



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

BRUNA COLDIBELI

VOLTAMETRIA E QUÍMICA VERDE:

O USO DO ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO
NO DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA
DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS E CORANTES

BRUNA COLDIBELI

VOLTAMETRIA E QUÍMICA VERDE:
O USO DO ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO
NO DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA
DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS E CORANTES

Tese de Doutorado apresentado à Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química, área de concentração Química Analítica.

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

Londrina
2025

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

Coldibeli, Bruna.

Voltametria e química verde: O uso do eletrodo de diamante dopado com boro no desenvolvimento de métodos para determinação de fármacos e corantes / Bruna Coldibeli. - Londrina, 2025.
131 f. : il.

Orientador: Elen Julciléia Romão Sartori.
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2025.
Inclui bibliografia.

1. eletroanálise - Tese. 2. análise verde - Tese. 3. eletrodo de diamante dopado com boro - Tese. 4. voltametria - Tese. I. Sartori, Elen Julciléia Romão. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU 54

BRUNA COLDIBELI

**VOLTAMETRIA E QUÍMICA VERDE:
O USO DO ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO
NO DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA
DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS E CORANTES**

Tese de Doutorado apresentado à
Universidade Estadual de Londrina - UEL,
como requisito parcial para a obtenção do
título de Doutor em Química, área de
concentração Química Analítica

BANCA EXAMINADORA

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

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

Prof. Dr. Mario Henrique Montazzolli Killner
Universidade Estadual de Londrina - UEL

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

Prof. Dr. Ricardo Francisco Brocenschi
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Londrina, 06 de março de 2025.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus pelo amor incondicional, pela vida, pela família, pela saúde e oportunidades. Agradeço por me guiar e proporcionar o necessário para concretizar mais essa etapa na minha vida profissional!

Agradeço a minha família por todo amor e por sempre acreditar em mim e me incentivar a seguir o meu sonho! Minha mãe Deiva, meu pai Marcelo, minhas avós Teresa e Marli e meu avô Nilton que nunca mediram esforços para me ajudar. Agradeço ao meu noivo Marco Aurelio por dividir a vida e sonhos comigo, sua companhia e amor me impulsionam a sempre crescer! Também agradeço a família do meu noivo por me receber tão carinhosamente e me fazer sentir parte da família. Vocês são parte de quem eu sou! Amo vocês com todo meu coração!

A Professora Elen Sartori, minha orientadora e amiga, que com muito carinho e dedicação, me acompanhou durante sete anos de caminhada acadêmica. Sou imensamente grata por toda a orientação, ensinamentos, oportunidades confiadas a mim no laboratório e exemplo que me fizeram crescer como profissional e pessoa! Muito obrigada, professora!

Aos alunos do Laboratório de Eletroquímica e Sensores pelo companheirismo nos projetos e horas vagas. Juntos desenvolvemos muitos trabalhos e aprendemos muitas coisas! Em especial, agradeço ao Fix e Renanzinho pelas parcerias nos capítulos e artigos, e aos alunos que eu tive a oportunidade de participar dos trabalhos de iniciação científica, mestrado e doutorado.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina que contribuíram para minha formação acadêmica. Em especial à Professora Maria Lurdes Felsner pelas valiosas aulas de Validação de Métodos Analíticos que muito me ajudaram no desenvolvimento desse trabalho.

A Professora Suzana Lucy Nixdorf e ao Thiago Silva Dias por fornecer o cromatógrafo e pela assistência nas análises cromatográficas, e ao Professor João Carlos Alves pela doação das amostras de água de rio.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela bolsa de estudos concedida.

Por fim agradeço à Universidade Estadual de Londrina e a todos os professores e funcionários que fizeram parte da minha jornada acadêmica ao longo de onze anos!

RESUMO

COLDIBELI, Bruna. **Voltametria e química verde**: o uso do eletrodo de diamante dopado com boro no desenvolvimento de métodos para determinação de fármacos e corantes. 2025. 130 p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

Os métodos de análise sempre desempenharam um papel importante na garantia de qualidade e segurança de medicamentos e alimentos, como também na proteção da saúde pública e do meio ambiente, e por isso sempre foram foco de estudos ao redor do mundo. No entanto, com as atuais preocupações ambientais, requisitos adicionais relacionados com a segurança do meio ambiente passaram também a fazer parte do desenvolvimento de novas metodologias. Assim, a voltametria em conjunto com o eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB) se apresenta como uma alternativa atraente às técnicas convencionas, pois, devido às suas características intrínsecas, oferecem análises simples, rápidas, de baixo custo, sensíveis, confiáveis, seguras e verdes. Nesse sentido, foram desenvolvidos métodos voltamétricos usando o EDDB pré-tratado catodicamente para determinação individual dos fármacos loperamida (LOP) e lisinopril (LSNP), e para determinação simultânea dos anti-hipertensivos hidroclorotiazida (HCTZ) e LSNP e dos corantes alimentícios índigo carmin (INDG) e carmoisina (CRMS). Inicialmente, estudos sobre o comportamento eletroquímico dos analitos sobre o EDDB foram realizados, bem como sobre o efeito das condições experimentais para sua determinação. Curvas analíticas usando as técnicas de voltametria de pulso diferencial (VPD) e voltametria de onda quadrada (VOQ) foram construídas com os parâmetros instrumentais otimizados. Os métodos para determinação individual dos fármacos LOP e LSNP usando VPD apresentou linearidade nas faixas de concentração de 1,50 – 21,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 9,99 – 196 nmol L^{-1} , com limites de detecção (LD) de 0,41 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 3,05 nmol L^{-1} , respectivamente, enquanto que para a determinação simultânea dos anti-hipertensivos HCTZ e LSNP usando VOQ apresentou linearidade nas faixas de concentração de 0,40 – 3,99 e 0,050 – 1,04 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LD de 0,052 e 0,012 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. As curvas analíticas construídas usando VPD para a determinação simultânea dos corantes INDG e CRMS apresentou linearidade nas faixas de concentração de 1,99 – 21,26 e 0,99 – 12,56 nmol L^{-1} , com LD de 0,598 e 0,273 nmol L^{-1} , respectivamente. A validação intralaboratorial foi realizada e os métodos voltamétricos demonstraram linearidade, seletividade, precisão e exatidão adequadas para a determinação dos analitos nas diferentes matrizes de amostras (ambientais, biológicas, farmacêuticas e alimentícias). Ainda, o impacto ambiental dos métodos foi avaliado demonstrando que ambos os constituem alternativas mais verdes aos métodos analíticos convencionais reportados na literatura.

Palavras-chave: loperamida; anti-hipertensivos; corantes sintéticos; eletroanálise; análise verde.

ABSTRACT

COLDIBELI, Bruna. **Voltammetry and green chemistry**: the use of the boron-doped diamond electrode to develop methods for determining pharmaceuticals and food dyes. 2025. 130 p. Doctoral Thesis (Ph.D. in Chemistry) – State University of Londrina, Londrina, 2025.

Analytical methods have always played an important role in ensuring the quality and safety of medicines and food, as well as in protecting public health and the environment, and have therefore been the focus of studies worldwide. However, with current environmental concerns, additional requirements related to environmental safety have also become part of the development of new methodologies. In this context, voltammetry combined with the boron-doped diamond electrode (BDDE) emerges as an attractive alternative to conventional techniques, as its intrinsic characteristics offer simple, fast, low-cost, sensitive, reliable, safe, and green analyses. Accordingly, voltammetric methods were developed using cathodically pretreated BDDE for the individual determination of the drugs loperamide (LOP) and lisinopril (LSNP), as well as for the simultaneous determination of the antihypertensive drugs hydrochlorothiazide (HCTZ) and LSNP, and the food dyes indigo carmine (INDG) and carmoisine (CRMS). Initially, studies were conducted on the electrochemical behavior of the analytes on BDDE, as well as on the effect of experimental conditions on their determination. Analytical curves were constructed using differential pulse voltammetry (DPV) and square wave voltammetry (SWV) techniques, with optimized instrumental parameters. The methods for the individual determination of LOP and LSNP using DPV showed linearity in the concentration ranges of 1.50 – 21.05 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 9.99 – 196 nmol L^{-1} , with limits of detection (LOD) of 0.41 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 3.05 nmol L^{-1} , respectively. For the simultaneous determination of the antihypertensive drugs HCTZ and LSNP using SWV, linearity was observed in the concentration ranges of 0.40 – 3.99 and 0.050 – 1.04 $\mu\text{mol L}^{-1}$, with LOD values of 0.052 and 0.012 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. Analytical curves constructed using DPV for the simultaneous determination of the dyes INDG and CRMS showed linearity in the concentration ranges of 1.99 – 21.26 and 0.99 – 12.56 nmol L^{-1} , with LOD values of 0.598 and 0.273 nmol L^{-1} , respectively. In-house validation was performed, and the voltammetric methods demonstrated adequate linearity, selectivity, precision, and accuracy for the determination of the analytes in various sample matrices (environmental, biological, pharmaceutical, and food samples). Additionally, the environmental impact of the methods was assessed, showing that they constitute greener alternatives to conventional analytical methods reported in the literature.

Key-words: loperamide; antihypertensives; synthetic dyes; electroanalysis; green analysis.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Representação esquemática da instrumentação necessária para uma análise voltamétrica: (A) célula eletroquímica, (B) potenciostato e (C) computador..... 26
- Figura 2** – Fórmula estrutural da LOP 31
- Figura 3** – Fórmulas estruturais dos anti-hipertensivos (A) LSNP e (B) HCTZ..... 34
- Figura 4** – Fórmulas estruturais dos corantes sintéticos (A) INDG e (B) CRMS..... 38
- Figura 5** – Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) registrados em solução tampão BR (pH 8,0) para $19,96 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LOP usando o (A) EDDB-PTA e (B) EDDB-PTC 47
- Figura 6** – (A) Voltamogramas de onda quadrada ($a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 30 \text{ Hz}$) registrados para $19,96 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LOP usando o EDDB-PTC em solução tampão BR com diferentes valores de pH (7,0 – 12,0). (B) Gráfico de E_{pa} por pH plotado com os dados extraídos do estudo do pH (Figura 6(A)). (C) Voltamogramas de onda quadrada ($a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 30 \text{ Hz}$) registrados para $19,96 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LOP usando o EDDB-PTC em diferentes soluções tampão com pH 9,0..... 49
- Figura 7** – (A) Voltamogramas cíclicos ($5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$) registrados para $19,96 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LOP em solução tampão BR (pH 9,0) usando o EDDB-PTC. Gráficos de (B) I_{pa} pela $v^{1/2}$ e (C) $\log I_{pa}$ pelo $\log v$ plotados com os dados extraídos do estudo da velocidade de varredura (Figura 7 (A))..... 50
- Figura 8** – Curvas analíticas de padrão externo para LOP construídas com os dados experimentais extraídos dos voltamogramas de onda quadrada ($4,98 - 23,44 \mu\text{mol L}^{-1}$) e voltamogramas de pulso diferencial ($1,50 - 21,05 \mu\text{mol L}^{-1}$) registrados em solução tampão BR (pH 9,0) usando o EDDB-PTC 52
- Figura 9** – Voltamogramas de pulso diferencial ($a = 120 \text{ mV}$, $v = 40 \text{ mV s}^{-1}$ e $t_m = 5 \text{ ms}$) para $11,37 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LOP na ausência e presença de (A) ácido ascórbico (AA), (B) epinefrina (EP; *inserido*):

	amplificação do pico anódico da LOP), (C) ácido úrico (AU) e (D) dopamina (DO).....	55
Figura 10	– (A) Voltamogramas de pulso diferencial ($a = 120 \text{ mV}$, $v = 40 \text{ mV s}^{-1}$ e $t_m = 5 \text{ ms}$) registrados para diferentes concentrações de LOP ($1,50 - 21,05 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) em solução tampão BR (pH 9,0) usando o EDDB-PTC. (B) Curvas analítica de padrão externo para LOP plotadas com os dados extraídos dos voltamogramas de pulso diferencial da Figura 10(A), incluindo o IC e IP no nível de 95% de confiança.....	56
Figura 11	– Gráficos de (A) resíduos vs valor ajustado e (B) resíduos vs ordem de observação plotados a partir da análise de regressão linear da curva analítica de padrão externo construída para a determinação de LOP	58
Figura 12	– Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) registrados para (a) solução tampão BR (pH 10,0) e $192 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de LSNP usando o (b) EDDB-PTA e (c) EDDB-PTC. Inserção: Voltamogramas de onda quadrada ($a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 30 \text{ Hz}$) registrados em solução tampão BR (pH 10,0) para $49,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCTZ e $9,94 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de LSNP usando o EDDB-PTC.....	64
Figura 13	– (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados para $4,97 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de LSNP em solução tampão BR em valores de pH de (a) 2,0, (b) 5,0, (c) 7,0 e (d) 10,0 usando o EDDB-PTC. (B) Gráfico de E_{pa} por pH construído a partir dos dados obtidos no estudo do pH para LSNP. (C) Resultados obtidos no estudo do pH para $49,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCTZ e $4,97 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de LSNP em solução tampão BR em diferentes valores de pH (2,0 – 5,0) usando o EDDB-PTC e VOQ. Condições da VOQ: $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 30 \text{ Hz}$	66
Figura 14	– (A) Voltamogramas cíclicos registrados para $49,60 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCTZ e $29,76 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de LSNP em diferentes velocidades de varredura ($5 - 300 \text{ mV s}^{-1}$) em solução tampão BR (pH 3,0) usando o EDDB-PTC. Dependência linear entre (B) I_{pa} e $v^{1/2}$ e (C) $\log I_{pa}$ e $\log v$ para ambos os anti-hipertensivos.	67
Figura 15	– Curvas analíticas de padrão externo para LSNP construídas com	

	os dados experimentais extraídos dos (a) voltamogramas de pulso diferencial (9,99 – 196 nmol L ⁻¹) e (b) voltamogramas de onda quadrada (20,0 – 196 nmol L ⁻¹) registrados em solução tampão BR (pH 2,0) usando o EDDB-PTC	69
Figura 16	– Curvas analíticas de (a) padrão externo, (b) adição de padrão na presença de água de torneira e (c) adição de padrão na presença de urina sintética para LSNP (9,99 – 196 nmol L ⁻¹) plotadas a partir dos voltamogramas de pulso diferencial registrados usando o EDDB-PTC	71
Figura 17	– Curvas analítica de padrão externo para LSNP construída com os dados experimentais extraídos dos voltamogramas de pulso diferencial (9,99 – 196 nmol L ⁻¹) registrados em solução tampão BR (pH 2,0) usando o EDDB-PTC.	73
Figura 18	– Gráficos de (A) resíduos vs valor ajustado e (B) resíduos vs ordem de observação plotados a partir da análise de regressão linear da curva analítica de padrão externo construída para a determinação de LSNP.	75
Figura 19	– Curvas analíticas simultâneas construídas com os dados experimentais extraídos dos voltamogramas de onda quadrada ($a = 60$ mV, $\Delta E_s = 4$ mV e $f = 20$ Hz) para HCTZ (0,40 – 3,99 μ mol L ⁻¹) e LSNP (0,050 – 1,04 μ mol L ⁻¹) registrados em solução tampão BR (pH 3,0)	81
Figura 20	– (A) Voltamogramas cíclicos (50 mV s ⁻¹) registrados para 9,9 μ mol L ⁻¹ de INDG em solução de H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ usando o EDDB-PTC: (a) varredura anódica começando em -0,4 V; (b) varredura anódica começando em +0,4 V; (c) varredura catódica começando em +0,4 V. (B) Voltamogramas cíclicos (50 mV s ⁻¹) registrados para 9,9 μ mol L ⁻¹ de CRMS em solução de H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ usando o EDDB-PTC: (a) varredura anódica começando em +0,2 V; (b) varredura catódica começando em +0,5 V.....	89
Figura 21	– Propostas de possíveis mecanismos para (A) processo eletroquímico reversível do INDG (PA ₁ e PC), (B) oxidação irreversível do INDG (PA ₂), (C) oxidação irreversível da CRMS	

	(PA ₁) e (D) redução irreversível da CRMS (PC) e reoxidação do produto de redução da CRMS (AP ₂)	90
Figura 22	– Voltamogramas de onda quadrada ($a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 30 \text{ Hz}$) registrados para $9,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ de INDG e $9,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CRMS: (A) usando um EDDB-PTA e um EDDB-PTC; (B) usando um EDDB-PTC em soluções a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO ₄ , H ₂ SO ₄ e HCl; (C) usando um EDDB-PTC em solução de H ₂ SO ₄ em diferentes concentrações ($0,05$, $0,1$ e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$)	92
Figura 23	– Voltamogramas cíclicos registrados para $9,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ de INDG e $9,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CRMS em diferentes velocidades de varredura ($5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$) em solução de H ₂ SO ₄ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ usando o EDDB-PTC	93
Figura 24	– Gráficos de (A) I_{pa} vs $v^{1/2}$ e (B) $\log I_{pa}$ vs $\log v$ plotados com os dados extraídos do estudo da velocidade de varredura (Figura 23)	94
Figura 25	– (A) Voltamogramas de pulso diferencial ($a = 80 \text{ mV}$, $t_m = 3 \text{ ms}$ e $v = 30 \text{ mV s}^{-1}$) registrados em solução de H ₂ SO ₄ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ usando o EDDB-PTC para: (a) eletrólito suporte; $1,99 \text{ nmol L}^{-1}$ de INDG e $0,99 \text{ nmol L}^{-1}$ de CRMS; (c) $6,92 \text{ nmol L}^{-1}$ de INDG e $3,96 \text{ nmol L}^{-1}$ de CRMS; (d) $11,78 \text{ nmol L}^{-1}$ de INDG e $6,87 \text{ nmol L}^{-1}$ de CRMS; (e) $16,55 \text{ nmol L}^{-1}$ de INDG e $9,74 \text{ nmol L}^{-1}$ de CRMS; (f) $21,26 \text{ nmol L}^{-1}$ de INDG e $12,56 \text{ nmol L}^{-1}$ de CRMS. (B) e (C) Curvas analíticas de padrão externo para INDG e CRMS plotadas com os dados extraídos dos voltamogramas de pulso diferencial da Figura 25(A), incluindo o IC e IP no nível de 95% de confiança	100
Figura 26	– Gráficos de (A e C) resíduos vs valor ajustado e (B e D) resíduos vs ordem de observação plotados a partir da análise de regressão linear da curva analítica de padrão externo construída para a determinação simultânea de INDG e CRMS	103
Figura 27	– Resultados da análise de verdura química pelo software “Analytical GREENness calculator” dos métodos voltamétricos propostos para (A) determinação individual de LOP, (B) determinação individual de LSNP e simultânea de LSNP e HCTZ	

em amostras farmacêuticas, (C) determinação individual de
LSNP em amostras ambientais e biológicas e (D) determinação
simultânea de INDG e CRMS. 111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros instrumentais das técnicas de VOQ e VPD estudados e valores ótimos selecionados para determinação individual de LOP usando o EDDB-PTC em solução tampão BR (pH 9,0)	51
Tabela 2 – Parâmetros analíticos obtidos para as curvas analíticas de padrão externo construídas para determinação individual de LOP usando as técnicas VOQ e VPD	52
Tabela 3 – Valores de DPR calculados para as variações na resposta voltamétrica da LOP na ausência e presença de compostos possivelmente interferentes	54
Tabela 4 – Resultados da análise de regressão linear da curva analítica de padrão externo para a determinação individual de LOP no nível de 95% de confiança.....	57
Tabela 5 – Comparação entre o método voltamétrico desenvolvido e outros métodos relatados na literatura para a determinação de LOP usando outras técnicas analíticas	60
Tabela 6 – Estimativas de repetibilidade e precisão intermediária para a determinação de LOP usando VPD e EDDB-PTC	61
Tabela 7 – Estimativa de exatidão para determinação de LOP por estudo de recuperação	62
Tabela 8 – Parâmetros instrumentais das técnicas de VPD e VOQ estudados e valores ótimos selecionados para determinação individual de LSNP usando o EDDB-PTC em solução tampão BR (pH 2,0).	69
Tabela 9 – Parâmetros analíticos obtidos para as curvas analíticas de padrão externo construídas para determinação individual de LSNP usando as técnicas VPD e VOQ	70
Tabela 10 – Intervalos de confiança dos coeficientes angulares das curvas analíticas de padrão externo e adição de padrão construídas em solução tampão BR (pH 2,0) na ausência e presença de água de torneira e urina sintética	71
Tabela 11 – Valores de DPR calculados para as variações na resposta	

