CONSTANZER, M. L.; VINCEK; BAYNE, 1985), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção UV-Vis (CONSTANZER, M.; CHAVEZ; MATUSZEWSKI, 1995), com detecção coulométrica (FISHER; BAYNE; MUSSON, 1989) e ainda acoplada a espectrometria de massa (CONSTANZER, M.; CHAVEZ; MATUSZEWSKI, 1995; HERRIN; MCCURDY; WALL, 2005; RAMADAN *et al.*, 2017). Porém, essas técnicas possuem algumas desvantagens como um elevado custo de instrumentação, longo tempo de análise e necessidade de extenso preparo de amostra com etapas de filtração e limpeza.

Nesse cenário, as técnicas eletroanalíticas surgem como alternativa para a determinação de diversas moléculas orgânicas. São técnicas simples, de baixo custo, rápidas, além de possuir elevada sensibilidade, seletividade e não requerer pré-tratamento complicado da amostra.

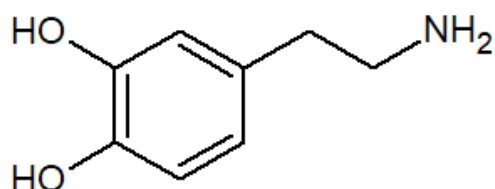
Na literatura está descrito apenas um trabalho que emprega técnica eletroanalítica para a determinação de CIC, a potenciometria (RAMADAN; ZAAZAA; MEREY, 2011). Neste trabalho, Ramadan e colaboradores desenvolveram um sensor potenciométrico de micrografite para a determinação de CIC. Os autores obtiveram linearidade no intervalo de concentração de 10 a 10000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 6,50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sendo o sensor aplicado na determinação de CIC em pó puro, medicamento e plasma (RAMADAN; ZAAZAA; MEREY, 2011).

1.5.2 Dopamina

Catecolaminas são hormônios e neurotransmissores presentes no sistema nervoso periférico e central, são capazes de excitarem, inibirem ou influenciarem na atividade das células. A dopamina (DA), 2-(3,4,dihidroxi-fenil)etilamina, cuja a estrutura é representada na Figura 4, é um exemplo de catecolaminas que pertence à classe de mensageiros químicos, conhecidos como neurotransmissores. Eles são produzidos naturalmente pelo organismo e existem no

cérebro com o objetivo de conduzir a transmissão de um neurônio para outro (ESTEVINHO; SOARES-FORTUNATO, 2003; HALL; GUYTON, 2017). Além disso, a DA é comumente utilizada em unidades de pronto socorro como agente vasoconstritor e hipertensor.

Figura 4 – Representação da estrutura química da dopamina.



A dopamina é produzida através do aminoácido tirosina, onde a tirosina é convertida em L-dopa e na sequência descarboxilada para dopamina. Esse neurotransmissor atua como mediador de diferentes funções do sistema nervoso central, como por exemplo o controle das funções motora, endócrina, de recompensa e de cognição (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012; STUCHLIK *et al.*, 2007). Um aumento na atividade de dopamina no cérebro induz a euforia e motivação, enquanto uma diminuição pode causar hiperatividade, déficit de atenção, desordens de humor e ser indicativos de doenças neurodegenerativas, como a esquizofrenia, o mal de Alzheimer e Parkinson (GOODMAN; GILMAN, 2005; GOYAL; BISHNOI, 2011; IKEMOTO; YANG; TAN, 2015). Em vista disso, este neurotransmissor apresenta uma grande importância no organismo humano, fazendo-se necessário o desenvolvimento de um método analítico simples e rápido para a sua quantificação no organismo humano com o objetivo de diagnosticar e monitorar essas doenças e em medicamento visando assegurar a eficiência do tratamento.

Diversas técnicas analíticas têm sido empregadas para a determinação de dopamina em amostras farmacêuticas e fluídos biológicos, dentre essas técnicas temos cromatografia líquida (GOYAL; BISHNOI, 2011; LIN *et al.*, 2019; WU, D. *et al.*, 2016) e gasosa (MUSSHOFF *et al.*, 2000), espectrofotometria (SALEEM, 2019; ZHU *et al.*, 1997), calorimetria (ROSTAMI; HADJIZADEH; MAHSHID, 2020) e métodos eletroquímicos (EISELE *et al.*, 2019; GUO, X. *et al.*, 2020; HUANG, JIANSHE *et al.*, 2008; LIU *et al.*, 2012; ZARE; NASIRIZADEH;

MAZLOUM ARDAKANI, 2005). Contudo, muitas dessas técnicas envolvem pré-tratamento das amostras, uso de grandes quantidades de solventes orgânico, alto tempo de análise e custo elevado. Assim, técnicas eletroquímicas surgem associadas com eletrodos quimicamente modificados como uma alternativa atraente, devido à sua alta sensibilidade e seletividade, o baixo custo instrumental, rápido tempo de análise e mínimo ou nenhum uso de solventes orgânico.

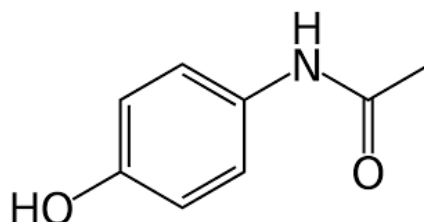
Aneesh e colaboradores desenvolveram um sensor voltamétrico para a determinação de DA em amostras de soro sanguíneo. Para isso, um ECV foi modificado com óxido de grafeno parcialmente reduzido. O sensor apresentou uma faixa linear para a DA nas concentrações de 0,1 – 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,008 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os autores observaram que o sensor apresentou maiores intensidade de corrente para a DA quando comparado ao ECV sem modificação e atribuíram essa melhora ao óxido de grafeno parcialmente reduzido (ANEESH *et al.*, 2014).

1.5.3 Paracetamol

A busca por meios de aliviar as dores vem acontecendo desde os primórdios, em que o homem da idade da pedra (3000 a.C.) encontrava em plantas medicinais o alívio para suas dores (HAAS, 1983). Os primeiros relatos do uso de paracetamol para fins medicinais foi em 1893 por Von Mehring (MEHRING, 1893). Porém somente em 1949, quando Brodie e Axelrod identificaram os metabólitos ativo, a fenacetina e acetinilida, ambos com ação analgésico-antipéptica (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012), desde então o mesmo tem sido empregado para alívio de dores.

O paracetamol (PAR), também conhecido como acetaminofeno ou N-acetil-p-aminofeol (Figura 5), é um dos analgésicos mais vendidos nas farmácias do mundo todo, sendo utilizado também para alívio de dores crônicas. O PAR foi lançado no mercado farmacêutico como substituto do ácido acetilsalicílico, além de suas propriedades analgésicas e antipirética análogas, o mesmo apresenta uma menor quantidade de efeitos colaterais quando comparado ao ácido acetilsalicílico (BOSH *et al.*, 2006; BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

Figura 5 – Representação da estrutura molecular do paracetamol.



O PAR é um medicamento muito empregado também para aliviar dores de doenças crônicas em que a maior porcentagem de pessoas afetadas por essas dores são idosos. Estudos revelam que 66% das doenças em idosos são doenças crônicas não transmissíveis causadas pelo processo de envelhecimento (ELY *et al.*, 2015). Dentre as doenças crônicas que causam dor aos idosos tem-se a doença de Parkinson e em torno de 40 a 80% dos pacientes que a possuem reclamam de dores constantes; sendo assim, é uma prática comum os médicos prescreverem PAR para aliviar a dor crônica causada pela perda de função motora. Estudos recentes mostraram que em baixas concentrações, o PAR reduz significativamente a degeneração da DA. Em vista disso, é importante a determinação simultânea de PAR e DA em soro sanguíneo para controle da dosagem (is pain a symptom of parkinson's disease?, [s. d.]; KHORSHEED; KHAIRY; BANKS, 2019).

A dose diária recomendada de PAR é de 0,5 g a 0,8 g. Doses superiores a estas podem ocasionar uma intoxicação aguda por PAR, causando desde sintomas mais leves como náuseas, vômito e dores abdominais até sintomas mais graves como necrose hepática podendo ocasionar a morte desse indivíduo (DUARTE, 2020; KISELY; LAWRENCE; PRESTON, 2003). A toxicidade do PAR pode ser relacionada ao grupo amino, pois o mesmo oxida formando o hidroxiaceminofenol, e na sequência o N-acetil-p-benzoquinonaimina. Essa substância é altamente eletrofílica e facilita a oxidação das proteínas formando assim um ciclo redox com a formação de ânions superóxidos por meio de redução com oxigênio. Por fim, essa etapa de redução produz peróxidos e radicais hidroxilas implicando no stress oxidativo celular (BERGMAN; MÜLLER; TEIGEN, 1996; ELY *et al.*, 2015; KISELY; LAWRENCE; PRESTON, 2003). Por esses motivos, faz-se necessário o desenvolvimento de um método simples e rápido para a determinação de PAR, em medicamentos, amostras biológicas e ambientais.

Na literatura há diversos trabalhos sobre o desenvolvimento de métodos analíticos e de sensores eletroquímicos para a determinação individual e simultânea do PAR em diferentes matrizes.

Devaraj e colaboradores sintetizaram cobre e óxido de cobre(I) sobre a superfície de nanopartículas de cobre por ácido oleico com o intuito de exaltar as propriedades eletroquímicas das nanopartículas. Esse novo material foi utilizado para construção de um novo sensor eletroquímico, baseado na modificação de um eletrodo de carbono vítreo (ECV) com as nanopartículas de cobre recobertas com cobre e óxido de cobre(I), para a determinação simultânea de PAR e DA. Essa plataforma forneceu resposta linear para o PAR na faixa de concentração de 1 a 142,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LD de 1,51 $\mu\text{mol L}^{-1}$, enquanto para a DA foi de 0,02 a 0,159 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,003 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os autores atribuíram a melhora nas propriedades eletroquímicas do sensor, como alta transferência de elétrons, às nanopartículas modificadas com óxido de cobre(I) e cobre a base de ácido oleico (DEVARAJ *et al.*, 2016).

Um eletrodo de óxido de índio-estanho foi modificado com nanopartículas de ouro para a determinação de PAR por Goyal e colaboradores (GOYAL *et al.*, 2005). Este sensor apresentou uma resposta linear para o PAR na faixa de concentração de 0,2 – 1500 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,18 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Sadok, Rotko e Wiercinska empregaram um eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB) coberto com partículas de bismuto e Nafion® para a determinação de PAR obtendo uma faixa linear de concentração de 0,2 – 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LD de 0,036 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O sensor foi aplicado na determinação de PAR em medicamentos (SADOK; TYSZCZUK-ROTKO; NOSAL-WIERCIŃSKA, 2016).

Com base nos princípios da química-verde, Haridas e colaboradores desenvolveram um nanocompósito com grafeno de alta qualidade incorporado em óxido de ferro. O material foi utilizado para modificar a superfície de um ECV com a finalidade de quantificar PAR em amostras farmacêuticas. O sensor apresentou resposta linear entre as concentrações de 0,3 e 1800 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,095 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (HARIDAS *et al.*, 2021).

Eisele e colaboradores utilizaram um ECV modificado com CB e BOT carboximetilada para a determinação simultânea de PAR e DA. O sensor proporcionou uma resposta linear nas concentrações de 0,099 – 2,9 e 0,70 – 19

$\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,013 e 0,11 $\mu\text{mol L}^{-1}$, para DA e PAR, respectivamente. Os autores atribuíram os bons resultados obtidos com as propriedades da BOT carboximetilada que forneceu uma maior seletividade para moléculas protonadas ou com grupos funcionais (EISELE *et al.*, 2019). Uma nova plataforma eletroquímica baseada na modificação de um ECV com nanofolhas de grafeno e cobre(II) foi desenvolvida por Song e colaboradores para a determinação simultânea de DA e PAR (SONG *et al.*, 2018). Os autores obtiveram uma faixa linear na concentração de 0,0024 – 36 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,8 nmol L^{-1} para a DA e 0,004 – 7,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,7 nmol L^{-1} para o PAR. Os autores utilizaram o sensor para a determinação dos analitos em amostras reais de medicamentos e soro sanguíneo. As propriedades eletrocatalíticas proporcionadas pela interação do grafeno com o cobre(II) tornaram possível as baixas concentrações apresentadas pelos autores.

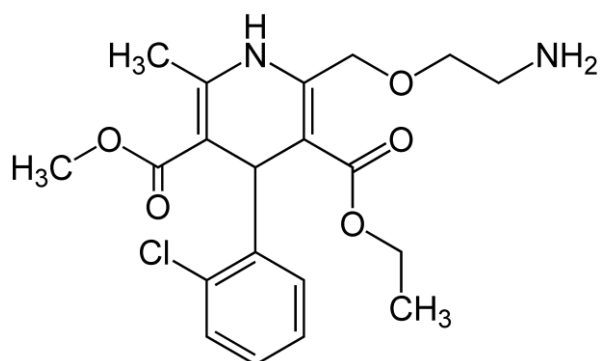
Yao e colaboradores desenvolveram um sensor eletroquímico baseado em um nanocompósito constituído de estruturas orgânicas de cobre porfirina metálico e nanoconchas de ouro e prata decoradas com NTsC para a modificação da superfície de um ECV. O sensor apresentou linearidade nas concentrações de DA entre 0,6 – 70 e 70 – 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,082 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sendo aplicado para a determinação de DA em medicamentos. Os autores atribuíram a alta sensibilidade do sensor ao nanocompósito baseado em cobre, NTsC, ouro e prata. Sadok e colaboradores recobriram a superfície de um eletrodo de diamante dopado com boro com partículas de bismuto e Nafion[®], o sensor foi empregado para a quantificação de PAR em amostras farmacêuticas, para isso, os autores construíram uma curva analítica com uma faixa linear de 0,2 a 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e um LD de 0,026 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (SADOK; TYSZCZUK-ROTKO; NOSAL-WIERCIŃSKA, 2016).

1.5.4 Besilato de anlodipino

O anlodipino (ANL), de nome oficial (RS)-3-etil-5-metil-2-[(2-aminoetoxi)metil]-4-(2-chlorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato (Figura 6), é um anti-hipertensivo do tipo bloqueador dos canais de cálcio de terceira geração. Esse analito age no organismo humano relaxando o músculo liso da parede arterial (vasodilatação), reduzindo a resistência vascular ocasionando um aumento no fluxo sanguíneo e por fim a diminuição da pressão arterial. Para que o

tratamento com ANL faça o efeito necessário, é preciso que a quantidade rotulada seja real. Com isso, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos para a determinação de ANL em medicamentos.

Figura 6 – Representação da estrutura química do anlodipino.



Na literatura existem diversos trabalhos para a determinação de ANL, entre eles métodos espectrofotométricos (ABDOLLAHPOUR *et al.*, 2011; ATTIMARAD *et al.*, 2019), colorimetria (MEMON, 2020; YAQOOB *et al.*, 2019), cromatografia líquida (CHEN, G. *et al.*, 2018; MALESUIK *et al.*, 2006; SHAIKH *et al.*, 2020; TATAR; ATMACA, 2001) e gasosa (MONKMAN *et al.*, 1996). Como mencionado, a voltametria é uma técnica simples, rápida, de baixo custo que está sendo cada vez mais empregada para a determinação de anti-hipertensivos. Na literatura há trabalhos em que foi empregado voltametria em conjunto com eletrodos quimicamente modificados para a determinação de ANL.

Goyal e Bishnoi testaram dois eletrodos modificados com materiais diferentes para a determinação de ANL. Para isso, os autores modificaram um eletrodo de grafite com nanotubos de carbono de parede simples (NTsCPS) e outro eletrodo com NTsCPM. Os autores observaram uma sensibilidade de 1,8 vezes maior do eletrodo modificado com NTsCPS quando comparado com o modificado com NTsCPM, obtendo uma resposta linear entre as concentrações de 0,005 a 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,001 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O sensor foi aplicado na determinação de ANL em medicamento e urina (GOYAL; BISHNOI, 2010).

O ECV foi modificado com um nanocompósito formado por um composto organometálico de ferro e carbono mesoporoso para a determinação simultânea de ANL e losartana. O eletrodo desenvolvido apresentou uma corrente

do pico de oxidação do ANL 30 vezes maior quando comparado ao ECV sem modificação, os autores atribuíram essa melhora devido ao efeito sinérgico proporcionado pelo nanocompósito (RAJPUROHIT; BORA; SRIVASTAVA, 2018). Dehdashti e Babaei desenvolveram um sensor eletroquímico baseado em nanopartículas de platina dopadas com óxido de níquel e NTsCPM para a modificação do ECV. O sensor obteve uma resposta linear para as concentrações de 1,0 a 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para ANL com um LD de 0,092 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os autores atribuíram os bons resultados às propriedades sinérgicas dos nanomateriais (DEHDASHTI; BABAEI, 2020).

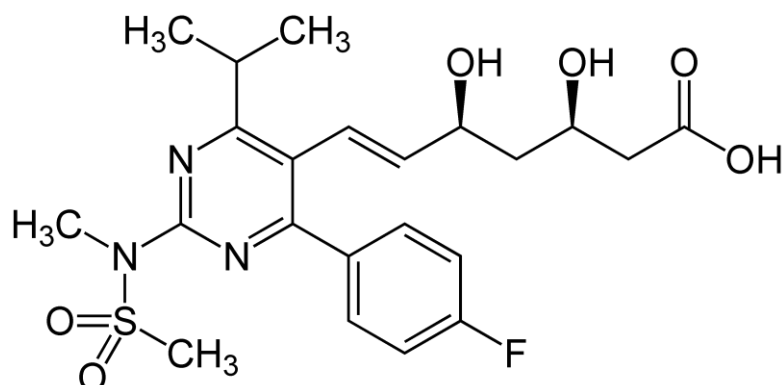
O ANL também foi quantificado simultaneamente com PAR, ácido ascórbico e dobutamina. Para essa determinação, Atta e colaboradores desenvolveram uma nova plataforma eletroquímica baseada na modificação de um ECV com NTsCPM, líquido iônico e grafeno. O sensor apresentou linearidade para o PAR e ANL na faixa linear de 0,02 – 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. As respostas analíticas obtidas para o PAR e ANL empregando o sensor proposto foram 3 vezes maior quando comparado com o ECV sem modificação, os autores conferiram essa melhora ao efeito sinérgico proporcionado pelas substâncias utilizados na modificação do ECV (ATTA *et al.*, 2019).

1.5.5 Rosuvastatina cálcica

A rosuvastatina (RSV), cujo o nome oficial da IUPAC é ácido (E, 3R, 5S)-7-[4-(4-fluorofenil)-2-[metil(metilsulfonyl)amino]-6-propan-2-ilpirimidin-5-il]-3,5-dihidroxihept-6-enóico, é uma estatina de nova geração, totalmente sintética. É um medicamento prescrito para o tratamento de hipercolesterolemia (colesterol alto). A RSV é uma estatina inibidora seletiva e reversível da 3-hidroxi-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase hepática, que age limitando a taxa de biossíntese hepática de colesterol de baixa densidade lipoprotéica (LDL), ou seja, a HMG-CoA é responsável pela produção de colesterol (DAVIDSON, 2002; GROUP, 2002; WHITE, 2002). A Figura 7 apresenta a estrutura química da RSV. Grande parte dos pacientes hiperlipidêmicos também podem manifestar problemas de hipertensão, portanto, os agentes anti-hipertensivos e anti-hiperlipidêmicos são comumente administrados em combinação (KANG; VEROTTA; SCHWARTZ, 2006). Desse

modo, faz-se de grande importância a determinação simultânea dessa classe de medicamentos.

Figura 7 - Representação da estrutura molecular da rosuvastatina.



Na literatura há trabalhos empregando a voltametria para a determinação da RSV, de forma individual (KARADURMUS *et al.*, 2017; SACIDE ALTINÖZ; BANU UYAR, 2013; SILVA, Tiago A. *et al.*, 2015; SILVA, Tiago Almeida *et al.*, 2015) e simultânea com o ANL (KARADAS-BAKIRHAN *et al.*, 2016; YILMAZ; YILMAZ, 2020).

Karadas-Bakirhan e colaboradores empregaram o ECV sem modificação para a determinação simultânea de RSV e ANL. O eletrodo apresentou uma resposta linear na faixa de concentração de 5,0 a 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 0,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a RSV e de 9,0 a 70 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD 0,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a ANL.

Um disco de platina em conjunto com a VPD foi empregado para a determinação simultânea de ANL e RSV. Os autores construíram uma curva analítica nas concentrações de 9,0 – 70 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 5,0 – 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$, para ANL e RSV. E por fim, o eletrodo de platina foi aplicado para a determinação simultânea de ANL e RSV em amostras farmacêuticas.

Visto isso, este trabalho tem como objetivo geral o desenvolvimento de novas plataformas eletroquímicas à base de carbono do tipo CB, sendo este imobilizado em diferentes meios sobre a superfície do ECV. Os sensores foram avaliados em relação ao seu comportamento eletroquímico e sua aplicabilidade no desenvolvimento de procedimentos eletroquímicos para a determinação de analitos de interesse em diferentes amostras, como biológica, farmacêutica e ambiental. Destacam-se os seguintes objetivos específicos:

- Estudar a melhor composição de cada um dos filmes obtidos para a modificação do ECV.
- Explorar as diferentes superfícies dos eletrodos modificados através da caracterização morfológica dos mesmos utilizando a microscopia eletrônica de varredura (MEV).
- Avaliar os diferentes tipos de superfície do ECV empregando as técnicas eletroquímicas de VC e EIE, usando para tal finalidade, solução de ferrocianeto de potássio ($K_3[Fe(CN)_6]$) ou cloreto de hexaaminorutênio(III) ($Ru(NH_3)_6Cl_3$), cujas áreas eletroativas serão também determinadas e comparadas.
- Investigar o comportamento voltamétrico dos analitos sobre os diferentes eletrodos modificados empregando a VC, avaliando-se a composição do filme a ser utilizado.
- Obter os parâmetros analíticos, tais como sensibilidade, seletividade, LD, intervalo linear de concentração, estabilidade, exatidão e precisão do procedimento eletroanalítico proposto.
- Determinar a concentração dos analitos em formulações farmacêuticas, plasma de rato, água da torneira e água de rio com auxílio das técnicas voltamétricas.
- Comparar os parâmetros analíticos obtidos para a determinação dos analitos empregando os sensores desenvolvidos com aqueles previamente descritos na literatura.

REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHPOUR, Nooshin *et al.* Separate and simultaneous binding effects of aspirin and amlodipine to human serum albumin based on fluorescence spectroscopic and molecular modeling characterizations: A mechanistic insight for determining usage drugs doses. **Journal of Luminescence**, [s. l.], v. 131, n. 9, p. 1885–1899, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JLUMIN.2011.04.043>
- ADAMOWICZ, Piotr; KAŁA, Maria. Simultaneous screening for and determination of 128 date-rape drugs in urine by gas chromatography–electron ionization–mass spectrometry. **Forensic Science International**, [s. l.], v. 198, n. 1–3, p. 39–45, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.02.012>
- ALCÁNTARA, Ricardo *et al.* Carbon black: a promising electrode material for sodium-ion batteries. **Electrochemistry Communications**, [s. l.], v. 3, n. 11, p. 639–642, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1388-2481\(01\)00244-2](https://doi.org/10.1016/S1388-2481(01)00244-2)
- ANASTAS, Paul T. Green chemistry and the role of analytical methodology development. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. 167–175, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408349891199356>
- ANASTAS, Paul T.; WARNER, John Charles. **Green chemistry : theory and practice**. [S. l.]: Oxford University Press, 1998.
- ANEESH, Padamadathil K. *et al.* Electrochemically synthesized partially reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode for individual and simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 6, n. 14, p. 5322–5330, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C4AY00043A>
- ARDUINI, F. *et al.* Effective electrochemical sensor based on screen-printed electrodes modified with a carbon black–Au nanoparticles composite. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, [s. l.], v. 212, p. 536–543, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.02.051>
- ATTA, Nada F. *et al.* Design strategy and preparation of a conductive layered electrochemical sensor for simultaneous determination of ascorbic acid, dobutamine, acetaminophen and amlodipine. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [s. l.], v. 297, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126648>
- ATTIMARAD, Mahesh *et al.* Development of UV Spectrophotometric Procedures for Determination of Amlodipine and Celecoxib in Formulation: Use of Scaling Factor to Improve the Sensitivity. **Journal of Spectroscopy**, [s. l.], v. 2019, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2019/8202160>
- BAGHAYERI, Mehdi; VEISI, Hojat; GHANEI-MOTLAGH, Masoud. Amperometric glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase on a magnetic glassy carbon electrode modified with a novel magnetic nanocomposite. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [s. l.], v. 249, p. 321–330, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2017.04.100>

- BARBOSA, Aneli M. *et al.* Structural characterization of Botryosphaeran: a (1→3;1→6)-β-d-glucan produced by the ascomyceteous fungus, *Botryosphaeria* sp. **Carbohydrate Research**, [s. l.], v. 338, n. 16, p. 1691–1698, 2003.
- BAUERMEISTER, A. *et al.* Fungal beta-1,3-glucanases: production and biotechnological applications. **Semina**, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 75–86, 2010.
- BERGMAN, K.; MÜLLER, L.; TEIGEN, S. Weberg. The genotoxicity and carcinogenicity of paracetamol: a regulatory (re) view. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, [s. l.], v. 349, n. 2, p. 263–288, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(95\)00185-9](https://doi.org/10.1016/0027-5107(95)00185-9)
- BOSH, M Espinosa Bosch *et al.* Determination of paracetamol: historical evolution. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, [s. l.], v. 42, n. 3, p. 291–321, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2006.04.007>. Acesso em: 7 jul. 2021.
- BRAZIL. **Brazilian Pharmacopoeia**. 5. ed. Brasilia: ANVISA, 2010.
- BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION. **British Pharmacopoeia**. 5. ed. London: The Stationery Office, 2013.
- BRUNTON, Laurence L.; CHABNER, Bruce A.; KNOLLMANN, Bjorn C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. [S. l.]: McGraw Hill Brasil, 2012.
- CHEN, Gaoyun *et al.* Quantification of amlodipine in dried blood spot samples by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, [s. l.], v. 1072, p. 252–258, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JCHROMB.2017.11.018>
- CINTI, S. *et al.* Novel carbon black-cobalt phthalocyanine nanocomposite as sensing platform to detect organophosphorus pollutants at screen-printed electrode. **Electrochimica Acta**, [s. l.], v. 188, p. 574–581, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2015.11.069>
- COELHO, João H. *et al.* Exploring the exocellular fungal biopolymer botryosphaeran for laccase-biosensor architecture and application to determine dopamine and spironolactone. **Talanta**, [s. l.], 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.033>
- CONSTANZER, M; CHAVEZ, C; MATUSZEWSKI, B. Development and comparison of high-performance liquid chromatographic methods with tandem mass spectrometric and ultraviolet absorbance detection for the determination of cyclobenzaprine in human plasma and urine. **Journal of chromatography. B, Biomedical applications**, [s. l.], v. 666, n. 1, p. 117–126, 1995.
- CONSTANZER, M L; VINCEK, W C; BAYNE, W F. Determination of cyclobenzaprine in plasma and urine using capillary gas chromatography with nitrogen-selective detection. **Journal of chromatography**, [s. l.], v. 339, n. 2, p. 414–418, 1985.

CORTES, A. P. **Biossensores para dopamina: lacase imobilizada em polissacarídeo**. 2008. - Universidade Estadual de Londrina, [s. l.], 2008.

CROUZIER, Thomas; BOUDOU, Thomas; PICART, Catherine. Polysaccharide-based polyelectrolyte multilayers. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 417–426, 2010.

DAVIDSON, Michael H. Rosuvastatin: a highly efficacious statin for the treatment of dyslipidaemia. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 125–141, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1517/13543784.11.1.125>

DECHTRIRAT, Decha *et al.* A screen-printed carbon electrode modified with gold nanoparticles, poly(3,4-ethylenedioxythiophene), poly(styrene sulfonate) and a molecular imprint for voltammetric determination of nitrofurantoin. **Microchimica Acta**, [s. l.], v. 185, n. 261, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2797-3>

DEHDASHTI, Aliyeh; BABAEI, Ali. Highly Sensitive Electrochemical Sensor Based on Pt Doped NiO Nanoparticles/MWCNTs Nanocomposite Modified Electrode for Simultaneous Sensing of Piroxicam and Amlodipine. **Electroanalysis**, [s. l.], v. 32, n. 5, p. 1017–1024, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ELAN.201900580>. Acesso em: 12 jul. 2021.

DEROCO, Patrícia B.; ROCHA-FILHO, Romeu C.; FATIBELLO-FILHO, Orlando. A new and simple method for the simultaneous determination of amoxicillin and nimesulide using carbon black within a dihexadecylphosphate film as electrochemical sensor. **Talanta**, [s. l.], v. 179, p. 115–123, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2017.10.048>

DEROCO, Patrícia Batista; LOURENCAO, Bruna Cláudia; FATIBELLO-FILHO, Orlando. The use of modified electrode with carbon black as sensor to the electrochemical studies and voltammetric determination of pesticide mesotrione. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 133, p. 188–194, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2017.03.024>

DEVARAJ, Manoj *et al.* Fabrication of novel shape Cu and Cu/Cu₂O nanoparticles modified electrode for the determination of dopamine and paracetamol. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 221, p. 930–941, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2016.06.028>

DING, Yongling *et al.* Ultrasensitive and selective detection of Cd(II) using ZnSe-xanthan gum complex/CNT modified electrodes. **Electroanalysis**, [s. l.], v. 30, n. 5, p. 877–885, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/elan.201700763>

DONNET, Jean-Baptiste; BANSAL, Roop Chand; WANG, Meng-Jiao. **Carbon black : science and technology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1993.

DUARTE, Viviane. **Os riscos da automedicação | Apae-BH**. [S. l.], 2020. Disponível em: <https://apaebh.org.br/artigos/saude/os-riscos-da-automedicacao/>. Acesso em: 7 jul. 2021.

EIRAS, Carla *et al.* Nanocompósitos eletroativos de poli-o-metoxianilina e

polissacarídeos naturais. **Química Nova**, [s. l.], v. 30, n. 5, p. 1158–1162, 2007.

EISELE, Ana Paula Pires *et al.* Layering of a film of carboxymethyl-botryosphaeran onto carbon black as a novel sensitive electrochemical platform on glassy carbon electrodes for the improvement in the simultaneous determination of phenolic compounds. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [s. l.], v. 287, p. 18–26, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2019.02.004>. Acesso em: 14 nov. 2019.

ELY, Luísa Scheer *et al.* Uso de anti-inflamatórios e analgésicos por uma população de idosos atendida na Estratégia Saúde da Família. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 475–485, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-9823.2015.14141>. Acesso em: 7 jul. 2021.

ESTEVINHO, M F; SOARES-FORTUNATO, J M. Dopamina e receptores. **Revista Portuguesa de Psicossomática**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 21–31, 2003.

FERNANDES, Isabel Garrido; CHIORCEA-PAQUIM, Ana Maria; OLIVEIRA-BRETT, Ana Maria. Calcium channel blocker lercanidipine electrochemistry using a carbon black–modified glassy carbon electrode. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 412, n. 24, p. 6381–6389, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02591-y>. Acesso em: 12 nov. 2020.

FISHER, A.L.; BAYNE, W.F.; MUSSON, D.G. A sensitive method for assay of a novel tricyclic compound using coulometric electrochemical detection. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 78, n. 11, p. 971–974, 1989. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jps.2600781119>

FRANÇA, Eliana. **Produção de filmes automontados constituídos por polianilina associados ao polissacarídeo fúngico botriosferana**. 2007. - Universidade Estadual de Londrina, [s. l.], 2007.

GAUTAM, Vineeta; SINGH, Karan Pratap; YADAV, Vijay Laxmi. Polyaniline/multiwall carbon nanotubes/starch nanocomposite material and hemoglobin modified carbon paste electrode for hydrogen peroxide and glucose biosensing. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 111, p. 1124–1132, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.01.094>

GIESE, Ellen C. *et al.* Free-radical scavenging properties and antioxidant activities of botryosphaeran and some other β -D-glucans. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 72, p. 125–130, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2014.07.046>

GOODMAN, Louis S.; GILMAN, Alfred. **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**. [S. l.: s. n.], 2005.

GOYAL, Rajendra N. *et al.* Differential pulse voltammetric determination of paracetamol at nanogold modified indium tin oxide electrode. **Electrochemistry Communications**, [s. l.], v. 7, n. 8, p. 803–807, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ELECOM.2005.05.005>

GOYAL, Rajendra N.; BISHNOI, Sunita. Simultaneous determination of epinephrine

and norepinephrine in human blood plasma and urine samples using nanotubes modified edge plane pyrolytic graphite electrode. **Talanta**, [s. l.], v. 84, n. 1, p. 78–83, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.12.034>

GOYAL, Rajendra N.; BISHNOI, Sunita. Voltammetric determination of amlodipine besylate in human urine and pharmaceuticals. **Bioelectrochemistry**, [s. l.], v. 79, n. 2, p. 234–240, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2010.06.004>

GROUP, Heart Protection Study Collaborative. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. **Lancet (London, England)**, [s. l.], v. 360, n. 9326, p. 7–22, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)09327-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09327-3). Acesso em: 23 jul. 2021.

GUO, Xinrui *et al.* Simultaneous electrochemical determination of dopamine and uric acid based on MoS₂nanoflowers-graphene/ITO electrode. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 154, p. 104527, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104527>

GUO, Yonglang; ZHENG, Yanzhen; HUANG, Meihua. Enhanced activity of PtSn/C anodic electrocatalyst prepared by formic acid reduction for direct ethanol fuel cells. **Electrochimica Acta**, [s. l.], v. 53, n. 7, p. 3102–3108, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2007.11.024>

HAAS, Hans. History of antipyretic analgesic therapy. **The American Journal of Medicine**, [s. l.], v. 75, n. 5 PART 1, p. 1–3, 1983. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(83\)90225-5](https://doi.org/10.1016/0002-9343(83)90225-5)

HALL, J E; GUYTON, A C. **Tratado de fisiologia médica**. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017. *E-book*.

HARIDAS, Vijayasree *et al.* Selective electrochemical determination of paracetamol using hematite/graphene nanocomposite modified electrode prepared in a green chemical route. **Materials Chemistry and Physics**, [s. l.], v. 263, p. 124379, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.MATCHEMPHYS.2021.124379>

HERRIN, G. L.; MCCURDY, H. H.; WALL, W. H. Investigation of an LC-MS-MS (QTrap(R)) method for the rapid screening and identification of drugs in postmortem toxicology whole blood samples. **Journal of Analytical Toxicology**, [s. l.], v. 29, n. 7, p. 599–606, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jat/29.7.599>

HUANG, Jan-Chan. Carbon black filled conducting polymers and polymer blends. **Advances in Polymer Technology**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 299–313, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/adv.10025>

HUANG, Jianshe *et al.* Simultaneous electrochemical determination of dopamine, uric acid and ascorbic acid using palladium nanoparticle-loaded carbon nanofibers modified electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 632–637, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.06.011>

HULANICKI, Adam; GLAB, Staniseaw; INGMAN, Folke. Chemical sensors definitions

and classification. **International Union of Pure and Applied Chemistry**, [s. l.], v. 63, n. 9, p. 1247–1250, 1991.

IKEMOTO, Satoshi; YANG, Chen; TAN, Aaron. Basal ganglia circuit loops, dopamine and motivation: A review and enquiry. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 290, p. 17–31, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.04.018>

IS PAIN A SYMPTOM OF PARKINSON'S DISEASE? [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.apdaparkinson.org/article/is-pain-a-symptom-of-parkinsons-disease/>. Acesso em: 25 jul. 2019.

KANG, D; VEROTTA, D; SCHWARTZ, J. Population analyses of amlodipine in patients living in the community and patients living in nursing homes. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, [s. l.], v. 79, n. 1, p. 114–124, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clpt.2005.09.007>

KARADAS-BAKIRHAN, Nurgul *et al.* Simultaneous determination of amlodipine besylate and rosuvastatin calcium in binary mixtures by voltammetric and chromatographic techniques. **Ionics**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 277–288, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11581-015-1534-8>

KARADURMUS, Leyla *et al.* DIFFERENTIAL PULSE VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF ROSUVASTATIN VIA GLASSY CARBON ELECTRODE. **Rev. Roum. Chim**, [s. l.], v. 62, n. 7, p. 579–586, 2017. Disponível em: <http://web.icf.ro/rrch/>. Acesso em: 24 jul. 2021.

KARIMI-MALEH, Hassan; AROTIBA, Omotayo A. Simultaneous determination of cholesterol, ascorbic acid and uric acid as three essential biological compounds at a carbon paste electrode modified with copper oxide decorated reduced graphene oxide nanocomposite and ionic liquid. **Journal of Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 560, p. 208–212, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.10.007>

KASSEM, Mohammed A.; GUESMI, Nizar El. Sensitive kinetic spectrophotometric determination of cyclobenzaprine HCl in pure form and pharmaceutical formulations. **Analytical Chemistry Letters**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 657–668, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/22297928.2016.1249517>

KATZ, W A; DUBE, J. Cyclobenzaprine in the treatment of acute muscle spasm: review of a decade of clinical experience. **Clinical therapeutics**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 216–228, 1988.

KEMMEGNE-MBOUGUEN, Justin Claude *et al.* Simultaneous quantification of acetaminophen and tryptophan using a composite graphene foam/Zr-MOF film modified electrode. **New Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 44, n. 30, p. 13108–13117, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/d0nj02374d>. Acesso em: 12 nov. 2020.

KHORSHED, Ahmed A.; KHAIRY, Mohamed; BANKS, Craig E. Electrochemical determination of antihypertensive drugs by employing costless and portable unmodified screen-printed electrodes. **Talanta**, [s. l.], v. 198, p. 447–456, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2019.01.117>

KISELY, Stephen R; LAWRENCE, David; PRESTON, Neil J. The effect of recalling paracetamol on hospital admissions for poisoning. **Medical Journal of Australia**, [s. l.], v. 179, n. 4, p. 221–223, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.5694/J.1326-5377.2003.TB05514.X>

KOBAYASHI, Hiroyuki; HASEGAWA, Yutaka; ONO, Hideki. Cyclobenzaprine, a centrally acting muscle relaxant, acts on descending serotonergic systems. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 311, n. 1, p. 29–35, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(96\)00402-5](https://doi.org/10.1016/0014-2999(96)00402-5)

LANE, Ross F.; HUBBARD, Arthur T. Electrochemistry of chemisorbed molecules. I. Reactants connected to electrodes through olefinic substituents. **The Journal of Physical Chemistry**, [s. l.], v. 77, n. 11, p. 1401–1410, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/j100630a018>

ŁAWRYWIANIEC, M. *et al.* Application of a glassy carbon electrode modified with carbon black nanoparticles for highly sensitive voltammetric determination of quetiapine. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 9, n. 47, p. 6662–6668, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C7AY02140B>

LEE, Joon Hwan *et al.* A novel organophosphorus hydrolase-based biosensor using mesoporous carbons and carbon black for the detection of organophosphate nerve agents. **Biosensors and Bioelectronics**, [s. l.], v. 25, n. 7, p. 1566–1570, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2009.10.013>

LIN, Zebin *et al.* Simultaneous determination of *N*-ethylpentylone, dopamine, 5-hydroxytryptamine and their metabolites in rat brain microdialysis by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Biomedical Chromatography**, [s. l.], v. 33, n. 10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bmc.4626>. Acesso em: 16 abr. 2020.

LINDEN, Christopher H. *et al.* Cyclobenzaprine Overdosage. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 281–288, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/15563658308990071>

LIU, Su *et al.* A novel label-free electrochemical aptasensor based on graphene-polyaniline composite film for dopamine determination. **Biosensors and Bioelectronics**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 186–191, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.04.011>

LOUNASVUORI, Mailis M.; KELLY, David; FOORD, John S. Carbon black as low-cost alternative for electrochemical sensing of phenolic compounds. **Carbon**, [s. l.], v. 129, p. 252–257, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.CARBON.2017.12.020>

LOWINSOHN, Denise; BERTOTTI, Mauro. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, [s. l.], v. 29, n. 6, p. 1318–1325, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000600029>

M. ŁAWRYWIANIEC *et al.* Application of a glassy carbon electrode modified with carbon black nanoparticles for highly sensitive voltammetric determination of

quetiapine. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 9, n. 47, p. 6662–6668, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C7AY02140B>. Acesso em: 20 jul. 2021.

MALESUIK, Marcelo Donadel *et al.* Determination of Amlodipine in Pharmaceutical Dosage Forms by Liquid Chromatography and Ultraviolet Spectrophotometry. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, [s. l.], v. 89, n. 2, p. 359–364, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/JAOAC/89.2.359>. Acesso em: 10 jul. 2021.

MANI, Veerappan; PERIASAMY, Arun Prakash; CHEN, Shen Ming. Highly selective amperometric nitrite sensor based on chemically reduced graphene oxide modified electrode. **Electrochemistry Communications**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 75–78, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2012.02.009>

MATTOS, Gabriel J. *et al.* Laccase stabilized on β -D-glucan films on the surface of carbon black/gold nanoparticles: A new platform for electrochemical biosensing. **Bioelectrochemistry**, [s. l.], 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BIOELECTCHEM.2019.05.002>

MAXIMINO, Mateus Dassie *et al.* Layer-by-layer thin film of iron phthalocyanine as a simple and fast sensor for polyphenol determination in tea samples. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 81, n. 10, p. C2344–C2351, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13394>

MEHRING, Von. Beiträge zur Kenntniss der Antipyretica. **Therapeutische Monatsschrift**, [s. l.], v. 7, p. 577–579, 1893. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1055/s-0029-1199731.pdf>. Acesso em: 12 fev. 2021.

MEMON, Ayaz Ali. Development of Colorimetric Method for the Quantitative Analysis of Amlodipine Besylate in Dosage form Using 4- Dimethyleaminobenzaldehyde as Derivatizing Reagent. **Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 27–33, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.21743/PJAEC/2020.06.04>. Acesso em: 10 jul. 2021.

MIRANDA-NANTES, Carolina C B O *et al.* Hypoglycemic and hypocholesterolemic effects of botryosphaeran from botryosphaeria rhodina MAMB-05 in diabetes-induced and hyperlipidemia conditions in rats. **Mycobiology**, [s. l.], v. 39, n. 3, p. 187–193, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5941/MYCO.2011.39.3.187>

MONKMAN, S. C. *et al.* Automated gas chromatographic assay for amlodipine in plasma and gingival crevicular fluid. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, [s. l.], v. 678, n. 2, p. 360–364, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(95\)00526-9](https://doi.org/10.1016/0378-4347(95)00526-9)

MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 47, n. 12, p. 1882–1886, 1975.

MUSSHOFF, F. *et al.* Determination of dopamine and dopamine-derived (R)-/(S)-salsolinol and norsalsolinol in various human brain areas using solid-phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry. **Forensic Science International**, [s. l.], v. 113, n. 1–3, p. 359–366, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(00\)00225-5](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(00)00225-5)

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

PANDIAN, Kannaiyan *et al.* Voltammetric determination of caffeic acid by using a glassy carbon electrode modified with a chitosan-protected nanohybrid composed of carbon black and reduced graphene oxide. **Microchimica Acta** **2019** **186:2**, [s. l.], v. 186, n. 2, p. 1–9, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S00604-018-3117-7>. Acesso em: 20 jul. 2021.

PEREIRA, Arnaldo C.; SANTOS, Antonio S.; KUBOTA, Lauro T. Tendências em modificação de eletrodo amperométrico para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, [s. l.], v. 25, n. 6, p. 1012–1021, 2002.

QUEIROZ, Daniely *et al.* Electrochemical determination of norepinephrine by means of modified glassy carbon electrodes with carbon nanotubes and magnetic nanoparticles of cobalt ferrite. **Sensors**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 1223, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/s18041223>

QUEIROZ, Eveline A.I.F. *et al.* Antiproliferative and pro-apoptotic effects of three fungal exocellular β -glucans in MCF-7 breast cancer cells is mediated by oxidative stress, AMP-activated protein kinase (AMPK) and the Forkhead transcription factor, FOXO3a. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [s. l.], v. 67, p. 14–24, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BIOCEL.2015.08.003>

RAJPUROHIT, Anuja S.; BORA, Dimple K.; SRIVASTAVA, Ashwini K. Simultaneous determination of amlodipine and losartan using an iron metal-organic framework/mesoporous carbon nanocomposite-modified glassy carbon electrode by differential pulse voltammetry. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 10, n. 45, p. 5423–5438, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c8ay01553h>. Acesso em: 17 out. 2020.

RAMADAN, Nesrin K. *et al.* Stability-indicating high-performance liquid chromatography and thin-layer chromatography methods for the determination of cyclobenzaprine hydrochloride and asenapine maleate. **Journal of Planar Chromatography - Modern TLC**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 313–322, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1556/1006.2017.30.4.12>

RAMADAN, Nesrin K.; ZAAZAA, Hala E.; MEREY, Hanan A. Microsized Graphite Sensors for Potentiometric Determination of Cyclobenzaprine Hydrochloride in Pure Powder, Tablets, and Plasma. **Journal of AOAC International**, [s. l.], v. 94, n. 6, p. 1807–1814, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.10-361>. Acesso em: 14 fev. 2018.

RASHED, Md. A. *et al.* MWCNT-Doped Polypyrrole-Carbon Black Modified Glassy Carbon Electrode for Efficient Electrochemical Sensing of Nitrite Ions. **Electrocatalysis** **2021**, [s. l.], p. 1–17, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S12678-021-00675-6>. Acesso em: 20 jul. 2021.

RENEDO, Olga Domínguez; MARTÍNEZ, Julia Arcos. A novel method for the anodic stripping voltammetry determination of Sb(III) using silver nanoparticle-modified screen-printed electrodes. **Electrochemistry Communications**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 820–826, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ELECOM.2006.11.016>

ROSTAMI, Asma; HADJIZADEH, Afra; MAHSHID, Sara. Colorimetric determination of dopamine using an electrospun nanofibrous membrane decorated with gold nanoparticles. **Journal of Materials Science**, [s. l.], v. 55, n. 18, p. 7969–7980, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10853-020-04547-0>

SACIDE ALTINÖZ; BANU UYAR. Electrochemical behaviour and voltammetric determination of rosuvastatin calcium in pharmaceutical preparations using a square-wave voltammetric method. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 5, n. 20, p. 5709–5716, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C3AY40863A>. Acesso em: 24 jul. 2021.

SADOK, Ilona; TYSZCZUK-ROTKO, Katarzyna; NOSAL-WIERCIŃSKA, Agnieszka. Bismuth particles Nafion covered boron-doped diamond electrode for simultaneous and individual voltammetric assays of paracetamol and caffeine. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [s. l.], v. 235, p. 263–272, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2016.05.087>

SALAMANCA-NETO, Carlos A.R. *et al.* Carboxymethyl-botryosphaeran stabilized carbon nanotubes aqueous dispersion: A new platform design for electrochemical sensing of desloratadine. **Talanta**, [s. l.], v. 210, p. 120642, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120642>

SALEEM, Basima A. A. Spectrophotometric Determination of some Drugs using Oxidation Reduction Reactions. **Ibn AL- Haitham Journal For Pure and Applied Science**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 43–55, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.30526/32.3.2281>

SARTORI, Elen Romão; TAKEDA, Humberto Hissashi; FATIBELLO-FILHO, Orlando. Glassy carbon electrode modified with functionalized carbon nanotubes within a poly(allylamine hydrochloride) film for the voltammetric determination of sulfite in foods. **Electroanalysis**, [s. l.], v. 23, n. 11, p. 2526–2533, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/elan.201100122>

SARTORI, Elen Romão; VICENTINI, Fernando Campanhã; FATIBELLO-FILHO, Orlando. Indirect determination of sulfite using a polyphenol oxidase biosensor based on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes and gold nanoparticles within a poly(allylamine hydrochloride) film. **Talanta**, [s. l.], v. 87, p. 235–242, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.10.003>

SCREMIN, Jessica *et al.* Amperometric determination of ascorbic acid with a glassy carbon electrode modified with TiO₂-gold nanoparticles integrated into carbon nanotubes. **Microchimica Acta**, [s. l.], v. 185, n. 5, p. 251, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2785-7>

SHAIKH, Javed Shaikh Afzal *et al.* High performance liquid chromatographic assay of amlodipine, valsartan and hydrochlorothiazide simultaneously and its application to pharmaceuticals, urine and plasma analysis. **Journal of Chromatography B**, [s. l.], v. 1155, p. 122295, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JCHROMB.2020.122295>

SILVA, Tânia Regina; VIEIRA, Iolanda Cruz. A biosensor based on gold nanoparticles stabilized in poly(allylamine hydrochloride) and decorated with laccase

for determination of dopamine. **The Analyst**, [s. l.], v. 141, n. 1, p. 216–224, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C5AN01784J>

SILVA, Tiago A. *et al.* Square-wave voltammetric determination of rosuvastatin calcium in pharmaceutical and biological fluid samples using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. **Diamond and Related Materials**, [s. l.], v. 58, p. 103–109, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.DIAMOND.2015.06.013>

SILVA, Tiago Almeida *et al.* Electrochemical determination of rosuvastatin calcium in pharmaceutical and human body fluid samples using a composite of vertically aligned carbon nanotubes and graphene oxide as the electrode material. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [s. l.], v. 218, p. 51–59, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2015.04.085>

SIPA, Karolina *et al.* β -Cyclodextrins incorporated multi-walled carbon nanotubes modified electrode for the voltammetric determination of the pesticide dichlorophen. **Talanta**, [s. l.], v. 176, p. 625–634, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2017.07.084>

SMAJDOR, Joanna *et al.* Glassy carbon electrode modified with carbon black for sensitive estradiol determination by means of voltammetry and flow injection analysis with amperometric detection. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 544, p. 7–12, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.AB.2017.12.025>

SONG, Xinjian *et al.* Simultaneous voltammetric determination of acetaminophen and dopamine using a glassy carbon electrode modified with copper porphyrin-exfoliated graphene. **Microchimica Acta**, [s. l.], v. 185, n. 8, p. 6–13, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2891-6>

SOUZA, Maria de Fátima Brito. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Química Nova**, [s. l.], v. 20, n. 2, 1997.

STRADIOTTO, Nelson R.; YAMANAKA, Hideko; ZANONI, Maria Valnice B. Electrochemical sensors: a powerful tool in analytical chemistry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 159–173, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532003000200003>

STUCHLIK, Ales *et al.* Manipulation of D2 receptors with quinpirole and sulpiride affects locomotor activity before spatial behavior of rats in an active place avoidance task. **Neuroscience Research**, [s. l.], v. 58, n. 2, p. 133–139, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neures.2007.02.006>

SUHERMAN, Alex L. *et al.* Electrochemical detection of ultratrace (picomolar) levels of Hg²⁺ using a silver nanoparticle-modified glassy carbon electrode. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 89, n. 13, p. 7166–7173, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b01304>

TALARICO, Daria *et al.* Carbon black as successful screen-printed electrode modifier for phenolic compound detection. **Electrochemistry Communications**, [s. l.], v. 60, p. 78–82, 2015a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ELECOM.2015.08.010>

TALARICO, Daria *et al.* Carbon black as successful screen-printed electrode modifier for phenolic compound detection. **Electrochemistry Communications**, [s. l.], v. 60, p. 78–82, 2015b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ELECOM.2015.08.010>. Acesso em: 14 fev. 2018.

TATAR, Sevgi; ATMACA, Sedef. Determination of amlodipine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, [s. l.], v. 758, n. 2, p. 305–310, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(01\)00197-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(01)00197-9)

UNITED STATES PHARMACOPOEIAL CONVENTION (org.). **United States Pharmacopoeia**. Rockville: [s. n.], 2007. *E-book*.

VELUSAMY, Vijayalakshmi *et al.* Graphene dispersed cellulose microfibers composite for efficient immobilization of hemoglobin and selective biosensor for detection of hydrogen peroxide. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [s. l.], v. 252, p. 175–182, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2017.05.041>

VICENTINI, Fernando Campanhã *et al.* Imparting improvements in electrochemical sensors: evaluation of different carbon blacks that give rise to significant improvement in the performance of electroanalytical sensing platforms. **Electrochimica Acta**, [s. l.], v. 157, p. 125–133, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.11.204>

WANG, Baozhen; NOGUCHI, Takio; ANZAI, Jun-ichi. Layer-by-layer thin film-coated electrodes for electrocatalytic determination of ascorbic acid. **Talanta**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 415–418, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2006.10.044>

WANG, Meng-Jiao *et al.* Carbon Black. *In*: KIRK-OTHMER ENCYCLOPEDIA OF CHEMICAL TECHNOLOGY. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2003. p. 761–803. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/0471238961.0301180204011414.a01.pub2>

WANG, Minghua *et al.* A gold electrode modified with amino-modified reduced graphene oxide, ion specific DNA and DNzyme for dual electrochemical determination of Pb(II) and Hg(II). **Microchimica Acta**, [s. l.], v. 182, n. 13–14, p. 2251–2258, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00604-015-1569-6>

WANG, You *et al.* Electrochemical sensors for clinic analysis. **Sensors (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 2043–2081, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/s8042043>

WEI, Chan *et al.* Simultaneous electrochemical determination of hydroquinone, catechol and resorcinol at Nafion/multi-walled carbon nanotubes/carbon dots/multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. **Electrochimica Acta**, [s. l.], v. 149, p. 237–244, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.10.051>

WHITE, C Michael. A review of the pharmacologic and pharmacokinetic aspects of rosuvastatin. **Journal of clinical pharmacology**, [s. l.], v. 42, n. 9, p. 963–970, 2002.

WONG, Ademar; SANTOS, Anderson Martin; FATIBELLO-FILHO, Orlando.

Simultaneous determination of paracetamol and levofloxacin using a glassy carbon electrode modified with carbon black, silver nanoparticles and PEDOT:PSS film.

Sensors and Actuators B: Chemical, [s. l.], v. 255, p. 2264–2273, 2018.

WU, Dong *et al.* Sensitive determination of norepinephrine, epinephrine, dopamine and 5-hydroxytryptamine by coupling HPLC with [Ag(HIO6)2]5⁻-luminol chemiluminescence detection. **Biomedical Chromatography**, [s. l.], v. 30, n. 9, p. 1458–1466, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bmc.3704>. Acesso em: 16 abr. 2020.

WU, Lina; ZHANG, Xueji; JU, Huangxian. Amperometric glucose sensor based on catalytic reduction of dissolved oxygen at soluble carbon nanofiber. **Biosensors and Bioelectronics**, [s. l.], v. 23, n. 4, p. 479–484, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2007.06.009>

YAQOOB, Sana *et al.* A Novel and Efficient Colorimetric Assay for Quantitative Determination of Amlodipine in Environmental, Biological and Pharmaceutical Samples. **ChemistrySelect**, [s. l.], v. 4, n. 34, p. 10046–10053, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/SLCT.201902334>. Acesso em: 10 jul. 2021.

YE, Yuhang *et al.* Amperometric glucose biosensor based on effective self-assembly technology for preparation of poly(allylamine hydrochloride)/au nanoparticles multilayers. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 2270–2276, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1166/jnn.2016.10956>

YILMAZ, Bilal; YILMAZ, İnurullah. Simultaneous determination of rosuvastatin and amlodipine in binary mixtures by differential pulse voltammetry and HPLC methods. **Eurasian Chem. Commun**, [s. l.], v. 2, n. 8, p. 881–894, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.22034/ecc.2020.109382>. Acesso em: 19 out. 2020.

ZARE, H. R.; NASIRIZADEH, N.; MAZLOUM ARDAKANI, M. Electrochemical properties of a tetrabromo-p-benzoquinone modified carbon paste electrode. Application to the simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 577, n. 1, p. 25–33, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2004.11.010>

ZEINALI, Homa *et al.* Nanomolar simultaneous determination of tryptophan and melatonin by a new ionic liquid carbon paste electrode modified with SnO₂-Co₃O₄@rGO nanocomposite. **Materials Science and Engineering: C**, [s. l.], v. 71, p. 386–394, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2016.10.020>

ZEN, Jyh-Myng; SENTHIL KUMAR, Annamalai; TSAI, Dong-Mung. Recent updates of chemically modified electrodes in analytical chemistry. **Electroanalysis**, [s. l.], v. 15, n. 13, p. 1073–1087, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/elan.200390130>

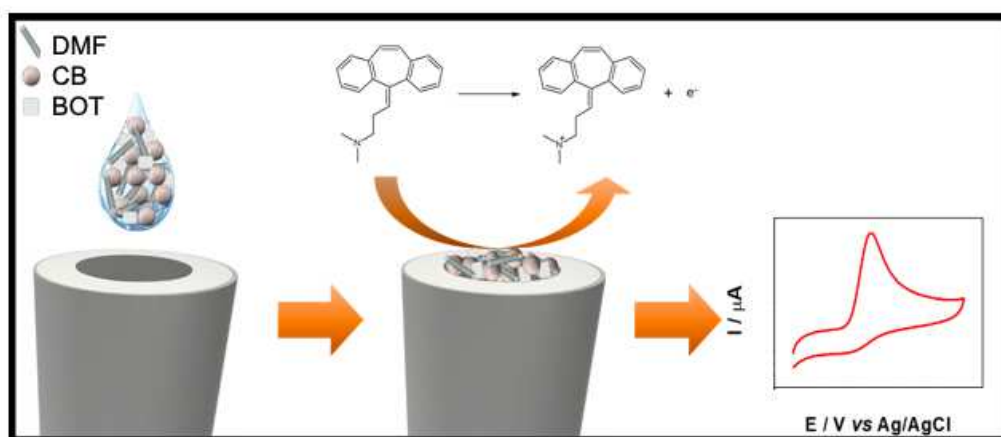
ZHU, Min *et al.* Peroxidase-based spectrophotometric methods for the determination of ascorbic acid, norepinephrine, epinephrine, dopamine and levodopa. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 357, n. 3, p. 261–267, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(97\)00561-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(97)00561-8)

ZINOUBI, K. *et al.* Determination of trace heavy metal ions by anodic stripping

voltammetry using nanofibrillated cellulose modified electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 799, p. 70–77, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JELECHEM.2017.05.039>

CAPÍTULO 1

“Aplicação do botriosferana como um aderente de *carbon black* sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo para a determinação eletroquímica da ciclobenzaprina”



Publicado em: *Electrochimica Acta*, Volume 379, Maio de 2021; 526-536.