	voltamétrica do LSNP na ausência e presença de compostos possivelmente interferentes	72
Tabela 12	– Resultados da análise de regressão linear da curva analítica de padrão externo para a determinação individual de LSNP no nível de 95% de confiança.....	74
Tabela 13	– Comparação entre as características analíticas do método proposto para determinação individual de LSNP empregando o EDDB-PTC e de outros métodos voltamétricos reportados na literatura	76
Tabela 14	– Resultados obtidos na análise da quantidade de LSNP nas amostras farmacêuticas usando o método voltamétrico e o método titulométrico	78
Tabela 15	– Resultados obtidos na determinação individual de LSNP em água de torneira e urina sintética pelo método proposto.....	79
Tabela 16	– Estudo dos parâmetros instrumentais das técnicas VPD e VOQ para determinação simultânea de HCTZ e LSNP usando o EDDB-PTC em solução tampão BR (pH 3,0).....	80
Tabela 17	– Parâmetros analíticos obtidos para as curvas analíticas construídas para determinação simultânea de HCTZ e LSNP usando as técnicas VPD e VOQ	80
Tabela 18	– Intervalos de confiança dos coeficientes angulares das curvas analíticas construídas simultaneamente para HCTZ e LSNP e individualmente para cada analito na presença do outro	82
Tabela 19	– Comparação do desempenho analítico e características experimentais do método voltamétrico proposto empregando o EDDB com alguns dos outros métodos espectrofotométricos, cromatográficos e voltamétrico encontrados na literatura	84
Tabela 20	– Estudo de repetibilidade e precisão intermediária para determinação simultânea de HCTZ e LSNP	87
Tabela 21	– Resultados obtidos para análise de HCTZ e LSNP em amostras farmacêuticas comerciais usando o método voltamétrico e cromatográfico	88
Tabela 22	– Parâmetros instrumentais das técnicas de VPD e VOQ estudados e valores ótimos selecionados para determinação	

simultânea de INDG e CRMS usando o EDDB-PTC em solução de H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹	95
Tabela 23 – Parâmetros analíticos obtidos para as curvas de padrão externo construídas para determinação simultânea de INDG e CRMS usando as técnicas VPD e VOQ	95
Tabela 24 – Intervalos de confiança dos coeficientes angulares das curvas analíticas de padrão externo construídas simultaneamente para INDG e CRMS, e individualmente para um corante na ausência e presença do outro.	96
Tabela 25 – Intervalos de confiança dos coeficientes angulares das curvas analíticas de padrão externo e adição de padrão construídas em solução de H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ na ausência e presença de água de rio e água de torneira.	97
Tabela 26 – Valores de DPR calculados para as variações na resposta voltamétrica do INDG e da CRMS na ausência e presença de compostos possivelmente interferentes	99
Tabela 27 – Resultados da análise de regressão linear da curva analítica de padrão externo para a determinação simultânea de INDG e CRMS no nível de 95% de confiança.....	102
Tabela 28 – Comparação entre o método voltamétrico desenvolvido e outros métodos cromatográficos relatados na literatura para a determinação simultânea de INDG e CRMS	105
Tabela 29 – Estudo de repetibilidade e precisão intermediária para determinação simultânea de INDG e CRMS	106
Tabela 30 – Resultados do teste de recuperação para o estudo de exatidão do método desenvolvido para determinação simultânea de INDG e CRMS em amostras de água	108
Tabela 31 – Resultados obtidos na determinação voltamétrica e cromatográfica de CRMS em amostras de bebidas industriais	109

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ΔE_s	Incremento de potencial
<i>a</i>	Amplitude
AA	Ácido ascórbico
AGREE	<i>Analytical Greenness Calculator</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists International</i>
AU	Ácido úrico
BR	Britton-Robinson
C_1	Concentração da amostra fortificada
C_2	Concentração da amostra não fortificada
C_3	Concentração do analito adicionado na amostra
CRMS	Carmoisina
DOP	Dopamina
DPR	Desvio padrão relativo
E	Potencial
EDDB	Eletrodo de diamante dopado com boro
EDDB-PTA	Eletrodo de diamante dopado com boro pré-tratado anodicamente
EDDB-PTC	Eletrodo de diamante dopado com boro pré-tratado catodicamente
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
EP	Epinefrina
EUA	Estados Unidos da América
<i>f</i>	Frequência
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HCTZ	Hidroclorotiazida
<i>I</i>	Intensidade de corrente

IC	Intervalo de confiança
ICH	<i>International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use</i>
INDG	Índigo Carmin
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IP	Intervalo de predição
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LD	Limite de detecção
LOP	Cloridrato de loperamida
LQ	Limite de quantificação
LSNP	Lisinopril
n	Número de elétrons
PA	Pico anódico
PC	Pico catódico
PTA	Pré-tratamento anódico
PTC	Pré-tratamento catódico
R^2	Coefficiente de determinação
S	Coefficiente angular da curva analítica
t_m	Tempo de modulação
v	Velocidade de varredura
VC	Voltametria cíclica
VOQ	Voltametria de onda quadrada
VPD	Voltametria de pulso diferencial
σ	Desvio padrão do branco analítico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
1.1	Voltametria e química verde	23
1.1.1	Introdução a química verde	23
1.1.2	Princípios básicos de voltametria	25
1.1.2.1	Eletrodo de diamante dopado com boro como alternativa verde	27
1.2	Determinação de fármacos	29
1.2.1	Loperamida	30
1.2.2	Anti-hipertensivos	32
1.3	Determinação de corantes	35
1.3.1	Indigo carmin e carmoisina	37
2	JUSTIFICATIVA	39
3	OBJETIVOS	40
3.1	Objetivos gerais	40
3.2	Objetivos específicos	40
4	MATERIAIS E MÉTODOS	41
4.1	Reagentes e preparo de soluções	41
4.2	Instrumentação	42
4.3	Preparo das amostras	42
4.4	Procedimentos experimentais	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1	Método voltamétrico para determinação individual de LOP	46
5.1.1	Comportamento eletroquímico da LOP	46
5.1.1.1	Influência do pré-tratamento superficial do EDDB	46
5.1.1.2	Influência do pH e eletrólito suporte	47
5.1.1.3	Estudo da velocidade de varredura e mecanismo de oxidação	49
5.1.2	Otimização dos parâmetros instrumentais das técnicas de VOQ e VPD	51
5.1.3	Validação do método voltamétrico para determinação individual	

	de LOP	53
5.1.3.1	Seletividade.....	53
5.1.3.2	Linearidade	55
5.1.3.3	Limite de detecção e limite de quantificação	58
5.1.3.4	Precisão	61
5.1.3.5	Exatidão	61
5.2	Métodos voltamétricos para determinação individual de LSNP e simultânea de LSNP e HCTZ.....	63
5.2.1	Comportamento eletroquímico do LSNP e HCTZ	63
5.2.1.1	Influência do pré-tratamento superficial do EDDB	63
5.2.1.2	Influência do pH e eletrólito suporte.....	64
5.2.1.3	Estudo da velocidade de varredura e mecanismos de oxidação	66
5.2.2	Otimização dos parâmetros instrumentais das técnicas de VPD e VOQ e curvas analíticas para determinação individual de LSNP	68
5.2.3	Validação do método voltamétrico para determinação individual de LSNP.....	70
5.2.3.1	Efeito de matriz e seletividade	70
5.2.3.2	Linearidade	72
5.2.3.3	Limite de detecção e limite de quantificação	75
5.2.3.4	Precisão	77
5.2.3.5	Exatidão	77
5.2.4	Otimização dos parâmetros instrumentais das técnicas de VDP e VOQ e curvas analíticas para determinação simultânea de HCTZ e LSNP	79
5.2.5	Validação do método voltamétrico para determinação simultânea de HCTZ e LSNP	82
5.2.5.1	Limite de detecção e limite de quantificação.....	82
5.2.5.2	Precisão	87
5.2.5.3	Exatidão	87
5.3	Método voltamétrico para determinação simultânea dos corantes alimentícios INDG e CRMS	88
5.3.1	Comportamento eletroquímico do INDG e CRMS.....	88
5.3.1.1	Influência do pré-tratamento superficial do EDDB e do eletrólito	

	suporte	91
5.3.1.2	Estudo da velocidade de varredura.....	92
5.3.2	Otimização dos parâmetros instrumentais das técnicas de VPD e VOQ e curvas analíticas para determinação simultânea de INDG e CRMS.....	94
5.3.3	Validação do método voltamétrico para determinação Simultânea de INDG e CRMS.....	96
5.3.3.1	Efeito de matriz e seletividade	96
5.3.3.2	Linearidade	100
5.3.3.3	Limite de detecção e limite de quantificação.....	103
5.3.3.4	Precisão	106
5.3.3.5	Exatidão	106
5.4	Análise de verdura dos métodos voltamétricos desenvolvidos	109
6	CONCLUSÃO	112
	REFERÊNCIAS	113

1 INTRODUÇÃO

As questões ambientais são amplamente discutidas em diversas áreas, como economia, política, educação, desenvolvimento tecnológico e, naturalmente, na química. Com o objetivo principal de reduzir ou eliminar os riscos associados às atividades químicas, a Química Verde tem sido promovida ao longo dos anos em busca de um desenvolvimento sustentável (Anastas, 1999).

O desenvolvimento de métodos de determinação tem sido foco de diversos estudos ao longo dos anos com a constante busca por soluções eficientes e sustentáveis. Esses métodos desempenham papel importante na garantia de qualidade e segurança de medicamentos e alimentos, como também na proteção da saúde pública e do meio ambiente. Assim, a validação de métodos de análise é uma etapa fundamental para garantir que os procedimentos forneçam resultados precisos, reprodutíveis e adequados ao propósito desejado. Para isso, é necessário seguir critérios estabelecidos por diretrizes de validação internacionalmente reconhecidas, como as da *Association of Official Analytical Chemists International* (AOAC) e *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use* (ICH), assegurando a confiabilidade e a conformidade dos métodos com as normas exigidas (Peris-Vicente; Esteve-Romero; Carda-Broch, 2015).

Ainda hoje, com as diferentes tecnologias e ferramentas disponíveis, o desenvolvimento de métodos de análise e preparo de amostras que apresentem um desempenho analítico adequado e características verdes representa um grande desafio para os químicos. Alinhada aos princípios da Química Analítica Verde a às necessidades atuais, a voltametria surge como uma alternativa promissora devido às suas características intrínsecas que viabilizam o desenvolvimento de metodologias analíticas simples, rápidas, econômicas, seguras e ambientalmente amigáveis, combinadas com uma sensibilidade e precisão comparáveis aos métodos convencionais. Por isso, têm sido amplamente utilizadas para o desenvolvimento de métodos analíticos para diversas aplicações (Chauhan, 2021; Coldibeli; Sartori, 2024; Lipskikh et al., 2018; Lu et al., 2018; Rajendrachari et al., 2022; Santos et al., 2022).

O eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB) tem atraído grande atenção de pesquisadores em todo o mundo devido às suas excelentes propriedades físicas e eletroquímicas, além do seu elevado caráter verde (Kraft, 2007; Pecková; Musilová;

Barek, 2009; Suffredini et al., 2004). Assim, o EDDB tem sido cada vez mais utilizado na química analítica para o desenvolvimento de metodologias para determinação de diversas espécies (Baluchová et al., 2019; Coldibeli et al., 2023; Sarakhman; Švorc, 2022). Seu uso tem mostrado resultados notáveis em termos de alta detectabilidade com precisão e exatidão, simplicidade e baixo impacto ambiental (Altunkaynak; Önal; Levent, 2023; Fix; Coldibeli; Sartori, 2024; Kozak et al., 2021; Mariano et al., 2024; Micheletti et al., 2020).

1.1 VOLTAMETRIA E A QUÍMICA VERDE

1.1.1 Introdução à Química Verde

A preocupação com o meio ambiente é um assunto tão antigo quanto atual. Desde a Revolução Industrial, os impactos da atividade humana sobre a natureza começaram a ser percebidos, mas foi apenas no final da década de 1960 que as questões ambientais ganharam maior relevância global (Pott; Estrela, 2017). A química, por sua vez, considerada uma ciência perigosa, foi, ao longo da história, frequentemente associada a diversos impactos ambientais. Nesse contexto, o conceito de química verde surgiu no início da década 1990 como uma abordagem científica voltada para reduzir ou eliminar o uso e a geração de substâncias perigosas nos processos químicos. Desde então, esse conceito foi sendo cada vez mais popularizado, onde discussões, e reuniões e programas foram organizados em diferentes países para incentivar e implementar ideias relacionadas a práticas mais limpas dos processos químicos (Lenardão et al., 2003).

Os doze princípios da química verde, propostos por Paul Anastas e John Warner em 1998, buscam promover a sustentabilidade, fornecendo um guia abrangente para o desenvolvimento de novos produtos e processos químicos. Esses princípios incentivam, por exemplo, o uso de matérias-primas renováveis e a redução do desperdício para minimizar os impactos ambientais (Abdussalam-Mohammed; Ali; Errayes, 2020; Anastas; Warner, 1998).

No entanto, esses princípios não atendiam totalmente às demandas da química analítica, uma vez que alguns não se aplicavam diretamente às necessidades da subárea, e conceitos importantes para a química analítica não foram incluídos. Para preencher essas lacunas, os princípios da Química Verde foram revisados e

complementados com novas ideias, resultando na formulação dos 12 princípios da Química Analítica Verde, apresentados por Galuszka e colaboradores em 2013 (Galuszka; Migaszewski; Namieśnik, 2013).

Na tradução para a Língua Portuguesa, os princípios são: (1) técnicas analíticas diretas devem ser aplicadas para evitar o tratamento de amostras; (2) o uso do menor tamanho de amostra e do menor número de amostras possível é um objetivo; (3) medições *in situ* devem ser realizadas; (4) a integração de processos e operações analíticas economiza energia e reduz o uso de reagentes; (5) métodos automatizados e miniaturizados devem ser priorizados; (6) a derivatização deve ser evitada; (7) a geração de grandes volumes de resíduos analíticos deve ser evitada, e a gestão adequada desses resíduos deve ser garantida; (8) métodos multi-analitos ou multi-parâmetros são preferíveis aos que analisam um único analito por vez; (9) o consumo de energia deve ser minimizado; (10) reagentes provenientes de fontes renováveis devem ser priorizados; (11) reagentes tóxicos devem ser eliminados ou substituídos; (12) a segurança do operador deve ser aumentada (Galuszka; Migaszewski; Namieśnik, 2013). Assim, esses princípios agora orientam o desenvolvimento e a aplicação de procedimentos analíticos mais verdes.

Nesse sentido, as ferramentas de métricas de verdura surgiram para auxiliar o desenvolvimento sustentável na Química Analítica, avaliando e mensurando o quão verdes os métodos podem ser considerados, com base em seu alinhamento aos princípios da Química Verde (Shi et al., 2023). Na literatura, muitas ferramentas podem ser encontradas para esse propósito (Shi et al., 2023; Shishov; Mokhodoeva, 2024), incluindo algumas amplamente reconhecidas, como a *Analytical Eco-Scale* (Galuszka et al., 2012), o *Green Analytical Procedure Index* (GAPI) (Płotka-Wasyłka, 2018) e o *Analytical Greenness Calculator* (AGREE) (Pena-pereira; Wojnowski; Tobiszewski, 2020).

Dentre essas ferramentas, o AGREE (Pena-pereira; Wojnowski; Tobiszewski, 2020) oferece uma avaliação abrangente, flexível e simples do impacto ambiental de um método. Baseado nos 12 princípios da Química Analítica Verde, esse software converte as características do método em um pictograma com uma pontuação que reflete seu nível de verdura, sendo que, quanto mais próximo de 1 estiver a pontuação, mais verde o método é considerado. Essa métrica de verdura tem sido amplamente explorada para avaliar o impacto ambiental de diferentes procedimentos analíticos (Batista Junior et al., 2025; Iqbal et al., 2024; Neto et al., 2024; Rafson et al., 2024).

1.1.2 Princípios Básicos de Voltametria

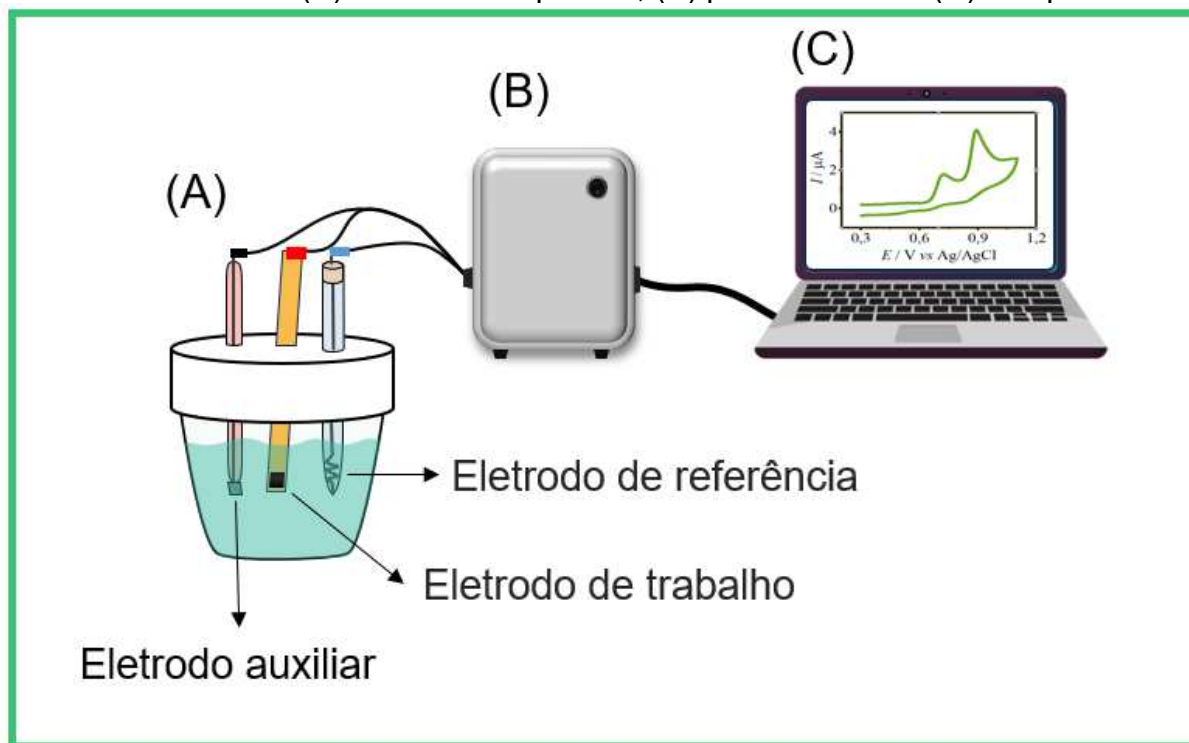
Alinhada aos princípios da Química Verde e suportando o desenvolvimento científico sustentável, a voltametria tem se destacado como uma ferramenta analítica valiosa no desenvolvimento de metodologias com características que atendem as demandas atuais de análises simples, rápidas, seguras, econômicas e ambientalmente amigáveis (Berkel; Özbek, 2024; Hoyos-Arbeláez; Vázquez; Contreras-Calderón, 2017; Yáñez-Sedeño; Campuzano; Pingarrón, 2019).

A voltametria é uma técnica eletroanalítica baseada nas reações de oxidação e redução de espécies eletroativas que ocorrem na interface entre o eletrodo de trabalho e a solução. Trata-se de uma técnica dinâmica com potencial controlado, caracterizada pela geração de corrente elétrica (Fatibello-Filho et al., 2022; Skoog et al., 2007).

O uso da voltametria no desenvolvimento de métodos analíticos oferece diversas vantagens devido às suas características. Entre os principais benefícios, destacam-se a instrumentação de baixo custo, a operação simples, a rapidez das análises e o reduzido consumo de reagentes, especialmente solventes orgânicos. A técnica também apresenta baixo consumo de energia, é capaz de analisar soluções coloridas e/ou contendo partículas em suspensão, frequentemente eliminando ou simplificando o preparo das amostras. Adicionalmente, a portabilidade e a possibilidade de miniaturização dos sistemas tornam viável a realização de análises *in situ*. Outra vantagem relevante é a capacidade de realizar determinações simultâneas ou sequenciais de diferentes analitos em uma mesma amostra. Somado a essas características, que promovem o desenvolvimento de métodos verdes, a voltametria ainda apresenta alta sensibilidade e confiabilidade analítica, se destacando como uma ferramenta versátil e eficiente para análise de diversos analitos (Fatibello-Filho et al., 2022; Skoog et al., 2007).

Conforme mencionado anteriormente, a instrumentação para uma análise voltamétrica é relativamente simples, composta por uma célula eletroquímica que geralmente inclui três eletrodos imersos em uma solução de eletrólito suporte: o eletrodo de trabalho, o eletrodo auxiliar e o eletrodo de referência. Essa célula é conectada a um potenciostato, que, por sua vez, está acoplado a um computador responsável pela aquisição e processamento dos dados, como ilustrado na Figura 1.

Figura 1 – Representação esquemática da instrumentação necessária para uma análise voltamétrica: (A) célula eletroquímica, (B) potenciostato e (C) computador.



Fonte: o próprio autor.

As medidas voltamétricas se baseiam na aplicação de um potencial no eletrodo de trabalho frente ao eletrodo de referência, o que provoca a polarização da superfície do eletrodo de trabalho e induz os processos eletroquímicos de interesse em sua interface. Esses processos podem ser anódicos (oxidação) ou catódicos (redução). Como resultado, a corrente elétrica que é gerada flui em direção ao eletrodo auxiliar, onde ocorre o processo oposto ao do eletrodo de trabalho. O eletrodo auxiliar desempenha um papel muito importante no processo, responsável por evitar que a corrente elétrica flua para o eletrodo de referência, prevenindo assim perturbações que possam afetar seu potencial. A corrente elétrica gerada é medida em função do potencial aplicado, resultando no chamado voltamograma, de onde as informações qualitativas e quantitativas são extraídas. Essa corrente pode ser correlacionada com a concentração da espécie química que é oxidada ou reduzida na superfície do eletrodo (Brett; Brett, 1993; Fatibello-Filho et al., 2022; Skoog et al., 2007).

Na eletroanálise, os eletrodos de referência mais comumente utilizados são o eletrodo de prata cloreto de prata (Ag/AgCl) e o eletrodo de calomelano. Já o eletrodo auxiliar mais popular é uma placa de platina, embora também possam ser utilizados eletrodos de ouro e materiais à base de carbono, como grafite e carbono vítreo

(Fatibello-Filho et al., 2022; Kounaves, 1997; Pacheco et al., 2013).

Em relação ao eletrodo de trabalho, há uma ampla variedade de materiais disponíveis que podem ser empregados nas análises voltamétricas. Por exemplo, entre os eletrodos metálicos, podem ser citados os eletrodos de mercúrio, ligas metálicas, amálgamas, ouro, platina e metais não nobres, bem como os eletrodos não metálicos à base de carbono, como o carbono vítreo, grafite, pasta de carbono e o EDDB (Brett; Brett, 1993; Fatibello-Filho et al., 2022; Skoog et al., 2007).

Os diferentes tipos de eletrodos possuem características próprias que os diferenciam, dependendo de sua composição. No entanto, alguns aspectos práticos e ambientais podem ser apontados. Por exemplo, os eletrodos metálicos podem ter seu uso limitado devido à formação de óxidos, enquanto os eletrodos de mercúrio, apesar de oferecerem excelente reprodutibilidade, têm sido progressivamente substituídos devido à sua toxicidade. Já eletrodos de carbono vítreo são muito suscetíveis à adsorção de espécies químicas, exigindo frequentes procedimentos de limpeza superficial, e os eletrodos de pasta de carbono apresentam baixa durabilidade, requerendo substituições frequentes da pasta (Brett; Brett, 1993; Chillawar; Tadi; Motghare, 2015; Fatibello-Filho et al., 2022). Esses pontos elencados resultam em procedimentos com mais etapas de limpeza, com maior geração de resíduos, menor segurança operacional e ambiental e, conseqüentemente, maior impacto ambiental. Diferentemente, o EDDB representa uma alternativa mais ambientalmente amigável na eletroanálise.

1.1.2.1 Eletrodo de diamante dopado com boro como alternativa verde

O EDDB é um material amplamente reconhecido por suas propriedades únicas, que, quando empregado como eletrodo na voltametria, pode aumentar o desempenho analítico dos métodos de determinação. Além disso, sua utilização na eletroanálise contribui para o desenvolvimento de métodos analíticos mais sustentáveis, alinhando-se aos princípios da Química Verde e promovendo práticas de baixo impacto ambiental.

A história do EDDB está intimamente relacionada com avanços tecnológicos na síntese de filmes de diamante policristalinos e no controle da incorporação de átomos de boro na sua rede cristalina. O diamante apresenta propriedades únicas que

chamam atenção de diferentes áreas de pesquisa, no entanto com energia de *bandgap* de 5,5 eV, é caracterizado como isolante elétrico e não encontra aplicações na eletroquímica. No entanto, após a dopagem com boro, há uma diminuição do *bandgap* para aproximadamente 0,37 eV, e o material passa a ser um semicondutor do tipo-p, dispondo das propriedades necessárias para ser empregado como eletrodo (Kraft, 2007).

Os filmes de diamante dopado com boro foram introduzidos em 1992 por Fujihima e colaboradores (PATEL; HASHIMOTO; FUJISHIMA, 1992) e um ano mais tarde, Swain e Ramesham (Swain; Ramesham, 1993) reportaram estudos demonstrando que o material apresentava propriedades adequadas para ser explorado na eletroanálise. Desde então, o EDDB tem ganhado popularidade ao redor do mundo não só para aplicações analíticas na determinação de diferentes analitos (Baluchová et al., 2019; Coldibeli et al., 2023; Pecková; Musilová; Barek, 2009; Sarakhman; Švorc, 2022), como também na eletrossíntese (Ganiyu et al., 2022; Tatsumi; Fiorani; Einaga, 2024; Yuan et al., 2020) e degradação de compostos orgânicos (Brosler et al., 2023; Hoang et al., 2021; Xu et al., 2023).

Esse eletrodo se destaca por suas notáveis propriedades, como alta estabilidade eletroquímica, resistência à corrosão e baixa e estável corrente de fundo, característica essa que contribuí para a sensibilidade dos métodos analíticos. Além disso, sua baixa sensibilidade ao oxigênio dissolvido elimina a necessidade de etapas de remoção prévia desse componente do meio (Fatibello-Filho et al., 2022; Pecková; Musilová; Barek, 2009).

Outra vantagem marcante do eletrodo é a sua ampla janela de potencial de trabalho, de aproximadamente 3,5 V em soluções aquosas, abrangendo regiões anódicas e catódicas (Kraft, 2007). Essa característica possibilita a determinação de analitos que oxidam em elevados potenciais anódicos, como por exemplo ácido acetilsalicílico ($\sim +1,97$ V) (Sartori et al., 2009), carisoprodol ($\sim +2,03$ V) (Eisele; Valezi; Sartori, 2017) e efedrina ($\sim +1,9$ V) (Freitas et al., 2021), assim como analitos que reduzem em elevados potenciais catódicos, como por exemplo atrazina ($\sim -1,1$ V) (Švorc; Rievaj; Bustin, 2013).

Adicionalmente, devido a sua ampla faixa de potencial de trabalho, o EDDB permite a determinação de simultânea de múltiplos analitos, uma característica desejável da química verde (Eisele; Valezi; Sartori, 2017; Moraes et al., 2017). Outro diferencial de muita relevância no contexto ambiental é a alta resistência ao

envenenamento superficial, devido à fraca adsorção das espécies, garantindo procedimentos analíticos mais sensíveis, simples e seguros, tanto para o operador quanto para o meio ambiente (Pecková; Musilová; Barek, 2009).

Alguns fatores podem influenciar o desempenho eletroquímico do EDDB, dentre eles o tipo de terminações superficiais (hidrogênio ou oxigênio) e o nível de dopagem. As primeiras investigações sobre a influência das terminações superficiais nas propriedades eletroquímicas do EDDB foram realizadas no final da década de 1990 (Notsu et al., 1999; Popa et al., 1999). A partir desse momento, estudos foram sendo realizados e propostas de tratamentos publicadas com o intuito de explorar as propriedades do eletrodo e ampliar cada vez mais suas aplicações (Lourenco et al., 2020). Atualmente, as terminações superficiais do EDDB são comumente controladas por pré-tratamento eletroquímico em meio aquoso, podendo ser realizada pela polarização anódica do eletrodo na região da evolução de oxigênio (pré-tratamento anódico, PTA) para inserção de grupos funcionais contendo oxigênio na superfície do material e pela polarização catódica do eletrodo na região da evolução de hidrogênio (pré-tratamento catódico, PTC) para devolver os átomos de hidrogênios para a superfície do material (Fatibello-Filho et al., 2022).

A literatura disponível demonstra que a resposta voltamétrica das espécies é influenciada pela composição superficial do EDDB (Lourenco et al., 2020), e por isso, é de extrema importância avaliar o efeito do tipo das terminações superficiais do eletrodo na espécie em estudo durante o desenvolvimento de métodos voltamétricos de análise. Ainda, vale destacar alguns casos em que o tipo de pré-tratamento foi determinante para a determinação analítica. Por exemplo, o PTC favoreceu a separação entre os picos voltamétricos dos anti-hipertensivos hidroclorotiazida e metoprolol (Salamanca-Neto et al., 2016). Já o PTA mostrou-se eficiente tanto para promover a separação entre os picos de oxidação dos anti-hipertensivos cloridrato de amilorida, besilato de anlodipino, hidroclorotiazida, e atenolol (Moraes et al., 2017), quanto para melhorar a definição dos picos voltamétricos do anti-isquêmico trimetazidina (Oliveira et al., 2025).

1.2 DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS

Os fármacos representam um grupo importante de substâncias químicas essenciais para o tratamento e prevenção de doenças, promovendo a manutenção e

qualidade de vida de humanos e animais. Grandes quantidades de fármacos são produzidas, consumidas e descartadas diariamente em todo o mundo. Por isso, é fundamental garantir o controle de qualidade dos medicamentos, para evitar problemas que comprometam sua eficácia e segurança.

Além disso, apesar de sua importância, os fármacos são considerados poluentes emergentes, e a entrada desses compostos nos recursos hídricos por diferentes vias, como esgoto doméstico, efluentes hospitalares e resíduos industriais, é uma preocupação crescente pois representa riscos significativos à saúde pública e à biodiversidade (Chander et al., 2016; Quesada et al., 2019). Portanto, o desenvolvimento de métodos quantitativos confiáveis para análise desses compostos orgânicos é de grande relevância.

A quantificação do ingrediente farmacêutico ativo possui diversas aplicações práticas, sendo essencial em várias áreas. Métodos analíticos foram desenvolvidos para sua determinação em produtos farmacêuticos para controle de qualidade (Bitew; Amare, 2020; Gupta et al., 2022; Kumar et al., 2023), em amostras ambientais para detectar poluição e monitorar a eficácia dos tratamentos de efluentes (Coldibeli et al., 2023; Ohoro et al., 2019; Pérez-Lemus et al., 2019; Tyszczyk-Rotko; Kozak; Czech, 2022), e em fluídos biológicos para estudos farmacocinéticos (Bhatia; Dass; Rath, 2022; Sura; Cvs; Rachamalla, 2022), monitoramento terapêutico (Tuzimski; Petruczynik, 2020), exames antidoping e investigações forense (Xhaferaj; Naegele; Parr, 2020).

1.2.1 Loperamida

O cloridrato de loperamida (LOP; Figura 2) é um opioide sintético amplamente utilizado para o tratamento de diarreia. Apesar de ser sintetizado a primeira vez em 1969, seu uso clínico foi aprovado somente em 1976 pela *Food and Drug Administration* (FDA). Inicialmente foi classificado no Anexo V da Lei de Substâncias Controladas dos Estados Unidos da América (*schedule V of the US Controlled Substances Act*) devido ao seu potencial de abuso relacionado com as propriedades opioides. No entanto, alguns anos mais tarde, em 1982, diante de resultados de estudos, foi liberado e passou a ser disponível para uso sem prescrição (Stanciu; Gnanasegaram, 2017; Wu; Juurlink, 2017).

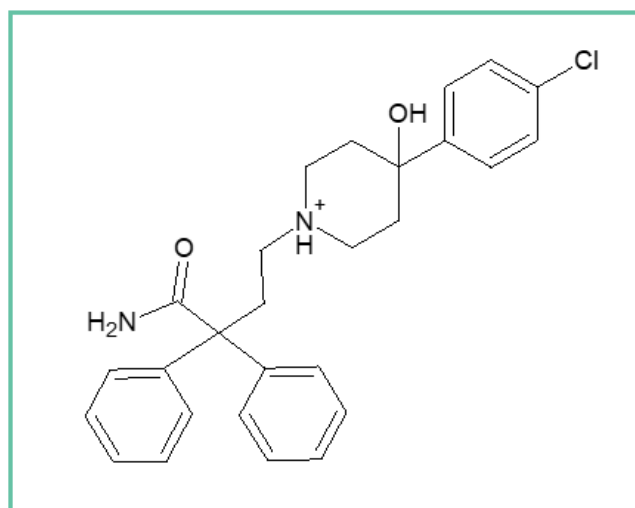
Diferentemente de opioides como morfina e codeína, a LOP atua

predominantemente em receptores periféricos, com baixa penetração no sistema nervoso central, o que minimiza efeitos como sedação, euforia e dependência (Kumpf, 2014; Schiller et al., 1984).

A LOP atua na redução da motilidade gastrointestinal e no aumento do tônus do esfíncter anal, diminuindo assim a sensação de urgência e a incontinência fecal (Hardman; Limbird; Gilman, 1996). É o principal medicamento indicado para episódios de diarreia do viajante, para o tratamento auxiliar da maioria das diarreias crônicas, e também é utilizado no manejo de colostomias ou ileostomias (Hardman; Limbird; Gilman, 1996; Rang et al., 2012; Sweetman, 2009).

O tratamento com a LOP pode variar de acordo com a condição, porém para episódios de diarreia aguda, é recomendado uma dose inicial de 4 mg, seguida de 2 mg após cada evacuação líquida, não ultrapassando o limite diária de 16 mg. Já para casos de diarreia crônica, condição de longo prazo e muitas vezes agravada pela alimentação, a indicação segue um esquema preventivo, com doses de 2 a 4 mg anteriormente as refeições e uma dose adicional para dormir em situações de diarreia noturna (Schiller, 2017).

Figura 2 – Fórmula estrutural da LOP



Fonte: o próprio autor

Métodos analíticos para a determinação de LOP já foram descritos na literatura, sendo principalmente baseados na técnica cromatográfica (Arafat et al., 2014; Beck et al., 2017; Chen et al., 2000; JOHANSEN; JENSEN, 2004; Kabir et al., 2017; STREEL et al., 2005; Yu et al., 2004). Além disso, também foram relatados alguns

métodos espectrofotométricos (El Sherif et al., 2000; Rivai; Puspita; Misfadhila, 2021; Sabr et al., 2023; Shehab; Mohammed; Mahmood, 2021), potenciométricos (Faridbod et al., 2012; Ibrahim et al., 2022a; Salama et al., 2020) e condutométrico (Elqudaby; Mohamed; El Din, 2013). No entanto, no que diz respeito à voltametria, a literatura ainda é limitada e descreve apenas três métodos para a análise quantitativa de LOP. Estes incluem o uso de um eletrodo de carbono vítreo (Radi; Elmogy, 2004), bem como eletrodos de pasta de carbono modificados com compósito de ZnO e α -Fe₂O₃ (Al-Qasmi et al., 2016) e com sulfadiazina de prata e ZnO (Ibrahim et al., 2022b).

1.2.2 Anti-hipertensivos

A hipertensão (popularmente conhecida como pressão alta) é um dos problemas de saúde mais comum atualmente e afeta cerca de 1,28 bilhões de adultos com idade entre 30 e 79 anos mundialmente (World Health Organization, 2023). Essa condição clínica é definida como pressão persistentemente elevada nos vasos sanguíneos, com pressão arterial sistólica e diastólica $\geq 140/90$ mmHg, respectivamente, e pode estar relacionada a várias causas, incluindo fatores comportamentais, genéticos, metabólicos e desconhecidos. É considerada a principal causa de morte prematura em todo o mundo, sendo principal fator de risco para doenças cardiovasculares (doença coronariana, insuficiência cardíaca, acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio, fibrilação atrial e doença arterial periférica), doença renal crônica e comprometimento cognitivo (Hardman; Limbird; Gilman, 1996; Oparil et al., 2018; World Health Organization, 2023).

A prevenção do desenvolvimento da hipertensão está fortemente associada a hábitos de um estilo de vida saudável, que incluem uma alimentação balanceada, a prática regular de exercícios físicos, noites de sono adequadas, cuidado com o bem-estar psicológico, além da abstinência do tabaco e do consumo excessivo de bebidas alcoólicas. Assim, o tratamento é o conjunto desses hábitos saudáveis com intervenção medicamentosa com agentes anti-hipertensivos quando necessário (Golan et al., 2014; Hardman; Limbird; Gilman, 1996; World Health Organization, 2023).

Atualmente, o tratamento farmacológico conta com uma grande variedade de anti-hipertensivos comercialmente disponíveis com diferentes mecanismos e locais de ação, o que facilita a individualização, a adesão completa ao tratamento e o

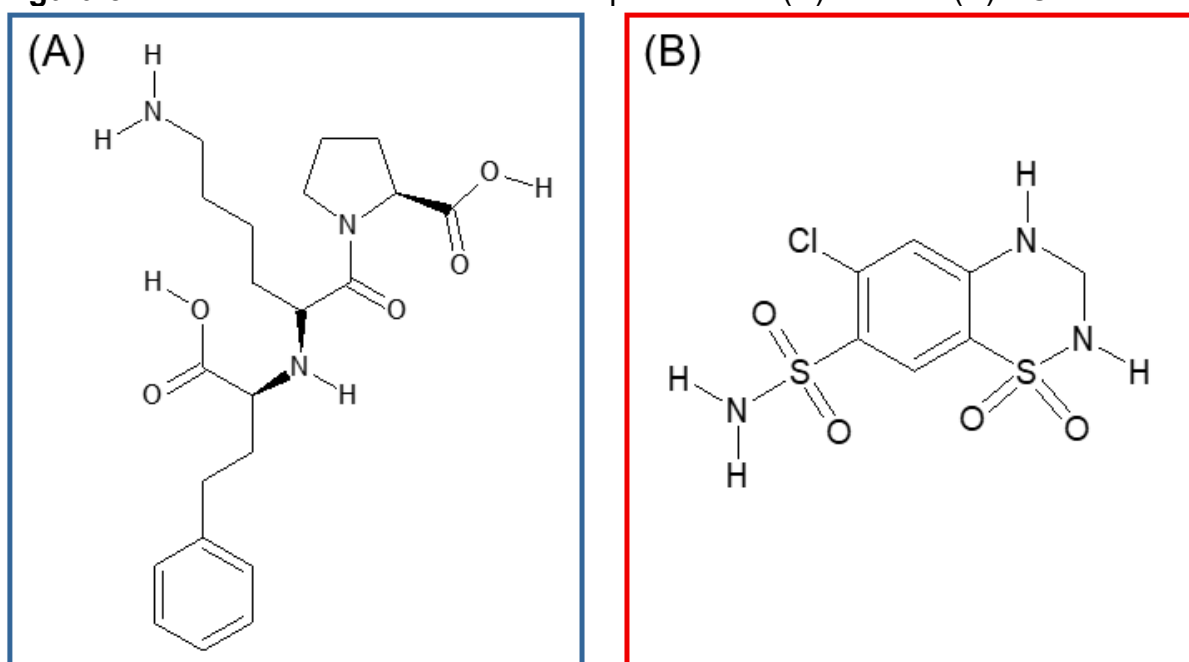
consequente sucesso na regulação da pressão arterial (Golan et al., 2014). Diferentes estratégias farmacológicas podem ser adotadas de maneira individualizada de acordo com as necessidades do paciente para o controle da pressão arterial, incluindo a monoterapia ou terapia combinada com dois ou mais medicamentos. A terapia combinada tem se tornado popular devido a seus benefícios, como redução dos efeitos colaterais pela administração de doses menores e ação sinérgica dos medicamentos (Golan et al., 2014; Guerrero-García; Rubio-Guerra, 2018).

Alguns agentes pertencentes a classes dos anti-hipertensivos disponíveis para a prática médica atual são os inibidores da enzima conversora de angiotensina, diuréticos, β -bloqueadores, bloqueadores dos canais de cálcio e antagonistas dos receptores de angiotensina.