RESUMO

O presente trabalho descreve a caracterização e o desempenho de um novo sensor voltamétrico baseado na modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo (ECV) com *carbon black* (CB) e botriosferana (BOT), para a determinação de ciclobenzaprina (CIC). A caracterização eletroquímica foi realizada por meio da espectroscopia de impedância eletroquímica e mostrou uma melhora na transferência de elétrons sobre a superfície do sensor desenvolvido em relação ao ECV sem modificação. A microscopia eletrônica de varredura mostrou que o filme de CB-BOT recobre por completo a superfície do ECV e que essa modificação garante maior área eletroativa ao eletrodo. No eletrodo modificado, a ciclobenzaprina mostrou um pico de oxidação irreversível no potencial de 0,98 V (vs Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹)) em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹, apresentando menor potencial e maior intensidade de corrente que aqueles apresentados pelo ECV ou pelos eletrodos modificados somente com CB ou BOT. Usando voltametria de onda quadrada, a curva analítica obtida foi linear na faixa de concentração de 2,0 a 20,6 μmol L⁻¹ em solução de NaCl 0,1 mol L⁻¹, com um limite de detecção de 0,028 μmol L⁻¹. O sensor desenvolvido foi aplicado na determinação de ciclobenzaprina em formulações farmacêuticas e os resultados obtidos foram estatisticamente semelhante aos resultados obtidos utilizando a espectrofotometria, com 95% de confiança. Além disso, empregando o teste de adição e recuperação quantificou-se a concentração de CIC com sucesso em amostras reais de soro sanguíneo e água de torneira e rio.

Palavras-chave: sensor voltamétrico, ciclobenzaprina, *carbon black*, β-D-glucana.

1. INTRODUÇÃO

A CIC, um relaxante muscular de ação central, é amplamente usado para o alívio de espasmos musculares e dores associadas a hiperatividade musculoesquelética aguda, bem como para o tratamento de fibromialgia e transtorno de estresse pós-traumático (KATZ; DUBE, 1988; LINDEN *et al.*, 1983). Devido aos seus benefícios, a CIC é amplamente empregada no tratamento de dores musculares, porém em casos de uma overdose desse medicamento, o paciente pode apresentar arritmia cardíaca, alucinações, desorientações e comportamento anormal, assim como sensação de pele e boca secas (LINDEN *et al.*, 1983). Por ser um medicamento para consumo humano, os fármacos devem passar por vários testes qualitativos e quantitativos para garantir a segurança e eficácia do tratamento aos pacientes. É de extrema importância, portanto, que os níveis de CIC possam ser monitorados na corrente sanguínea dos pacientes para fins de controle clínico.

Procedimentos baseados nas técnicas de cromatografia líquida e gasosa (ADAMOWICZ; KAŁA, 2010; CONSTANZER, M.; CHAVEZ; MATUSZEWSKI, 1995; CONSTANZER, M. L.; VINCEK; BAYNE, 1985; HERRIN; MCCURDY; WALL, 2005; RAMADAN *et al.*, 2017) e espectrofotometria (KASSEM; GUESMI, 2016) foram descritos na literatura para a determinação de CIC, porém requerem extensivo preparo de amostra, utilizam solventes orgânicos, alto tempo de análise e instrumentação de relativo alto custo. Neste contexto, as técnicas eletroquímicas, por serem simples, rápidas, sensíveis, seletivas, ambientalmente amigáveis e possuírem um relativo baixo custo, veem se destacam como um método alternativo para a determinação de moléculas orgânicas (COLDIBELI *et al.*, 2020; DEROCO, P. B. *et al.*, 2015; JEVTIĆ *et al.*, 2018; MATTOS, G. J. *et al.*, 2017; MORAES *et al.*, 2019).

Para a determinação de CIC, há descrito na literatura apenas um trabalho que emprega técnica eletroanalítica, a potenciometria (RAMADAN; ZAAZAA; MEREY, 2011). Neste trabalho, Ramadan e colaboradores desenvolveram um sensor potenciométrico de micrografite para a determinação de CIC. Os autores obtiveram linearidade no intervalo de concentração de 10 a 10000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de 6,50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sendo o sensor desenvolvido aplicado na determinação de CIC em pó puro, medicamento e plasma (RAMADAN; ZAAZAA; MEREY, 2011). Entretanto, para a quantificação de CIC em amostras de soro sanguíneo é preciso

que o método desenvolvido alcance baixas concentrações, valores mais baixos do que os especificados pelos autores (RAMADAN; ZAAZAA; MEREY, 2011). A voltametria, uma técnica muito sensível, vem comprovando ser excelente para as análises de amostras farmacêutica, biológica e ambiental (MANRIQUE *et al.*, 2020). Além disso, não há trabalho na literatura empregando voltametria para a determinação de CIC, sendo este o primeiro trabalho da literatura a empregar voltametria para a quantificação de CIC em amostras reais. Rodrigues e colaboradores realizaram a caracterização eletroquímica da CIC sobre a superfície de um eletrodo de pasta de carbono, porém não houve aplicação do mesmo para a determinação de CIC em amostras (RODRIGUES *et al.*, 2019).

Em vista do exposto, um novo sensor voltamétrico a base de botriosferana (BOT) e carbon black (CB) é proposto para a determinação de CIC. A BOT é um exopolissacarídeo produzido pelo fungo *Botryosphaeria rhodina* MAMB-05, sendo caracterizada como uma (1→3)(1→6)-β-D-glucana (BARBOSA *et al.*, 2003). A propriedade aderente da BOT vem sendo explorada na construção de biossensores (MATTOS *et al.*, 2019; SALAMANCA-NETO *et al.*, 2020), em que a BOT foi empregada para a imobilização da enzima laccase. No entanto, a BOT não foi ainda utilizada para melhorar a aderência de CB sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo (ECV) para a construção de uma nova plataforma eletroquímica, sendo este apresentado pela primeira vez neste trabalho.

O CB é um nanomaterial constituído de carbono hibridizado sp^2 e sp^3 , em que possui características físicas importantes para a área da eletroquímica, sendo elas: alta área superficial, excelente condutividade e estabilidade física e química (DEROCO, P. ; LOURENCAO; FATIBELLO-FILHO, 2017). Além disso, o CB possuiu um relativo baixo custo quando comparado a outros materiais de matriz carbonácea usualmente empregados para o desenvolvimento de novos sensores (CINTI, Stefano *et al.*, 2016; DEROCO, P.; LOURENCAO; FATIBELLO-FILHO, 2017). Na literatura é possível encontrar trabalhos em que o CB foi utilizado como material condutor para a construção de novos (bio)sensores para a determinação de diversos analitos, como: compostos organofosforados (CINTI, S. *et al.*, 2016; LEE *et al.*, 2010), fenólicos (LOUNASVUORI; KELLY; FOORD, 2018; MATTOS, Gabriel J. *et al.*, 2019; TALARICO *et al.*, 2015a), pesticidas (DEROCO, Patrícia Batista; LOURENCAO; FATIBELLO-FILHO, 2017) e medicamentos (DEROCO, Patrícia B.;

ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018a; ŁAWRYWIANIEC *et al.*, 2017; SMAJDOR *et al.*, 2018).

Desse modo, o presente trabalho tem combinado as características da BOT e do CB para o desenvolvimento de uma nova plataforma voltamétrica. O sensor é baseado na modificação da superfície do ECV com CB e BOT (CB-BOT/ECV), e sua aplicação para a determinação eletroanalítica de CIC em medicamentos, soro sanguíneo de rato e amostras de água de rio e torneira, sendo dopadas as amostras biológicas e ambientais.

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Os reagentes utilizados para o preparo dos eletrólitos suporte foram todos de grau analítico e preparados com água ultrapura (resistividade $>18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) proveniente do sistema Milli-Q (Millipore®). A CIC foi obtida da Sigma-Aldrich, o ferrocianeto de potássio da Merck, a dimetilformamida (DMF) obtida da Synth (99,8%). O CB VXC72R foi gentilmente cedido pela Cabot Corporation.

Os reagentes utilizados para o preparo dos eletrólitos suporte, cloreto de potássio, cloreto de sódio, cloreto de bário, sulfato de potássio e sulfato de sódio foram obtidos da Anidrol. As amostras de medicamentos foram obtidas em uma farmácia local, localizada em Londrina, Paraná, Brasil.

Quanto à amostra de plasma de rato, o plasma foi obtido de uma rata do plantel do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina e mantida em sala climatizada em ciclo claro/escuro de 12 horas, com padrão ração de rato (Nuvital, Curitiba, Brasil) e água ad libitum. Às 12 semanas de idade, a rata foi anestesiada (tiopental sódico, 40 mg Kg^{-1}), foi recolhida amostra de sangue da aorta abdominal. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UEL: 6996.2015.02).

As soluções padrão de CIC foram preparadas na concentração de 10 mmol L^{-1} e após seu uso, a mesma foi congelada para o próximo dia de análise. A CIC foi dissolvida no eletrólito suporte utilizado ($\text{NaCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$). A solução de $\text{NaCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ usada como eletrólito suporte foi preparada pela dissolução de NaCl em água ultrapura.

A solução de ferricianeto/ferrocianeto de potássio, na ordem de concentração de 10 mmol L^{-1} , foi preparada a cada dia de trabalho a partir da dissolução do sal em solução de $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

2.2 INSTRUMENTAÇÃO

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT101 (Metrohm Autolab B.V., Holanda) controlado pelo programa NOVA 2.1.3, enquanto as medidas impedimétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato FRAII μ AUTOLAB tipo III (Metrohm Autolab B.V., Holanda) controlado pelo programa NOVA 1.0. Ambos os equipamentos foram acoplados a uma célula eletroquímica de vidro com a capacidade para 15 mL, contendo tampa de Teflon[®] com encaixe para os eletrodos e um orifício para adição do analito. Foi utilizado um CB-BOT/ECV como eletrodo de trabalho, uma placa de platina como eletrodo auxiliar e todos os potenciais foram medidos em relação a um eletrodo de referência de Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹ KCl). O ECV foi obtido da Tokay Carbon Co., Japão (diâmetro 3 mm).

Para auxiliar na dispersão do CB em DMF utilizou-se uma lavadora ultrassônica da Eco-Sonics, modelo Q3.8/37A. Para as medidas de pH foi utilizado um pHmetro Bel Engineering, modelo W3B, empregando um eletrodo de vidro combinado com um eletrodo de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) como referência externa. As pesagens foram realizadas em uma balança analítica Shimadzu, modelo AY220, com precisão de $\pm 0,1$ mg.

A caracterização morfológica dos diferentes sensores foi realizada empregando um MEV, utilizando o modelo JOEL FEG-SEM JSM 6330-F operado a 5 kV. As amostras foram preparadas em uma placa de carbono vítreo, deixado secar a temperatura ambiente.

O espectrofotômetro ThermoSpectronic UV-visível, modelo Genesys, com célula de quartzo (caminho ótico de 1 cm) foi utilizado nas medidas espectrofotométricas empregadas no método comparativo.

2.3 OBTENÇÃO DE BOTRIOSFERANA

A BOT foi obtida como descrito por Barbosa e colaboradores (BARBOSA *et al.*, 2003). A BOT foi isolada a partir do fungo *Botryosphaeria rodhina* MAMB-05 e após o cultivo do fungo, removeu-se os micélios e recuperou-se o sobrenadante através da centrifugação (1250 g/15 min), em seguida realizou-se a diálise por 48 h. Precipitou-se o dialisado da solução adicionando três volumes de

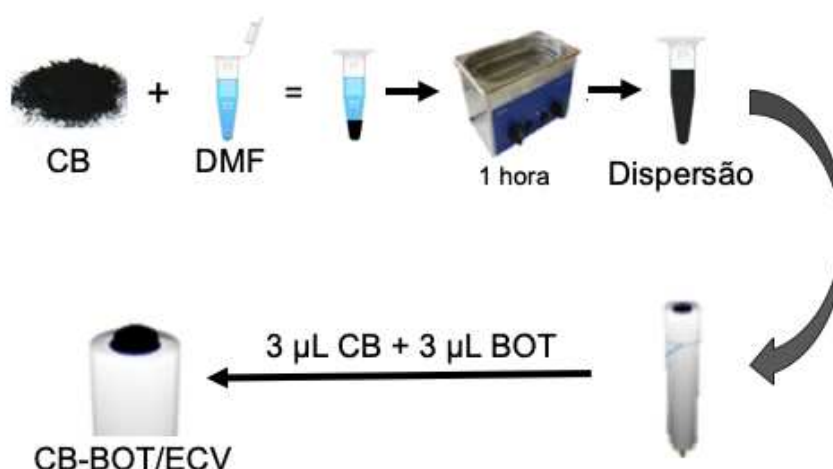
isopropanol e armazenou-se a 4 °C durante a noite. Então, o precipitado foi recuperado após centrifugação, sendo o mesmo dissolvido em água destilada e dialisado com trocas frequentes de água durante 48 h. A solução de BOT foi liofilizada e armazenada a -2 °C até seu uso. Sua concentração, de 0,78 mg mL⁻¹, foi determinada pelo método fenol-sulfúrico (DUBOIS *et al.*, 1956).

2.4 PREPARAÇÃO DO SENSOR

Inicialmente, foi preparado uma dispersão de 2 mg de CB para 1 mL de DMF, sendo sonicada durante 1 h a temperatura ambiente. A proporção de CB em DMF foi posteriormente estudada (seção 3.2.2).

Antes da modificação da superfície do eletrodo, o ECV foi cuidadosamente polido com um papel abrasivo metalográfico (nº 6) e com suspensões de alumina 0,3 e 0,05 µL para a obtenção de uma superfície espelhada. Em seguida, foi lavado com água ultrapura, sonificado com etanol absoluto e água deionizada por cerca de 1 min, respectivamente. Então, com o auxílio de uma micropipeta foram gotejados 3 µL de CB (em solução de DMF, na concentração de 2,0 mg mL⁻¹) e BOT (0,78 mg mL⁻¹) simultaneamente e deixou-se secar por 3 h em temperatura ambiente. A Figura 1 ilustra o procedimento de preparo da dispersão de CB em DMF e sua utilização juntamente com BOT para modificar a superfície do ECV e obter o sensor CB-BOT/ECV.

Figura 1 – Representação esquemática do preparo do sensor CB-BOT/ECV.



Fonte: próprio autor.

2.5 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

As medidas voltamétricas foram realizadas em uma célula eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte, cuja cada alíquota adicionada da solução padrão do analito eram analisadas em triplicata. A técnica de VC foi utilizada para a caracterização eletroquímica dos sensores e no estudo do comportamento voltamétrico da CIC.

A curva analítica foi construída em triplicata utilizando a técnica de VOQ, onde foram feitas sucessivas adições de CIC na célula eletroquímica contendo 10 mL de NaCl 0,1 mol L⁻¹. O LD foi calculado de acordo com as recomendações da IUPAC, usando a Equação 1 (LONG, G. L.; WINEFORDNER, 1983):

$$LD = \frac{3s}{m} \quad (\text{Eq. 1})$$

em que s é o desvio padrão relativo (DPR) da média aritmética de 10 voltamogramas do branco, obtidas das correntes medidas no mesmo potencial do pico de oxidação da CIC e o m é o valor do coeficiente angular da curva analítica.

Para os estudos de resistividade do ECV e dos diferentes sensores, BOT/ECV, CB/ECV e CB-BOT/ECV foi utilizado a técnica de EIE. As medidas foram realizadas no potencial do pico de oxidação do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ de 0,1 Hz a 100 kHz (10 pontos por década) e com perturbação de 10 mV (rms), para 10,0 mmol L⁻¹ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em solução 0,5 mol L⁻¹ de KCl.

2.6 PREPARO DAS AMOSTRAS

Para o preparo das amostras de medicamentos, foram pesados 10 comprimidos, de diferentes marcas, contendo CIC, os quais foram macerados com o auxílio de um almofariz e pistilo. Após a homogeneização, pesou-se a massa referente a um comprimido, sendo dissolvido no eletrólito suporte (NaCl 0,1 mol L⁻¹) e transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 25 mL, sendo o volume completado com o mesmo eletrólito suporte. Em seguida, 200 μL dessa solução foi transferida para célula eletroquímica contendo 10 mL de NaCl 0,1 mol L⁻¹ e os voltamogramas foram obtidos.

A concentração de CIC em cada amostra foi determinada diretamente utilizando a curva analítica previamente obtida com soluções de referência de CIC. As medidas foram feitas em triplicata para cada amostra.

As amostras de água de rio foram coletadas no Ribeirão Cambé (Paraná, Brasil), e de água da torneira da Universidade Estadual de Londrina (Paraná, Brasil). Ambas foram filtradas e 0,5 mL foram transferidos para a célula eletroquímica contendo 9,5 mL do eletrólito suporte (solução de NaCl 0,10 mol L⁻¹). Estas soluções foram dopadas com a solução padrão de CIC com concentração conhecida e; para avaliar a precisão do método foi utilizada o teste de recuperação.

2.7 MÉTODO DE COMPARATIVO

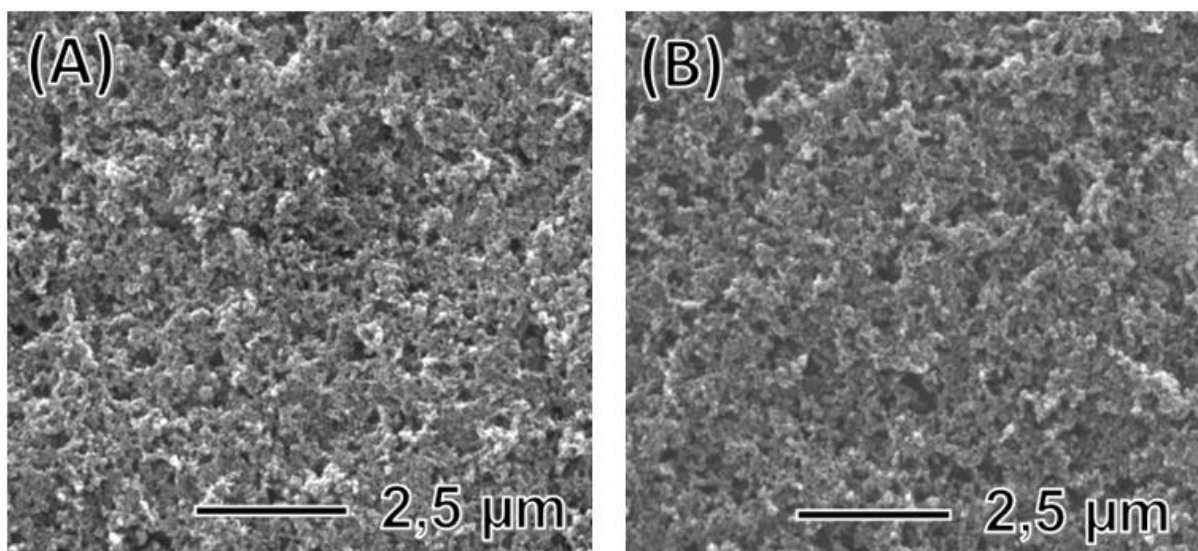
O método utilizado para comparação dos resultados foi o espectrofotométrico descrito por Niguib e colaboradores, com pequenas alterações (NAGUIB *et al.*, 2016). Foi construída uma curva analítica no intervalo de concentração de 7,26 a 58,1 µmol L⁻¹, sendo o padrão e a amostra dissolvidos em metanol. As medidas foram realizadas no máximo de absorção, em 217 nm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ELETROQUÍMICA DO CB-BOT/ECV

A Figura 2 apresenta os resultados obtidos da caracterização morfológica do ECV após modificação de sua superfície com CB ($2,0 \text{ mg mL}^{-1}$) e BOT ($0,78 \text{ mg mL}^{-1}$). É possível observar que o CB está disperso de maneira homogênea sobre a superfície do ECV (Figura 2A). Não se observa diferença morfológica significativa da superfície do ECV quando modificada apenas com CB e daquela modificada simultaneamente com CB e BOT (Figura 2B). Entretanto, vale ressaltar que a BOT é importante nesse caso, pois a mesma promove uma melhora na resposta eletroquímica do eletrodo, em termos de estabilidade e maior tempo de uso do mesmo (maior quantidade de medidas), o que não foi observado no ECV modificado apenas com CB em solução de DMF (seção 3.2.2). Quando modificado somente com CB, houve perda de CB para a solução durante as medidas em solução contendo o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ou do fármaco CIC.

Figura 2 – Imagens obtidas por MEV da dispersão de CB (A) sem e (B) com BOT.



A caracterização eletroquímica e o cálculo da área eletroativa do ECV não modificado; ECV modificado com a BOT (BOT/ECV), ECV modificado CB (CB/ECV) e ECV modificado simultaneamente com CB e BOT (CB-BOT/ECV) foram realizadas empregando as técnicas de VC e EIE. As medidas para a estimativa da

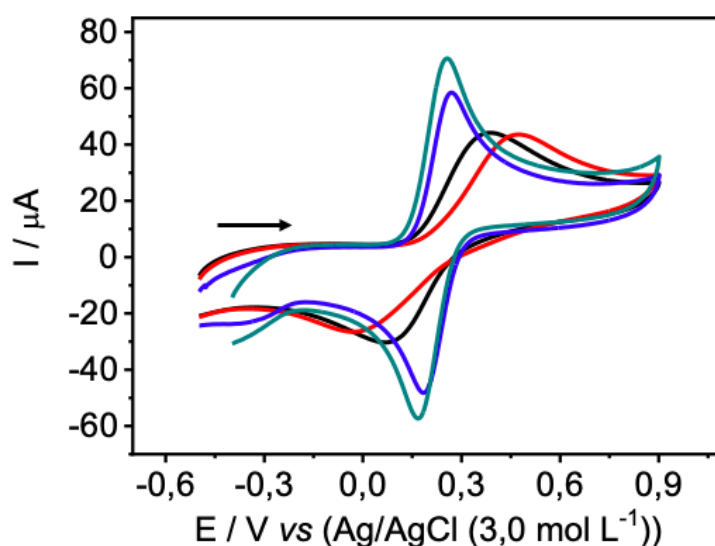
área eletroativa dos sensores foram realizadas na presença do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ em solução de $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. A caracterização eletroquímica empregando a EIE além de ter sido realizada com o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, também foi realizada em solução de $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na ausência e na presença de CIC na concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$.

A equação de Randles-Ševčík (Eq. 2) (BARD, Allen J.; FAULKNER, 2001) juntamente com os voltamogramas cíclicos obtidos para cada um dos sensores (Figura 3) foram empregados para estimar a área eletroativa:

$$I = 2,69 \times 10^5 A n^{3/2} C D^{1/2} \nu^{1/2} \quad (\text{Eq. 2})$$

em que I é a corrente do pico (A), A a área eletroativa (cm^2) do eletrodo estudado, n o número de elétrons envolvidos na reação, C a concentração do analito (mol cm^{-3}), D o coeficiente de difusão, de $7,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ (GOSSER, 1993), ν a velocidade de varredura (V s^{-1}).

Figura 3 – Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) obtidos na presença do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ em solução de $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$, empregando como eletrodo de trabalho o ECV sem modificação (—), BOT/ECV (—), CB/ECV (—) e BOT-CB/ECV (—).

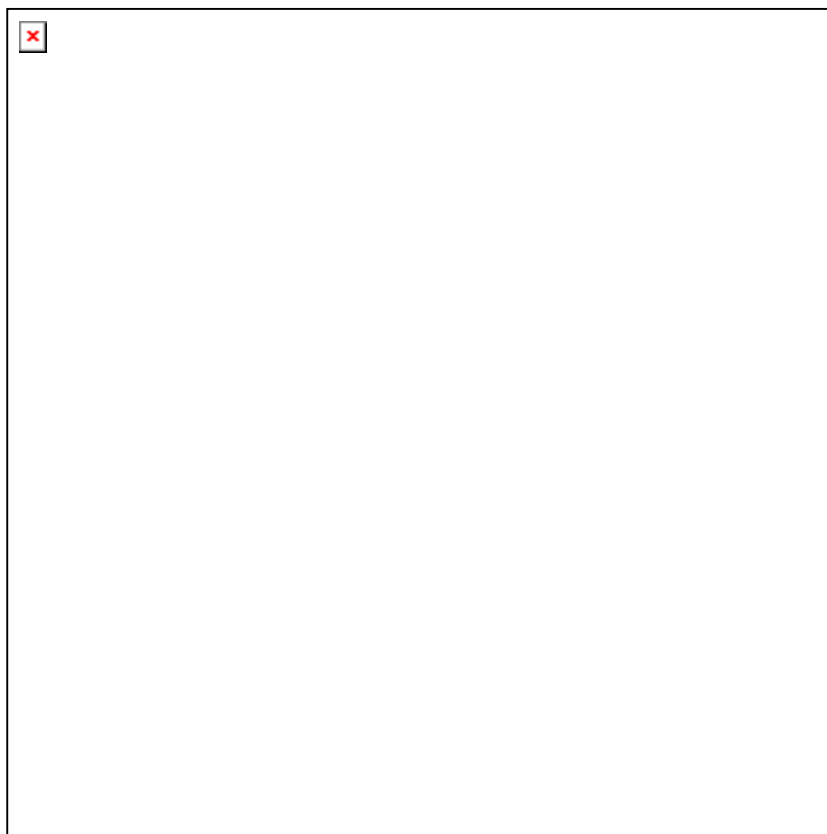


O estudo de velocidade de varredura foi realizado no intervalo de 5 a 100 mVs^{-1} , sendo que para cada eletrodo plotou-se um gráfico da I vs $\nu^{1/2}$. A partir desses estudos, os seguintes valores de área eletroativa para ECV, BOT/ECV,

CB/ECV e CB-BOT/ECV foram estimados, respectivamente como 0,0136, 0,0138, 0,0219 e 0,0255 cm². Foi possível observar um aumento significativo na intensidade de corrente obtida pelo eletrodo sem modificação (ECV) e o CB-BOT/ECV. Este aumento de 87% na resposta pode ser justificado pela natureza do CB, um nanomaterial com o tamanho de partícula médio de 10 nm. A BOT, mesmo sendo uma macromolécula, ajuda a manter o CB imobilizado na superfície do ECV, fornecendo maior área eletroativa, o que não ocorre com o CB/ECV, em que foi observado perdas de CB para a solução durante as medidas, promovendo instabilidade do sensor, na qual apresentou DPR de 65% ($N = 5$).