O lisinopril (LSNP; Figura 3(A)) é um inibidor da enzima conversora de angiotensina, que age no sistema renina-angiotensina, um complexo sistema hormonal que dentre suas funções está o controle da pressão arterial. Resumidamente, o LSNP impede a conversão da angiotensina I em angiotensina II, substância ativa cuja ação resulta na vasoconstrição. Sendo assim, a inibição da produção dessa substância pelo fármaco, acarreta na vasodilatação e consequentemente na redução da pressão arterial. Esse fármaco pode ser usado em monoterapia para o tratamento da hipertensão, ou ainda combinado com outros agentes anti-hipertensivos, como por exemplos os diuréticos (Atlas, 2007; Golan et al., 2014; Hardman; Limbird; Gilman, 1996).

A hidroclorotiazida (HCTZ, Figura 3(B)) é um diurético tiazídico amplamente utilizado, que promove a redução do volume intravascular ao aumentar a excreção renal de sódio e água, resultando na diminuição da pressão arterial. Este medicamento é eficaz tanto em monoterapia quanto para potencializar a ação de outros anti-hipertensivos quando administrado em associação (Golan et al., 2014).

Figura 3 – Fórmulas estruturais dos anti-hipertensivos (A) LSNP e (B) HCTZ.



Fonte: o próprio autor.

Diversos estudos na literatura relatam a determinação de LSNP em amostras farmacêuticas e biológicas. Dentre os métodos reportados, as técnicas mais utilizadas foram a espectrofotometria (Ahmed; Tapabashi; Allah, 2021; Basavaiah et al., 2020; Çetin; Sungur, 2006; El-Emam et al., 2004; Paraskevas; Atta-Politou; Koupparis, 2002; Rahman; Anwar; Kashif, 2005; Rahman; Singh; Hoda, 2005; Raza; Ansari; Atta-ur-Rehman, 2005; Shraitah; Okdeh, 2016; Shulyak et al., 2021, 2022; Zounr, 2021) e a cromatografia líquida acoplada a diferentes modos de detecção, como espectrometria de massas (Huang et al., 2006; Kousoulos et al., 2005; Padua et al., 2004; Qin et al., 2012, 2007; Tsakalof; Bairachtari; Georgarakis, 2003; Zhou et al., 2008), espectrofotometria (Beasley et al., 2005; Chander et al., 2012; El-Gindy et al., 2001a; Raju; Rao, 2012; Stoimenova et al., 2017; Wong; Charles, 1995), fluorimetria (El-Emam et al., 2004; Rastkari; Ahmadkhaniha, 2018; Sagirli; Ersoy, 2004) e amperometria (Liu et al., 2012).

Além disso, outras abordagens analíticas, como espectrofluorometria (Aktas; Ersoy; Sagirli, 2003; Derayea; Badr El-Din; Mohammed, 2017; Derayea; Badr El-din; Mohammed, 2018; El-Gindy et al., 2001a; Jamakhandi et al., 2010; Zacharis et al., 2004), voltametria (Al-Farhan et al., 2021; El-Enany; Belal; Al-Ghannam, 2003; Hasanzadeh et al., 2014; Razak et al., 2003), potenciometria (Bozhanov; Smerikarova; Maslarska, 2020; Rajendraprasad; Basavaiah, 2019), cromatografia gasosa (Leis et

al., 1998), titulação (Basavaiah; Tharpa; Vinay, 2010) e ressonância magnética nuclear (Shen; Yang; Shi, 2015) também têm sido exploradas.

No que se refere aos métodos voltamétricos, foram empregados diferentes tipos de eletrodos, como por exemplo o eletrodo gotejante de mercúrio (EGM) (El-Enany; Belal; Al-Ghannam, 2003), o eletrodo de gota pendente de mercúrio (EGPM) (Razak et al., 2003), o eletrodo de carbono vítreo modificado com o composto β -ciclodextrina-óxido de grafeno-SO₃H (β -CD/OG-SO₃H/ECV) (Hasanzadeh et al., 2014) e eletrodo de pasta de carbono (EPC) (Al-Farhan et al., 2021).

A determinação simultânea de LSNP e HCTZ em amostras farmacêuticas foi reportada na literatura pelo desenvolvimento de métodos baseados nas técnicas espectrofotometria (El-Gindy et al., 2001b; Erk, 1998; ERK; KARTAL, 1999; Mohammed; Badr El-Din; Derayea, 2019; Patel; Prabhu; Walia, 2015; Pramod et al., 2013), cromatografia líquida com detecção espectrofotométrica (De Diego; Soto; Mennickent, 2014; ERK; KARTAL, 1999; Ivanović et al., 2007; Maslarska; Peikova; Tsvetkova, 2013; Padmini et al., 2013), cromatografia de camada delgada de alta performance com detecção densitométrica (El-Gindy et al., 2001b; Patel; Patel, 2022), eletroforese capilar (Hillaert; De Grauwe; Van den Bossche, 2001), cromatografia por injeção sequencial com detecção espectrofotométrica (Idris et al., 2012) e voltametria usando eletrodo de pasta de carbono (Valezi; Eisele; Sartori, 2017).

1.3 DETERMINAÇÃO DE CORANTES

A cor dos alimentos desempenha um papel fundamental na avaliação de sua qualidade sensorial. Muito além de atrair visualmente, a cor também evoca expectativas sobre a autenticidade e qualidade dos alimentos. A história nos conta que, desde tempos muito remotos, cores têm sido propositalmente adicionadas aos alimentos para enriquecer a aparência dos pratos (Burrows, 2009).

Inicialmente, as cores nos alimentos eram adicionadas com materiais colorantes prontamente disponíveis na natureza, como plantas, animais e minerais. Esse cenário mudou drasticamente com a industrialização e a produção em grande escala dos produtos alimentícios. Nesse momento, a coloração passou a ser uma prática adotada para restituir as cores dos alimentos perdidas durante o processamento industrial, ou até mesmo disfarçar a má qualidade dos alimentos. Para esse propósito, eram amplamente utilizados compostos à base de minerais e metais,

como os prejudiciais pigmentos à base de cobre, chumbo e estanho. Enquanto isso, em 1856 o primeiro corante sintético foi descoberto dando início a uma revolução nos diferentes setores industriais. Logo inúmeros novos corantes sintéticos orgânicos substituíram os sais minerais tóxicos e passaram a fazer parte de diferentes produtos, tanto têxteis quanto alimentícios. No entanto, foi somente no final do século 19 que surgiram as primeiras regulamentações concernente ao uso de corantes nos alimentos (Burrows, 2009; Oliveira et al., 2021; Stich, 2016).

Os corantes naturais e sintéticos continuam sendo extensivamente usados na indústria alimentícia, porém, apesar dos maiores riscos à saúde humana associados aos corantes sintéticos, esses são preferidos no processamento dos alimentos. Devido a sua maior estabilidade, facilidade de produção em larga escala e capacidade de produzir cores vibrantes e uniformes nos produtos alimentícios, os corantes sintéticos representam uma alternativa mais econômica e prática para o setor industrial (Mota et al., 2023).

Mesmo diante da ampla variedade de corantes disponíveis atualmente, nem todos são permitidos para uso na indústria alimentícia. Essas especificações são regulamentadas por agências reguladoras de diferentes países, sendo as mais reconhecidas a FDA, nos Estados Unidos da América (EUA), e a *European Food Safety Authority* (EFSA), na União Europeia. No Brasil, o órgão responsável pela regulamentação dos corantes e outros aditivos alimentícios é a Agência Nacional Vigilância Sanitária (ANVISA).

Essas agências são responsáveis por garantir a qualidade e a segurança dos produtos alimentícios, fornecendo diretrizes sobre boas práticas de fabricação, ingestão diária aceitável, requisitos de rotulagem e informações essenciais de segurança para os consumidores (Durazzo et al., 2022; Martins et al., 2016).

De maneira geral, os corantes sintéticos estão associados a malefícios em diferentes esferas da sociedade. Além de seu consumo estar relacionado a problemas de saúde, devido às suas características tóxicas e potencial carcinogênico (Amchova; Kotolova; Ruda-Kucerova, 2015; Mota et al., 2023), a produção em larga escala e as diversas aplicações industriais dos corantes sintéticos representam um grande perigo do ponto de vista ambiental. A elevada geração de resíduos coloridos, muitas vezes difíceis de serem tratados de forma eficaz, contribui para a entrada desses poluentes no ambiente aquático, causando inúmeros impactos negativos na fauna e flora (Ardila-Leal et al., 2021; Tkaczyk; Mitrowska; Posyniak, 2020).

Visto que os corantes sintéticos estão presentes em inúmeros produtos alimentícios consumidos diariamente, especialmente por crianças, é essencial realizar seu monitoramento, tanto no produto final destinado aos consumidores quanto efluentes lançados no ambiente, visando à preservação da saúde pública e do meio ambiente.

1.3.1 Indigo Carmin e Carmosina

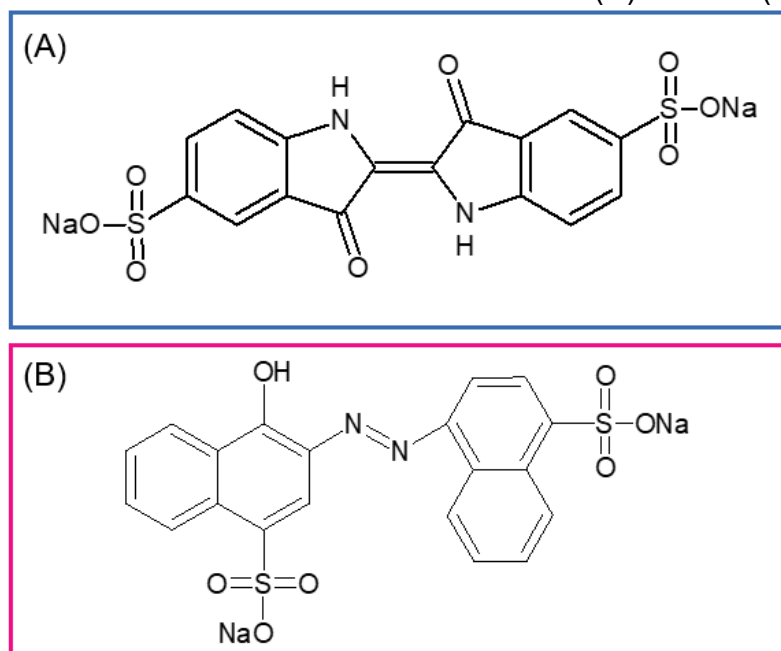
O índigo carmin (INDG; Figura 4(A)) é um corante azul sintético de grande importância em diversos setores industriais, incluindo alimentos, têxteis, medicina, farmacêutica e cosméticos. Conhecido por diversos sinônimos, como indigotina, aditivo E132, indigotindisulfonato de sódio, CI azul natural II, FD&C Blue No.2, Azul Ácido 74, entre outros, sua estrutura (Figura 4(A)) inclui dois grupos essenciais: NaSO_3 , responsável pela solubilidade em água, e um grupo cromóforo composto por um sistema conjugado com uma única ligação $\text{C}=\text{C}$ substituída por dois grupos NH e dois grupos $\text{C}=\text{O}$ (Ristea; Zarnescu, 2023; Vautier; Guillard; Herrmann, 2001). Inicialmente obtido pela sulfonação do corante natural índigo, o INDG é atualmente sintetizado quimicamente de forma integral pela indústria (König, 2015; Ristea; Zarnescu, 2023).

A carmoisina (CRMS; Figura 4(B)) é um corante azo sintético vermelho que apresenta alta estabilidade e solubilidade em água, sendo amplamente utilizado para colorir produtos alimentícios, farmacêuticos e cosméticos. A CRMS também é conhecida por diversos sinônimos, sendo os mais comuns azorrubina, aditivo E122, CI Vermelho Ácido 14, CI Vermelho Alimentício 3, entre outros (Karimi et al., 2022; Leulescu et al., 2021). Sua estrutura (Figura 4(B)) contém um grupo cromóforo azo ($-\text{N}=\text{N}-$) e dois grupos sulfonato ($-\text{SO}_3^-$) responsáveis por sua solubilidade em água (Sadeghi et al., 2019).

Internacionalmente, o INDG é aprovado para uso em alimentos e bebidas tanto nos Estados Unidos quanto na União Europeia, enquanto a CRMS é permitida apenas na União Europeia (Coultate; Blackburn, 2018). No Brasil, a ANVISA regulamenta o uso de ambos os corantes pela Resolução de Diretoria Colegiada RDC nº 778 de 01/03/2023 (BRASIL, 2023) e pela Instrução Normativa NR nº 211 de 2023, que permitem a utilização desses corantes na fabricação de uma variedade de produtos alimentícios, como bebidas lácteas, bebidas alcoólicas e não alcoólicas, doces em

geral, molhos, entre outros. Os limites máximos de uso variam de 50 a 500 mg kg⁻¹ (ou mg L⁻¹), dependendo do tipo de produto.

Figura 4 – Fórmulas estruturais dos corantes sintéticos (A) INDG e (B) CRMS



Fonte: o próprio autor

Pesquisa na literatura demonstrou que a cromatografia tem se mostrado uma ferramenta valiosa para a determinação simultânea de INDG e CRMS, juntamente com outros corantes em diferentes matrizes de amostras (Dixit; Khanna; Das, 2010; Gholami et al., 2021; Hamidi; Nemati; Lotfipour, 2021; Khanavi et al., 2012; Li et al., 2015; Mazdeh et al., 2016; Miniotti; Sakellariou; Thomaidis, 2007; Palianskikh et al., 2022; Yang; Zhang; Shao, 2014; Zahedi et al., 2020). Isso se deve principalmente à sua robustez e capacidade de separar eficazmente os analitos. No entanto, esses métodos frequentemente apresentam desvantagens ambientais e econômicas, como maior tempo de análise, custos elevados e geração de grandes volumes de resíduos.

Não existem métodos voltamétricos reportados para a determinação simultânea desses corantes. Sendo assim, o desenvolvimento de um método voltamétrico apresenta grande importância, pois oferece a possibilidade de análises mais rápidas, econômicas e de baixo impacto ambiental.

2 JUSTIFICATIVA

A grande variedade de métodos analíticos reportados na literatura reflete a constante evolução da química analítica em atender às demandas de simplicidade e confiabilidade, aliadas ao baixo impacto ambiental na análise individual e simultânea de fármacos e corantes.

Apesar dos excelentes resultados analíticos apresentados nos estudos, é importante considerar de modo geral alguns contrapontos referentes a esses métodos. Os métodos espectrofotométricos descritos, apesar da simplicidade, baixo custo e rapidez inerentes à técnica, muitas vezes requerem reações prévias à análise, contribuindo para o maior consumo e descarte de reagentes. Além disso, a determinação simultânea frequentemente depende do uso de ferramentas matemáticas e estatísticas.

Por outro lado, os métodos cromatográficos, embora altamente eficientes, apresentam algumas desvantagens do ponto de vista prático e ambiental. Esses métodos costumam ser mais demorados, custosos e complexos, demandando maiores volumes de reagentes, maior consumo de energia, preparos de amostras mais elaborados, especialmente em matrizes biológicas, e eventual necessidade de uso de padrão interno.

Diferentemente, a voltametria se destaca por contornar todas essas desvantagens e apresentar simplicidade, baixo custo e baixo impacto ambiental. A literatura descreve a determinação voltamétrica dos analitos em estudo usando eletrodos de mercúrio, eletrodos modificados e eletrodos de pasta de carbono. Esses tipos de eletrodos apresentam algumas características que podem limitar sua aplicação, como alta toxicidade, baixa segurança ao operador, alto impacto ambiental, complexidade e custo associado aos processos de modificação, e menor estabilidade e reprodutibilidade em alguns casos.

Dessa forma, considerando as excelentes propriedades e características do EDDB, seu uso na determinação voltamétrica de fármacos e corantes representa uma alternativa atrativa, capaz de superar as desvantagens supracitadas, ao mesmo tempo em que atende as demandas atuais da química analítica.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e validação de métodos voltamétricos utilizando o EDDB para determinação individual de LOP e LSNP, bem como a determinação simultânea dos anti-hipertensivos HCTZ e LSNP e dos corantes alimentícios INDG e CRMS.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Investigar o comportamento eletroquímico dos analitos sobre a superfície do EDDB e estudar as características dos processos redox, como reversibilidade, número de elétrons envolvidos e transporte de massas predominante.

Otimizar as condições experimentais e instrumentais para cada método proposto de determinação dos analitos.

Validar os métodos voltamétricos propostos por meio do estudo das figuras de mérito: seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão.

Avaliar o impacto ambiental das metodologias desenvolvidas usando métricas de verdura estabelecidas na literatura.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 REAGENTES E PREPARO DE SOLUÇÕES

Todas as soluções aquosas foram preparadas com reagentes comerciais de grau analítico e água ultrapura (resistividade $\geq 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) purificada em sistema Milli-Q® (Merck Millipore Corporation, Alemanha).

LOP ($\geq 99\%$), LSNP ($\geq 99\%$), HCTZ ($\geq 99\%$), INDG ($\geq 99\%$), CRMS ($\geq 99\%$), ácido sulfúrico (H_2SO_4), cafeína, ácido úrico, epinefrina, dopamina, ácido ascórbico, triptofano, tartrazina, vermelho 40, amarelo crepúsculo, ácido tartárico e sacarose foram adquiridos da Sigma Aldrich (St Louis, MO, EUA). Ácido acético, ácido cítrico, ácido bórico, ácido fosfórico (H_3PO_4), ácido perclórico (HClO_4), ácido clorídrico (HCl), creatinina, fosfato de potássio monobásico, fosfato de potássio dibásico, hidróxido de sódio (NaOH), cloreto de amônio, sulfato de ferro (II) heptahidratado, nitrato de ferro (III) nonahidratado e cloreto de manganês (II) tetrahidratado foram obtidos da Anidrol (Diadema, SP, Brasil). Metanol, etanol, hidróxido de amônio, tris(hidroximetil)aminometano, ureia e glicose foram obtidos da Synth (Diadema, SP, Brasil).

A solução estoque de LOP (10 mmol L^{-1}) foi preparada em solução de etanol 50% (v/v). As soluções estoque de LSNP e HCTZ (ambas em concentração de 10 mmol L^{-1}) foram preparadas em solução de metanol 50% (v/v). As soluções estoque de INDG e CRMS (ambas em concentração de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) foram preparadas em água ultrapura. Todas as soluções estoque foram preparadas diariamente, sendo que as diluições necessárias foram preparadas em água ultrapura.

As soluções tampão usadas como eletrólito suporte nos experimentos foram Britton-Robinson (BR) ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$; pH 2,0 – 10,0), amônio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$; pH 9,0), tris ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$; pH 9,0), fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$; pH 2,0 – 3,0), citrato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$; pH 3,0) e McIlvaine ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$; pH 3,0).

A solução tampão BR foi preparada pela mistura de ácido acético, ácido bórico e ácido fosfórico, para concentração final de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de todos os ácidos. O pH da solução foi ajustado (2,0 – 10,0) com adição de volumes apropriados de solução de $\text{NaOH } 2,0 \text{ mol L}^{-1}$.

A solução tampão de amônio (pH 9,0) foi preparada misturando volumes apropriados de soluções de cloreto de amônio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e hidróxido de amônio ($0,1$

mol L⁻¹). A solução tampão tris (pH 9,0) foi preparada misturando soluções de tris(hidroximetil)aminometano (0,1 mol L⁻¹) e ácido clorídrico (0,1 mol L⁻¹) na proporção adequada. A solução tampão fosfato (pH 2,0 – 3,0) foi preparada pela mistura de soluções de fosfato de potássio monobásico (0,1 mol L⁻¹) e fosfato de potássio dibásico (0,1 mol L⁻¹). A solução tampão citrato (pH 3,0) foi preparada pela mistura das soluções de ácido cítrico (0,1 mol L⁻¹) e citrato de sódio (0,1 mol L⁻¹). A solução tampão McIlvaine (pH 3,0) foi preparada pela mistura de soluções de ácido cítrico (0,1 mol L⁻¹) e fosfato de potássio dibásico (0,1 mol L⁻¹).

4.2 INSTRUMENTAÇÃO

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT101 (Metrohm Autolab B.V, Países Baixos) controlado pelo software NOVA 2.1.5. Uma célula eletroquímica convencional de vidro de compartimento único foi usada com a seguinte configuração: (i) eletrodo de trabalho: EDDB (concentração de boro = 8000 ppm; A = 0,25 cm²; Adamant Technologies, Suíça); (ii) eletrodo de referência: Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹); (iii) eletrodo auxiliar: placa de platina (A = 0,50 cm²).

Anterior às medidas voltamétricas e apenas uma vez ao dia de trabalho, o EDDB foi tratado eletroquimicamente em solução de H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹. Para o pré-tratamento anódico, foi aplicada à superfície do eletrodo uma densidade de corrente de 0,25 A cm⁻² por 60 segundos, e para o pré-tratamento catódico foi aplicada -0,25 A cm⁻² por 240 segundos.

O pH das soluções foi medido a 25,0 ± 2,0 °C utilizando um pHmetro (W38 BEL Engineering, SP, Brasil) acoplado a um eletrodo de vidro combinado com um eletrodo de referência externa de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹).

As medidas cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (LC 20, Shimadzu Co., Kyoto, Japão) com um detector de arranjo de fotodiodos, utilizando uma coluna Luna C18 (250 × 4,6 mm, 5 µm; Phenomenex, Califórnia, EUA).

4.3 PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras ambientais (água de represa, água de rio e água da torneira) foram

coletadas em frascos previamente higienizados com solução de HNO_3 10% e enxaguados com água ultrapura. A água de represa foi coletada no rio Paranapanema, em Salto Grande, SP, Brasil. A água de rio foi coletada de um rio na Chácara dos Porcos, em Londrina, PR, Brasil. As amostras foram mantidas refrigeradas a 4 °C até sua utilização. A amostra de água da torneira foi coletada na Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

A urina sintética foi preparada de acordo com procedimento descrito na literatura (Laube; Mohr; Hesse, 2001) e foi usada imediatamente após a preparação.

Todas as amostras foram fortificadas apropriadamente com solução padrão dos analitos. Uma alíquota da amostra foi transferida diretamente para a célula eletroquímica contendo 10 mL do eletrólito suporte e os voltamogramas foram registrados.

As amostras farmacêuticas de LSNP (dosagem de 5, 10 e 20 mg) e LSNP:HCTZ (dosagem de 10:12,5 mg) foram compradas em drogaria local na cidade de Londrina, PR, Brasil.

Dez comprimidos de cada formulação farmacêutica foram pesados individualmente e pulverizados em almofariz até homogeneização. Em seguida, a massa referente ao peso médio de um comprimido foi transferida para um balão volumétrico contendo solução de metanol 50% (v/v). As soluções das amostras foram sonicadas em banho ultrassom por 10 minutos para completa dissolução dos analitos. Após ambientação do balão volumétrico, este teve seu volume aferido com o mesmo solvente. Quando necessário, diluições apropriadas foram realizadas com água ultrapura. Para as análises voltamétricas, volumes adequados das soluções das amostras foram diretamente transferidos para a célula eletroquímica contendo 10 mL do eletrólito suporte.

As bebidas sabor uva contendo CRMS (suco e refrigerante) foram adquiridas em supermercado local em Londrina, PR, Brasil. Para a análise, as amostras foram simplesmente diluídas em água ultrapura na proporção de 1:20 e, em seguida, uma alíquota apropriada foi transferida diretamente para a célula eletroquímica contendo 10 mL do eletrólito suporte.

4.4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Estudos exploratórios sobre o comportamento voltamétrico dos analitos na

superfície do EDDB, o transporte de massa predominante e a reversibilidade dos processos eletroquímicos para ambos os analitos foram realizados por voltametria cíclica (VC). Os parâmetros instrumentais das técnicas de voltametria de onda quadrada (VOQ; amplitude (a), frequência (f) e incremento de potencial (ΔE_s)) e voltametria de pulso diferencial (VPD; a , velocidade de varredura (v) e tempo de modulação (t_m)) foram otimizados por meio de experimentos univariados.

A determinação individual de LOP foi realizada empregando a VPD ($a = 120$ mV, $v = 40$ mV s⁻¹, e $t_m = 5$ ms).

A determinação individual de LSNP foi realizada empregando a VPD ($a = 200$ mV, $t_m = 4$ ms e $v = 70$ mV s⁻¹) e a determinação simultânea de LSNP e HCTZ foi realizada usando a VOQ ($a = 60$ mV, $\Delta E_s = 4$ mV e $f = 20$ Hz).

A determinação simultânea de INDG e CRMS foi realizada empregando a VPD ($a = 80$ mV, $t_m = 3$ ms e $v = 30$ mV s⁻¹).

Os métodos voltamétricos desenvolvidos foram validados com auxílio de guias de validação como AOAC (AOAC, 2023), ICH (ICH, 2005), Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) (INMETRO, 2020) e *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) (Thompson; Ellison; Wood, 2002). Foi realizado a avaliação das seguintes figuras de mérito: (i) seletividade; (ii) linearidade; (iii) limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ); (iv) precisão; (v) exatidão.

A seletividade foi avaliada pelo desvio padrão relativo (DPR) referente às variações da intensidade de corrente nos picos de oxidação dos analitos na ausência e presença de diferentes concentrações de compostos potencialmente interferentes. Além disso, para avaliar o efeito da matriz, foram construídas curvas analíticas de adição de padrão na presença das amostras de urina sintética, água de rio e água de torneira (adição padrão à matriz da amostra). Essa avaliação envolveu a comparação estatística dos coeficientes angulares das curvas de adição de padrão à matriz da amostra com aqueles obtidos para a curva de padrão externo construída somente em eletrólito suporte (INMETRO, 2020).

Aos dados experimentais da calibração foi aplicado um ajuste linear. A linearidade das faixas de concentração de trabalho foi avaliada por meio dos coeficientes de determinação (R^2), bem como por análise de regressão linear e teste de falta de ajuste em um nível de confiança de 95%.

Os valores de LD e LQ foram calculados de acordo com especificado pelo ICH baseado no desvio padrão do branco analítico (σ) e coeficiente angular da curva

analítica (S). O LD foi determinado pela equação $3,3\sigma/S$ e o LQ pela equação $10\sigma/S$ (ICH, 2005).

A precisão dos métodos foi avaliada pelas estimativas de repetitividade e precisão intermediária, sendo determinadas pelo cálculo do DPR de 10 medidas voltamétricas em um único dia (repetitividade) e 5 medidas ao longo de 5 dias diferentes (precisão intermediária). A adequabilidade dos resultados obtidos foi determinada por comparação com valores recomendados pelo guia de validação AOAC (AOAC, 2023).

A exatidão dos métodos para a análise de amostras ambientais e biológicas foi atestada por meio de estudos de recuperação de acordo com a seguinte equação: $\text{Recuperação (\%)} = (C_1 - C_2 / C_3) \times 100$, na qual C_1 é a concentração da amostra fortificada, C_2 é a concentração da amostra não fortificada e C_3 é a concentração do analito adicionada a amostra (AOAC, 2023). Já para a análise de amostras farmacêuticas e de produtos alimentícios, a exatidão dos métodos foi atestada comparando estatisticamente os resultados obtidos pelos métodos voltamétricos desenvolvidos com aqueles obtidos a partir de métodos comparativos previamente reportados na literatura: sendo método titulométrico para determinação individual de LSNP (Basavaiah; Tharpa; Vinay, 2010), método cromatográfico para determinação simultânea de HCTZ e LSNP (Erk; Kartal, 1999), método cromatográfico para determinação de INDG e CRMS (Minioti; Sakellariou; Thomaidis, 2007). Assim, foi aplicado aos resultados um teste t em um nível de confiança de 95%.

O impacto ambiental dos métodos desenvolvidos foi avaliado por meio do software AGREE (versão 0.4, 2020) (Pena-pereira; Wojnowski; Tobiszewski, 2020).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 MÉTODO VOLTAMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO INDIVIDUAL DE LOP

5.1.1 Comportamento Eletroquímico da LOP

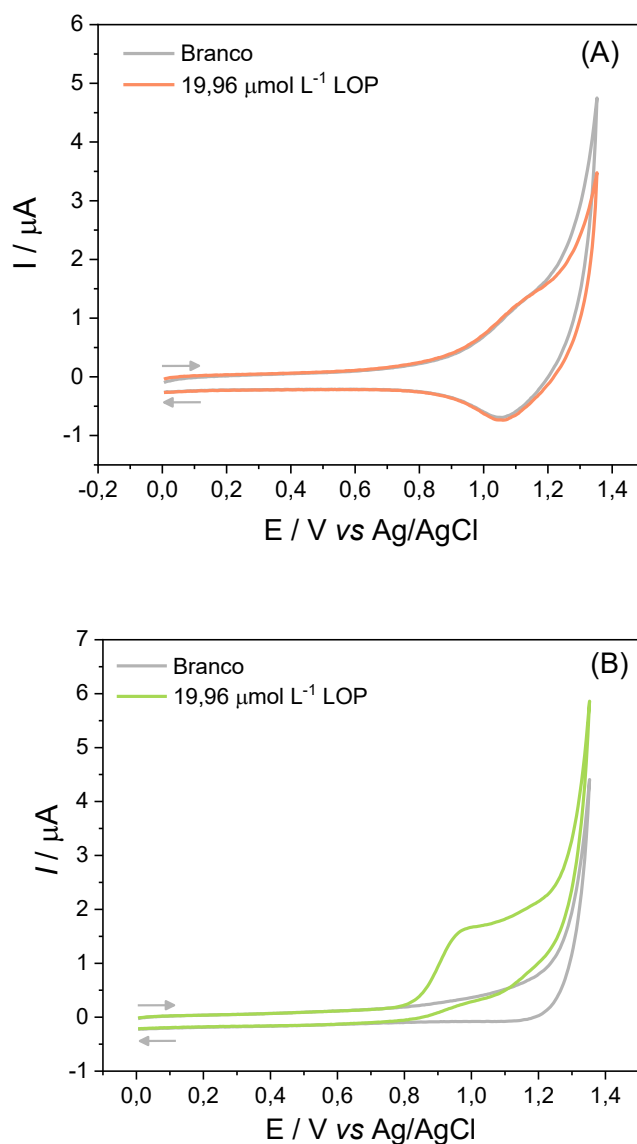
O comportamento eletroquímico dos analitos é fortemente influenciado pelas condições experimentais utilizadas, portanto, o tipo de pré-tratamento da superfície do eletrodo e a composição do eletrólito de suporte foram primeiramente estudados.

5.1.1.1 Influência do pré-tratamento superficial do EDDB

Está bem estabelecido na literatura que a composição das terminações de superfície do EDDB (predominantemente oxigênio ou hidrogênio) controlada pelo pré-tratamento eletroquímico (anódico ou catódico) pode afetar de maneiras diferentes a resposta voltamétrica dos analitos (Lourenco et al., 2020). Por isso, o comportamento voltamétrico da LOP no EDDB pré-tratado anodicamente (EDDB-PTA) e EDDB pré-tratado catodicamente (EDDB-PTC) foi investigado usando VC em solução tampão BR (pH 8,0) (Figura 5).

Os voltamogramas cíclicos registrados para LOP em ambas as superfícies do EDDB exibiram um pico de oxidação na faixa de potencial de 0,0 a 1,3 V. No entanto, nenhum pico de redução foi observado na direção reversa da varredura, indicando a natureza irreversível do processo eletroquímico. Em comparação, o EDDB-PTC foi mais favorável para a oxidação da LOP, apresentando um pico anódico em aproximadamente +0,98 V (vs Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹)) com maior intensidade de corrente, melhor definição de pico e maior repetibilidade entre as medidas. Portanto, o EDDB-PTC foi selecionado para a continuidade dos experimentos.

Figura 5 – Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) registrados em solução tampão BR (pH 8,0) para $19,96 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LOP usando o (A) EDDB-PTA e (B) EDDB-PTC.



Fonte: o próprio autor

5.1.1.2 Influência do pH e eletrólito suporte

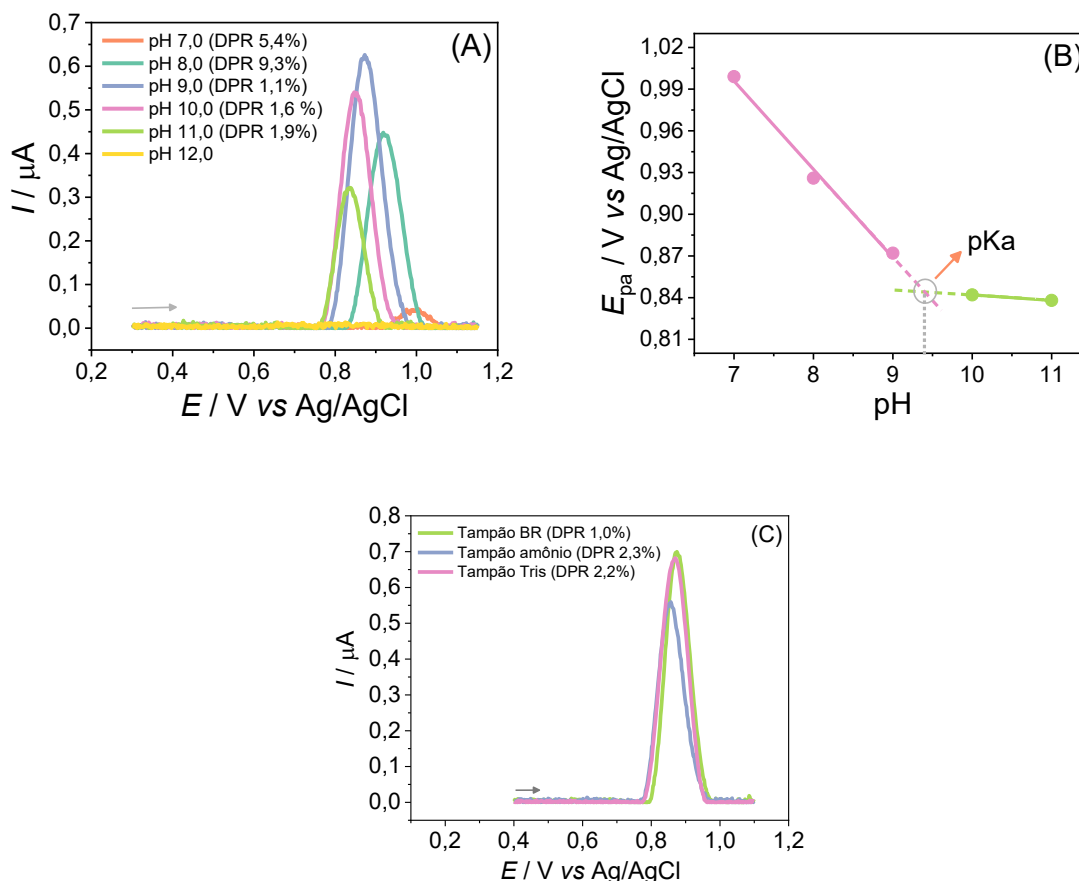
Primeiramente, a influência do pH no processo de oxidação da LOP no EDDB-PTC foi investigada. Para isso, voltamogramas de onda quadrada foram registrados para $19,96 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LOP em soluções tampão BR com valores de pH variando de 2,0 a 12,0, utilizando o EDDB-PTC (Figura 6). Com base nos resultados obtidos, é possível observar que, nas condições do estudo, a LOP apresenta resposta voltamétrica em valores de pH entre de 7,0 e 11,0, com um pico anódico que aumenta

até sua intensidade máxima de corrente no pH 9,0 e depois diminui até desaparecer (Figura 6(A)). Nenhum pico de oxidação foi observado em valores de pH na faixa de 2,0 a 6,0 (dados não mostrados). Considerando os resultados do estudo, o pH 9,0 foi escolhido como o melhor pH para o eletrólito suporte na determinação de LOP, pois o pico anódico apresentou a maior intensidade de corrente e ótima repetibilidade entre as medidas, com valor de DPR de 1,1%.

Além disso, os dados experimentais revelaram que entre pH 7,0 e 9,0 houve um deslocamento do potencial de oxidação da LOP para valores menos positivos com o aumento do pH (Figura 6(B)). Essa dependência é representada por uma regressão linear com inclinação de $-63,5 \text{ mV pH}^{-1}$ ($R^2 = 0,993$), indicando comportamento de processos no qual o mesmo número de prótons e elétrons estão envolvidos no processo eletroquímico (Shah et al., 2015). Por outro lado, o potencial de pico permanece praticamente constante entre pH 9,0 e 10,0. A intersecção das retas referentes a essas duas faixas de comportamento indica o valor de pK_a da LOP, que foi estimado em 9,38, próximo ao valor teórico de 9,41 (Ibrahim et al., 2022a).

Subsequentemente, soluções tampão amônio e tris com pH 9,0 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) também foram avaliadas como eletrólitos suporte para a determinação de LOP (Figura 6(C)). Embora a intensidade de corrente do pico anódico tenha sido semelhante para as soluções tampão de amônio e BR, a solução tampão BR (pH 9,0) foi selecionada como o meio ideal, pois apresentou melhor repetibilidade (DPR = 1,0%).

Figura 6 – (A) Voltamogramas de onda quadrada ($a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_S = 2 \text{ mV}$ e $f = 30 \text{ Hz}$) registrados para $19,96 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LOP usando o EDDB-PTC em solução tampão BR com diferentes valores de pH (7,0 – 12,0). (B) Gráfico de E_{pa} por pH plotado com os dados extraídos do estudo do pH (Figura 6(A)). (C) Voltamogramas de onda quadrada ($a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_S = 2 \text{ mV}$ e $f = 30 \text{ Hz}$) registrados para $19,96 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LOP usando o EDDB-PTC em diferentes soluções tampão com pH 9,0.



Fonte: o próprio autor

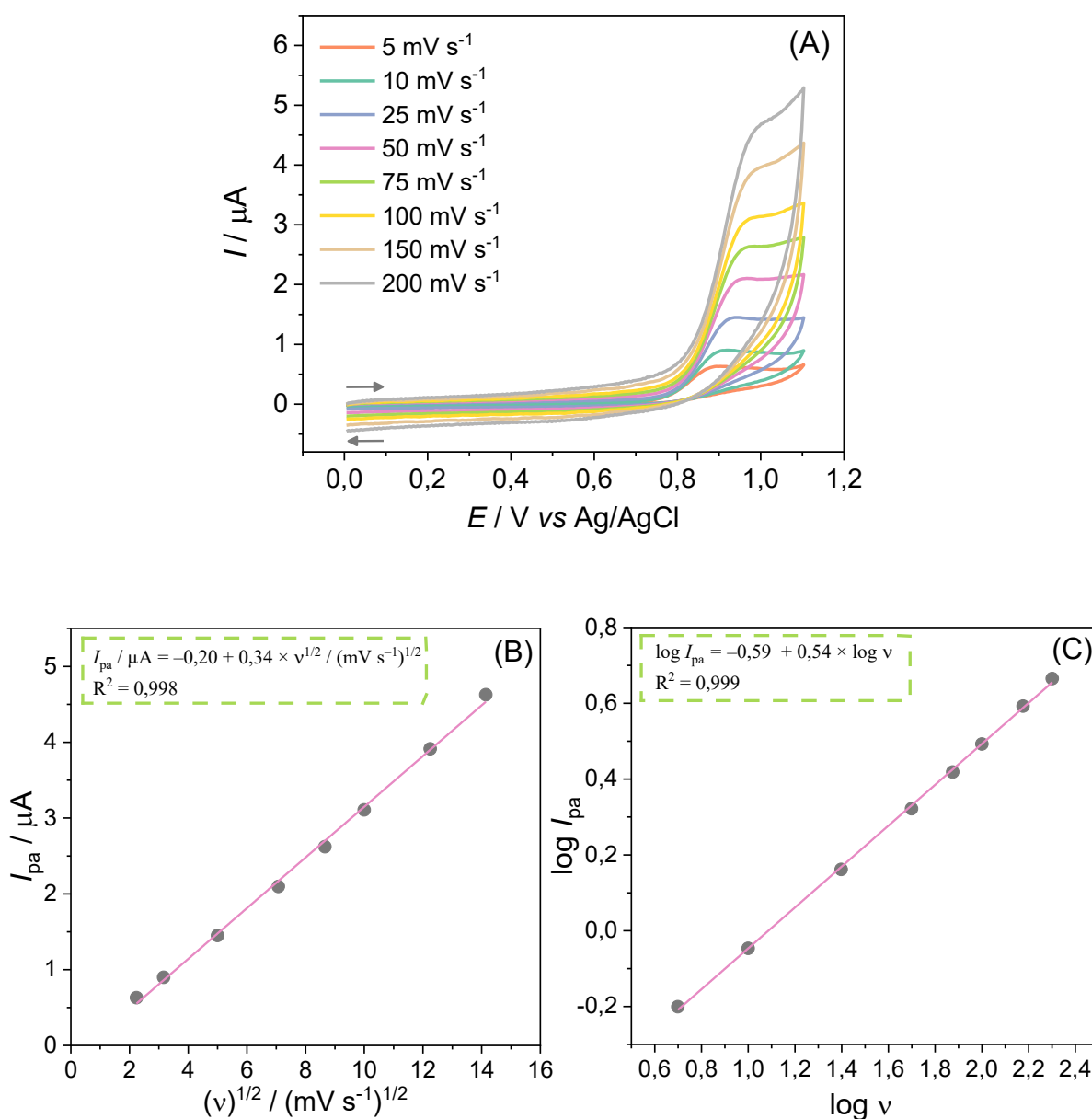
5.1.1.3 Estudo da velocidade de varredura e mecanismo de oxidação

A eletrooxidação da LOP no EDDB-PTC foi avaliada por VC em velocidades de varredura no intervalo de $5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$ em solução tampão BR (pH 9,0) (Figura 7 (A)). A irreversibilidade do processo de oxidação da LOP no eletrodo pode ser confirmada pelo deslocamento do potencial de pico para valores mais positivos com o aumento da velocidade de varredura (Gosser, 1993).