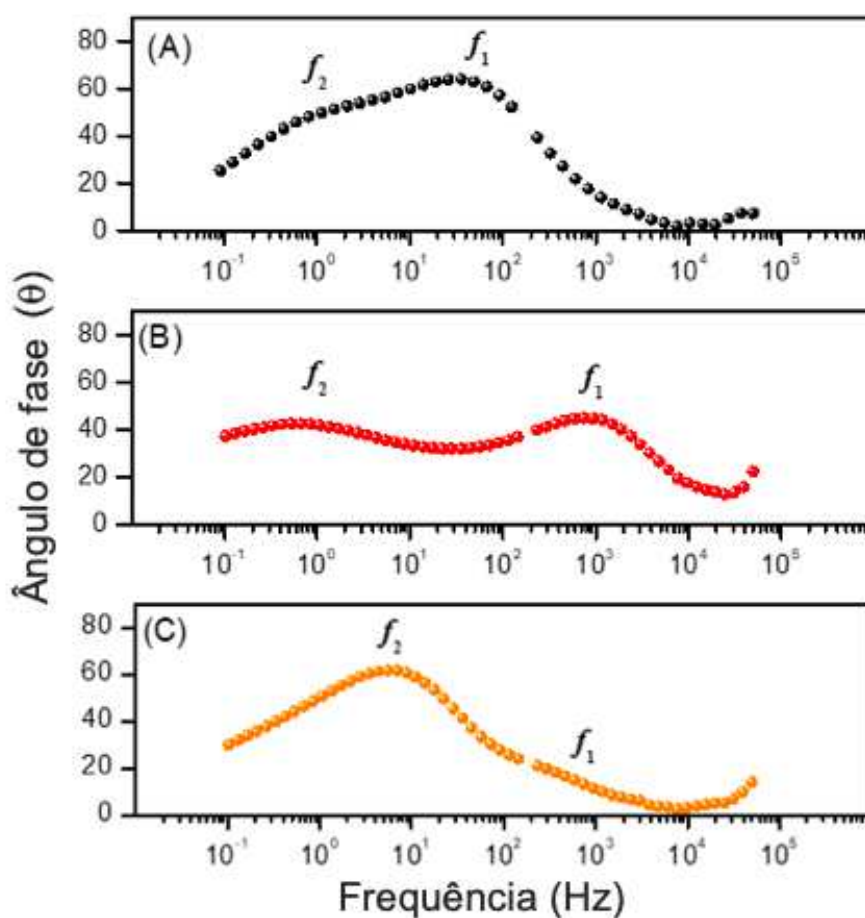
A Figura 4 mostra o gráfico de Nyquist obtido a partir dos estudos de EIE com o ECV, BOT/ECV e CB-BOT/ECV. É possível observar um aumento significativo do semicírculo para o espectro do eletrodo de BOT/ECV ($R_{tc} = 1011,4 \Omega$) em relação ao eletrodo de ECV ($R_{tc} = 326,3 \Omega$). Esse aumento da resistência de transferência de carga (R_{tc}) ocorre em virtude da presença da macromolécula de BOT, que proporciona bloqueio parcial da superfície do eletrodo (ORAZEM; PÉBÈRE; TRIBOLLET, 2006; TEIXEIRA; BARSAN; BRETT, 2016)(BAGALKESTWAL *et al.*, 2010). Em contrapartida, a presença do material nanoestruturado CB na superfície do ECV, mesmo na presença da BOT, ocasiona uma diminuição da R_{tc} para o valor de 46,2 Ω , garantindo um aumento da área superficial desse eletrodo e consequente melhora na transferência eletrônica do eletrodo base (IBÁÑEZ-REDÍN *et al.*, 2018). Esses dados corroboram com os voltamogramas cíclicos obtidos para cada um dos sensores (Figura 3), em que o BOT/ECV possui uma maior diferença no potencial de pico ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$) e maior R_{tc} (calculado pelo EIE); enquanto, o CB-BOT/ECV possui menor ΔE_p e menor R_{tc} .

Figura 4 – Diagramas de Nyquist para espectroscopias de impedância na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para (●) GCE, (●) BOT/GCE, (●) CB-BOT/GCE. *Inserido*: ampliações das áreas de altas frequências do (A) ECV e (B) CB-BOT/GCE.



As representações de BODE obtidas para os sensores em solução de $\text{KCl } 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $\text{CIC } 50 \mu\text{mol L}^{-1}$ no potencial de $+1,0 \text{ V}$, estão representados na Figura 5. Através da análise dos respectivos gráficos de BODE para cada sensor, é possível verificar a presença de dois elementos de constante de fase (CPE, do inglês *constant phase elements*) para o ECV e o BOT/ECV, pois ambos apresentaram dois picos, um localizado nas regiões de média frequência (f_1) e outro nas regiões de baixa frequência (f_2), com valores para o ângulo de fase (θ) abaixo de 90° (Figura 5A e 5B) (HUANG, Jun *et al.*, 2016). Entretanto, quando o sensor apresentava CB na composição filme (CB-BOT/ECV), uma mudança pode ser observada no formato do gráfico de BODE (Figura 5C), sendo o f_2 deslocado para altas frequências e o valor do ângulo de fase caiu drasticamente.

Figura 5 – Gráfico de BODE para (A) ECV, (B) BOT/ECV e (C) CB-BOT/ECV na presença de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CIC em solução de KCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. Potencial aplicado: $+1,0 \text{ V}$.



Os valores de frequência máxima (ω_{\max}) estão relacionados com os valores do tempo de relaxação (τ) (LASIA, 2005). O tempo de relaxação é diretamente relacionado com o tempo necessário para o sistema retornar ao equilíbrio depois de uma perturbação. Neste caso, o tempo de relaxação está relacionado com a capacidade eletrooxidativa da CIC pelo ECV, bem como para os sensores BOT/ECV e CB-BOT/ECV. Por aproximação, cada pico de frequência pode ser considerado um circuito paralelo do tipo RC (onde R é a resistência e C a capacitância), as Equações 3 e 4 podem ser relacionadas e utilizadas para comparar as respostas entre os sensores. A Tabela 1 apresenta os valores obtidos, como CB-BOT/ECV não apresentou um segundo pico definido, não foi possível calcular o τ_1 . Porém, quando comparamos o τ_2 , podemos observar uma diminuição significativa no tempo de relaxação na presença de CB.

$$\left| \omega_{max} = \frac{1}{\tau} \right. \quad (\text{Eq. 3})$$

$$\left| \tau = RC \right. \quad (\text{Eq. 4})$$

Tabela 1. Valores calculados do tempo de relaxação para os diferentes sensores produzidos

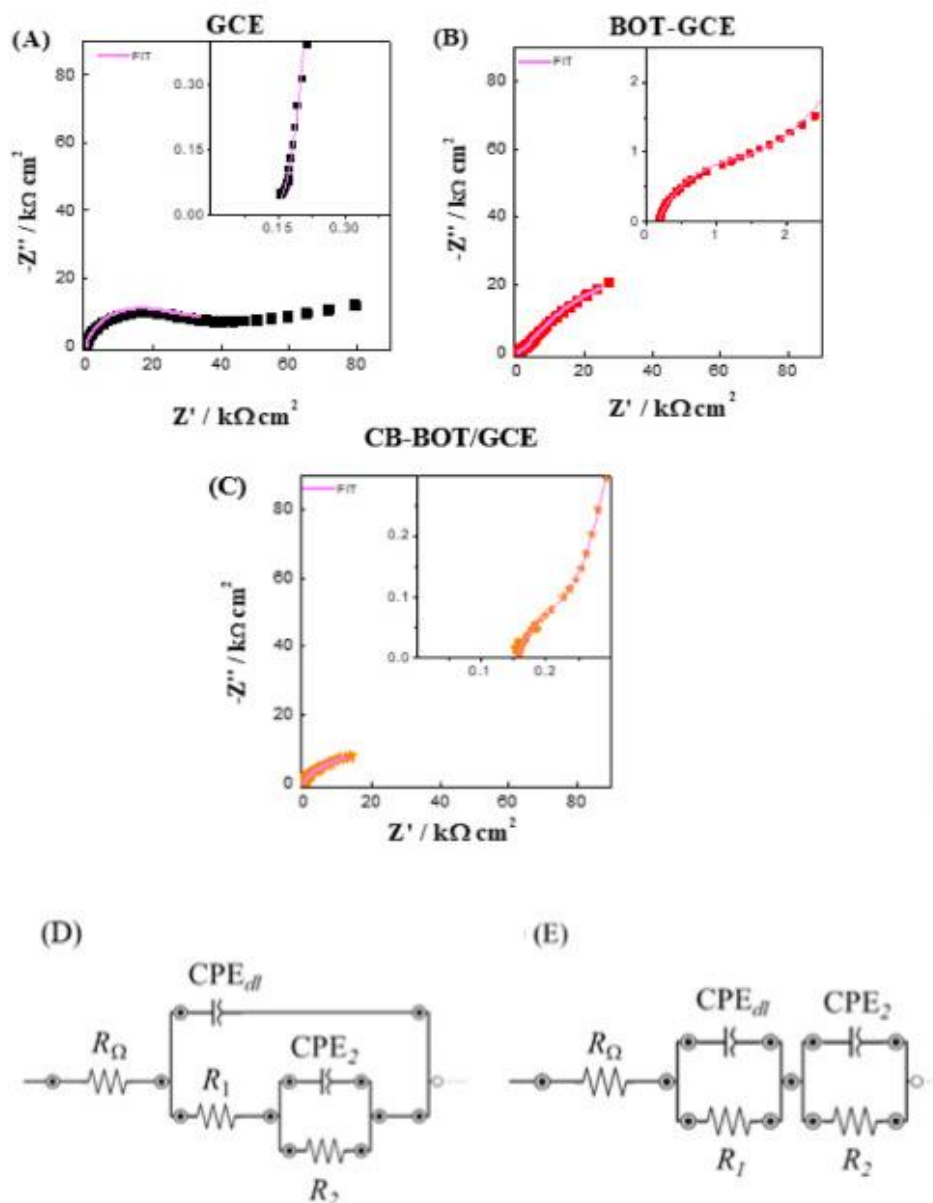
Sensores eletroquímicos	τ_1 (s)	τ_2 (s)
ECV	2.7×10^{-2}	1.34
BOT/ECV	1.0×10^{-3}	1.35
CB-BOT/ECV	–	0.15

τ – Tempo de relaxação.

Na Figura 6 é possível observar o gráfico de Nyquist para os três diferentes sensores e seus respectivos modelos de circuito proposto baseado nos ajustes matemáticos para obter os parâmetros interfaciais. Para os presentes sensores dois modelos foram utilizados: (i) modelo de adsorção (Figura 6D) (MACDONALD; ANDREAS, 2014) para o ECV sem modificação e o BOT/ECV; (ii) o modelo com dois RC em série (Figura 6E) para o CB-BOT/ECV. Os elementos capacitivos foram substituídos por CPE, para melhores ajustes matemáticos, sendo este interpretado como um capacitor não ideal (CÓRDOBA-TORRES, 2015; HUANG, Jun *et al.*, 2016). *Alpha* pode apresentar valores entre 0 e 1, sendo um capacitor ideal quando *alpha* tiver o valor de 1. Como os modelos apresentaram um *chi-square* $< 10^{-3}$, o modelo para o ECV e BOT/ECV (Figura 6D) apresentaram três elementos resistivos: resistência da solução (R_{Ω}) (KCl 0,10 mol L⁻¹ na presença de 50 μ mol L⁻¹ de CIC); resistência da transferência de carga (R_1) relacionado om os grupos oxigenados presentes da superfície do ECV (BRETT; ALVES; FUNGARO, 2001; FAN *et al.*, 2011); resistência da adsorção (R_2). Além dos três elementos resistivos, o modelo apresentou dois elementos capacitivos: capacitância da dupla camada elétrica (CPE_{dl}) e capacitância da adsorção (CPE₂). O modelo obtido está em concordância com o já descrito anteriormente na literatura para a modificação da superfície de ECV com CB utilizando Nafion[®] como agente dispersante (BRETT;

ALVES; FUNGARO, 2001). Tanto para o ECV sem modificação, quanto para o BOT/ECV não foi observado resistência associado com a oxidação da CIC.

Figura 6 – Gráfico de Nyquist para (A) ECV, (B) BOT/ECV e (C) CB-BOT/ECV na presença de CIC $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução KCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. Os equivalentes modelos de circuitos propostos para (D) ECV e BOT/ECV e (E) CB-BOT/ECV.



A Figura 7 apresenta uma comparação dos gráficos de Nyquist obtidos para ECV e BOT/ECV na presença e na ausência de CIC e na Tabela 2 temos os parâmetros obtidos através deste gráfico. Na Tabela 2 é possível observar um aumento nos valores de resistência para ambos R_1 e R_2 . O aumento nos valores R_{ct} na presença da CIC não é compatível com processo faradaico, sendo assim é

possível confirmar que as reações de oxidação dos grupos oxigenados presente na superfície do carbono vítreo foram prejudicadas pela presença da CIC.

Figura 7 – Gráfico de Nyquist para (A) BOT/ECV e (B) ECV, na ausência e na presença de CIC na concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$.

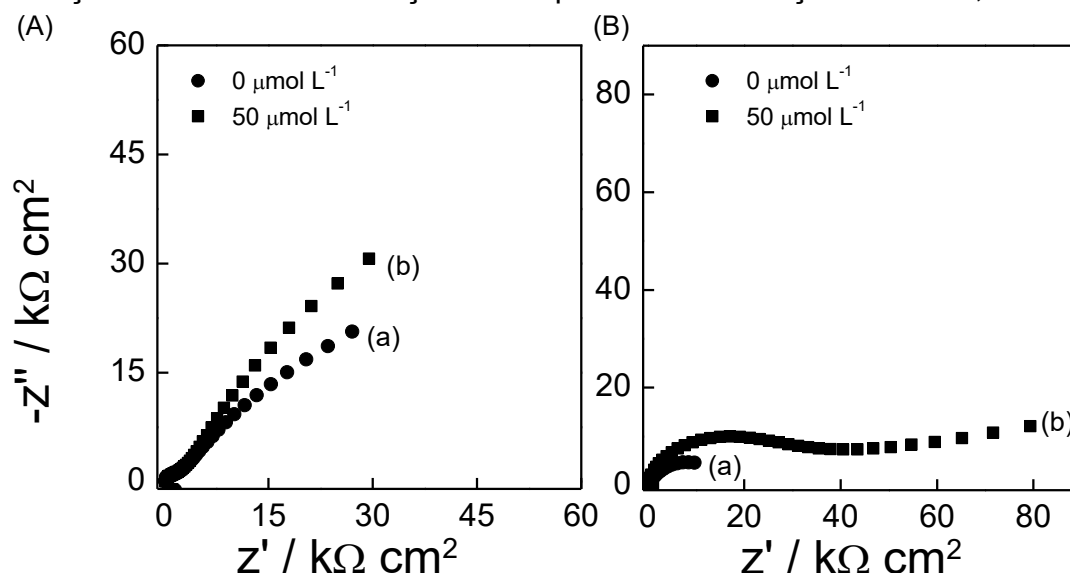


Tabela 2. Parâmetros determinados a partir do fitting do espectro de espectroscopia de impedância eletroquímica na presença e ausência de CIC. O fitting foi baseado no circuito $R(RC(RC))$. Os erros apresentados para os ajustes foram menores de 2%

Sensores	CIC ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	R_1	R_2	CPE_{dl}	α_{dl}	CPE_2	α_2
		($\text{k}\Omega \text{ cm}^2$)	($\text{k}\Omega \text{ cm}^2$)	($\mu\text{F cm}^{-2} \text{ s}^{\alpha-1}$)		($\mu\text{F cm}^{-2} \text{ s}^{\alpha-1}$)	
ECV	50	0,13	39,4	23,7	0,90	65,7	0,70
	0	0,12	15,5	25,1	0,89	3,40	0,69
BOT/ECV	50	2,40	87,6	32,7	0,85	1,92	0,61
	0	1,79	15,2	34,2	0,87	32,3	0,64

Já para o sensor contendo CB (Figura 6E) tem-se: uma resistência faradaica (R_2) para a oxidação da CIC; uma resistência da solução (KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) (R_Ω); um resistência na transferência de carga relacionada a interface CB/ECV (R_1); uma capacitância da dupla camada e capacitância eletroquímica (CPE_2) (FAN *et al.*, 2011). Comparando os três diferentes sensores, foi observado uma menor R_2 para o CB-BOT/ECV, provavelmente devido a maior homogeneidade na distribuição do CB sobre a superfície do carbono vítreo proporcionado pela BOT. Além disso, os valores de α_{dl} e α_2 indicaram uma distribuição uniforme do CB sobre a superfície do eletrodo.

Todos os parâmetros obtidos a partir do fitting da espectroscopia de impedância eletroquímica estão apresentados no Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros obtidos a partir do fitting do gráfico de espectroscopia de impedância eletroquímica na Figura 7. Os erros apresentados para o ajustes foram menores de 2%

Sensores	R_1	R_2	CPE_{dl}	α_{dl}	CPE_2	α_2
	($k\Omega\text{ cm}^2$)		($\mu F\text{ cm}^{-2}\text{ s}^{\alpha-1}$)		($\mu F\text{ cm}^{-2}\text{ s}^{\alpha-1}$)	
ECV	0,13	39,4	23,7	0,90	65,7	0,70
BOT/ECV	2,40	87,6	32,7	0,85	1,92	0,61
CB-BOT/ECV	0,68	12,4	66,8	0,84	38,1	0,68

3.2 ESTUDOS ELETROQUÍMICOS DA CICLOBENZAPRINA NO ELETRODO DESENVOLVIDO

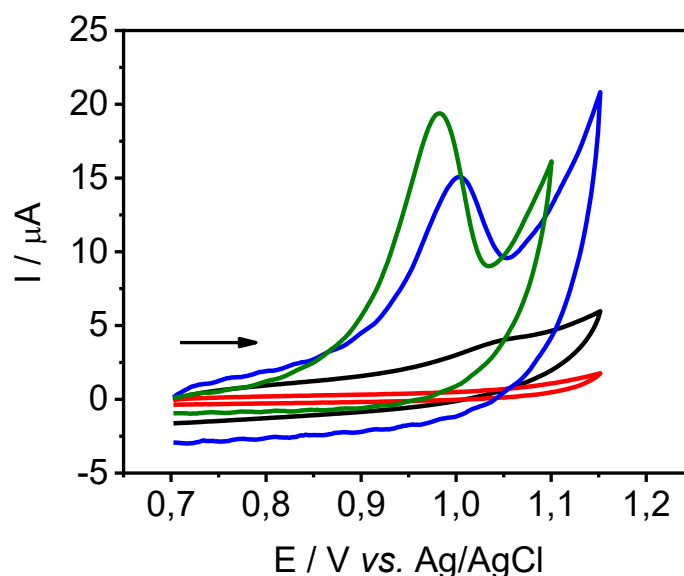
3.2.1 Comportamento Voltamétrico da CIC em Diferentes Eletrodos

As respostas voltamétricas da CIC nas diferentes superfícies: ECV, BOT/ECV, CB/ECV, CB-BOT/ECV foram investigadas (Figura 8). Pode-se observar que para todos os eletrodos a CIC apresentou um pico de oxidação em potencial próximo a 1,0 V, com exceção do BOT/ECV, em que, nessas condições não foi observado processo de oxidação. Além disso, em nenhum dos sensores foi observado processo de redução, indicando reação irreversível do processo de eletrooxidação da CIC sobre a superfície dos respectivos sensores.

Para o BOT/ECV não foi observado resposta analítica, pois a BOT é uma macromolécula e pode ocorrer o bloqueio da superfície do eletrodo, diminuindo a transferência de elétrons e proporcionando menor resposta analítica para a CIC, ou no caso, nenhuma. Todavia, no CB-BOT/ECV a CIC apresentou maior intensidade de corrente e menor potencial de oxidação em relação aos demais eletrodos. O material nanoestruturado CB presente na matriz do filme proporciona esse efeito eletrocatalítico, devido ao aumento da área superficial do sensor. No CB/ECV não há BOT bloqueando a superfície, porém há perda de material nanoestruturado para a solução com o aumento do número de medidas. Além de inviabilizar a utilização do sensor, fez com que o eletrodo apresentasse menor

resposta e potencial de oxidação ligeiramente deslocado para valores mais positivos. Cabe ressaltar que a quantidade de CB utilizada na composição do filme foi de $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$, concentração bem maior que aquela usada por Deroco e colaboradores ao modificar o ECV com CB em filme de DMF para a determinação do pesticida mesotriona (DEROCO, P. B.; LOURENCAO; FATIBELLO-FILHO, 2017). Assim, foi constatado que a BOT ajuda a manter a estabilidade do ECV modificado com CB, podendo-se utilizar maior quantidade de CB na modificação.

Figura 8 – Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) na presença de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CIC em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando como eletrodo de trabalho: ECV (—), BOT/ECV (—), CB/ECV (—) e BOT-CB/ECV (—). Concentrações de CB e BOT iguais a $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ e $0,78 \text{ mg mL}^{-1}$, respectivamente.

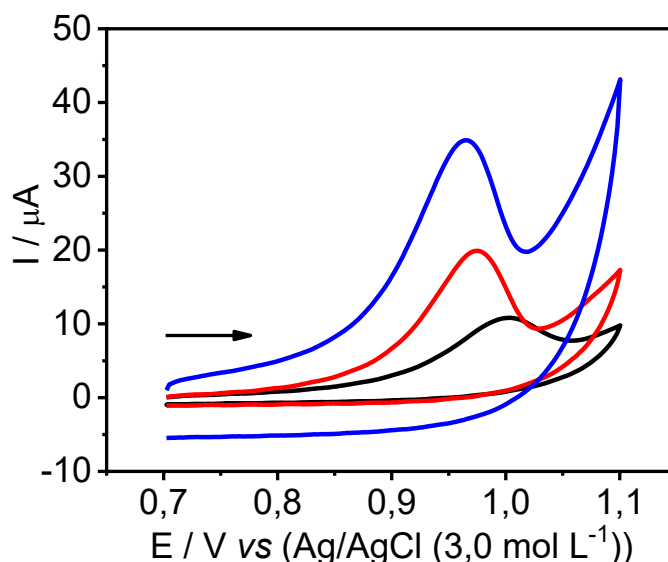


A repetibilidade de medidas de corrente obtidas entre o CB/ECV e o CB-BOT/ECV foram realizadas com VC na velocidade de 50 mV s^{-1} , na presença de CIC $20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Após 30 medidas houve um desprendimento do filme de CB imobilizado na superfície do ECV sem BOT, com um DPR de 11,5%. Por outro lado, para o CB imobilizado com BOT não houve desprendimento do filme da superfície do ECV, com um DPR de 5,9% ($N = 30$). Esse estudo mostra a importância da BOT na imobilização do CB na superfície do ECV. Selecionou-se então o CB-BOT/ECV para dar continuidade ao trabalho.

3.2.2 Estudo da Composição do Filme de CB e BOT

As concentrações de CB em solução de DMF foram avaliadas para a formação do filme na superfície do ECV. Os valores selecionados foram $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$, $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ e $3,0 \text{ mg mL}^{-1}$, cujos resultados estão mostrados na Figura 9. Nesse estudo, a quantidade de BOT foi mantida constante, sendo utilizada uma alíquota de $3 \text{ } \mu\text{L}$ de BOT (de concentração $0,78 \text{ mg mL}^{-1}$). Pela Figura 9, observa-se que maior intensidade de corrente e menor potencial de oxidação foram obtidos quando o ECV foi modificado com CB na concentração de $3,0 \text{ mg mL}^{-1}$, devido a maior quantidade de material nanoestruturado, que proporcionou uma melhora na transferência de elétrons e melhora nas propriedades eletrocatalíticas do eletrodo. Contudo, empregando-se maior quantidade de CB no filme, observa-se menor repetibilidade entre as medidas de corrente (DPR = 10,26%) quando comparado com aquelas medidas realizadas com o ECV modificado com $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ de CB (DPR = 1,64%), sendo então selecionado esta última concentração de material nanoestruturado para a modificação do ECV.

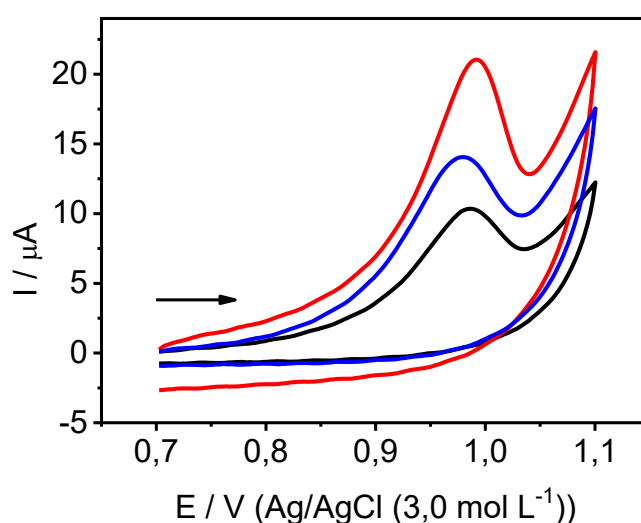
Figura 9 – Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) para o BOT-CB/ECV empregando CB nas concentrações de (—) $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$, (—) $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ e (—) $3,0 \text{ mg mL}^{-1}$, na presença de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CIC em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.



A proporção de CB e BOT para a formação do filme sobre a superfície do ECV também foi estudada. Para esse estudo, variou-se as alíquotas da dispersão de CB ($2,0 \text{ mg mL}^{-1}$) e da solução de BOT ($0,78 \text{ mg mL}^{-1}$) usadas na

modificação do ECV. As proporções de CB:BOT (v:v) foram de 2:4, 3:3 e 4:2. Os voltamogramas cíclicos estão apresentados na Figura 10, no qual é possível observar uma maior intensidade de corrente para a proporção de 3:3, sendo esta escolhida para a determinação de CIC.

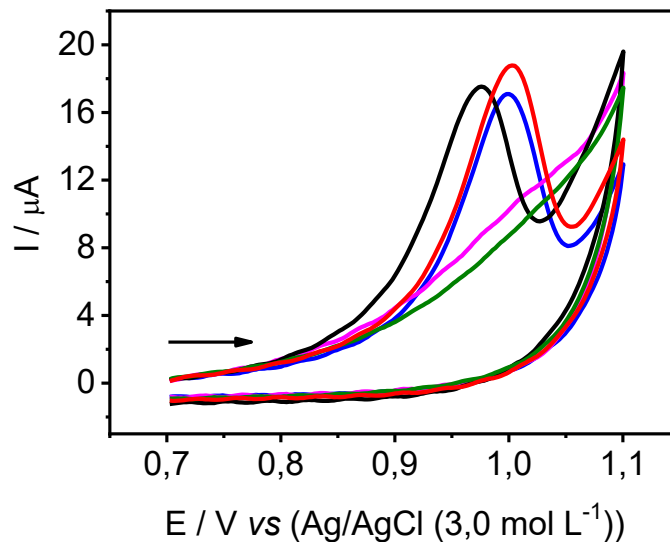
Figura 10 – Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) do BOT-CB/ECV em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CIC, obtidos para as diferentes proporções de alíquotas de CB e BOT na formação do filme: (—) 2:4, (—) 3:3 e (—) 4:2 (v/v, CB:BOT).



3.2.3 Estudo do Eletrólito Suporte

As soluções de KCl , NaCl , BaCl_2 , K_2SO_4 e Na_2SO_4 , todas na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, foram avaliadas como eletrólito suporte, por VC (50 mV s^{-1}), na resposta de corrente anódica na presença de $\text{CIC } 50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando-se o CB-BOT/ECV (Figura 11). As soluções de KCl , NaCl e BaCl_2 proporcionaram melhor definição do pico de oxidação para a CIC, apresentando DPR de 1,15; 0,62; 4,25%, respectivamente. Nas soluções de K_2SO_4 e Na_2SO_4 a intensidade de corrente para CIC foi bem menor. Isto ocorre, possivelmente, pelo fato do cloreto apresentar menor tamanho quando comparado ao tamanho do sulfato como contra-íon, e conseqüentemente, maior mobilidade, facilitando a transferência eletrônica. Dessa forma, o NaCl foi selecionado como eletrólito suporte uma vez que foram obtidos menor DPR entre as medidas e maior intensidade de corrente.

Figura 11 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes eletrólitos suportes: (—) KCl, (—) NaCl, (—) BaCl₂, (—) K₂SO₄ e (—) Na₂SO₄ na concentração de 0,1 mol L⁻¹, na presença de CIC 50 μmol L⁻¹, utilizando o CB-BOT/ECV.

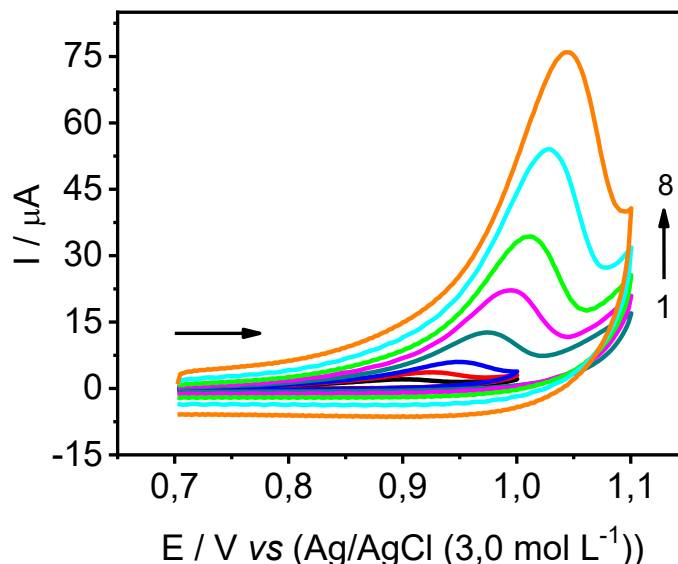


Após selecionado a solução de NaCl a ser utilizada para eletrólito suporte, foi estudado sua concentração, variando a mesma de 0,05 a 0,2 mol L⁻¹. As melhores respostas voltamétricas, em termos de maior magnitude da corrente anódica e melhor definição de perfil voltamétrico foram obtidos empregando-se a concentração de 0,1 mol L⁻¹. Assim, a solução de NaCl, na concentração de 0,1 mol L⁻¹, foi utilizada no desenvolvimento do procedimento analítico para a determinação de CIC empregando o CB-BOT/ECV.