Ainda, gráficos da intensidade de corrente (I_{pa}) pela raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) (Figura 7(B)) e do logaritmo de I_{pa} ($\log I_{pa}$) pelo logaritmo de v ($\log v$) (Figura 7(C)) foram plotados usando os dados extraídos dos voltamogramas cíclicos obtidos no estudo da velocidade de varredura. A relação linear

entre I_{pa} e $v^{1/2}$ ($R^2 = 0,998$) indica que o processo eletroquímico que ocorre na superfície do EDDB-PTC é predominantemente controlado pela difusão das espécies. Essa característica do processo é confirmada pelo coeficiente angular de 0,54 da relação linear expressa entre $\log I_{pa}$ e $\log v$, que está em concordância com o valor teórico de 0,5 para processos controlados por difusão (Gosser, 1993).

Figura 7 – (A) Voltamogramas cíclicos ($5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$) registrados para $19,96 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LOP em solução tampão BR (pH 9,0) usando o EDDB-PTC. Gráficos de (B) I_{pa} pela $v^{1/2}$ e (C) $\log I_{pa}$ pelo $\log v$ plotados com os dados extraídos do estudo da velocidade de varredura (Figura 7 (A)).



Fonte: o próprio autor

Além disso, os dados do potencial de pico (E_{pa} / mV) e do potencial de meia onda ($E_{pa/2}$ / mV) extraídos do voltamograma cíclico registrado a 50 mV s^{-1} (Figura 7 (A)) foram usados para estimar o número de elétrons (n) participantes da oxidação da LOP na superfície do EDDB-PTC (Bard; Faulkner, 2001; Gosser, 1993). A equação $E_{pa} - E_{pa/2} = 47,7 / \alpha n$ foi usada considerando o valor teórico de $\alpha = 0,5$ para sistemas irreversíveis, e n foi calculado em 1. Com base nos resultados obtidos e em estudo anterior (Radi; Elmogy, 2004), sugere-se que a oxidação da LOP ocorre no grupo amida com a perda de um elétron e um próton e a formação de radical.

5.1.2 Otimização dos Parâmetros Instrumentais das Técnicas de VOQ e VPD

A influência dos parâmetros instrumentais das técnicas de VOQ e VPD na detecção/quantificação de LOP também foi investigada. Os parâmetros foram otimizados em uma abordagem univariada visando uma melhor detectabilidade da LOP (Tabela 1). Em seguida, curvas analíticas de padrão externo foram construídas usando as técnicas com os parâmetros instrumentais otimizados (Figura 8) e seus parâmetros analíticos foram comparados (Tabela 2).

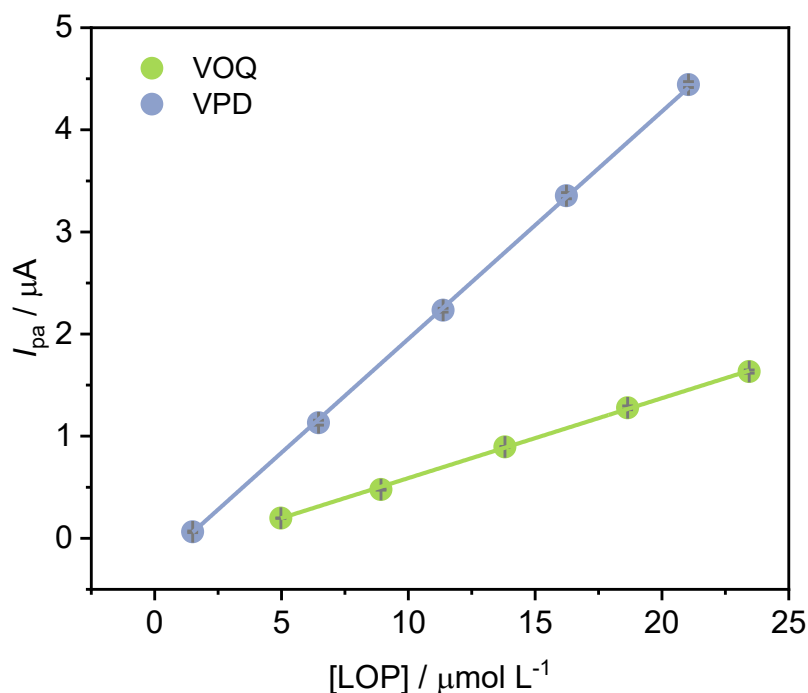
A VPD provou ser mais eficaz na determinação de LOP, pois apresentou maior sensibilidade, maior detectabilidade e faixa de concentração de trabalho mais ampla, quando comparada com a VOQ. Portanto, o método foi validado para a determinação de LOP em diferentes amostras (amostras biológicas e ambientais) usando a VPD.

Tabela 1 – Parâmetros instrumentais das técnicas de VOQ e VPD estudados e valores ótimos selecionados para determinação individual de LOP usando o EDDB-PTC em solução tampão BR (pH 9,0).

Técnica	Parâmetros	Faixa estudada	Valor selecionado
VOQ	a (mV)	10 – 60	50
	f (Hz)	10 – 80	30
	ΔE_s (mV)	1 – 7	5
VPD	a (mV)	10 – 130	120
	t_m (s)	1 – 7	5
	v (mV s^{-1})	10 – 50	40

Fonte: o próprio autor

Figura 8 – Curvas analíticas de padrão externo para LOP construídas com os dados experimentais extraídos dos voltamogramas de onda quadrada (4,98 – 23,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e voltamogramas de pulso diferencial (1,50 – 21,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$) registrados em solução tampão BR (pH 9,0) usando o EDDB-PTC.



Fonte: o próprio autor

Tabela 2 – Parâmetros analíticos obtidos para as curvas analíticas de padrão externo construídas para determinação individual de LOP usando as técnicas VOQ e VPD.

Parâmetros analíticos	Técnica	
	VOQ	VPD
Potencial de pico / V	0,91	0,82
Faixa linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	4,98 – 23,44	1,50 – 21,05
R^2	0,9992	0,9997
Sensitividade / $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$	0,0783	0,225
Intercepto / μA	0,1933	0,298

Fonte: o próprio autor

5.1.3 Validação do Método Voltamétrico para Determinação Individual de LOP

5.1.3.1 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada comparando a intensidade de corrente de $11,37 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LOP na ausência e presença de possíveis compostos interferentes nas razões de concentração de 1:1 e 1:10 (LOP: interferente). Os agentes interferentes testados foram compostos presentes na urina (ácido ascórbico, cafeína, ureia, epinefrina, ácido úrico, dopamina e glicose) e alguns íons (Ca^{2+} , CO_3^{2+} , Mg^{2+} , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Zn^{2+} , NO_3^- e Fe^{2+}) (Tabela 3).

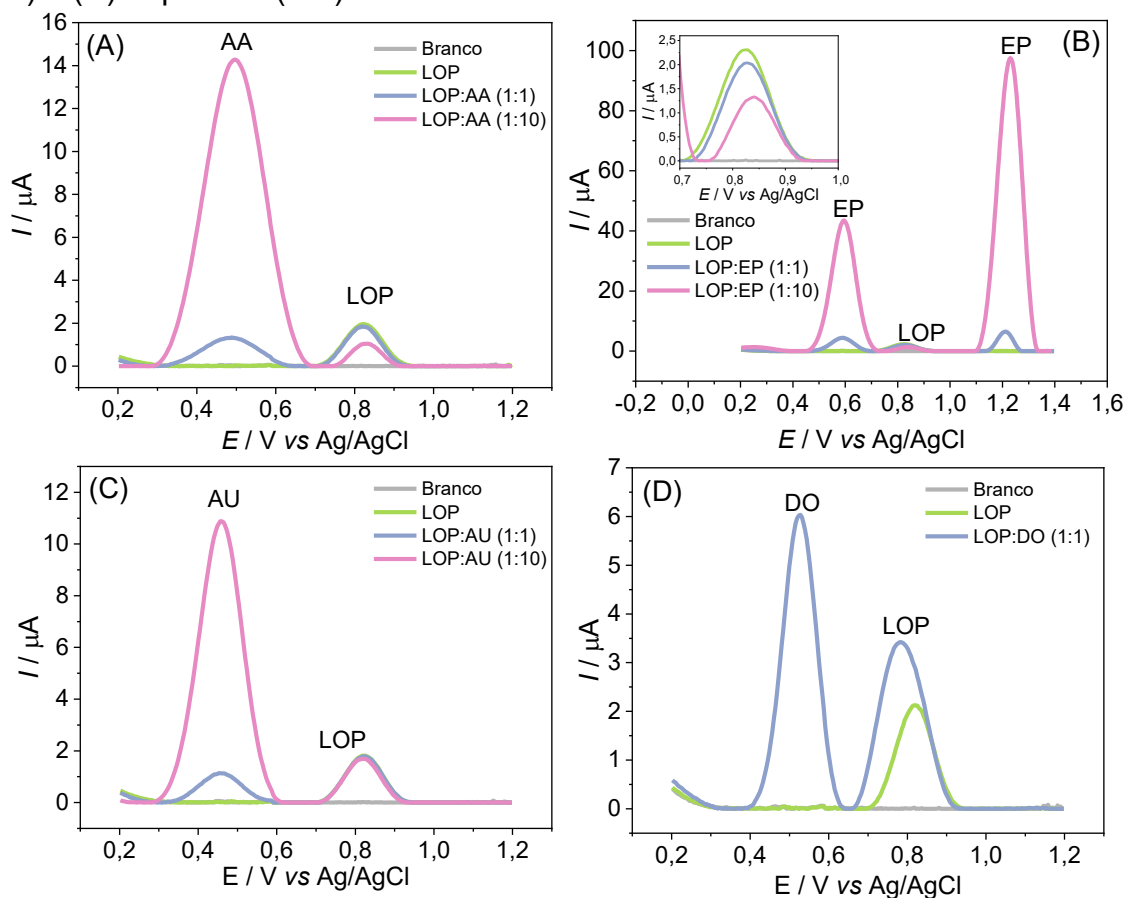
Os íons não alteraram significativamente a resposta da LOP na razão de concentração de 1:10, tanto na intensidade de corrente ($\text{DPR} \leq 3,3\%$) quanto no potencial de pico. Alguns compostos presentes na urina são espécies eletroativas (nas condições experimentais) que apresentam potenciais de pico de oxidação próximos ao da LOP, o que pode afetar sua resposta (Figura 9). No entanto, na razão de concentração de 1:1, eles não causaram efeito significativo na resposta voltamétrica da LOP, com exceção da dopamina ($\text{DPR} = 25,51\%$).

Tabela 3 – Valores de DPR calculados para as variações na resposta voltamétrica da LOP na ausência e presença de compostos possivelmente interferentes

Interferente	Razão molar (LOP: interferente)	
	1:10	1:1
CaCl ₂	0,46	–
ZnSO ₄	1,14	–
NaNO ₃	0,92	–
Na ₂ CO ₃	1,05	–
MgSO ₄	0,50	–
KH ₂ PO ₄	0,68	–
FeCl ₂	3,30	–
Ácido ascórbico	40,46	2,64
Cafeína	2,44	–
Ureia	2,34	–
Epinefrina	38,50	4,88
Ácido úrico	3,35	1,24
Dopamina	–	25,51
Glicose	2,50	–

Fonte: o próprio autor

Figura 9 – Voltamogramas de pulso diferencial ($a = 120 \text{ mV}$, $v = 40 \text{ mV s}^{-1}$ e $t_m = 5 \text{ ms}$) para $11,37 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LOP na ausência e presença de (A) ácido ascórbico (AA), (B) epinefrina (EP; *inserido*: amplificação do pico anódico da LOP), (C) ácido úrico (AU) e (D) dopamina (DO).



Fonte: o próprio autor

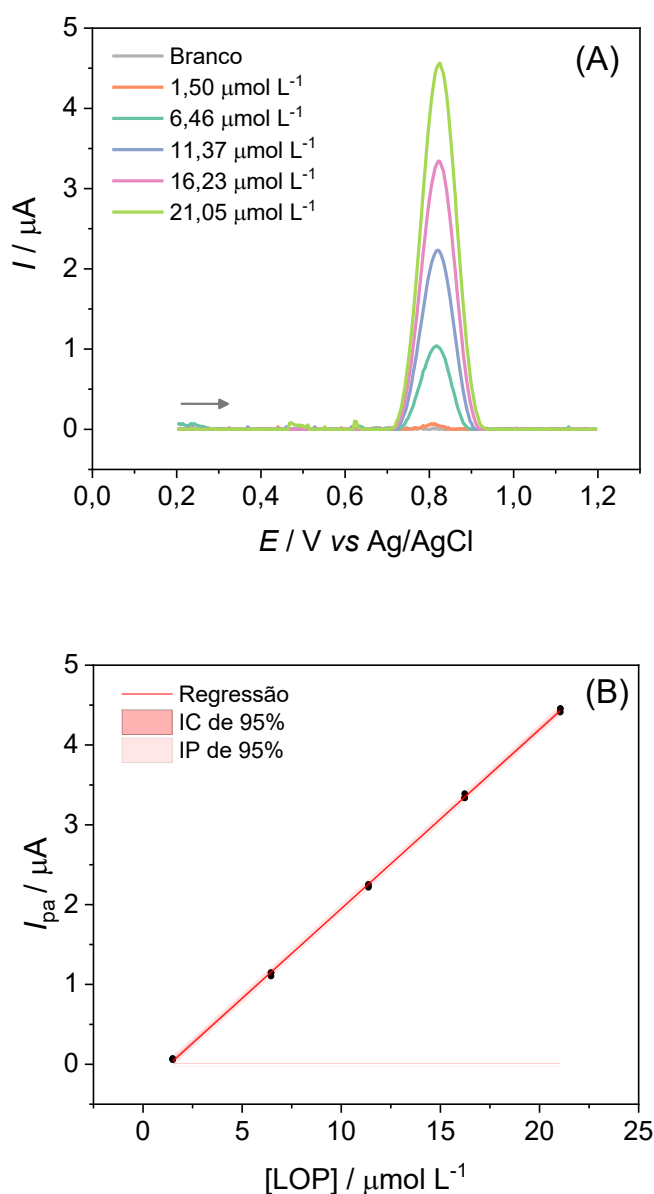
5.1.3.2 Linearidade

Considerando o melhor desempenho analítico da VPD para a determinação de LOP, conforme discutido na seção 5.1.2, foi realizado um estudo para avaliar a linearidade da curva analítica obtida por meio da calibração com padrão externo.

Os voltamogramas de pulso diferencial registrados para diferentes concentrações de LOP ($1,50 - 21,05 \mu\text{mol L}^{-1}$) em solução tampão BR (pH 9,0) utilizando o EDDB-PTC estão dispostos na Figura 10(A). As intensidades de corrente foram correlacionadas a cada concentração do analito em um modelo linear, resultando na curva analítica demonstrada na Figura 10(B). Como pode ser observado, o sinal analítico aumentou proporcionalmente com as concentrações de LOP no intervalo adotado, sugerindo um bom ajuste do modelo linear aos dados

experimentais. Vale ainda destacar que, apesar de alguns resultados estarem fora do intervalo de confiança (IC), todos estão contidos dentro do intervalo de predição (IP), indicando que a regressão exibiu um nível adequado de incerteza no nível de 95% de confiança.

Figura 10 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial ($a = 120$ mV, $v = 40$ mV s⁻¹ e $t_m = 5$ ms) registrados para diferentes concentrações de LOP (1,50 – 21,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em solução tampão BR (pH 9,0) usando o EDDB-PTC. (B) Curvas analítica de padrão externo para LOP plotadas com os dados extraídos dos voltamogramas de pulso diferencial da Figura 10(A), incluindo o IC e IP no nível de 95% de confiança.



Fonte: o próprio autor

Além disso, o conjunto de dados de calibração foi submetido a uma análise de regressão linear e a um teste de falta de ajuste (ambos em um nível de 95% de confiança) para verificar a linearidade no intervalo de concentração utilizado (Tabela 4). Os resultados obtidos pela análise de regressão linear confirmaram que o modelo linear é adequado aos dados experimentais no intervalo de concentração adotado. O F_{reg} determinado foi maior que o valor de $F_{crítico}$, indicando a significância da regressão, e o coeficiente de determinação (R^2) indicou que 99,97% da variabilidade dos dados é explicada pelo modelo linear.

A análise dos gráficos de resíduos (Figura 11) demonstrou que os resíduos são independentes entre si e apresentam homogeneidade de variâncias. Esses resultados são demonstrados pela distribuição aleatória em torno de zero no gráfico de resíduos em função dos valores ajustados (Figura 11(A)) e a ausência de padrões no gráfico de resíduos em função da ordem das observações (Figura 11(B)), respectivamente. A homogeneidade de variâncias foi confirmada pelo teste de Cochran em um nível de 95% de confiança, no qual o valor observado ($C_{observado} = 0,3644$) foi inferior ao valor crítico ($C_{crítico} (0,05; 3; 5) = 0,6838$).

Além disso, o F_{faj} determinado pelo teste foi menor que o $F_{crítico}$, indicando que não há evidências significativas de falta de ajuste no modelo linear. Por fim, a significância dos coeficientes da equação de regressão foi avaliada por meio de um teste t em um nível de 95% de confiança. De acordo com os resultados, tanto o coeficiente linear quanto o angular são estatisticamente significativos, ou seja, diferentes de zero ($t_{observado} > t_{crítico}$), devendo ser incluídos no modelo, conforme a equação a seguir: $I_{pa} / \mu A = -0,298 + 0,225 \times [LOP] / \mu mol L^{-1}$.

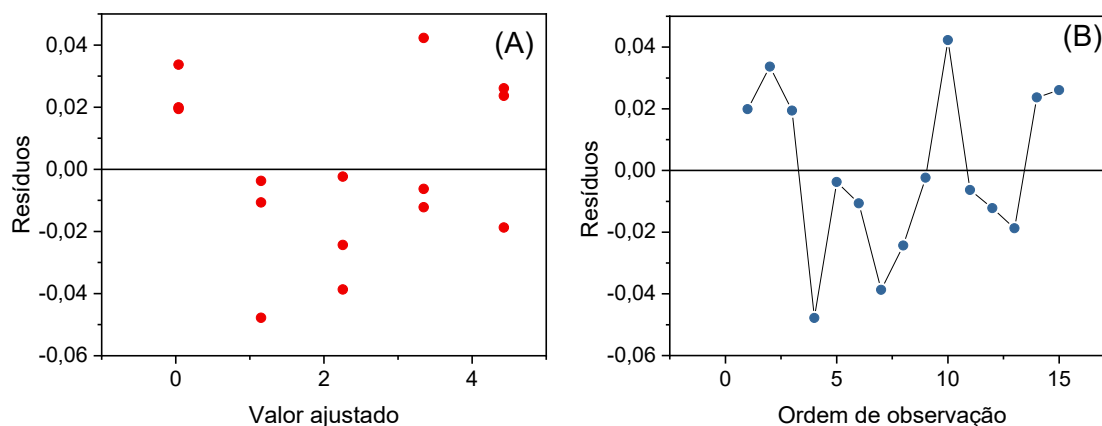
Tabela 4 – Resultados da análise de regressão linear da curva analítica de padrão externo para a determinação individual de LOP no nível de 95% de confiança.