3.2.4 Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura

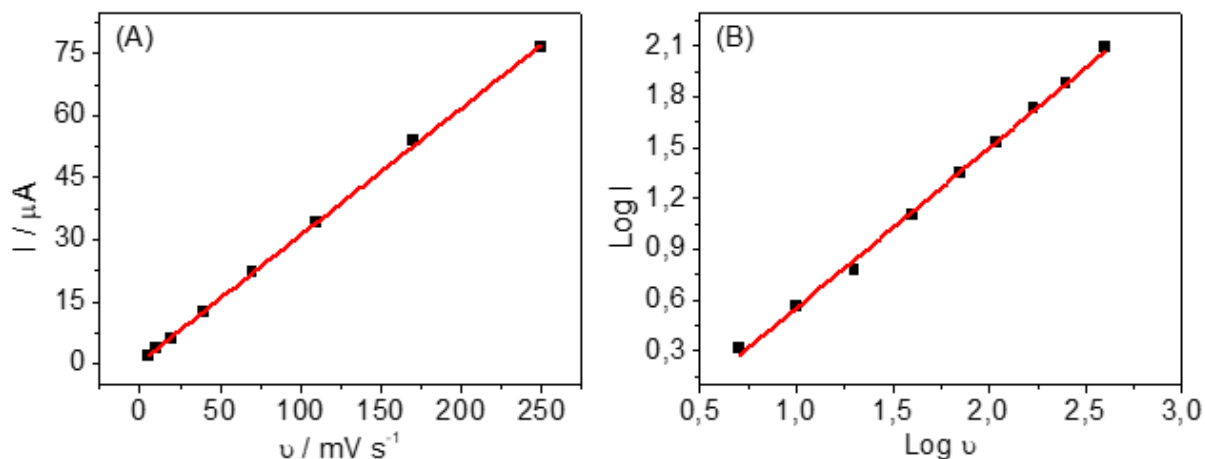
O efeito da velocidade de varredura do potencial do pico de oxidação foi estudado na resposta eletroquímica da CIC empregando o CB-BOT/ECV no intervalo de 5 à 250 mV s⁻¹. A Figura 12 apresenta os voltamogramas cíclicos da CIC em solução de NaCl 0,1 mol L⁻¹. Pode-se observar um aumento na intensidade de corrente de pico com o aumento da velocidade de varredura e um deslocamento do potencial de oxidação para valores mais positivos, evidenciando desse modo, um comportamento característico de sistemas irreversíveis (GOSSER, 1993).

Figura 12 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura: (1 – 8) 5 – 250 mV s^{-1} , em $\text{NaCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $\text{ClC } 50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, empregando o no CB-BOT/ECV.



A Figura 13(A) mostra o gráfico da I vs v , em que a corrente de pico varia linearmente com a velocidade de varredura no intervalo de 5 a 250 mV s^{-1} ($r = 0,999$). Esse comportamento é um indicativo que o processo redox na superfície do eletrodo de trabalho é controlado preferencialmente por adsorção do analito (GOSSER, 1993). Na Figura 13(B) tem-se o gráfico do logaritmo da intensidade de corrente de pico em função do logaritmo da velocidade de varredura. Como é possível observar, esse gráfico apresenta um comportamento linear com a inclinação de 0,95, próximo ao valor previsto pela literatura para sistemas controlados por adsorção de espécies (1,0), confirmando que o processo de oxidação na superfície do eletrodo desenvolvido é controlado preferencialmente por adsorção (GOSSER, 1993). A BOT possui uma pequena carga que provavelmente repele a CIC que está protonada (pK_a 8,47) (PUBCHEM: OPEN CHEMISTRY DATABASE, 2013) em solução de $\text{NaCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, assim torna mais dificultada a troca de elétron sobre a superfície do eletrodo; desse modo, essa é a etapa mais lenta do processo.

Figura 13 – (A) Gráfico da variação da corrente de pico com a velocidade de varredura e (B) Gráfico do logaritmo da variação da intensidade de corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura.

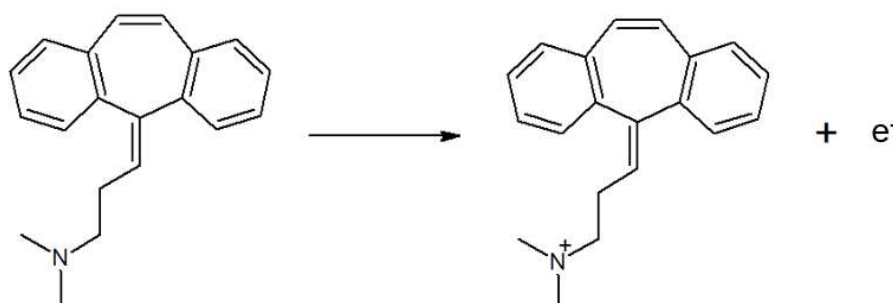


A partir do voltamograma cíclico a 50 mV s^{-1} , na presença de CIC $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução de NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 13), é possível estimar o número de elétrons (n) envolvidos na reação, por meio da equação a seguir (Eq. 5) (BARD, Allen J.; FAULKNER, 2001):

$$E_{pa} - E_{pa/2} = \frac{47,7}{\alpha n} \quad (\text{Eq.5})$$

em que, α é o coeficiente de transferência eletrônica, E_{pa} é o potencial de pico anódico e $E_{pa/2}$ é o potencial de meia onda. Sendo, E_{pa} e $E_{pa/2}$: $0,98$ e $0,91 \text{ V}$, respectivamente, e considerando o valor de α como $0,5$ (usualmente empregado para sistemas irreversíveis (LI, C., 2007)), tem-se que n é igual a 1 elétron para a eletrooxidação da CIC. Na Figura 14 tem-se a reação proposta para a oxidação da CIC, em que a oxidação pode ocorrer na amina terciária presente na estrutura da molécula deste fármaco.

Figura 14 – Representação esquemática proposta para a reação de oxidação da CIC no CB-BOT/ECV.



Fonte: próprio autor.

3.3 DESENVOLVIMENTO DO PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DE CICLOBENZAPRINA

3.3.1 Seleção dos Parâmetros Instrumentais das Técnicas Voltamétricas de Pulso e Curva Analítica

Para o desenvolvimento do procedimento voltamétrico para a determinação de CIC utilizando o CB-BOT/ECV, as técnicas VOQ e VPD foram empregadas. Inicialmente, os parâmetros instrumentais de ambas as técnicas foram investigados na presença de CIC na concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução de NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A Tabela 4 apresenta os intervalos em que cada parâmetro foi estudado e seus respectivos valores selecionados, sendo utilizada como critério de escolha a maior intensidade de corrente.

Tabela 4 – Parâmetros das técnicas de VOQ e VPD, intervalo estudado e valores selecionados para a determinação de CIC

Técnica	Parâmetro	Intervalo	Selecionado
VOQ	Amplitude (a; mV)	10 a 70	50
	Incremento (ΔE_s ; mV)	1 a 8	7
	Frequência (f; Hz)	10 a 30	20
VPD	Amplitude (a; mV)	50 a 200	150
	Velocidade de varredura (v; mV s ⁻¹)	5 a 20	15
	Tempo de modulação (t _m ; ms)	10 a 25	20

Depois de selecionado os melhores valores para os parâmetros instrumentais das técnicas de VOQ e VPD, construiu-se curvas analíticas utilizando ambas as técnicas. Para a construção das curvas analítica foram realizadas sucessivas adições de pequenas alíquotas da solução estoque de CIC (1 mmol L⁻¹) no eletrólito suporte (NaCl 0,1 mol L⁻¹). As Figuras 15 e 16 mostram os voltamogramas e suas respectivas curvas analíticas obtidas pelas técnicas de VOQ e VPD, respectivamente.

Figura 15 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para as seguintes concentrações de CIC: (1) 0, (2) 2,0, (3) 2,99, (4) 4,98, (5) 6,95, (6) 9,9, (7) 12,8, (8) 16,7 e (9) 20,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução de NaCl 0,1 mol L^{-1} , utilizando o CB-BOT/ECV; (B) respectiva curva analítica. Parâmetros da VOQ: $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 7 \text{ ms}$ e $f = 20 \text{ Hz}$.

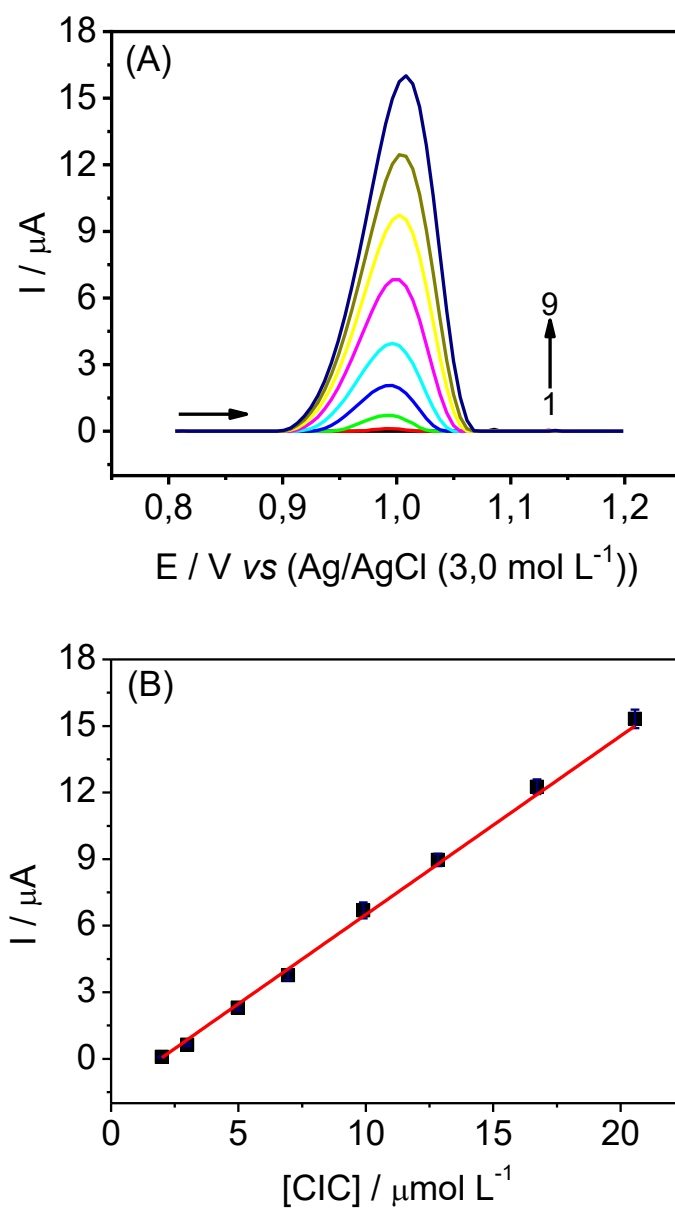
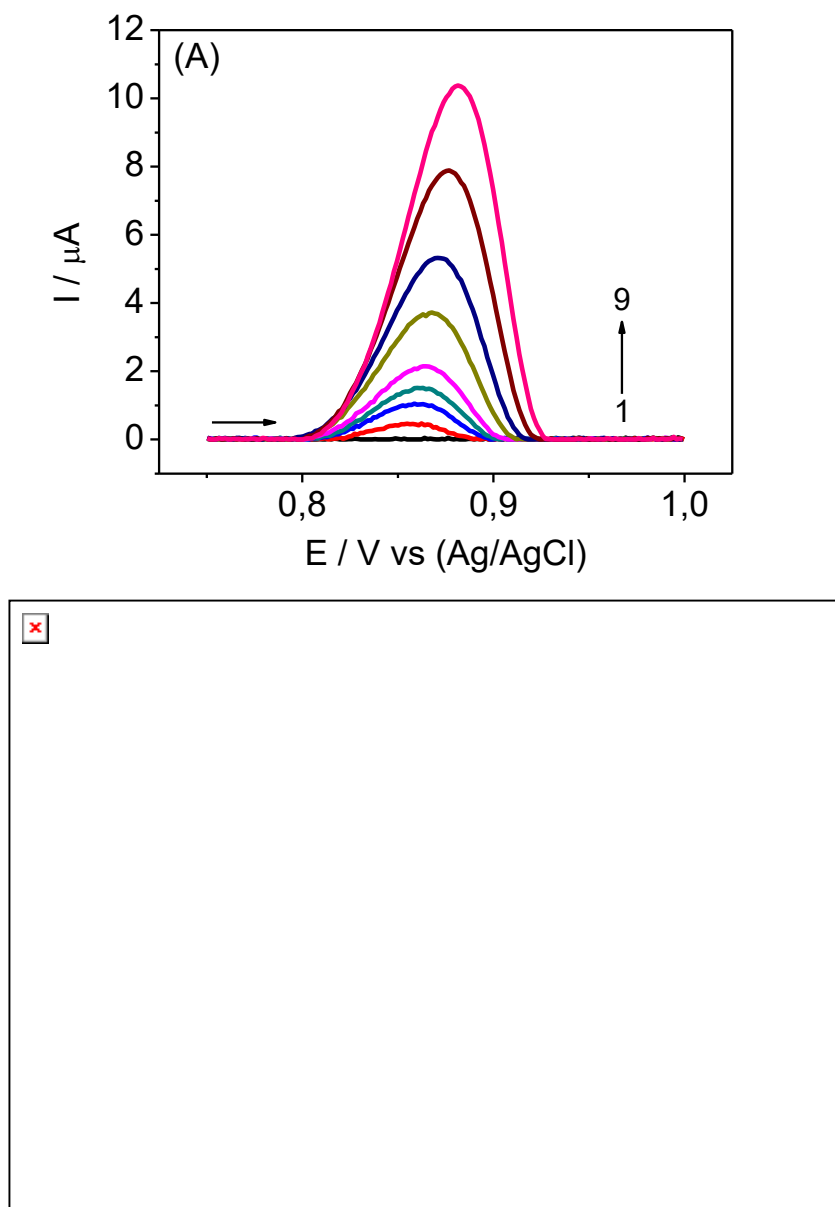


Figura 16 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para as seguintes concentrações de CIC: (1) 0, (2) 16,0, (3) 17,7, (4) 20,6, (5) 25,3, (6) 34,7, (7) 49,4, (8) 71,5 e (9) 102,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução de NaCl 0,1 mol L^{-1} , utilizando o CB-BOT/ECV; (B) respectiva curva analítica. Parâmetros da DPV: $a = 150 \text{ mV}$, $v = 15 \text{ mV s}^{-1}$ e $t_m = 20 \text{ ms}$.



A Tabela 5 apresenta os parâmetros analíticos obtidos utilizando as técnicas VOQ e VPD com o CB-BOT/ECV. É possível observar que, empregando a VOQ, obteve-se um menor valor de LD, maior sensibilidade e uma melhor faixa linear, com concentrações menores. Já na VPD, os valores obtidos não responderam de maneira linear. Assim, para estudos posteriores de determinação de CIC foi utilizada a técnica de VOQ.

Tabela 5 – Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de CIC utilizando as técnicas de VOQ e VPD em solução de NaCl 0,1 mol L⁻¹

Parâmetros	Técnicas	
	VOQ	VPD
Faixa linear (µmol L ⁻¹)	2,0 a 20,6	16,0 a 102,3
Sensibilidade (A mol ⁻¹ L)	0,805	0,101
Coefficiente de correlação (r)	0,998	0,989
LD (µmol L ⁻¹)	0,028	0,171

3.3.2 Comparação com Outros Métodos Analíticos para Determinação de Ciclobenzaprina

A Tabela 6 sumariza a comparação entre os parâmetros analíticos obtidos para a determinação voltamétrica de CIC empregando o CB-BOT/ECV com aqueles obtidos com outros métodos analíticos previamente descritos na literatura. Pode-se observar que o CB-BOT/ECV apresentou menor valor de LD quando comparado com as técnicas de espectrofotometria e potenciometria. Porém possui faixa linear menor quando comparado as técnicas cromatográficas, contudo são técnicas que utilizam grandes quantidades de solventes orgânicos, longo tempo de preparo de amostra e elevado custo instrumental, sendo a simplicidade, rapidez de análise e baixo custo instrumental, vantagens da voltametria.

Tabela 6 – Comparação dos parâmetros analíticos obtidos por cromatografia, espectrofotometria e potenciometria em comparação com método voltamétrico desenvolvido para a determinação de CIC

Técnica	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Característica do método	Referência
CLAE-RIA	$0,45 - 0,26 \times 10^{-3}$	$0,36 \times 10^{-3}$	<ul style="list-style-type: none"> – Uso de solventes orgânicos – Demorado preparo de amostra 	(FISHER; BAYNE; MUSSON, 1989)
CLAE-MS/MS	$0,36 - 181 \times 10^{-3}$	—	<ul style="list-style-type: none"> – Uso de solventes orgânicos – Alto tempo de análise 	(CONSTANZER, M.; CHAVEZ; MATUSZEWSKI, 1995)
CLAE-UV	$1,82 - 181 \times 10^{-3}$	—	<ul style="list-style-type: none"> – Uso de solventes orgânicos – Alto tempo de análise 	(CONSTANZER, M.; CHAVEZ; MATUSZEWSKI, 1995)
LC-ESI-MS/MS	$0,18 - 108 \times 10^{-3}$	—	<ul style="list-style-type: none"> – Uso de solventes orgânicos – Demorado preparo de amostra 	(XIANG <i>et al.</i> , 2012)
Espectrofotometria	7,26 – 36,31	0,18	<ul style="list-style-type: none"> – Método complexo, com 	(KASSEM; GUESMI, 2016)

			várias etapas	
			– Altas concentrações	
Espectrofotometria	7,26 – 58,09	0,73	– Uso de solvente orgânico	(NAGUIB <i>et al.</i> , 2016)
			– Tratamento matemático	
			– Alto tempo de preparo do sensor	(RAMADAN <i>et al.</i> , 2017)
Potenciometria	10 - 10000	6,5	– Ampla faixa linear	
			– Uso de solvente orgânico	
			– Preparo de amostra simples e rápido	Este trabalho
Voltametria	2 – 20,6	0,028	– Livre de solventes orgânicos	
			– Baixo custo	

Abreviações: CLAE-RIA: cromatografia líquida de alta eficiência com detecção eletroquímica coulométrica; CLAE-MS/MS: cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por massas; CLAE-UV: cromatografia líquida de alta eficiência com detecção ultravioleta; LC-ESI-MS/MS: cromatografia líquida com detecção por massas.

3.3.3 Estudo da Estabilidade e Repetibilidade do CB-BOT/ECV

A estabilidade do filme de CB-BOT sobre o ECV e as repetibilidades intra- e inter-dia do procedimento voltamétrico empregando o eletrodo modificado foram estudadas.

Inicialmente, testou-se a reprodutibilidade do filme CB-BOT sobre a superfície do ECV. Três diferentes dispersões de CB em DMF foram preparadas, sendo o mesmo ECV adequadamente modificado com essas dispersões. As medidas foram realizadas na presença de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CIC em solução de NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando a VOQ. Obteve-se nesse estudo um DPR de 3,72%, indicando excelente reprodutibilidade no processo de modificação do ECV. Nessas mesmas condições, foram realizadas repetitivas medidas de corrente a fim de investigar a estabilidade de eletrodo modificado. Após 60 medidas empregando a técnica de VOQ e os parâmetros instrumentais selecionados, a intensidade de corrente do sinal analítico da CIC teve uma diminuição da resposta analítica (intensidade de corrente), menor que 5,0%. Sendo assim, pode-se concluir que o eletrodo modificado apresenta excelente repetibilidade no preparo do mesmo e estabilidade do filme formado.

Para o estudo da repetibilidade intra-dia foram realizadas 10 medidas sucessivas de uma solução contendo $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CIC em solução de NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, obtendo um DPR de 3,31%. Para o estudo da repetibilidade inter-dia, foram realizadas medidas voltamétricas em 5 dias diferentes nas mesmas condições experimentais, obtendo um DPR de 4,65%. Podendo-se assim, concluir que o procedimento proposto utilizando o CB-BOT/ECV e a VOQ exibiu boa precisão das medidas.

3.4 APLICAÇÃO ANALÍTICA

3.4.1 Estudo de Interferentes e Recuperação

O efeito de eventuais interferentes em potencial foi investigado adicionando alguns compostos na célula eletroquímica na presença de CIC 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução de NaCl 0,1 mol L^{-1} . Os compostos estudados como possíveis interferentes para as amostras farmacêuticas, plasma de rato, água de rio e torneira foram: celulose monocristalina, lactose monohidratada, talco, dióxido titânio, ácido ascórbico, glucose, ácido úrico e íons inorgânicos como Na^+ , Ca^{2+} e NO_3^- nas proporções 1:1, 1:10 e 10:1 (analito:interferente). As respostas voltamétricas obtidas com e sem os concomitantes foram comparadas, não sendo observada diferença significativa no pico de oxidação da CIC, isto é, DPR < 4%.

O estudo de adição e recuperação foi realizado nas amostras analisadas. Para esse estudo foi adicionado concentrações conhecidas de CIC na amostra, obtendo uma recuperação de 96,4 a 103%, indicando que não houve interferência significativa da amostra na determinação de CIC empregando o método voltamétrico.

3.4.2 Aplicação do CB-BOT/ECV para a Determinação de CIC em Formulações Farmacêuticas, Soro Sanguíneo de Rato e Amostras de Água

O CB-BOT/ECV foi aplicado na determinação de CIC em formulações farmacêuticas por VOQ. A Tabela 7 apresenta as concentrações de CIC determinadas em formulações farmacêuticas pelo método desenvolvido, empregando o CB-BOT/ECV, e comparativo (espectrofotométrico) (NAGUIB *et al.*, 2016). Os resultados obtidos foram analisados utilizando o *test-t* pareado para verificar semelhança estatística entre os métodos. O valor de *t* calculado para a determinação de CIC foi de 0,12. Sendo o valor crítico *t* tabelado de 4,30, conclui-se que o procedimento proposto não é diferente do método espectrofotométrico, ao

nível de confiança de 95% (ELLISON; BARWICK; FARRANT, 2009; MILLER; MILLER, 2010; SKOOG *et al.*, 2007).

Tabela 7. Determinação de CIC em formulações farmacêuticas utilizando o procedimento voltamétrico proposto e comparativo

Amostra	CIC ^a (mg/comprimido)			Erro relativo ^b (%)
	Rotulado	Voltamétrico	Espectrofotométrico	
A	5	4,85	4,88	-0,61
B	10	10,47	9,82	6,62
C	10	10,51	10,12	3,85

^aMédia aritmética de 3 medidas/amostra.

^bErro relativo (%) = $100 \times (\text{método proposto} - \text{método referência}/\text{método referência})$.

Por fim, o CB-BOT/ECV foi aplicado para a determinação de CIC em amostras reais de soro sanguíneo de rato, água de rio e torneira. Para isso, todas as amostras foram dopadas com CIC em duas concentrações diferentes: 3,0 e 6,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para as amostras de água de rio e torneira; 10 e 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a amostra de soro sanguíneo de rato. As porcentagens de recuperação obtidas (em triplicata) para CB-BOT/ECV foram satisfatórias em uma faixa de 94,0 a 103%. Além disso, os valores da inclinação da reta obtidos para a adição de padrão dos experimentos realizados com as amostras de soro sanguíneo de rato foram 0,685 e 0,708 A mol L^{-1} , para 10 e 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Ambos os resultados se mostraram próximo aos valores da curva analítica da CIC empregando o CB-BOT/ECV, comprovando que não há efeito de matriz mesmo na amostra mais complexa, o soro sanguíneo de rato. Desse modo, o sensor desenvolvido neste trabalho pode ser aplicado para a determinação de CIC em amostras complexas como as analisadas aqui.

4. CONCLUSÃO

O exopolissacarídeo BOT obtido a partir do fungo ascomiceto *Botryosphaeria rhodina* MAMB-05 foi aplicado com sucesso para garantir a aderência de CB sobre a superfície do ECV. A BOT se demonstrou indispensável para a fabricação deste sensor. A espectroscopia de impedância eletroquímica mostrou que o CB-BOT/ECV apresentou maior velocidade da transferência de elétrons quando comparado aos demais eletrodos (BOT/ECV e ECV). O uso do sensor desenvolvido melhorou a resposta analítica da ciclobenzaprina, na qual o mesmo apresentou maiores intensidade de corrente e potencial de oxidação menos positivo. A determinação voltamétrica de CIC empregando o CB-BOT/ECV em amostras reais farmacêuticas, biológica e ambiental foi um sucesso e apresentou vantagens como: simplicidade no preparo de amostra, análise rápida e seletividade para amostras de matrizes complexas.

REFERÊNCIAS

ADAMOWICZ, Piotr; KAŁA, Maria. Simultaneous screening for and determination of 128 date-rape drugs in urine by gas chromatography–electron ionization–mass spectrometry. **Forensic Science International**, [s. l.], v. 198, n. 1–3, p. 39–45, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.02.012>

BAGAL-KESTWAL, Dipali *et al.* Electrochemical $\beta(1\rightarrow3)$ -d-glucan biosensors fabricated by immobilization of enzymes with gold nanoparticles on platinum electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 118–125, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.05.022>

BARBOSA, Aneli M. *et al.* Structural characterization of Botryosphaeran: a $(1\rightarrow3;1\rightarrow6)$ - β -d-glucan produced by the ascomyceteous fungus, *Botryosphaeria* sp. **Carbohydrate Research**, [s. l.], v. 338, n. 16, p. 1691–1698, 2003.

BARD, Allen J.; FAULKNER, Larry R. **Electrochemical methods : fundamentals and applications**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 2001.

BRETT, Christopher M.A.; ALVES, Valéria A.; FUNGARO, Denise A. **Nafion-coated mercury thin film and glassy carbon electrodes for electroanalysis: Characterization by electrochemical impedance**. [S. l.]: Wiley-VCH Verlag, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1002/1521-4109\(200103\)13:3<212::AID-ELAN212>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1521-4109(200103)13:3<212::AID-ELAN212>3.0.CO;2-Z). Acesso em: 9 nov. 2020.

CINTI, S. *et al.* Novel carbon black-cobalt phthalocyanine nanocomposite as sensing platform to detect organophosphorus pollutants at screen-printed electrode. **Electrochimica Acta**, [s. l.], v. 188, p. 574–581, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2015.11.069>

CINTI, Stefano *et al.* Hg²⁺ detection using a disposable and miniaturized screen-printed electrode modified with nanocomposite carbon black and gold nanoparticles. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 23, n. 9, p. 8192–8199, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6118-2>. Acesso em: 28 fev. 2017.

COLDIBELI, Bruna *et al.* Feasibility of the use of boron-doped diamond electrode coupled to electroanalytical techniques for the individual determination of pravastatin and its association with acetylsalicylic acid. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 862, p. 113987, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.113987>

CONSTANZER, M; CHAVEZ, C; MATUSZEWSKI, B. Development and comparison of high-performance liquid chromatographic methods with tandem mass spectrometric and ultraviolet absorbance detection for the determination of cyclobenzaprine in human plasma and urine. **Journal of chromatography. B, Biomedical applications**, [s. l.], v. 666, n. 1, p. 117–126, 1995.

CONSTANZER, M L; VINCEK, W C; BAYNE, W F. Determination of cyclobenzaprine

in plasma and urine using capillary gas chromatography with nitrogen-selective detection. **Journal of chromatography**, [s. l.], v. 339, n. 2, p. 414–418, 1985.

CÓRDOBA-TORRES, Pedro. Characterization of frequency dispersion in the impedance response of a distributed model from the mathematical properties of the distribution function of relaxation times. **Electrochimica Acta**, [s. l.], v. 180, p. 591–603, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.08.140>

DEROCO, Patrícia B. *et al.* Simultaneous voltammetric determination of aspartame and acesulfame-K in food products using an anodically pretreated boron-doped diamond electrode. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 7, n. 5, p. 2135–2140, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C4AY03047H>

DEROCO, Patrícia B.; ROCHA-FILHO, Romeu C.; FATIBELLO-FILHO, Orlando. A new and simple method for the simultaneous determination of amoxicillin and nimesulide using carbon black within a dihexadecylphosphate film as electrochemical sensor. **Talanta**, [s. l.], v. 179, p. 115–123, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2017.10.048>

DEROCO, Patrícia Batista; LOURENCAO, Bruna Cláudia; FATIBELLO-FILHO, Orlando. The use of modified electrode with carbon black as sensor to the electrochemical studies and voltammetric determination of pesticide mesotrione. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 133, p. 188–194, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2017.03.024>

DUBOIS, M. *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>

ELLISON, Stephen L R; BARWICK, Vicki J; FARRANT, Trevor J Duguid. **Practical statistics for the analytical scientist**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/9781847559555>

FAN, Xinzhuang *et al.* Reversible redox reaction on the oxygen-containing functional groups of an electrochemically modified graphite electrode for the pseudo-capacitance. **Journal of Materials Chemistry**, [s. l.], v. 21, n. 46, p. 18753–18760, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c1jm13214h>. Acesso em: 9 nov. 2020.

FISHER, A.L.; BAYNE, W.F.; MUSSON, D.G. A sensitive method for assay of a novel tricyclic compound using coulometric electrochemical detection. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 78, n. 11, p. 971–974, 1989. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jps.2600781119>

GOSSER, David K. **Cyclic voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1993.

HERRIN, G. L.; MCCURDY, H. H.; WALL, W. H. Investigation of an LC-MS-MS (QTrap(R)) method for the rapid screening and identification of drugs in postmortem toxicology whole blood samples. **Journal of Analytical Toxicology**, [s. l.], v. 29, n. 7, p. 599–606, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jat/29.7.599>

HUANG, Jun *et al.* Graphical analysis of electrochemical impedance spectroscopy data in Bode and Nyquist representations. **Journal of Power Sources**, [s. l.], v. 309, p. 82–98, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2016.01.073>

IBÁÑEZ-REDÍN, Gisela *et al.* Effect of carbon black functionalization on the analytical performance of a tyrosinase biosensor based on glassy carbon electrode modified with dihexadecylphosphate film. **Enzyme and Microbial Technology**, [s. l.], v. 116, p. 41–47, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2018.05.007>

JEVTIĆ, Sonja *et al.* Boron-doped diamond electrode — A prestigious unmodified carbon electrode for simple and fast determination of bentazone in river water samples. **Diamond and Related Materials**, [s. l.], v. 81, p. 133–137, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.DIAMOND.2017.12.009>

KASSEM, Mohammed A.; GUESMI, Nizar El. Sensitive kinetic spectrophotometric determination of cyclobenzaprine HCl in pure form and pharmaceutical formulations. **Analytical Chemistry Letters**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 657–668, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/22297928.2016.1249517>

KATZ, W A; DUBE, J. Cyclobenzaprine in the treatment of acute muscle spasm: review of a decade of clinical experience. **Clinical therapeutics**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 216–228, 1988.

LASIA, Andrzej. Electrochemical Impedance Spectroscopy and its Applications. *In*: MODERN ASPECTS OF ELECTROCHEMISTRY. [S. l.]: Kluwer Academic Publishers, 2005. p. 143–248. Disponível em: https://doi.org/10.1007/0-306-46916-2_2. Acesso em: 9 nov. 2020.

ŁAWRYWIANIEC, M. *et al.* Application of a glassy carbon electrode modified with carbon black nanoparticles for highly sensitive voltammetric determination of quetiapine. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 9, n. 47, p. 6662–6668, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C7AY02140B>

LEE, Joon Hwan *et al.* A novel organophosphorus hydrolase-based biosensor using mesoporous carbons and carbon black for the detection of organophosphate nerve agents. **Biosensors and Bioelectronics**, [s. l.], v. 25, n. 7, p. 1566–1570, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2009.10.013>

LI, Chunya. Electrochemical determination of dipyrindamole at a carbon paste electrode using cetyltrimethyl ammonium bromide as enhancing element. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 77–83, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2006.11.009>

LINDEN, Christopher H. *et al.* Cyclobenzaprine Overdosage. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 281–288, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/15563658308990071>

LONG, Gary L.; WINEFORDNER, J. D. Limit of detection. A closer look at the IUPAC definition. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 55, n. 7, p. 712A–724A, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac00258a001>

LOUNASVUORI, Mailis M.; KELLY, David; FOORD, John S. Carbon black as low-cost alternative for electrochemical sensing of phenolic compounds. **Carbon**, [s. l.], v. 129, p. 252–257, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.CARBON.2017.12.020>

MACDONALD, Michelle A.; ANDREAS, Heather A. Method for equivalent circuit determination for electrochemical impedance spectroscopy data of protein adsorption on solid surfaces. **Electrochimica Acta**, [s. l.], v. 129, p. 290–299, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.02.046>

MANRIQUE, Gabriel Rainer Pontes *et al.* Fast surface water quality analysis based on an ultra-sensitive determination of the antidepressant drug duloxetine hydrochloride on a diamond electrode by voltammetry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, [s. l.], p. 1–15, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1802442>. Acesso em: 1 out. 2020.

MATTOS, Gabriel J. *et al.* Laccase stabilized on β -D-glucan films on the surface of carbon black/gold nanoparticles: A new platform for electrochemical biosensing. **Bioelectrochemistry**, [s. l.], 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BIOELECTCHEM.2019.05.002>

MATTOS, Gabriel Junquetti *et al.* The performance of boron-doped diamond electrode for the determination of ramipril and its association with hydrochlorothiazide. **Electroanalysis**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 1180–1187, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/elan.201600692>

MILLER, James M.; MILLER, Jane C. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. 6. ed. Harlow: Pearson, 2010.

MORAES, Jaqueline Tobias *et al.* Fast and sensitive simultaneous determination of antihypertensive drugs amlodipine besylate and ramipril using an electrochemical method: application to pharmaceuticals and blood serum samples. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 11, n. 31, p. 4006–4013, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C9AY01232J>

NAGUIB, Ibrahim A. *et al.* Development and validation of three spectrophotometric methods for determination of cyclobenzaprine HCl in the presence of its two major degradation products. **Analytical Chemistry Letters**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 24–34, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/22297928.2016.1153432>

ORAZEM, Mark E.; PÉBÈRE, Nadine; TRIBOLLET, Bernard. Enhanced graphical representation of electrochemical impedance data. **Journal of The Electrochemical Society**, [s. l.], v. 153, n. 4, p. B129, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1149/1.2168377>

PUBCHEM: OPEN CHEMISTRY DATABASE. [S. l.], 2013. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. Acesso em: 11 fev. 2019.

RAMADAN, Nesrin K. *et al.* Stability-indicating high-performance liquid chromatography and thin-layer chromatography methods for the determination of cyclobenzaprine hydrochloride and asenapine maleate. **Journal of Planar**

Chromatography - Modern TLC, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 313–322, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1556/1006.2017.30.4.12>

RAMADAN, Nesrin K.; ZAAZAA, Hala E.; MEREY, Hanan A. Microsized Graphite Sensors for Potentiometric Determination of Cyclobenzaprine Hydrochloride in Pure Powder, Tablets, and Plasma. **Journal of AOAC International**, [s. l.], v. 94, n. 6, p. 1807–1814, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.10-361>. Acesso em: 14 fev. 2018.

RODRIGUES, Edson Silvio Batista *et al.* Electrochemical Characterization of Central Action Tricyclic Drugs by Voltammetric Techniques and Density Functional Theory Calculations. **Pharmaceuticals**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 116, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ph12030116>. Acesso em: 12 dez. 2020.

SKOOG, Douglas A. *et al.* **Fundamentos da química analítica**. 8. ed. São Paulo: Thomson Learning, 2007.

SMAJDOR, Joanna *et al.* Glassy carbon electrode modified with carbon black for sensitive estradiol determination by means of voltammetry and flow injection analysis with amperometric detection. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 544, p. 7–12, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.AB.2017.12.025>

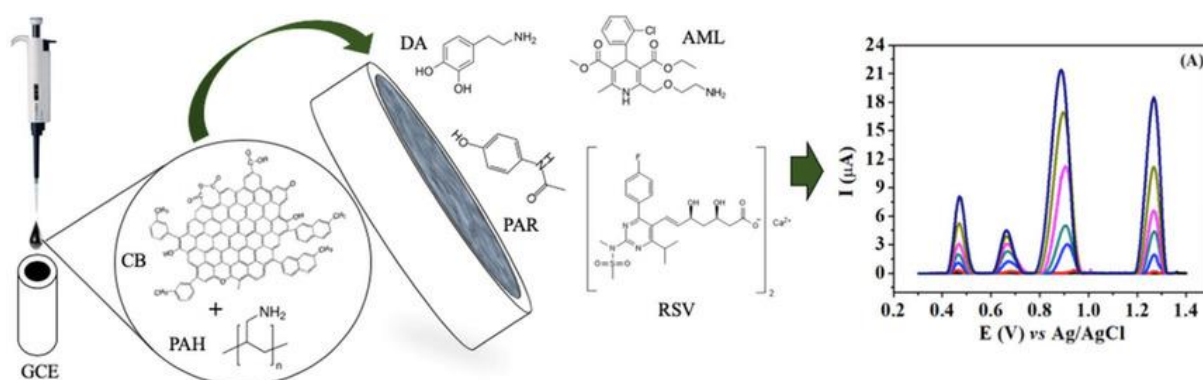
TALARICO, Daria *et al.* Carbon black as successful screen-printed electrode modifier for phenolic compound detection. **Electrochemistry Communications**, [s. l.], v. 60, p. 78–82, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ELECOM.2015.08.010>

TEIXEIRA, M. F. S.; BARSAN, M. M.; BRETT, C. M. A. Molecular engineering of a π -conjugated polymer film of the azo dye Bismarck Brown Y. **RSC Advances**, [s. l.], v. 6, n. 103, p. 101318–101322, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C6RA20335C>

XIANG, Yi *et al.* Determination of cyclobenzaprine in human plasma by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry and its application in a pharmacokinetic study. **Biomedical Chromatography**, [s. l.], v. 26, n. 9, p. 1083–1088, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bmc.1751>

CAPITULO 2

“Eletrodo de carbono vítreo modificado com compósito de *carbon black*/poli (cloridrato de alilamina) para a determinação de multianalitos”



Publicado em: *Electroanalysis*, Volume 33, 2021, 526-536.

RESUMO

Um sensor eletroquímico empregando eletrodo de carbono vítreo modificado com CB em filme de hidrocloreto de polialilamina foi proposto neste trabalho. O novo sensor foi caracterizado por microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de impedância eletroquímica e voltametria cíclica utilizando o par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$. O sensor foi aplicado para a determinação simultânea de dopamina, paracetamol, anlodipino e rosuvastatina. A quantificação de todos os quatro analitos foi realizada empregando a voltametria de varredura linear e apresentou linearidade na faixa de concentração de 1,0 – 22; 2,4 – 27; 12 – 90; 7,8 – 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção de 0,55; 1,3; 5,7; 3,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para dopamina, paracetamol, anlodipino e rosuvastatina, respectivamente. O CB-PAH/ECV foi aplicado com sucesso para a determinação simultânea do quarteto em amostras ambientais, farmacêuticas e biológicas.

Palavra-chave: determinação simultânea, eletrodo modificado, voltametria, polímero, amostras complexas.

1. INTRODUÇÃO

Sensores eletroquímicos oferecem simplicidade e rapidez nas análises, portabilidade, alta sensibilidade e excelente seletividade para a detecção dos analitos de interesse. A modificação desses sensores vem com a possibilidade de controlar a interação superfície/solução e resolver adversidades como baixa taxa de transferência de elétrons e sobreposição de picos de processos de oxirredução (LAWRENCE *et al.*, 2002; LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006).

O *carbon black* (CB) é um nanomaterial que possui carbonos amorfos em sua estrutura e tem atraído grande atenção devido as suas excelentes propriedades como: alta área superficial, excelente condutividade, estabilidade física e química e um relativo baixo custo quando comparado aos demais materiais de matriz carbonácea (CINTI, Stefano *et al.*, 2015). De acordo com Vicentini e colaboradores, o CB do tipo Vulcan XC-72R tem proporcionado um melhor desempenho eletroquímico e um melhor recobrimento da superfície do eletrodo quando comparado aos demais tipos de CB disponíveis no mercado (VICENTINI *et al.*, 2015).

Para a imobilização do CB sobre a superfície do ECV existem diversos materiais descritos na literatura, como o Nafion[®] (MEI *et al.*, 2016), diexadecil hidrogenofosfato (DHP) (BATISTA DEROCO; CAMPANHÃ VICENTINI; FATIBELLO-FILHO, 2015) e polissacarídeo botriosferana carboximetilada (EISELE *et al.*, 2019). Um material inovador que pode ser utilizado para a imobilização de CB é o hidrocloreto de polialilamina (PAH), porém não há trabalhos na literatura empregando o PAH para esse propósito. O PAH é um polieletrólito catiônico fraco, que possui muitos grupos amino em sua estrutura. Desse modo, é um composto que em meio ácido ou neutro está completamente protonado, enquanto em solução básica está parcialmente desprotonado (SARTORI; VICENTINI; FATIBELLO-FILHO, 2011).

A rosuvastatina cálcica (RSV) é um membro da família das estatinas, utilizada para o tratamento do colesterol alto. A RSV é um inibidor seletivo e competitivo da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA), a enzima responsável pelo controle da produção de colesterol. O colesterol alto é uma doença perigosa, pois pode ocasionar o aumento das lipoproteínas de baixa densidade

(LDL, do inglês *low-density lipoproteins*) nas artérias, resultando na restrição de fluxo sanguíneo (DAVIDSON, 2002; WHITE, 2002). Grande parte dos pacientes que possuem hipercolesterolemia também têm problemas com hipertensão, então é comum o uso combinado de anti-hipertensivos e anti-hiperlipidêmico (OZKAN *et al.*, 2016).

O besilato de anlodipino (AML) é um bloqueador do canal de cálcio e é geralmente prescrito para o controle da pressão sanguínea (KANG; VEROTTA; SCHWARTZ, 2006). Ambos os fármacos são administrados de forma combinada para o tratamento da hipertensão e do colesterol alto. Estudos recentes mostram que a pré-existência da hipertensão pode ser um fator de risco para o diagnóstico da doença de Parkinson (OZKAN *et al.*, 2016), na qual os níveis de dopamina no sangue são baixos. Dopamina (DA) é um neurotransmissor no tecido cerebral que desempenha um papel fisiológico importante no funcionamento do sistema nervoso central, renal, hormonal e cardiovascular como um mensageiro químico extracelular (DAMIER *et al.*, 1999). Paracetamol (PAR) ou acetaminofeno está entre os medicamentos mais utilizados no mundo e é utilizado para o alívio de dores e febre (KHORSHED; KHAIRY; BANKS, 2019). Além disso, 40-80% dos pacientes diagnosticados com a doença de Parkinson queixam-se de dores no corpo (is pain a symptom of parkinson's disease?, [s. d.]), assim é comum prescrever PAR para o alívio das dores crônicas causadas pela perda da função motora. Trabalhos recentes sugerem que baixas concentrações de PAR diminuem significativamente a neurodegeneração de DA, enquanto altas concentrações de PAR não protegem a DA da neurodegeneração (is pain a symptom of parkinson's disease?, [s. d.]).

Desse modo, a determinação de fármacos de diferentes classes terapêuticas é de grande importância para saúde humana, para monitoramento de suas concentrações na corrente sanguínea e para prevenção ambiental, devido a possíveis descartes inadequados. Diversos artigos descrevem métodos para a determinação individual e simultânea de DA, PAR, AML e RSV, entre eles métodos cromatográficos (ALTUN, 1994; BANERJEE; VASAVA, 2013; NALEWAJKO; WISZOWATA; KOJŁO, 2007; REDDY *et al.*, 2011; YASUDA; TANAKA; IBA, 1996) e espectrofotômetro (BERNARD; MATHEW; SENTHILKUMAR, 2011; CRIADO *et al.*, 2000; SHPIGUN; RYABENKO, 2012). Porém, essas técnicas apresentam algumas desvantagens como: relativo alto custo de instrumentação, alto tempo de análise e

longo tempo de preparo de amostras. Neste cenário, as técnicas eletroanalíticas veem como uma alternativa. Elas são simples, rápidas, portáteis, possuem alta sensibilidade e seletividade e são ambientalmente amigáveis. Na literatura há trabalhos para a determinação de DA, PAR, AML e RSV (ANEESH *et al.*, 2014; EISELE *et al.*, 2019; ERDOGAN *et al.*, 2011; GOYAL; BISHNOI, 2010; SADOK; TYSZCZUK-ROTKO; NOSAL-WIERCIŃSKA, 2016; YILMAZ; YILMAZ, 2018); entretanto, não há trabalhos para a determinação quaternária desses analitos.

Em vista do exposto aqui, este trabalho descreve pela primeira vez o desenvolvimento de uma nova plataforma eletroquímica baseada na imobilização do CB sobre a superfície do ECV empregando a PAH como agente dispersante. O novo sensor foi aplicado para a determinação quaternária de DA, PAR, AML e RSV em formulações farmacêuticas, soro sanguíneo sintético, água de rio e torneira.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Os reagentes utilizados para o preparo das soluções empregadas neste trabalho foram todos de grau analítico e preparados com água ultrapura (resistividade $>18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) proveniente do sistema Milli-Q (Millipore®). DA, PAR, ANL e RSV foram obtida da Sigma-Aldrich, o hexaaminrutênio $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6$ e PAH foram obtidos da Sigma-Aldrich. O CB VXC72R foi gentilmente cedido pela Cabot Corporation.

Os reagentes utilizados para o preparo dos eletrólitos suporte, cloreto de potássio, cloreto de sódio, cloreto de bário, sulfato de potássio e sulfato de sódio foram obtidos da Anidrol.

Os reagentes usados para o preparo do sêrum bovino simulado utilizado para a determinação de DA e PAR: albumina de sêrum bovino, creatina, creatinina, glicina, lisina, ácido úrico e glicose foram obtidos da Sigma-Aldrich. As amostras de medicamentos (DA, PAR, ANL e RSV) foram obtidas em uma farmácia local, localizada na cidade de Londrina, Paraná, Brasil.

As soluções padrão de DA, PAR, ANL e RSV foram preparadas na concentração de 10 mmol L^{-1} no dia de análise. DA, PAR e ANL foram dissolvidas no eletrólito suporte (tampão fosfato pH 3,0). Já a RSV foi dissolvida em acetona.

A solução de cloreto de hexaaminrutênio (III), na ordem de concentração de 10 mmol L^{-1} , foi preparada a cada dia de trabalho a partir da dissolução do sal em solução de $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

2.2 INSTRUMENTAÇÃO

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT101 (Metrohm Autolab B.V., Holanda) controlado pelo programa NOVA 2.1.3, enquanto as medidas impedimétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato FRAIL $\mu\text{AUTOLAB}$ tipo III (Metrohm Autolab B.V., Holanda) controlado pelo programa NOVA 1.0. Ambos os equipamentos foram acoplados a uma célula eletroquímica de vidro com a

capacidade para 15 mL, contendo tampa de Teflon® com encaixe para os eletrodos e um orifício para adição do analito. Foi utilizado um CB-PAH/ECV como eletrodo de trabalho, uma placa de platina como eletrodo auxiliar e todos os potenciais foram medidos em relação a um eletrodo de referência de Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹ KCl). O ECV foi obtido da Tokay Carbon Co., Japão (diâmetro 3 mm).

Para auxiliar na dispersão do CB e PAH utilizou-se uma lavadora ultrassônica da Eco-Sonics, modelo Q3.8/37A. As pesagens foram realizadas através de uma balança analítica Shimadzu, modelo AY220, com precisão de ± 0,1 mg.

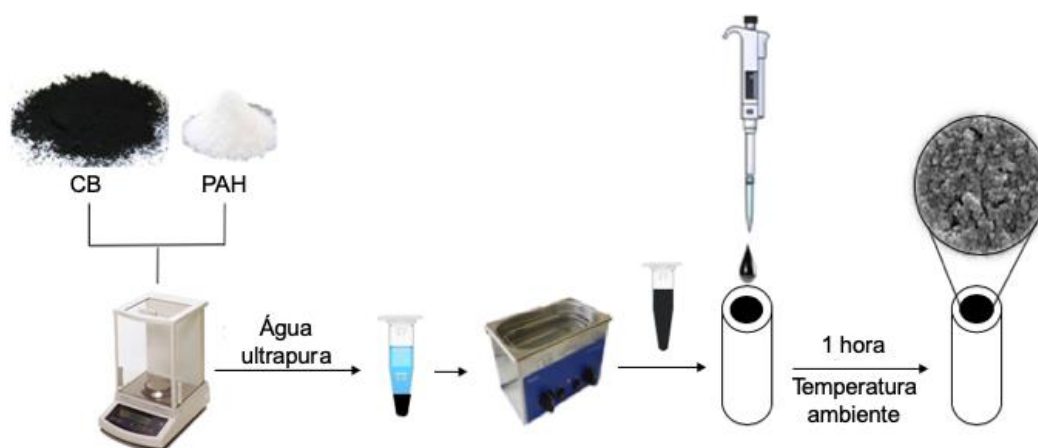
A caracterização morfológica dos diferentes sensores foi realizada empregando um MEV, utilizando o modelo FEI Quanta 200 FEG operado a 5 kV. As amostras foram preparadas em uma placa de carbono vítreo, deixado secar a temperatura ambiente.

A determinação individual de DA, PAR, ANL e RSV foi conduzida por um espectrofotômetro da PerkinElmer 40 UV-Vis, com célula de quartzo (caminho ótico de 1 cm).

2.3 PREPARAÇÃO DO CB-PAH/ECV

O preparo do CB-PAH/ECV foi realizado seguindo as etapas ilustradas na Figura 1. Inicialmente, o ECV sem modificação foi cuidadosamente polido com spray de diamante com o tamanho da partícula de 1- μ m e em seguida com uma partícula de tamanho de 1/4- μ m (Kemet, Reino Unido) sobre um papel abrasivo metalográfico (nº 6). Posteriormente, a dispersão de CB(PAH) foi preparada pesando 2 mg de CB e 1 mg de PAH, sendo adicionado a este, 1 mL de água ultrapura. Essa mistura foi deixada por 30 min em banho ultrassônico, para dispersão do CB. O ECV foi modificado com CB(PAH) utilizando a técnica de *drop-casting*, em que 8 μ L da dispersão de CB(PAH) foi imobilizada sobre a superfície do ECV polido. O eletrodo foi deixado secar em temperatura ambiente por 1 hora.

Figura 1 – Representação esquemática das etapas envolvidas no preparo do CB-PAH/ECV.



2.4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

As medidas voltamétricas foram realizadas em uma célula eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte, sendo que cada alíquota adicionada da solução padrão do analito foi analisada em triplicata. Para a caracterização eletroquímica dos sensores e o estudo do comportamento voltamétrico da DA, PAR, ANL e RSV foi utilizado a técnica de voltametria cíclica (VC).

A curva analítica foi construída em triplicata utilizando a técnica de voltametria de varredura linear, na qual foram feitas sucessivas adições de DA, PAR, ANL e RSV simultaneamente na célula eletroquímica contendo 10 mL do eletrólito suporte. O LD foi calculado de acordo com as recomendações da IUPAC, usando a Equação 1 (LONG, G. L.; WINEFORDNER, 1983):

$$LD = \frac{3s}{m} \quad (\text{Eq. 1})$$

em que s é o desvio padrão relativo (DPR) da média aritmética de 10 voltamogramas do branco, obtidas das correntes medidas no mesmo potencial do pico de oxidação dos analitos e o m é o valor do coeficiente angular da curva analítica de cada analito.

2.5 PREPARO DAS AMOSTRAS

2.5.1 Preparo das Amostras Farmacêuticas de DA, PAR, ANL e RSV

As amostras farmacêuticas foram preparadas em diferentes concentrações. Para isso, foram nomeadas 4 amostras em amostra A, amostra B, amostra C e amostra D, e cada uma possuía diferentes concentrações de DA-injetável, e comprimidos de PAR, ANL e RSV, como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Amostras farmacêuticas e as respectivas concentrações de cada analito

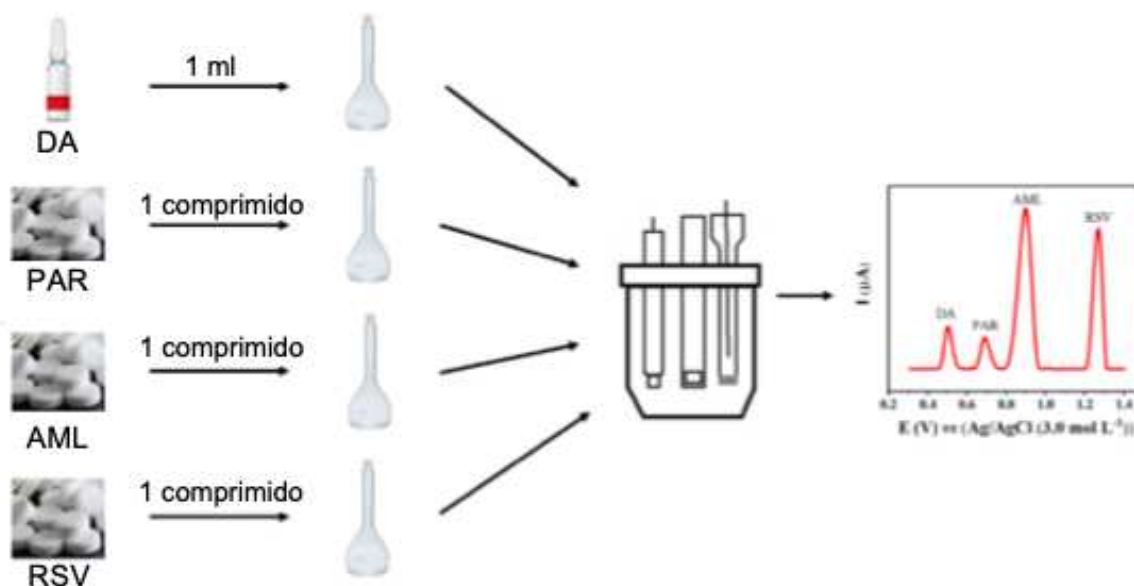
	Concentração (mg mL ⁻¹)			
	DA	PAR	ANL	RSV
Amostra A	5,00	500	3,48	5,20
Amostra B	5,00	500	6,93	10,4
Amostra C	5,00	500	13,9	20,8
Amostra D	5,00	500	13,9	5,20

Amostra de DA: uma alíquota de DA-injetável foi transferida para um balão volumétrico de 20 mL e completado com a solução de tampão fosfato (pH 2,0). Em seguida, uma alíquota dessa solução (120 µL) foi transferida para a célula eletroquímica contendo o eletrólito suporte (solução de tampão fosfato em pH 2,0).

Amostras de PAR, ANL e RSV em comprimido: inicialmente foi pesado 10 comprimidos de cada fármaco e então reduzido a um pó homogêneo em um almofariz com o auxílio de um pistilo. Na sequência, uma quantidade referente a um comprimido foi pesada e transferida para um balão volumétrico. O PAR foi transferido para um balão volumétrico de 25 mL e completado o volume com solução tampão fosfato (pH 2,0), o ANL para um balão volumétrico de 5 mL e completado o volume com álcool etílico, e a RSV para um balão volumétrico de 5 mL e preenchido o volume com propano. Em seguida, uma alíquota de cada uma dessas soluções foi diretamente transferida para a célula eletroquímica contendo o eletrólito suporte

(solução de tampão fosfato a pH 2,0). O esquema de preparo das amostras dos fármacos está representado de forma resumida na Figura 2.

Figura 2 – Representação esquemática do preparo das amostras farmacêutica de DA, PAR, ANL e RSV e subsequente adição à célula eletroquímica para obtenção da resposta eletroquímica.



Após adição dos analitos na célula eletroquímica, o voltamograma simultâneo foi obtido. Então, a concentração de cada analito foi determinada diretamente pela interpolação na curva analítica obtida previamente. Estas medidas foram realizadas em triplicata e o DPR foi calculado.

2.5.2 Preparo das amostras biológicas para a determinação de DA e PAR

A amostra de soro sanguíneo simulado de boi foi preparada de acordo com procedimento descrito por Krebs (KREBS, 1950), misturando os seguintes reagentes: ácido ascórbico (10 mg L⁻¹), albumina bovina (40 mg L⁻¹), ácido cítrico (25 mg L⁻¹), creatina (10,7 mg L⁻¹), creatinina (4,2 mg L⁻¹), glicina (17,7 mg L⁻¹), glicose (200 mg L⁻¹), lisina (29,5 mg L⁻¹) e ácido úrico (10 mg L⁻¹) em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,4). Em seguida, esta solução foi dopada com solução padrão de DA e PAR e então uma alíquota de 0,5 mL dessa solução foi transferida para a célula eletroquímica contendo 9,5 mL do eletrólito suporte (solução tampão fosfato no pH 2,0). O teste de recuperação foi realizado para avaliar a precisão do método.

2.5.3 Preparo das Amostras Ambientais para a Determinação de DA, PAR, ANL e RSV

As amostras de água proveniente de rio e da torneira foram filtradas e dopadas com solução padrão de DA, PAR, ANL e RSV de concentração conhecida. Na sequência 1 mL dessa solução foi transferida para a célula eletroquímica contendo 9 mL da solução de tampão fosfato (pH 2,0). Testes de recuperação foram realizados para avaliar a precisão do método.

2.5.4 Métodos comparativo e de referência

Foi necessário o emprego de 4 diferentes métodos para realizar a comparação dos resultados obtidos com o método voltamétrico desenvolvido neste trabalho. Para a determinação de DA, PAR e ANL foram empregados métodos de referência descritos na Farmacopeia Britânica, com algumas alterações (BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION, 2009). Para a quantificação de RSV não há métodos de referência na literatura, então foi utilizado um método espectrofotométrico comparativo desenvolvido por Gupta e colaboradores com algumas adaptações, sendo elas as concentrações utilizadas para a construção da curva analítica (GUPTA; MISHRA; SHAH, 2009).