Regressão ^a		Falta de ajuste ^b		$S_{x/y}$	R^2 (%)
F_{reg}	p	F_{faj}	p		
47066,25	0,00	3,34	0,064	0,028	99,97
Coeficientes da reta de regressão					
Coeficiente linear ^c			Coeficiente angular ^c		
Valor	$t_{observado}$	p	Valor	$t_{observado}$	p
-0,298	-21,70	0,00	0,225	216,95	0,00

^a $F_{crítico} (0,05; 1;13) = 4,67$; ^b $F_{crítico} (0,05; 3;10) = 3,71$; ^c $t_{crítico} (0,025; 13) = 2,16$

Fonte: o próprio autor.

Figura 11 – Gráficos de (A) resíduos vs valor ajustado e (B) resíduos vs ordem de observação plotados a partir da análise de regressão linear da curva analítica de padrão externo construída para a determinação de LOP.



Fonte: o próprio autor

5.1.3.3 Limite de detecção e limite de quantificação

Os valores de LD e LQ calculados foram $0,41 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $1,24 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Esses valores estão abaixo da concentração correspondente ao primeiro ponto da curva analítica, demonstrando que a LOP pode ser detectada e quantificada com precisão e exatidão adequadas dentro da faixa de trabalho adotada.

Na literatura podem ser encontrados outros métodos desenvolvidos para a determinação de LOP em diferentes matrizes usando técnicas como a cromatografia, espectrofotometria, potenciometria e voltametria. Assim, para fins de comparação do desempenho analítico do método voltamétrico desenvolvido empregando o EDDB-PTC, os dados de LD e faixa de concentração dos métodos para determinação de LOP foram organizados na Tabela 5.

Como pode ser observado, os métodos cromatográficos se destacam pelos baixos valores de LD alcançados para determinação do fármaco. No entanto, como já é de conhecimento, a cromatografia é considerada uma técnica que requer maior tempo de análise, consumo de reagentes (principalmente solvente orgânicos para a composição da fase móvel), custo por análise (considerando custo do equipamento, colunas e manutenção), complexidade de tratamento de amostras, e no caso desses trabalhos citados, uso de padrão interno. Já os métodos espectrofotométricos, potenciométricos e voltamétricos, de maneira geral, apresentaram valores de LD comparáveis ao método aqui desenvolvido usando o EDDB-PTC, salvo algumas

exceções com LD inferiores, que podem ser atribuídos às particularidades dos métodos desenvolvidos, como por exemplo a modificação dos eletrodos com materiais de alta condutividade e uso de técnica voltamétrica de redissolução (Al-Qasmi et al., 2016; Ibrahim et al., 2022b).

Com base nas observações, o método voltamétrico desenvolvido para determinação de LOP usando o EDDB-PTC se destaca pela boa detectabilidade, aliada à simplicidade e elevada veracidade. Isso se deve ao fato de não exigir o uso de grandes quantidades de solventes orgânicos, padrão interno, reações químicas antecedentes à análise ou preparo de amostras complexo.

Tabela 5 – Comparação entre o método voltamétrico desenvolvido e outros métodos relatados na literatura para a determinação de LOP usando outras técnicas analíticas.

Técnica	LD	Faixa de trabalho	Ref.
CL	0,097 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0 – 1,95 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Chen et al., 2000)
CL-EM	0,019 nmol L^{-1}	0,097 – 9,73 nmol L^{-1}	(Yu et al., 2004)
VPD (ECV)	1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	3,0 – 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Radi; Elmogy, 2004)
CL-EM	0,019 nmol L^{-1}	0,097 – 4,87 nmol L^{-1}	(STREEL et al., 2005)
Potenciometria (Membrana PVC)	10 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,03 – 10 mmol L^{-1}	(Faridbod et al., 2012)
Potenciometria (Nanocomposito)	9,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,01 – 10 mmol L^{-1}	(Faridbod et al., 2012)
CL-EM	0,039 nmol L^{-1}	0,039 – 5,84 nmol L^{-1}	(Arafat et al., 2014)
VROQ (EPC modificado)	7,9 nmol L^{-1}	0,08 – 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Al-Qasmi et al., 2016)
CG-EM	0,19 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,19 – 1,95 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Beck et al., 2017)
CLAE-UV	0,0019 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,19 – 0,58 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Kabir et al., 2017)
Potenciometria (Membrana PVC)	3,47 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,01 – 10 mmol L^{-1}	(Salama et al., 2020)
Potenciometria (EPNC modificado)	0,51 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,001 – 10 mmol L^{-1}	(Salama et al., 2020)
Espectrofotometria	0,66 $\mu\text{mol L}^{-1}$	1,56 – 77,90 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Shehab; Mohammed; Mahmood, 2021)
Potenciometria (Membrana PVC)	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	2,99 – 9090 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Ibrahim et al., 2022a)
Espectrofotometria	0,16 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,97 – 19,47 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Sabr et al., 2023)
VPD (EDDB-PTC)	0,41 $\mu\text{mol L}^{-1}$	1,50 – 21,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Este trabalho

Abreviações: CL: cromatografia líquida; EM: espectroscopia de massas; ECV: eletrodo de carbono vítreo; VROQ: voltametria de redissolução de onda quadrada; EPC: eletrodo de pasta de carbono; CG: cromatografia gasosa; CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência; EPNC: eletrodo de pasta de nanotubos de carbono.

Fonte: o próprio autor

5.1.3.4 Precisão

O estudo da precisão do método foi realizado pela estimativa da repetibilidade (10 medidas em um único dia) e precisão intermediária (5 medidas por dia durante 3 dias) para dois níveis de concentração de LOP e os resultados foram expressos em DPR (%) (Tabela 6). Como observado, os valores de $DPR \leq 4,83\%$, demonstram precisão adequada do método para a determinação de LOP, pois estão dentro do valor máximo de 7,3% recomendado pela AOAC para a faixa de concentração adotada no estudo (AOAC, 2023).

Uma breve comparação com métodos previamente reportados para determinação de LOP em diferentes amostras, confirmam a boa precisão do método desenvolvido, uma vez que as estimativas de precisão relatadas são comparáveis as obtidas no estudo. Estudos de precisão apresentaram valores de DPR entre 1,25 – 8,6% para métodos cromatográficos (Chen et al., 2000; STREEL et al., 2005), 0,23 – 1,5% para método espectrofotométrico (Rivai; Puspita; Misfadhila, 2021) e entre 0,82 – 3,6% para métodos potenciométricos (Faridbod et al., 2012; Salama et al., 2020).

Tabela 6 – Estimativas de repetibilidade e precisão intermediária para a determinação de LOP usando VPD e EDDB-PTC.

[LOP] / $\mu\text{mol L}^{-1}$	DPR / %	
	Repetibilidade ^a	Precisão Intermediária ^b
5,96	1,56	4,83
19,61	1,23	1,53

^an = 10 medidas; ^bn = 5 medidas por dia durante 3 dias

Fonte: o próprio autor

5.1.3.5 Exatidão

A exatidão do método foi comprovada por um estudo de recuperação de LOP em diferentes matrizes, incluindo amostra biológica (urina) e amostras ambientais (água de represa, água de rio e água de torneira) (Tabela 7). Os resultados experimentais confirmaram a exatidão do método, com valores de recuperação na faixa de 80 a 110%, conforme as recomendações da AOAC para os níveis de concentração adotados no estudo (AOAC, 2023).

Os métodos reportados na literatura para a determinação de LOP apresentaram taxas de recuperação que variaram entre 95,5 – 112,6% para amostras biológicas (Arafat et al., 2014; Chen et al., 2000; Ibrahim et al., 2022a; Yu et al., 2004) e entre 96 – 108% para amostras ambientais (Al-Qasmi et al., 2016). Sendo assim, esses resultados mostram que a exatidão do método voltamétrico desenvolvido usando o EDDB-PTC apresenta exatidão comparável com a literatura.

Tabela 7 – Estimativa de exatidão para determinação de LOP por estudo de recuperação.

Amostra	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Encontrado^a ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação média^b (%)
Urina	0	não detectado	–
	4,76	4,71 \pm 0,13	99,0
	7,60	7,58 \pm 0,15	99,7
	10,42	10,05 \pm 0,07	96,4
	13,22	12,71 \pm 0,09	96,2
Água de represa	0	não detectado	–
	4,76	4,80 \pm 0,12	100,8
	7,60	7,29 \pm 0,19	95,9
	10,42	10,13 \pm 0,08	97,4
	13,22	13,31 \pm 0,09	100,7
Água de rio	0	não detectado	–
	4,76	4,80 \pm 0,13	100,8
	7,60	7,43 \pm 0,07	97,8
	10,42	10,16 \pm 0,11	97,6
	13,22	12,95 \pm 0,12	98,0
Água de torneira	0	não detectado	–
	4,76	4,96 \pm 0,18	104,1
	7,60	7,49 \pm 0,10	98,5
	10,42	9,98 \pm 0,17	95,7
	13,22	12,77 \pm 0,22	96,6

^an = 3; ^b $(C_1 - C_2/C_3) \times 100$

Fonte: o próprio autor

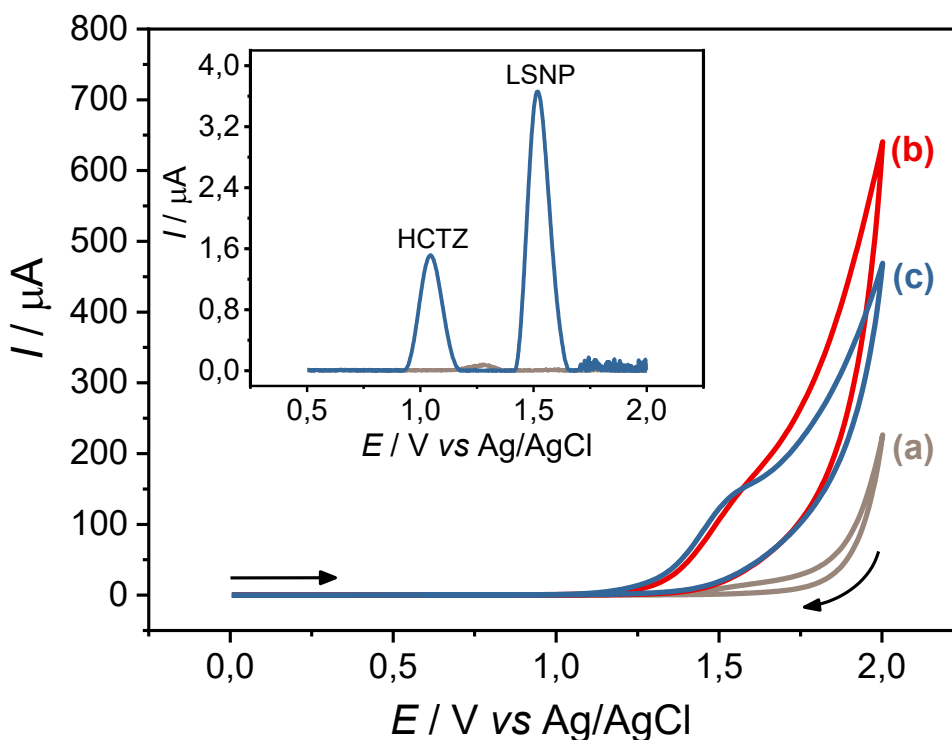
5.2 MÉTODOS VOLTAMÉTRICOS PARA DETERMINAÇÃO INDIVIDUAL DE LSNP E SIMULTÂNEA DE LSNP E HCTZ

5.2.1 Comportamento Eletroquímico do LSNP e HCTZ

5.2.1.1 Influência do pré-tratamento superficial do EDDB

O perfil voltâmtrico do LSNP e a influência do tipo de pré-tratamento do EDDB foi examinado por VC em solução tampão BR (pH 10,0) (Figura 12). Como pode ser observado, o LSNP apresentou um pico anódico irreversível em aproximadamente +1,48 V (vs Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹)), quando usado o EDDB-PTC em uma janela de potencial de trabalho de 0,0 – 2,0 V. Por outro lado, o EDDB-PTA não foi favorável à oxidação do analito, demonstrando um pico anódico de baixa definição. Em vista desta constatação e considerando os estudos já relatados sobre a resposta voltamétrica da HCTZ sobre o EDDB-PTC (Eisele et al., 2014; Mattos et al., 2017), esse tipo de terminação superficial também foi empregado para demonstrar o comportamento simultâneo de LSNP e HCTZ usando VOQ (Figura 12 – Inserido). A separação dos picos de oxidação dos anti-hipertensivos ($\Delta E_{pa} = 0,48$ V) indica fortemente a possibilidade de sua determinação simultânea sem sofrer interferências entre si. Portanto, todos os estudos posteriores foram realizados usando o EDDB-PTC.

Figura 12 – Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) registrados para (a) solução tampão BR (pH 10,0) e $192 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de LSNP usando o (b) EDDB-PTA e (c) EDDB-PTC. *Inserção:* Voltamogramas de onda quadrada ($a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 30 \text{ Hz}$) registrados em solução tampão BR (pH 10,0) para $49,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCTZ e $9,94 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de LSNP usando o EDDB-PTC.



Fonte: o próprio autor

5.2.1.2 Influência do pH e eletrólito suporte

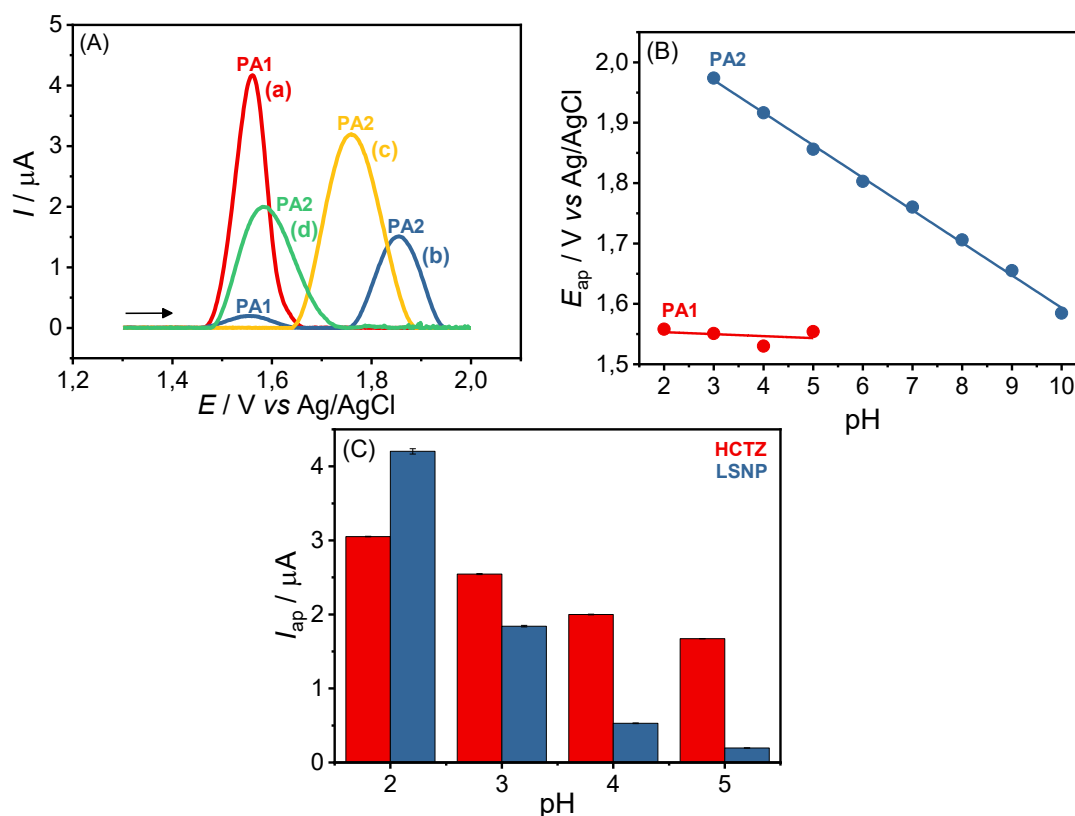
O efeito do pH do meio na resposta voltamétrica dos analitos no EDDB-PTC também foi estudada. O estudo foi conduzido utilizando solução tampão BR em diferentes valores de pH (2,0 – 10,0) e a técnica de VOQ. As Figuras 13(A) e 13(B) demonstram o comportamento voltamétrico do LSNP em diferentes valores de pH. Como pode ser observado, em meio ácido (pH variando de 2,0 – 5,0), o LSNP apresentou um pico anódico (PA1) em potencial constante próximo de +1,5 V (vs Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$)) que diminui sua intensidade de corrente com o aumento do valor do pH. A constância do potencial de oxidação do PA1 indica que o processo de oxidação ocorre sem a participação de prótons. Por outro lado, outro pico anódico (PA2) aparece em potencial próximo de +1,98 V (vs Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$)) a partir do pH 3,0. No entanto, com o aumento do pH do meio, a intensidade de corrente do PA2

aumenta e seu potencial de oxidação desloca no sentido catódico. A dependência linear entre o potencial de oxidação do PA2 e a valor do pH (Figura 13(B)) resultou em um coeficiente angular de $-53,9 \text{ mV pH}^{-1}$ ($R^2 = 0,9977$), próximo do valor teórico de $-59,0 \text{ mV pH}^{-1}$ para processos eletroquímicos com a participação do mesmo número de prótons e elétrons (Shah et al., 2015).

O PA1 apresentou melhor resposta voltamétrica em termos de repetitividade entre medidas e definição de pico, por isso foi selecionado para o desenvolvimento de um método para determinação individual de LSNP. Sendo assim, considerando a maior intensidade de corrente do pico anódico, o pH 2,0 foi selecionado. Ademais, a resposta voltamétrica do LSNP foi estudada em solução tampão fosfato (pH 2,0) resultando em uma intensidade de corrente menor para o PA1, e, assim, confirmando a solução tampão BR (pH 2,0) como eletrólito suporte para a determinação individual de LSNP.

De acordo com os resultados apresentados dos estudos para o LSNP, para a determinação simultânea de HCTZ e LSNP, o estudo do pH foi conduzido considerando apenas o primeiro pico de oxidação do LSNP (PA1; valores de pH variando de 2,0 – 5,0). Como mostrado na Figura 13(C), picos de oxidação com maiores intensidades de corrente foram obtidos em pH 2,0, entretanto, considerando a razão molar dos anti-hipertensivos nas formulações farmacêuticas comerciais, o pH 3,0 foi selecionado para compensar as diferenças entre as intensidades de corrente para as concentrações dos analitos utilizadas no estudo. Ainda, como um complemento para a escolha do melhor eletrólito suporte para a determinação simultânea de HCTZ e LSNP, soluções tampão fosfato, citrato e McIlvaine (ambas em pH 3,0) também foram avaliadas (resultados não mostrados). No entanto, a solução tampão BR proporcionou melhores sinais analíticos para ambos os anti-hipertensivos, com $\Delta E_{pa} = 0,34 \text{ V}$.

Figura 13 – (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados para $4,97 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LSNP em solução tampão BR em valores de pH de (a) 2,0, (b) 5,0, (c) 7,0 e (d) 10,0 usando o EDDB-PTC. (B) Gráfico de E_{pa} por pH construído a partir dos dados obtidos no estudo do pH para LSNP. (C) Resultados obtidos no estudo do pH para $49,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCTZ e $4,97 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LSNP em solução tampão BR em diferentes valores de pH (2,0 – 5,0) usando o EDDB-PTC e VOQ. Condições da VOQ: $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 30 \text{ Hz}$.