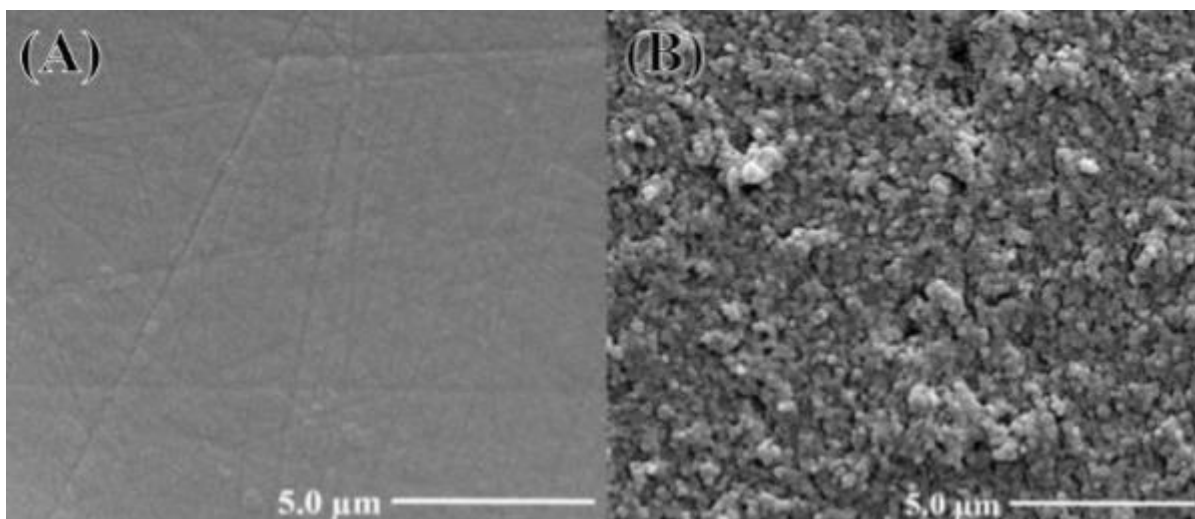
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ESTUDO ELETROQUÍMICO DO CB-PAH/ECV E SUA APLICAÇÃO ELETROANALÍTICA

3.1.1 Caracterização Morfológica

A superfície do ECV sem modificação e do CB-PAH/ECV foram estudadas pela técnica de microscopia de varredura eletrônica. Na Figura 3B, é possível observar a superfície do carbono vítreo modificado com o filme de CB em PAH, em que o CB recobre totalmente a superfície do carbono vítreo quando comparado com a superfície sem nenhuma modificação (Figura 3A). Indicando assim, a homogeneidade do filme de CB quando disperso no polímero PAH.

Figura 3 – Imagens do MEV para as superfícies de (A) carbono vítreo e (B) carbono vítreo modificado com CB-PAH.



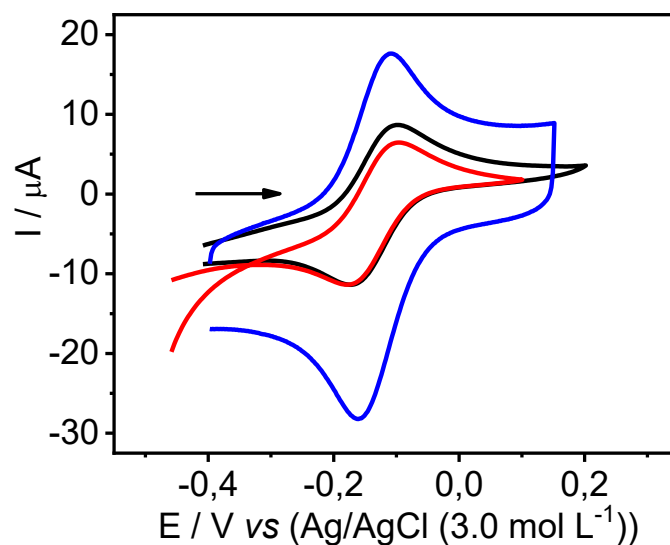
Devido o CB possuir partículas produzidas a partir da combustão incompleta ou decomposição térmica de hidrocarbonetos no estado líquido e gasoso, apresenta característica de nanomaterial apolar, sua solubilidade na água é desfavorável. Por outro lado, o PAH é um polieletrólito catiônico baseado em uma cadeia hidrofóbica com grupos amina ionizáveis ao longo de sua estrutura. Assim, o compósito CB-PAH se baseia na interação hidrofóbica entre os carbonos do CB e a

cadeia carbônica do PAH. O grau de ionização do PAH em solução com pH 7,0 (condição experimental do presente trabalho) é aproximadamente 95% para os grupos aminas (SARTORI; VICENTINI; FATIBELLO-FILHO, 2011). Desse modo, a interação dipolo-dipolo entre os grupos aminas ionizadas e o dipolo das moléculas da água favorece a miscibilidade do CB em meio aquoso, o que proporciona uma dispersão mais estável e homogênea do CB em água, como pode-se observar na Figura 3B.

3.1.2 Caracterização Eletroquímica Por Voltametria Cíclica e Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

Os experimentos de caracterização eletroquímica foram realizados em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença do par redox cloreto de hexaaminorutênio (III) na concentração de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ empregando o ECV sem modificação, o ECV modificado somente com PAH (PAH/ECV) e o sensor desenvolvido (CB-PAH/ECV). É possível observar na Figura 4 os voltamogramas cíclicos obtidos a velocidade de 50 mV s^{-1} empregando o ECV, PAH/ECV e CB-PAH/ECV, em que cada sensor apresentou uma separação de pico ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$) de 0,070, 0,080 e 0,057 V, respectivamente. Esta diminuição do ΔE_p na presença de CB se deve, possivelmente, a ótima condutividade do CB, proporcionado pelos carbonos sp^2 e sp^3 presente na sua composição que ocasiona um aumento na transferência de elétrons sobre a superfície do eletrodo.

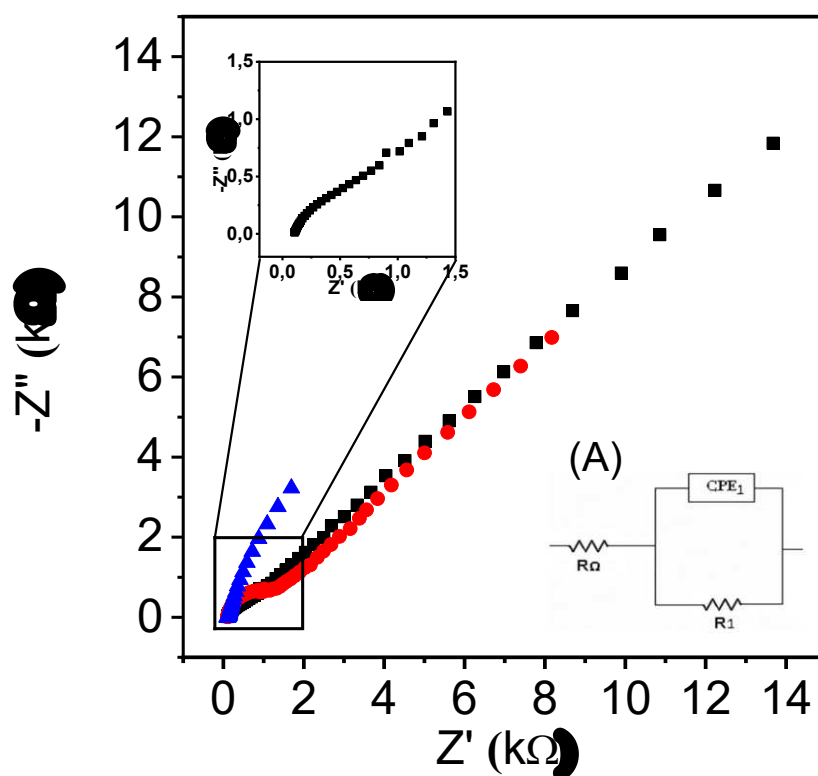
Figura 4 – Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) empregando o (—) ECV, e os sensores: (—) PAH/ECV e (—) CB-PAH/ECV em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de cloreto de hexaaminorutênio (III).



A área eletroativa dos eletrodos de trabalho foi calculada empregando a equação de Randles-Ševčík (BARD, Allen J.; FAULKNER, 2001). Neste estudo o par redox empregado foi o cloreto de hexaaminorutênio (III), o valor do coeficiente de difusão utilizado foi $9,1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-2}$ (BANKS *et al.*, 2004) juntamente com os voltamogramas cíclicos a 50 mV s^{-1} (Figura 4). A área eletroativa do ECV sem modificação, PAH/ECV e CB-PAH/ECV foi estimado como 0,057; 0,044; 0,133 cm^2 , respectivamente. O aumento na área eletroativa do CB-PAH/ECV é devido as escalas nanométricas do CB.

O comportamento eletroquímico da superfície dos três diferentes eletrodos foi estudado empregando o método de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). Para esse estudo o cloreto de hexaaminorutênio (III) foi utilizado como par redox, por ter seu comportamento eletroquímico já conhecido. Fazendo uso do modelo de circuito equivalente, foi proposto o circuito para o sensor desenvolvido (Figura 5A). Em que este apresenta uma resistência para a solução (KCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de cloreto de hexaaminorutênio (III)) (R_{Ω}), resistência da transferência de carga (R_1), capacitor de dupla camada (CPE) e o elemento de difusão (W).

Figura 5 – Diagrama de Nyquist obtido empregando o (●) ECV, (■) PAH/ECV e (▲) CB-PAH/ECV em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de cloreto de hexaaminorutenio (III) na concentração de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, na amplitude de 10 mV e uma faixa de frequência de 10 Hz a 100 kHz . (A) o circuito proposto para o CB-PAH/ECV. Inserido: Ampliação na região da alta-frequência do espectro do ECV.

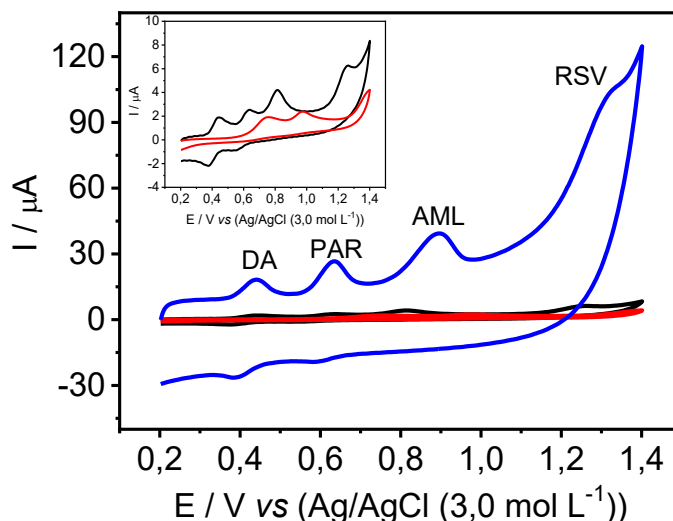


O gráfico de Nyquist de uma célula de Randles é representado por um semicírculo e o diâmetro representa a resistência de transferência de carga (em frequências mais altas), enquanto a linha reta em um ângulo de 45° com o eixo real em frequências mais baixas representa o processo de difusão (controle de transferência de massa). Na Figura 5 pode-se observar que a presença de PAH sobre a superfície do ECV ocasionou um aumento na R_1 ($1,2 \text{ k}\Omega$) quando comparado ao eletrodo sem modificação ($R_1 = 0,32 \text{ k}\Omega$). Esse comportamento já é esperado, pois o PAH é uma macromolécula orgânica e pode estar bloqueando a difusão das espécies eletroativas sobre a superfície do eletrodo. Por outro lado, a com a adição de CB no filme de PAH obtém-se uma linha reta; esse comportamento é devido a excelente condutividade do CB que facilita a transferência de elétrons sobre a superfície do eletrodo. Os resultados obtidos por EIE corroboram com aqueles obtidos pela VC (Figura 4).

3.1.3 Aplicação do CB-PAH/ECV para a determinação simultânea de multianalitos

Inicialmente foi estudado o comportamento eletroquímico simultâneo da DA, PAR, ANL e RSV empregando-se a técnica de VC (50 mV s^{-1}) e os diferentes sensores (ECV, PAH-ECV e CB-PAH/ECV) como eletrodo de trabalho em solução de tampão BR (pH 3,0) contendo todos os analitos na concentração de $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$. Na Figura 6, é possível observar quatro picos de oxidação distintos e bem definidos nos potenciais de 0,44, 0,63, 0,90 e 1,32 V, respectivamente, para DA, PAR, ANL e RSV. DA e PAR apresentaram um pico de redução na varredura reversa, em que se caracteriza a ocorrência de um processo quasi-reversível. Outra característica que pode ser observada em sistemas quasi-reversíveis é o aumento crescente entre E_{pa} e E_{pc} na medida em que se aumenta a velocidade de varredura, característica observada para ambos os analitos (secção 2.1.4). Já para as respostas voltamétricas da ANL e RSV nenhum processo de redução foi observado na varredura reversa, indicando que o processo de oxidação é irreversível para estes analitos. Quando comparado a resposta eletroquímica dos analitos nas diferentes superfícies, foi observado uma maior intensidade de corrente para o CB-PAH/ECV em relação ao ECV e PAH/ECV, devido ao CB ser um nanomaterial com excelente condutividade, que proporciona um aumento na área eletroativa e na velocidade de transferência de elétrons, como mencionado e comprovado anteriormente na sessão de caracterização eletroquímica do sensor.

Figura 6 – Voltamogramas cíclico (50 mV s^{-1}) obtidos em solução tampão BR (pH 3,0) contendo $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$ de DA, PAR, ANL e RSV empregando como eletrodo de trabalho: (—) ECV sem modificação, (—) PAH/ECV e (—) CB-PAH/ECV. Inserido: ampliações dos voltamogramas cíclico do ECV e PAH/ECV.



A proporção de CB e PAH no filme CB-PAH foi estudado com base na resposta voltamétrica dos analitos utilizando VC em solução de tampão BR (pH 3,0) na presença de DA, PAR, ANL e RSV na concentração de $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$. Dentre as proporções estudadas, sendo elas: 1:1, 1:2, 2:1 e 3:1 (m/m; CB:PAH); a dispersão de 2:1 (m/m; CB:PAH) apresentou uma maior intensidade de corrente e melhor repetibilidade. Por esse motivo, esta dispersão foi escolhida para o preparo do CB-PAH/ECV.

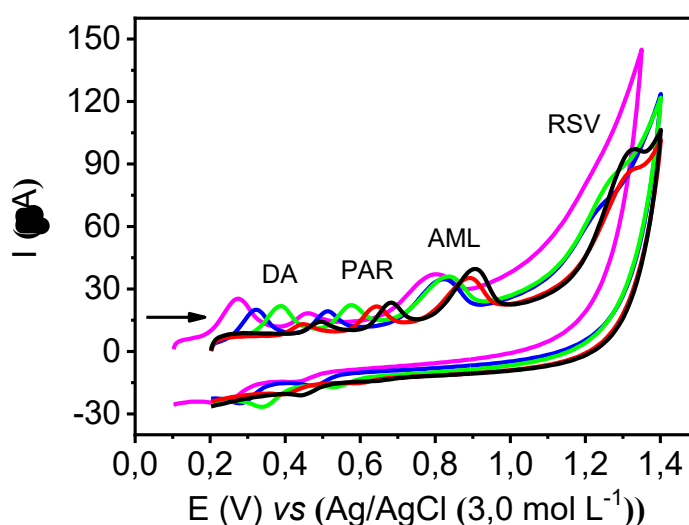
A reprodutibilidade da fabricação do CB-PAH/ECV foi estudada utilizando três diferentes sensores, na qual eles foram preparados utilizando a mesma dispersão e três diferentes dispersões de CB-PAH (2:1; m/m). As medidas foram realizadas em empregando a técnica de VC (50 mV s^{-1}) na presença de DA, PAR, ANL e RSV a $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução de tampão BR (pH 3,0). Quando utilizado a mesma dispersão, foi obtido um DPR de 1,99%, 1,33%, 1,78% e 1,49% para DA, PAR, ANL e RSV, respectivamente. Para as três dispersões diferente, o DPR obtido foi 2,55%, 0,78%, 1,37% e 0,85% para DA, PAR, ANL e RSV, respectivamente. Os valores do DPR obtidos revelaram uma viabilidade e alta reprodutibilidade na produção do CB-PAH/ECV. Nas mesmas condições experimentais, a estabilidade do CB-PAH/ECV foi estudada e depois de 35 medidas,

a corrente caiu somente 5,0% do valor inicial, indicando uma boa estabilidade do filme CB-PAH formado sobre a superfície do ECV.

3.1.4 Estudo do pH, eletrólito suporte e efeito da velocidade de varredura sobre a resposta analítica da DA, PAR, ANL e RSV

O pH do eletrólito suporte foi estudada utilizando solução de tampão BR com o pH variando de 2,0 a 5,0 (Figura 11). Acima do pH 6,0, não foi observado pico de oxidação da RSV; dessa forma, valores de pH acima de 6,0 não foram estudados. É possível observar na Figura 7 um deslocamento do pico de oxidação da DA, PAR e ANL para valores menos positivos de potencial e para o PAR e ANL não houve mudança significativa na intensidade de corrente. Devido a maior magnitude de corrente e melhor repetibilidade, o pH 2,0 foi escolhido para a determinação simultânea de DA, PAR, AML e RSV. Na sequência, foi estudado os tampões BR e fosfato, ambos no pH 2,0 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), com a finalidade de escolher o melhor eletrólito suporte. A solução tampão fosfato (pH 2,0) apresentou melhor repetibilidade e maior intensidade de corrente, sendo esta escolhida para o desenvolvimento do método.

Figura 7 – Voltamogramas cíclico (50 mV s^{-1}) em tampão BR na presença de DA, PAR, ANL e RSV a 40 mmol L^{-1} , nos pH (—) 2,0, (—) 3,0, (—) 4,0, (—) 5,0 e (—) 6,0. CB-PAH/ECV empregado como eletrodo de trabalho.



O efeito da velocidade de varredura sobre o pico de oxidação da ANL, RSV e sobre o pico de oxidação e redução da DA e PAR foi investigado na solução de tampão fosfato (pH 2,0) na presença dos analitos na concentração de 0,3 mmol L⁻¹ empregando o CB-PAH/ECV por VC variando a velocidade de 5 a 350 mV s⁻¹. A Figura 12 apresenta os voltamogramas cíclicos para cada analito e seus respectivos gráficos do log I_{ap} vs. log v . Como pode-se observar nas equações a seguir, para todos os analitos o gráfico do log I_{ap} vs. log v apresentou uma resposta linear com o coeficiente angular da reta próximo do valor teórico (1,0), característica de sistemas predominantemente controlado por adsorção.

$$\text{DA (pico de oxidação): } \log I_{pa} = -1,19 + 1,22 \log v \quad (r = 0,994) \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\text{DA (pico de redução): } \log I_{pc} = -1,44 + 1,30 \log v \quad (r = 0,994) \quad (\text{Eq. 3})$$

$$\text{PAR (pico de oxidação): } \log I_{pa} = -0,61 + 1,16 \log v \quad (r = 0,996) \quad (\text{Eq. 4})$$

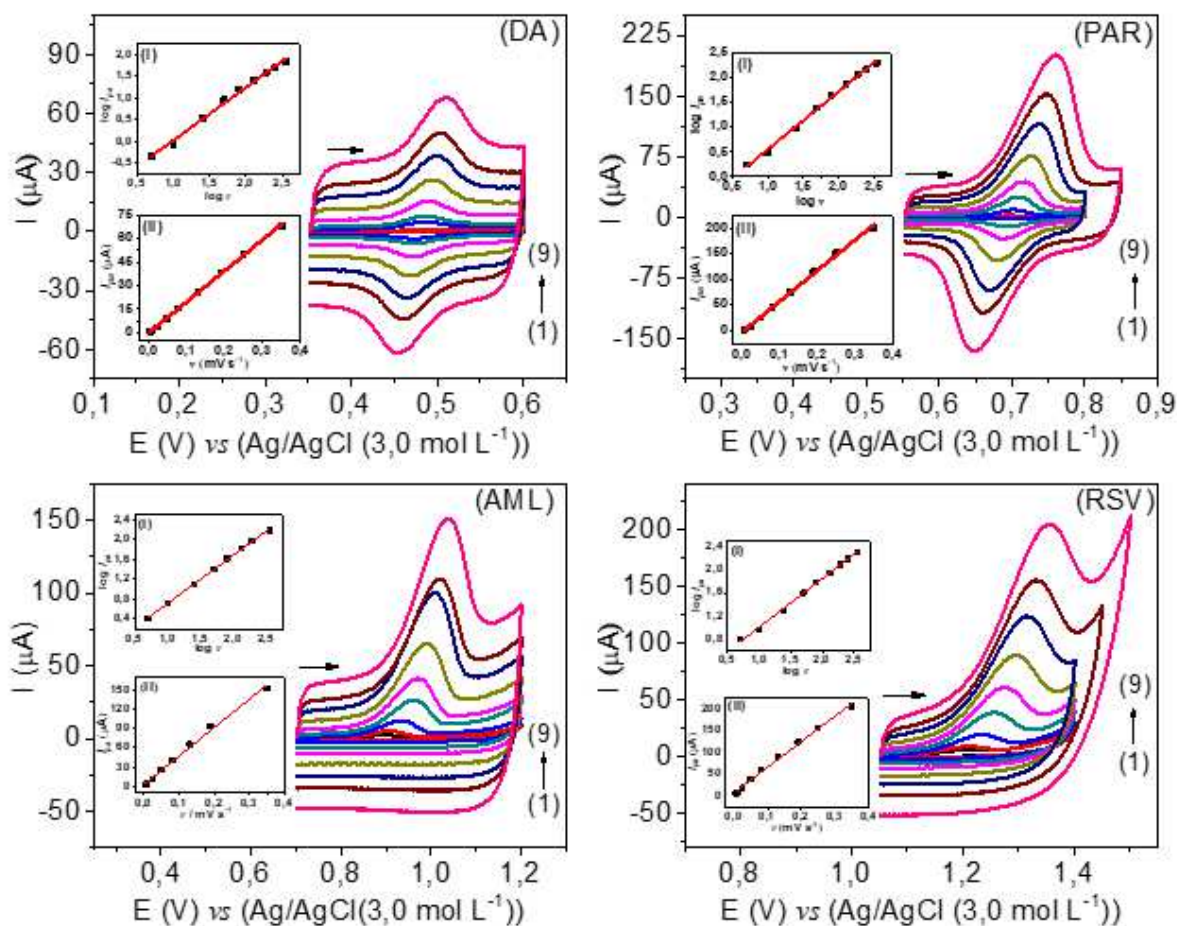
$$\text{PAR (pico de redução): } \log I_{pc} = -2,11 + 1,77 \log v \quad (r = 0,992) \quad (\text{Eq. 5})$$

$$\text{ANL: } \log I_{pa} = -0,26 + 0,97 \log v \quad (r = 0,999) \quad (\text{Eq. 6})$$

$$\text{RSV: } \log I_{pa} = -0,16 + 0,85 \log v \quad (r = 0,995) \quad (\text{Eq. 7})$$

A partir dos voltamogramas cíclicos (Figura 8) também foi plotado um gráfico da corrente (I_{ap}) vs. velocidade de varredura (v) e observado um comportamento linear para a DA, PAR, ANL e RSV, reafirmando que o processo que ocorre na superfície do eletrodo é predominantemente controlado pela adsorção de espécies. Nos voltamogramas é possível observar, para os quatros analitos, um deslocamento do pico de oxidação com o aumento da velocidade para potenciais mais positivos, que é uma característica de processos quasi-reversível (DA e PAR) e processos irreversíveis (ANL e RSV).

Figura 8 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades (1-9: 5-350 mV s^{-1}) para DA, PAR, AML e RSV na concentração de $0,3 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato (pH 2,0). Inserido: gráficos de (I) $\log I_{pa}$ vs. $\log v$ e (II) I_{pa} vs. v .



O número de elétrons envolvidos na reação de oxidação eletroquímica da DA, PAR, ANL e RSV foram estimados com base na VC obtida na velocidade de 50 mV s^{-1} em conjunto com a equação: $E_{ap} - E_{ap/2} = 0,047/\alpha n$ (BARD, A. J.; FAULKNER, 2001). Em que, os valores de E_{ap} e $E_{ap/2}$ foram respectivamente, para a DA 0,495 e 0,457 V; para o PARA 0,715 e 0,676 V; para a ANL 0,962 e 0,906 V e para a RSV 1,257 e 1,188 V. Adotando o valor de α como 0,5 (usualmente empregado (BARD, A. J.; FAULKNER, 2001)), o número de elétrons envolvidos na oxidação eletroquímica da DA, PAR e ANL foram 2, enquanto para a RSV foi 1 elétron. Os valores obtidos estão em concordância com aqueles reportados previamente na literatura (EISELE *et al.*, 2019; YAO *et al.*, 2019). Para a molécula de DA a eletrooxidação ocorre nos dois grupos fenóis em que há a liberação de 2

elétrons e 2 prótons para o meio (YAO *et al.*, 2019). A oxidação do PAR ocorre nos grupos fenol e amina com a liberação de 2 elétrons e 2 H⁺ (YAO *et al.*, 2019). Foi também estimado o número de elétrons envolvidos no processo de redução da DA e PAR. Para isso, o pico de redução de ambos foi estudado por VC na velocidade de 50 mV s⁻¹ e aplicado a mesma equação utilizada para o pico de oxidação; desse modo, foi possível estimar que a quantidade de elétrons envolvidos na redução eletroquímica das moléculas de DA e PAR foi de 2 elétrons para ambas as moléculas. Sendo que o processo de redução ocorre nos mesmos grupos dos processos de oxidação para ambas as moléculas, ou seja, nos grupos fenóis para a DA e nos grupos fenol e amina para o PAR (BANKS *et al.*, 2004). Para o ANL a oxidação ocorre nos grupos amina e liberam 2 elétrons e a eletrooxidação da RSV ocorre no grupo álcool com a liberação de 1 elétron (GUPTA; MISHRA; SHAH, 2009; KARADAS-BAKIRHAN *et al.*, 2016).

3.1.5 Aplicação do CB-PAH/ECV para a determinação simultânea de DA, PAR, ANL e RSV

Inicialmente, a influência da velocidade de varredura sobre a sensibilidade da técnica de voltametria linear foi investigada. Para esse estudo, foram construídas 4 diferentes curvas analítica variando a velocidade de varredura entre 10 a 100 mV s⁻¹. A Tabela 2 apresenta os parâmetros analíticos (faixa linear, coeficiente de correlação e coeficiente angular) de cada um dos analitos obtido em diferentes velocidades de varredura, empregando a técnica de voltametria linear. É possível observar que a velocidade de 75 mV s⁻¹ apresentou uma melhor relação linear com os coeficientes de correlação próximos de 1, indicando um comportamento linear entre as medidas. Para as velocidades de 10; 50 e 100 mV s⁻¹ esse comportamento não foi observado. Além de coeficientes de correlação mais próximos de 1, a velocidade de 75 mV s⁻¹ apresentou maior sensibilidade para os analitos quando comparada as demais velocidades. Por esses motivos, a velocidade de 75 mV s⁻¹ foi escolhida para a construção da curva analítica dos quatro analitos.

Tabela 2. Parâmetros analíticos das curvas analíticas obtidas para a DA, PAR, ANL e RSV, empregando a voltametria de varredura linear em diferentes velocidades de varredura (10; 50; 75; 100 mV s⁻¹) utilizando como eletrodo de trabalho o CB-PAH/ECV em solução de tampão fosfato (pH 2,0)

Velocidade de varredura	Analitos	Parâmetros analíticos			
		Potencial de pico (V)	Faixa linear (μmol L ⁻¹)	Coefficiente de correlação linear	Coefficiente angular (μA μmol L ⁻¹)
10 mV s ⁻¹	DA	0,50	3,0 – 11	0,960	0,01
	PAR	0,69	3,0 – 11	0,939	0,01
	ANL	0,80	6,0 – 15	0,949	0,02
	RSV	1,18	6,0 – 15	0,834	0,02
50 mV s ⁻¹	DA	0,50	2,5 – 46	0,992	0,06
	PAR	0,68	2,4 – 27	0,979	0,13
	ANL	0,88	12 – 48	0,974	0,27
	RSV	1,25	7,8 – 40	0,967	0,24
75 mV s ⁻¹	DA	0,47	1,0 – 22	0,999	0,38
	PAR	0,66	2,4 – 27	0,999	0,18
	ANL	0,90	12 – 90	0,992	0,27
	RSV	1,27	7,8 – 40	0,998	0,54
100 mV s ⁻¹	DA	0,50	1,0 – 34	0,988	0,08
	PAR	0,69	1,0 – 27	0,964	0,31
	ANL	0,90	12 – 48	0,953	0,75
	RSV	1,29	7,8 – 40	0,875	0,40

Sob as condições escolhidas, foi construída uma curva analítica para cada um dos analitos na presença dos três outros analitos restantes. A concentração do analito em análise foi variada, enquanto a concentração dos outros três analitos foi mantida constante. Todos os resultados obtidos, valores de DPR e os parâmetros analíticos da curva analítica estão apresentados na Tabela 3. Como podemos observar, em todos os casos obtivemos uma resposta linear entre as concentrações dos analitos na curva analítica, enquanto os outros três analitos mantiveram uma resposta constante com um DPR > 8,65%. Com isso, esse estudo indica que não há influência significativa na resposta voltamétrica entre os analitos.

Tabela 3. Valores de DPR, coeficiente angular e das curvas analíticas obtidos quando empregado a voltametria de varredura linear em conjunto com o CB-PAH/ECV para a determinação de um analito na presença de uma mistura ternária dos outros analitos, sendo os analitos DA, PAR, ANL e RSV

Analito	Coeficiente angular ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$)	Coeficiente de correlação	DPR / %			
			DA	PAR	ANL	RSV
Dopamina	0,362	0,999	—	3,96	8,65	4,61
Paracetamol	0,205	0,999	2,43	—	4,90	1,94
Amlodipina	1,302	0,995	5,73	4,49	—	5,12
Rosuvastatina	0,471	0,997	3,85	4,92	7,07	—

Na sequência, a curva analítica para os quatro analitos, foi construída simultaneamente pela adição sucessiva de solução padrão de DA, PAR, ANL e RSV, as medidas foram realizadas pela técnica de voltametria de varredura linear empregando o CB-PAH/ECV, em solução tampão fosfato (pH 2,0). Na Figura 9, é possível observar os voltamogramas linear obtidos em solução com diferentes concentrações de DA, PAR, ANL e RSV (Figura 9A) e inserido suas respectivas curvas analíticas. Para a construção das curvas analíticas foi feito ajuste da correção de linha de base em cada medida. Este ajuste foi feito automaticamente pelo programa NOVA 2.1 no modo “*moving average*” com uma janela de tamanho 1. Na Tabela 4, tem-se os parâmetros analíticos obtidos para a determinação simultânea dos quatro analitos e os parâmetros estatísticos obtidos por análise de regressão em um nível de confiança de 95%. Como pode-se observar, os valores obtidos para o F_{reg} foram maiores do que o F_{tab} (4,49), enquanto para p , os valores obtidos foram maiores do que o valor tabelado (0,05), ambos os resultados nos indicam que as curvas analíticas obtidas apresentaram um comportamento linear.

Figura 9 – (A) Voltamogramas de varredura linear obtidos empregando o CB-PAH/ECV para variação da concentração de (2 – 7) DA ($1,0 - 22 \mu\text{mol L}^{-1}$), PAR ($2,4 - 27 \mu\text{mol L}^{-1}$), ANL ($12 - 90 \mu\text{mol L}^{-1}$) e RSV ($7,8 - 40 \mu\text{mol L}^{-1}$) em solução de tampão fosfato (pH 2,0). Respectivas curvas analíticas para (B) DA, (C) PAR, (D) ANL e (E) RSV.

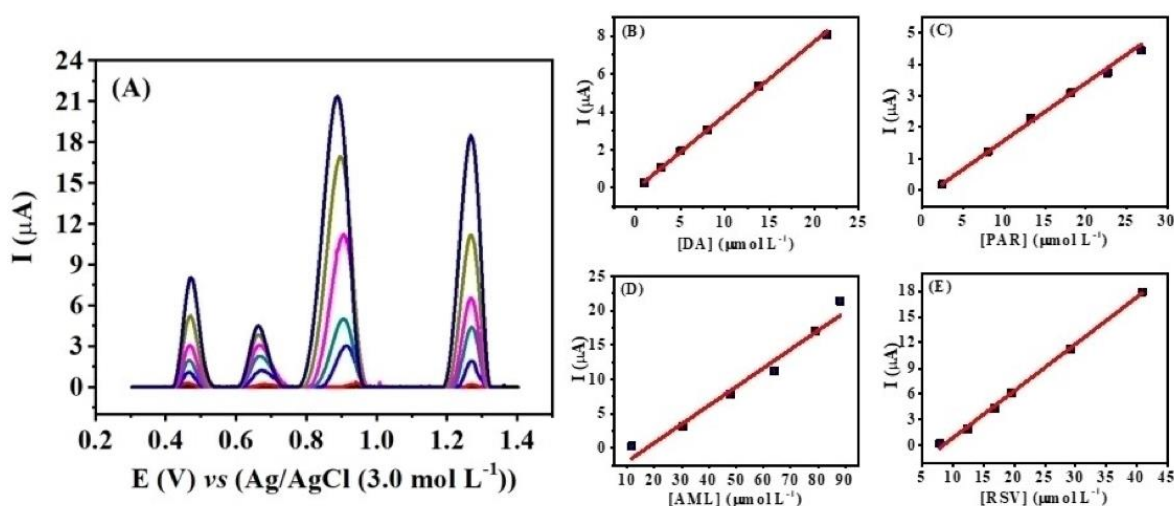


Tabela 4. Parâmetros analíticos para determinação simultânea de DA, PAR, ANL e RSV por voltametria de varredura linear em solução de tampão fosfato (pH 2,0) empregando o CB-PAH/ECV

Parâmetros analíticos	Analitos			
	DA	PAR	ANL	RSV
Potencial de pico (V)	0,47	0,66	0,90	1,27
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	1,0 – 22	2,4 – 27	12 – 90	7,8 – 40
Coefficiente de correlação linear	0,999	0,999	0,992	0,998
Coefficiente angular ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$)	0,38	0,18	0,27	0,54
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,55	1,3	5,7	3,0
F_{reg}	1108	2153	453,1	1379
p value	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

A repetibilidade e reprodutibilidade foram estudadas utilizando uma solução tampão fosfato (pH 2,0) na presença de DA e PAR a $15 \mu\text{mol L}^{-1}$, ANL e RSV a $30 \mu\text{mol L}^{-1}$, empregando o CB-PAH/ECV como eletrodo de trabalho. O estudo da repetibilidade foi realizado através de sucessivas medidas ($N = 10$), e os valores de DPR obtido foram 1,99; 1,86; 4,07; 1,82% para DA, PAR, ANL e RSV,

respectivamente. O estudo da reprodutibilidade foi realizado coletando a intensidade de corrente do pico de oxidação de cada analito durante 5 dias, nas mesmas condições experimentais que a repetibilidade, os valores do DPR obtidos foram 5,03% (DA), 4,82% (PAR), 3,36% (AML) e 5,16% (RSV). Estes valores indicam que o método proposto para a determinação simultânea dos quatro analitos empregando o CB-PAH/ECV, apresentou uma boa repetibilidade e reprodutibilidade.

A Tabela 5 apresenta uma comparação da faixa linear obtida para DA, PAR, AML e RSV empregando o CB-PAH/ECV com os valores da literatura obtidos com diferentes sensores e técnicas. É possível observar que apesar de alguns sensores da literatura apresentarem uma melhor faixa linear, com concentrações mais baixas, nenhum trabalho anterior demonstrou a determinação voltamétrica simultânea para DA, PAR, AML e RSV, conseqüentemente, o CB-PAH/ECV possui esta vantagem frente aos demais sensores da literatura, a capacidade de determinação simultaneamente esses quatro analitos. Além disso, o CB-PAH/ECV demonstrou ser de fácil preparo e o PAH comprovou ser um agente dispersante de grande importância para a dispersão de CB em meio aquoso.

Tabela 5. Comparação das faixas lineares e limite de detecção para a determinação voltamétrica da DA, PAR, ANL e RSV empregando diferentes sensores

Sensor	Técnica	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)				LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)				Referência
		DA	PAR	ANL	RSV	DA	PAR	ANL	RSV	
Platina										YILMAZ e
	VPD	–	–	9,0 – 70	5,0 – 40	–	–	0,70	0,80	YILMAZ, 2018
Bi/Nafion/BDDE										SADOK <i>et al.</i> , 2016
	VPD	–	0,2 – 500	–	–	–	0,001	–	–	
RGO-GCE										ANEESH <i>et al.</i> , 2014
	VPD	0,1 – 100	–	–	–	0,008	–	–	–	
MOFs/MWCNT-Au@Ag/GCE										YAO <i>et al.</i> , 2019
	VPD	0,6 – 70	1,0 – 40	–	–	0,08	0,23	–	–	
CB(PAH)/ECV										Este trabalho
	VVL	1,0 – 22	2,4 – 27	12 – 90	7,8 – 40	0,55	1,3	5,7	3,0	

Abreviações: Bi/Nafion/BDDE: eletrodo de diamante dopado com boro coberto com Nafion e partículas de bismuto; RGO-GCE: eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido; MOFs/MWCNT-Au@Ag/GCE: eletrodo de carbono vítreo modificado com metal orgânico, nanotubos de carbono e nanopartículas no formato conchas formadas de ouro e platina.

3.2 APLICAÇÃO ANALÍTICA

3.2.1 Estudo dos interferentes

O estudo de interferentes foi realizado com os compostos comumente utilizados na indústria farmacêutica para a produção de medicamentos, além dos compostos presentes no sangue de rato e na água de torneira e rio. Os componentes selecionados foram: bisulfito de sódio, talco, celulose microcristalina, dióxido de silício, creatina, creatinina, glucose, e íons inorgânicos como Na^+ , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , NO_3^- e SO_4^{2-} . Estas espécies químicas foram investigadas em relação ao pico de oxidação da DA, PAR, ANL e RSV na concentração de $15 \mu\text{mol L}^{-1}$ e na ausência dos mesmos. A proporção estudada entre os analitos e os possíveis interferentes foi de 1:1 e 1:10 (concentração do analito:concentração das espécies químicas). Os resultados mostraram que não houve uma mudança significativa na intensidade de corrente dos quatro analitos na presença e sem dos possíveis interferentes, com um DPR menor que 7%.

Assim, foi possível empregar o CB-PAH/ECV para a determinação simultânea da DA, PAR, AML e RSV em amostras farmacêuticas em diferentes concentrações (como descrito na seção 2.5.1, Tabela 1). A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos através do método voltamétrico e o método espectrofotométrico (comparativo e referência) (BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION, 2009; GUPTA; MISHRA; SHAH, 2009). Como podemos observar, não há diferença significativa nos valores obtidos utilizando o método proposto e o comparativo. O teste- t pareado foi utilizado para comparar os resultados entre os dois métodos e comprovar que não há diferença significativa, em um nível de confiança de 95%. Os valores do $t_{\text{experimental}}$ calculado para todos os analitos foi de 0,81 a 2,71, sendo estes valores menor do que o valor do $t_{\text{crítico}}$ (3,18). Adicionalmente, o teste- F foi realizado para comprovar a precisão de ambos os métodos. Os valores calculados para F foram menores do que o valor do $F_{\text{crítico}}$ (19,0); em um intervalo de confiança de 95%. Desse modo, podemos concluir que não há diferença estatística entre os dois métodos.

Tabela 6. Resultados obtidos para a determinação voltamétrica simultânea de DA, PAR, AML e RSV comparado com a determinação espectrofotométrica individual

Amostra	Analito	Valor rotulado	Método voltamétrico	Método espectrofotométrico	E(%) ^b	F _{calc} ^c
A	DA	5 mg mL ⁻¹	4,97 ± 0,13	5,02 ± 0,12	-0,99	1,17
	PAR	500 mg comprimido ⁻¹	490 ± 5	495 ± 6	-1,02	0,66
	AML	3,47 mg comprimido ⁻¹	3,42 ± 0,13	3,58 ± 0,11	-4,68	1,40
	RSV	5,20 mg comprimido ⁻¹	5,04 ± 0,10	5,15 ± 0,08	-2,18	1,56
B	DA	5 mg mL ⁻¹	5,15 ± 0,12	5,06 ± 0,10	1,78	1,44
	PAR	500 mg comprimido ⁻¹	514 ± 6	491 ± 7	4,47	0,64
	AML	6,93 mg comprimido ⁻¹	6,71 ± 0,21	7,15 ± 0,18	-6,70	1,36
	RSV	10,4 mg comprimido ⁻¹	10,2 ± 0,2	9,98 ± 0,27	2,07	0,55
C	DA	5 mg mL ⁻¹	4,90 ± 0,10	5,12 ± 0,11	-4,29	0,83
	PAR	500 mg comprimido ⁻¹	508 ± 5	516 ± 6	-1,57	0,70
	AML	13,87 mg comprimido ⁻¹	13,55 ± 0,67	13,84 ± 0,34	-2,14	3,88
	RSV	20,8 mg comprimido ⁻¹	21,1 ± 0,4	20,5 ± 0,4	2,84	0,63
D	DA	5 mg mL ⁻¹	5,11 ± 0,13	4,99 ± 0,15	2,40	0,75
	PAR	500 mg comprimido ⁻¹	492 ± 5	507 ± 4	-3,05	1,23
	AML	13,87 mg comprimido ⁻¹	13,95 ± 0,56	13,66 ± 0,26	2,07	4,64
	RSV	5,20 mg comprimido ⁻¹	5,15 ± 0,08	5,40 ± 0,14	-3,30	0,33

O sensor desenvolvido também foi aplicado para a determinação voltamétrica simultânea de DA, PAR, AML e RSV em amostras ambientais (água de torneira e rio) e para a determinação simultânea de DA e PAR em amostra biológica (soro sanguíneo simulado). As amostras ambientais foram dopadas com duas diferentes concentrações de cada analito, sendo: 2,00 e 5,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a DA; 5,00 e 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para PAR; 20,0 e 30,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a AML; 10,0 e 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para RSV. Como apresentado na Tabela 7, foram obtidos excelentes porcentagem de recuperação, demonstrando a aplicabilidade do CB-PAH/ECV para a determinação destes analitos em amostras ambientais.

Para as amostras simuladas de soro sanguíneo, as mesmas foram dopadas com duas diferentes concentrações de cada analito, sendo, 2,00 e 5,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a DA e 5,00 e 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o PAR. As porcentagens de recuperação obtidas foram na faixa de 97,1 a 101% e 98,3 a 102% para a DA a 2,00 e 5,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, e para o PAR entre 99,6 a 103% e 98,6 a 102% a 5,00 e 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Esses valores indicam que não há efeito de matriz nas amostras de soro sanguíneo simulado. Os excelentes valores de porcentagem indicam que o CB-PAH/ECV pode ser aplicado com sucesso na determinação simultânea de DA e PAR em amostras biológicas.

Tabela 7. Valores de recuperação obtidos para as amostras ambientais

Analitos	Água de rio			Água de torneira		
	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)
DA	2,00	1,95 \pm 0,33	97,5	2,00	1,97 \pm 0,41	98,5
	5,00	4,98 \pm 0,25	99,6	5,00	5,04 \pm 0,35	100,8
PAR	5,00	4,91 \pm 0,60	98,2	5,00	4,93 \pm 0,60	98,6
	10,0	10,1 \pm 0,5	100,8	10,0	9,96 \pm 0,43	99,6
AML	20,0	21,0 \pm 0,9	105,0	20,0	21,0 \pm 0,8	105,2
	30,0	29,0 \pm 1,1	96,6	30,0	30,9 \pm 1,1	102,9
RSV	10,0	9,9 \pm 0,7	99,2	10,0	9,88 \pm 0,9	98,8
	20,0	20,5 \pm 0,9	102,6	20,0	19,85 \pm 0,8	99,25

^a média de 3 medidas.

^b porcentagem = (recuperado/adicionado) \times 100.

4. CONCLUSÃO

O sensor eletroquímico CB-PAH/ECV apresentou um bom desempenho analítico para a determinação simultânea de DA, PAR, ANL e RSV, fornecendo altas sensibilidades e baixos LD. Os resultados promissores podem ser atribuídos ao nanomaterial utilizado para a modificação da superfície do ECV, na qual aumentou a superfície da área eletroativa e facilitou a transferência eletrônica na interface eletrodo/solução, como comprovado pelos dados pela EIE. O emprego do CB-PAH/ECV para determinação voltamétrica simultânea de DA, PAR, ANL e RSV em medicamentos, água de rio e torneira não apresentou interferência significativa. Adicionalmente, o sensor também foi aplicado para a determinação simultânea de DA e PAR em amostras biológicas (soro sanguíneo simulado). A nova plataforma eletroquímica apresenta um amplo campo de aplicações, principalmente em matrizes complexas, para a determinação de multianalitos, com uma resposta rápida, de baixo custo para a fabricação.

REFERÊNCIAS

- ALTUN, M. L. HPLC methods for the analysis of paracetamol, caffeine and dipyrone. **TURKISH JOURNAL OF CHEMISTRY**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 521–528, 1994.
- ANEESH, Padamadathil K. *et al.* Electrochemically synthesized partially reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode for individual and simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 6, n. 14, p. 5322–5330, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C4AY00043A>
- BANERJEE, Saurabh Kumar; VASAVA, Nitin M. **Simultaneous estimation of amlodipine and rosuvastatin in combined bulk forms by RP-HPLC using ultraviolet detection** *Bulletin of Pharmaceutical Research*. [S. l.: s. n.], 2013.
- BANKS, Craig E. *et al.* The transport limited currents at insonated electrodes. **Physical Chemistry Chemical Physics**, [s. l.], v. 6, n. 12, p. 3147–3152, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/b403751k>
- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2001.
- BARD, Allen J.; FAULKNER, Larry R. **Electrochemical methods : fundamentals and applications**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 2001.
- BATISTA DEROCO, Patrícia; CAMPANHÃ VICENTINI, Fernando; FATIBELLO-FILHO, Orlando. An electrochemical sensor for the simultaneous determination of paracetamol and codeine using a glassy carbon electrode modified with nickel oxide nanoparticles and carbon black. **Electroanalysis**, [s. l.], v. 27, n. 9, p. 2214–2220, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/elan.201500156>
- BERNARD, Shyni; MATHEW, Molly; SENTHILKUMAR, K L. Spectrophotometric method of estimation of amlodipine besylate using hydrotropic solubilization. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, [s. l.], v. 01, n. 09, p. 177–180, 2011.
- BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION. **British pharmacopoeia**. London: The Stationery Office, 2009.
- CINTI, Stefano *et al.* Screen-Printed Electrodes Modified with Carbon Nanomaterials: A Comparison among Carbon Black, Carbon Nanotubes and Graphene. **Electroanalysis**, [s. l.], v. 27, n. 9, p. 2230–2238, 2015.
- CRIADO, Andrés *et al.* Continuous flow spectrophotometric determination of paracetamol in pharmaceuticals following continuous microwave assisted alkaline hydrolysis. **Talanta**, [s. l.], v. 53, n. 2, p. 417–423, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00509-9](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00509-9)
- DAMIER, P. *et al.* The substantia nigra of the human brain. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease. **Brain**, [s. l.], v. 122, n. 8, p. 1437–1448, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/brain/122.8.1437>

DAVIDSON, Michael H. Rosuvastatin: a highly efficacious statin for the treatment of dyslipidaemia. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 125–141, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1517/13543784.11.1.125>

EISELE, Ana Paula Pires *et al.* Layering of a film of carboxymethyl-botryosphaeran onto carbon black as a novel sensitive electrochemical platform on glassy carbon electrodes for the improvement in the simultaneous determination of phenolic compounds. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [s. l.], v. 287, p. 18–26, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2019.02.004>. Acesso em: 14 nov. 2019.

ERDOGAN, Deniz Altinöz *et al.* Electrochemical behavior of Moclobemide at mercury and glassy carbon electrodes and voltammetric methods for its determination. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, [s. l.], v. 76, n. 5, p. 423–442, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1135/cccc2011041>

GOYAL, Rajendra N.; BISHNOI, Sunita. Voltammetric determination of amlodipine besylate in human urine and pharmaceuticals. **Bioelectrochemistry**, [s. l.], v. 79, n. 2, p. 234–240, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2010.06.004>

GUPTA, Alka; MISHRA, P.; SHAH, K. Simple UV spectrophotometric determination of rosuvastatin calcium in pure form and in pharmaceutical formulations. **E-Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 89–92, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2009/956712>

IS PAIN A SYMPTOM OF PARKINSON'S DISEASE? [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.apdaparkinson.org/article/is-pain-a-symptom-of-parkinsons-disease/>. Acesso em: 25 jul. 2019.

KANG, D; VEROTTA, D; SCHWARTZ, J. Population analyses of amlodipine in patients living in the community and patients living in nursing homes. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, [s. l.], v. 79, n. 1, p. 114–124, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clpt.2005.09.007>

KARADAS-BAKIRHAN, Nurgul *et al.* Simultaneous determination of amlodipine besylate and rosuvastatin calcium in binary mixtures by voltammetric and chromatographic techniques. **Ionics**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 277–288, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11581-015-1534-8>

KHORSHED, Ahmed A.; KHAIRY, Mohamed; BANKS, Craig E. Electrochemical determination of antihypertensive drugs by employing costless and portable unmodified screen-printed electrodes. **Talanta**, [s. l.], v. 198, p. 447–456, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2019.01.117>

KREBS, H A. Chemical composition of blood plasma and serum. **Annual Review of Biochemistry**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 409–430, 1950. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.19.070150.002205>

LAWRENCE, Nathan S. *et al.* Advances in the voltammetric analysis of small biologically relevant compounds. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 303, n. 1, p. 1–16, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/abio.2002.5584>

LONG, Gary L.; WINEFORDNER, J. D. Limit of detection. A closer look at the IUPAC definition. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 55, n. 7, p. 712A-724A, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac00258a001>

LOWINSOHN, Denise; BERTOTTI, Mauro. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, [s. l.], v. 29, n. 6, p. 1318–1325, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000600029>

MEI, Ling *et al.* Non-enzymatic sensing of glucose and hydrogen peroxide using a glassy carbon electrode modified with a nanocomposite consisting of nanoporous copper, carbon black and nafion. **Microchimica Acta**, [s. l.], v. 183, n. 4, p. 1359–1365, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00604-016-1764-0>

NALEWAJKO, Edyta; WISZOWATA, Aneta; KOJŁO, Anatol. Determination of catecholamines by flow-injection analysis and high-performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 43, n. 5, p. 1673–1681, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2006.12.021>

OZKAN, Cansel Kose *et al.* Simultaneous determination and drug dissolution testing of combined amlodipine tablet formulations using RP-LC. **Chromatographia**, [s. l.], v. 79, n. 17–18, p. 1143–1151, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10337-016-3125-x>

REDDY, Gosula Venkat Ram *et al.* Development and validation of a stability-indicating UPLC method for rosuvastatin and its related impurities in pharmaceutical dosage forms. **Química Nova**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 250–255, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000200015>

SADOK, Ilona; TYSZCZUK-ROTKO, Katarzyna; NOSAL-WIERCIŃSKA, Agnieszka. Bismuth particles Nafion covered boron-doped diamond electrode for simultaneous and individual voltammetric assays of paracetamol and caffeine. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [s. l.], v. 235, p. 263–272, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2016.05.087>

SARTORI, Elen Romão; VICENTINI, Fernando Campanhã; FATIBELLO-FILHO, Orlando. Indirect determination of sulfite using a polyphenol oxidase biosensor based on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes and gold nanoparticles within a poly(allylamine hydrochloride) film. **Talanta**, [s. l.], v. 87, p. 235–242, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.10.003>

SHPIGUN, L. K.; RYABENKO, V. S. Flow-injection method of spectrophotometric determination of catecholamines in pharmaceutical formulations. **Theoretical Foundations of Chemical Engineering**, [s. l.], v. 46, n. 4, p. 419–423, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/S0040579512040070>

VICENTINI, Fernando Campanhã *et al.* Imparting improvements in electrochemical sensors: evaluation of different carbon blacks that give rise to significant improvement in the performance of electroanalytical sensing platforms. **Electrochimica Acta**, [s. l.], v. 157, p. 125–133, 2015. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.11.204>

WHITE, C Michael. A review of the pharmacologic and pharmacokinetic aspects of rosuvastatin. **Journal of clinical pharmacology**, [s. l.], v. 42, n. 9, p. 963–970, 2002.

YAO, Wenqin *et al.* Simultaneous electrochemical determination of acetaminophen and dopamine based on metal-organic framework/multiwalled carbon nanotubes-Au@Ag nanocomposites. **Journal of The Electrochemical Society**, [s. l.], v. 166, n. 14, p. B1258–B1267, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1149/2.0101914jes>

YASUDA, Taeko; TANAKA, Mitsuko; IBA, Kazuhiko. Quantitative determination of amlodipine in serum by liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, [s. l.], v. 31, n. 8, p. 879–884, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9888\(199608\)31:8<879::AID-JMS373>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9888(199608)31:8<879::AID-JMS373>3.0.CO;2-F)

YILMAZ, Bilal; YILMAZ, Nurullah. Simultaneous Determination of Amlodipine and Rosuvastatin in Pharmaceutical Preparations by Square Wave Voltammetry. **Journal of Advanced Pharmacy Research**, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 0–0, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.21608/aprh.2018.3134.1052>. Acesso em: 18 out. 2020.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os sensores eletroquímicos foram caracterizados eletroquimicamente empregando as técnicas de espectroscopia de impedância eletroquímica, que confirmou em todos os casos houve uma melhora na taxa de transferência de elétrons quando o ECV modificado com CB em comparação com o ECV sem modificação. Essa situação foi reafirmada através da voltametria cíclica, em que foi observado novamente que o CB ocasionou essa melhora na taxa de condutividade. Essa melhora foi proporcionada devido a excelente condutividade elétrica do CB.

O CB-BOT/ECV foi empregado para a determinação voltamétrica de ciclobenzaprina. Foi então comparado a resposta eletroquímica da CIC em relação ao ECV sem modificação, o BOT/ECV e o CB-BOT/ECV, foi observado um aumento na intensidade de corrente para o pico anódico da CIC quando modificado com CB o eletrodo, sendo explicado pela excelente condutividade elétrica do CB e sua escala nanométrica. Por outro lado, o ECV modificado somente com BOT não apresentou resposta eletroquímica nas condições que foram realizados os experimentos. Na sequência foi estudado a melhor composição do filme CB e DMF, e a sua proporção com a solução de BOT. Visando maior intensidade corrente e potenciais menos positivos, a composição do filme de CB em DMF foi de 2,0 mg mL, e na proporção de 3:3 (v:v). Após otimizado a construção do CB-BOT/ECV, foi analisado as condições experimentais, como: eletrólito suporte, concentração do eletrólito suporte e técnica voltamétrica utilizada, sendo escolhido como eletrólito suporte a solução de NaCl 0,1 mol L⁻¹ e a técnica VOQ para a construção da curva analítica.

Após todos os estudos a curva analítica foi construída sendo observado uma resposta linear entre a concentração de CIC e a intensidade de corrente do pico anódico entre 2,0 a 20,6 μmol L⁻¹ em solução de NaCl 0,1 mol L⁻¹, com um limite de detecção de 0,028 μmol L⁻¹. O CB-BOT/ECV foi aplicado na determinação de ciclobenzaprina em formulações farmacêuticas, soro sanguíneo de rato e água de origem de rio e tubulação. Os resultados obtidos foram estatisticamente semelhante aos resultados obtidos utilizando a espectrofotometria, com 95% de confiança.

A aplicação analítica do CB-PAH/ECV foi feita para um grupo quaternário de analitos, sendo a DA, PAR, ANL e RSV. Inicialmente, a proporção

entre o CB e o PAH no filme foi estudada, sendo a proporção de 2:1 (m:m) foi selecionado por fornecer uma maior estabilidade e repetibilidade ao sensor. Na sequência, foi comparada a resposta eletroquímica da DA, PAR, ANL e RSV empregando o sensor desenvolvido, o ECV modificado somente com PAH e o ECV sem modificação. O CB-PAH/ECV se destacou por apresentar maior intensidade de corrente, separação de todos os picos de oxidação e resposta analítica para todos os analitos. Esse resultado foi possível devido as excelentes características eletroquímicas do CB. Em seguida, foi estudado o eletrólito suporte e o pH da solução, sendo selecionado o tampão fosfato (pH 2,0) por apresentar maior repetibilidade entre as medidas. Por fim, foi empregado a voltametria de varredura linear para a construção de 4 curvas analíticas em diferentes velocidades 10, 50, 75 e 100 mV s^{-1} , como a velocidade de 75 apresentou melhor resposta linear para o grupo quaternário este foi utilizado para a construção da curva analítica onde foi obtido uma resposta linear na faixa de concentração de 1,0 – 22 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a DA; 2,4 – 27 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o PAR; 12 – 90 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o ANL; 7,8 – 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a RSV com limite de detecção de 0,55; 1,3; 5,7; 3,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O sensor foi aplicado com sucesso para a determinação em amostras reais de medicamento e água de torneira e rio.