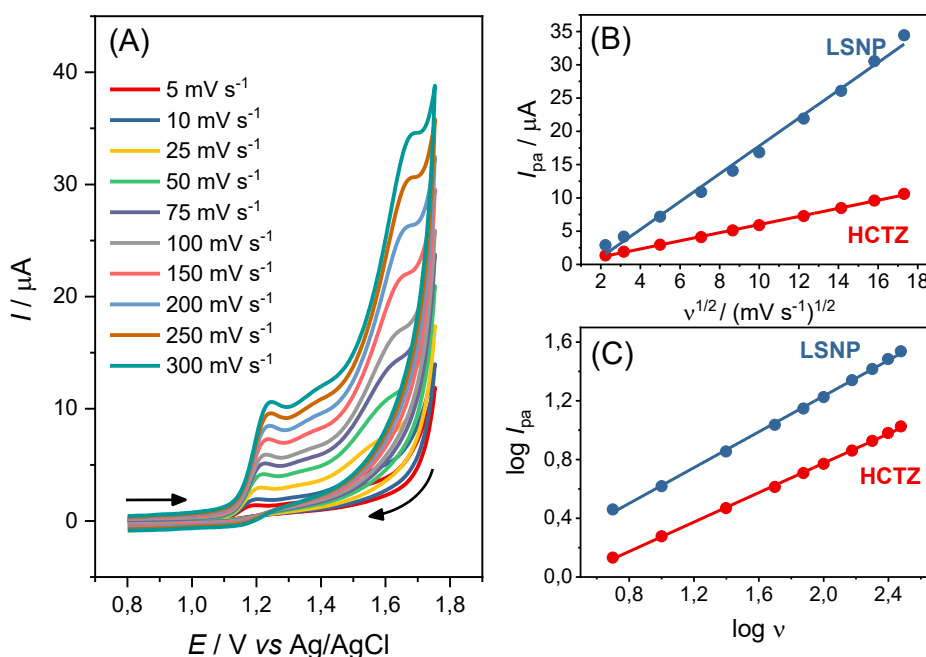
Fonte: o próprio autor

5.2.1.3 Estudo da velocidade de varredura e mecanismos de oxidação

A resposta eletroquímica dos analitos foi registrada por VC variando as velocidades de varredura (v) dentro do intervalo de $5 - 300 \text{ mV s}^{-1}$, objetivando investigar as características dos processos de oxidação em solução tampão BR (pH 3,0) usando o EDDB-PTC (Figura 14(A)). De acordo com os registros obtidos, é possível observar que o pico anódico de ambos os anti-hipertensivos se desloca para potenciais mais positivos com o aumento da velocidade de varredura, o que, segundo a literatura, é um comportamento característico de processos irreversíveis (Gosser, 1993). Ainda, as informações de intensidade de corrente foram extraídas dos registros

voltamétricos e usadas para a construção de gráficos a fim de inferir o transporte de massa predominante nos processos eletroquímicos. A dependência linear entre I_{pa} e $v^{1/2}$ indicada pelos valores de $R^2 \geq 0,99$ (Figura 14(B)) e a dependência linear entre $\log I_{pa}$ e $\log v$ expressa pelos coeficientes angulares de 0,5016 e 0,6096 para HCTZ e LSNP, respectivamente (próximos ao valor teórico de 0,5) (Figura 14(C)), indicam que os processos de oxidação dos anti-hipertensivos estudados são majoritariamente controlados pela difusão das espécies do seio da solução para a superfície do EDDB-PTC (Gosser, 1993).

Figura 14 – (A) Voltamogramas cíclicos registrados para $49,60 \mu\text{mol L}^{-1}$ de HCTZ e $29,76 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LSNP em diferentes velocidades de varredura ($5 - 300 \text{ mV s}^{-1}$) em solução tampão BR (pH 3,0) usando o EDDB-PTC. Dependência linear entre (B) I_{pa} e $v^{1/2}$ e (C) $\log I_{pa}$ e $\log v$ para ambos os anti-hipertensivos.



Fonte: o próprio autor

O número de elétrons transferidos nos processos de oxidação do LSNP e HCTZ foi estimado usando os dados extraídos do voltamograma cíclico registrado em 50 mV s^{-1} (Figura 14(A), linha verde) e a equação $E_{pa} - E_{pa/2} = 47,7 \text{ mV}/\alpha n$, com o valor teórico de 0,5 para α (Bard; Faulkner, 2001; Gosser, 1993). A reação de oxidação do LSNP na superfície do EDDB-PTC ocorre com a transferência de 1 elétron para AP1 e 1 elétron para AP2 (voltamograma não apresentado). Levando em consideração os resultados aqui obtidos e outros já relatados na literatura para outras moléculas com

similaridades de estrutura com o LSNP (Goti; Nannelli, 1996; Queiroz et al., 2018; Valezi et al., 2014) , é sugerido que sua oxidação é promovida em duas consecutivas e irreversíveis etapas de transferência de carga. A primeira etapa da oxidação é independente do pH do meio e se processa com a remoção de um elétron da amina secundária (AP1) com a formação de um radical, enquanto que a segunda etapa é dependente do pH do meio e envolve a remoção de um elétron e um próton do mesmo grupo (AP2) formando uma ligação dupla. Já para a reação eletródica da HCTZ, o valor de n foi estimado em 2 elétrons, corroborando com o mecanismo de oxidação proposto por Razak, no qual a HCTZ é oxidada a clorotiazida na superfície do eletrodo de carbono vítreo (Razak, 2004).

5.2.2 Otimização dos Parâmetros Instrumentais das Técnicas de VPD e VOQ e Curvas Analíticas para Determinação Individual de LSNP

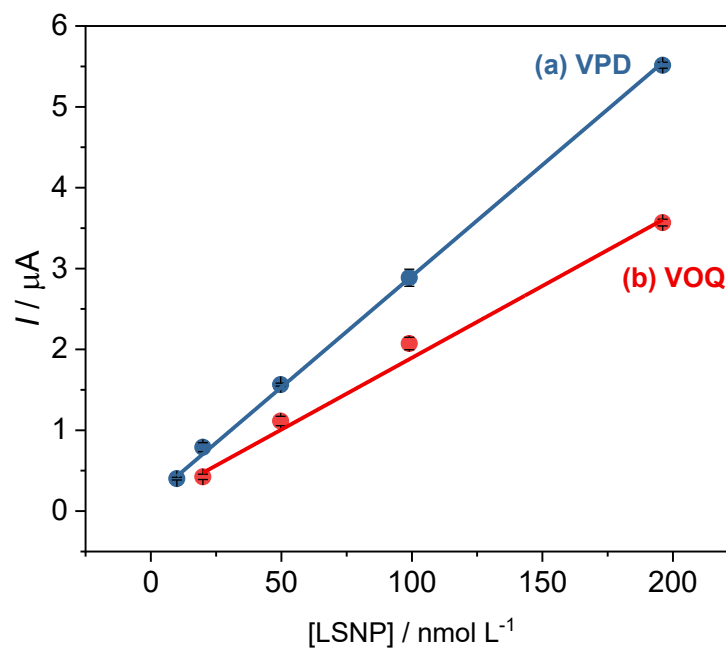
Os parâmetros instrumentais das técnicas de VPD e VOQ foram investigados a fim de se obter as melhores respostas analíticas para determinação individual do LSNP. O estudo foi realizado para $0,50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LSNP em solução tampão BR (pH 2,0). A faixa de valores estudada para cada parâmetro instrumental das técnicas voltamétricas e seus valores selecionados estão dispostos na Tabela 8. A partir dos resultados obtidos no referente estudo, foram construídas curvas analíticas de calibração externa empregando as duas técnicas voltamétricas e seus respectivos parâmetros instrumentais otimizados (Figura 15). Os parâmetros analíticos correspondentes a cada curva analítica estão reunidos na Tabela 9. De acordo com os dados experimentais obtidos, a VPD apresentou melhor desempenho analítico, exibindo maior sensibilidade e limite inferior da faixa de trabalho com concentração menor, sendo então escolhida para a determinação individual de LSNP.

Tabela 8 – Parâmetros instrumentais das técnicas de VPD e VOQ estudados e valores ótimos selecionados para determinação individual de LSNP usando o EDDB-PTC em solução tampão BR (pH 2,0).

Técnica	Parâmetros	Faixa estudada	Valor selecionado
VPD	a (mV)	10 – 250	200
	t_m (ms)	2 – 6	4
	v (mV s ⁻¹)	10 – 80	70
VOQ	a (mV)	10 – 120	100
	ΔE_s (mV)	1 – 9	6
	f (Hz)	10 – 110	100

Fonte: o próprio autor

Figura 15 – Curvas analíticas de padrão externo para LSNP construídas com os dados experimentais extraídos dos (a) voltamogramas de pulso diferencial (9,99 – 196 nmol L⁻¹) e (b) voltamogramas de onda quadrada (20,0 – 196 nmol L⁻¹) registrados em solução tampão BR (pH 2,0) usando o EDDB-PTC.



Fonte: o próprio autor

Tabela 9 – Parâmetros analíticos obtidos para as curvas analíticas de padrão externo construídas para determinação individual de LSNP usando as técnicas VPD e VOQ.

Parâmetros analíticos	Técnica	
	VPD	VOQ
Potencial de pico / V	1,51	1,57
Faixa linear / nmol L ⁻¹	9,99 – 196	20,0 – 196
R ²	0,9989	0,9912
Sensitividade / $\mu\text{A L nmol}^{-1}$	0,0272	0,0177
Intercepto / μA	0,1948	0,1620

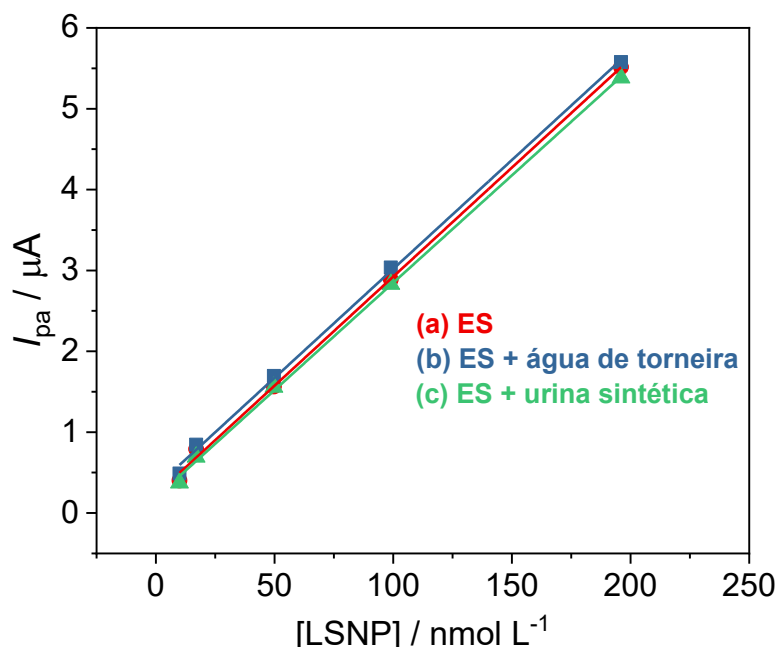
Fonte: o próprio autor

5.2.3 Validação do Método Voltamétrico para Determinação Individual de LSNP

5.2.3.1 Efeito de matriz e seletividade

O efeito de matriz foi investigado pela construção de curvas analíticas de adição de padrão obtidas na presença de volumes adequados das amostras (água de torneira e urina sintética) (Figura 16) e comparando seus respectivos valores de coeficientes angulares com aquele obtido para a curva analítica de padrão externo construída em eletrólito suporte. Seguindo as recomendações do INMETRO (INMETRO, 2020), os intervalos de confiança (IC) para cada coeficiente angular foram calculados em um nível de confiança de 95% (Tabela 10). Como pode ser observado, a sobreposição de ambos os valores de IC dos coeficientes angulares indica que não há diferença significativa entre eles em um nível de 95% de confiança, e, por isso, o efeito de matriz não é significativo na resposta voltamétrica. Também, essa informação pode ser observada graficamente pelo paralelismo aproximado entre as curvas analíticas (Figura 16). Por consequência, a determinação de LSNP em urina e água de torneira pode ser realizada pelo método de calibração externa usando a regressão linear obtida para a curva analítica de padrão externo construída no eletrólito suporte solução tampão BR (pH 2,0).

Figura 16 – Curvas analíticas de (a) padrão externo, (b) adição de padrão na presença de água de torneira e (c) adição de padrão na presença de urina sintética para LSNP ($9,99 - 196 \text{ nmol L}^{-1}$) plotadas a partir dos voltamogramas de pulso diferencial registrados usando o EDDB-PTC.



Fonte: o próprio autor

Tabela 10 – Intervalos de confiança dos coeficientes angulares das curvas analíticas de padrão externo e adição de padrão construídas em solução tampão BR (pH 2,0) na ausência e presença de água de torneira e urina sintética.

Curva analítica	Coefficiente angular	IC ^a
Padrão externo	0,0272	0,0266 – 0,0277
Adição de padrão (presença de água de torneira)	0,0271	0,0266 – 0,0277
Adição de padrão (presença de urina sintética)	0,0268	0,0262 – 0,0273

^aNível de 95% de confiança

Fonte: o próprio autor

A seletividade do método proposto foi estudada a partir do cálculo do DPR dos sinais analíticos das medidas voltamétricas realizadas para LSNP na ausência e presença de compostos possivelmente interferentes (Thompson; Ellison; Wood, 2002). Para o estudo foram consideradas as espécies comumente presentes nas amostras a serem analisadas, como por exemplo, glicose, ureia, epinefrina, ácido úrico, dopamina, creatinina, ácido ascórbico, cafeína e triptofano. Os experimentos

foram conduzidos para 99,9 nmol L⁻¹ de LSNP e concentração dos compostos interferentes na razão molar (LSNP:interferente) de 1:100. Os resultados obtidos no estudo (Tabela 11) mostraram que a glicose, ureia, epinefrina, ácido úrico, dopamina e creatinina não exerceram efeito significativo na resposta do LSNP (DPR ≤ 5,29%) para a razão molar 1:100. No entanto, valores mais elevados de DPR (≥ 15,9%) foram observados quando o LSNP estava na presença de cafeína, ácido ascórbico e triptofano. Por isso, razões molares de 1:1 e 1:10 também foram estudadas para esses compostos e os resultados não demonstraram interferência significativa na resposta voltamétrica do LSNP (DPR ≤ 6,92%). Sendo assim, o método proposto pode ser aplicado apenas nas amostras cujas concentrações dessas espécies não excedam os limites estabelecidos no estudo.

Tabela 11 – Valores de DPR calculados para as variações na resposta voltamétrica do LSNP na ausência e presença de compostos possivelmente interferentes

Composto interferente	Razão molar (LSPN:interferente)		
	1:100	1:1	1:10
Glicose	2,72%	-	-
Ureia	2,43%	-	-
Epinefrina	5,29%	-	-
Ácido úrico	4,22%	-	-
Dopamina	4,98%	-	-
Creatinina	4,91%	-	-
Ácido ascórbico	26,2%	3,19%	6,92%
Cafeína	15,9%	4,97%	6,06%
Triptofano	55,8%	3,35%	4,69%

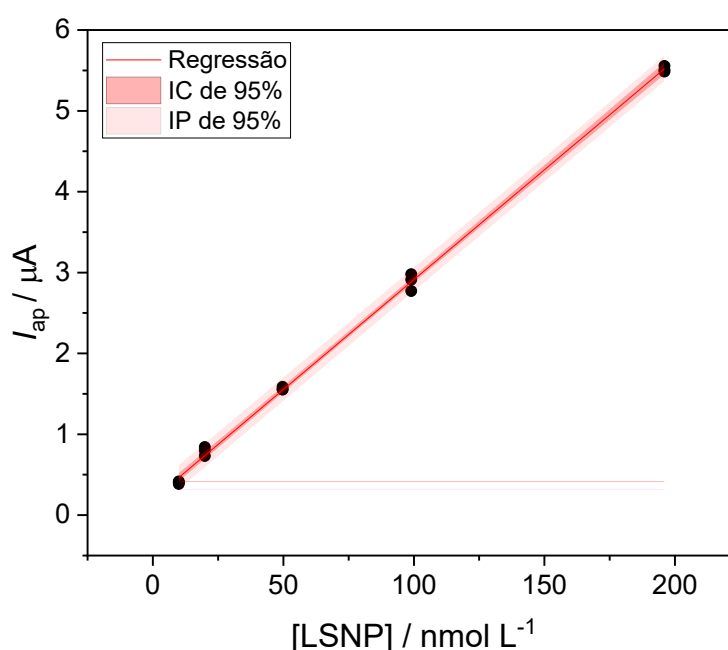
Fonte: o próprio autor

5.2.3.2 Linearidade

Considerando o melhor desempenho analítico da VPD para a determinação individual de LSNP, como discutido na seção 5.2.2 foi realizado um estudo para avaliar a linearidade da curva analítica obtida através da calibração com padrão externo. O ajuste linear aplicado aos dados de calibração pode ser observado na Figura 17. A princípio é possível verificar que o aumento da intensidade de corrente com o aumento

da concentração do analito apresentou indicativos de comportamento linear. Ainda, apesar de alguns pontos não estarem incluídos dentro do IC, todos estão dentro do IP, indicando que a regressão apresenta grau de incerteza adequado no nível de 95% de confiança.

Figura 17 – Curvas analítica de padrão externo para LSNP construída com os dados experimentais extraídos dos voltamogramas de pulso diferencial (9,99 – 196 nmol L⁻¹) registrados em solução tampão BR (pH 2,0) usando o EDDB-PTC.



Fonte: o próprio autor

O conjunto de dados de calibração foi submetido a uma análise de regressão linear simples e a um teste de falta de ajuste no nível de 95% de confiança para verificar a linearidade na faixa de concentrações adotada (Tabela 12). Os resultados obtidos pela análise de regressão linear confirmaram que o modelo linear é adequado aos dados experimentais. O F_{reg} determinado foi maior do que o valor de $F_{crítico}$ indicando a significância da regressão, e o coeficiente de determinação (R^2) indicou que 99,89% da variabilidade dos dados é explicada pelo modelo linear.

Os gráficos de resíduos gerados (Figura 18) mostrou uma distribuição aleatória em torno de zero no gráfico de resíduos vs valor ajustado (Figura 18(A)) e ausência de padrões de distribuição no gráfico de resíduos vs ordem de observação (Figura

18(B)), indicando, respectivamente, que os resíduos são independentes entre si e apresentam variâncias homogênea. Ainda, a homogeneidade de variâncias foi confirmada por meio de um teste de Cochran no nível de 95% de confiança, no qual $C_{\text{observado}} = 0,6702$ foi menor que $C_{\text{crítico}} (0,05; 3;5) = 0,6838$. Além disso, o F_{faj} determinado foi menor que o $F_{\text{crítico}}$, indicando que não há evidências de falta de ajuste no modelo linear, podendo ser usado para explicar a relação entre a intensidade de corrente e a concentração do LSNP.

Por fim, a significância dos coeficientes da equação de regressão foi avaliada aplicando um teste t no nível de 95% de confiança. De acordo com os resultados, tanto o coeficiente linear quanto o angular foram estatisticamente significativos ($t_{\text{observado}} > t_{\text{crítico}}$) e devem ser incluídos no modelo segundo a equação: $I_{\text{pa}} / \mu\text{A} = 0,1948 + 0,0272 \times [\text{LSNP}] / \text{nmol L}^{-1}$.

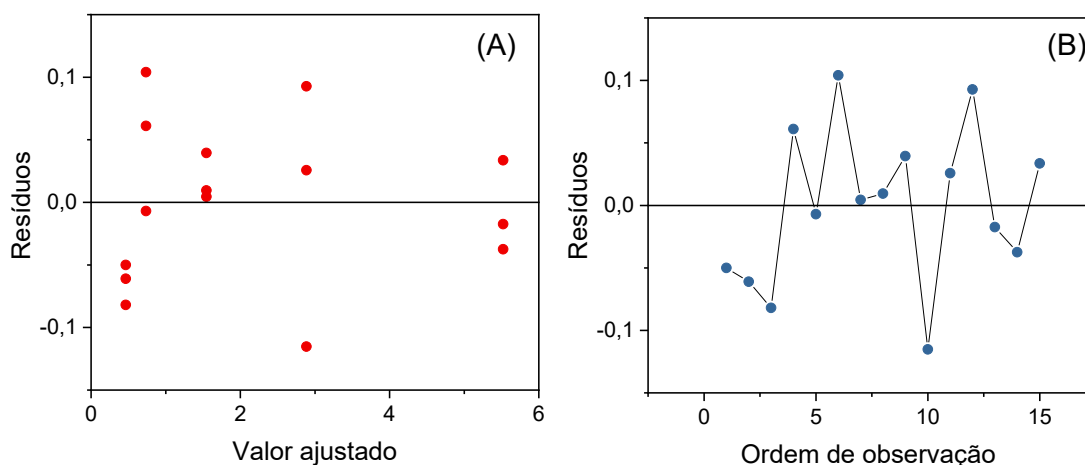
Tabela 12 – Resultados da análise de regressão linear da curva analítica de padrão externo para a determinação individual de LSNP no nível de 95% de confiança.

Regressão ^a		Falta de ajuste ^b		$S_{x/y}$	R^2 (%)
F_{reg}	p	F_{faj}	p		
12195,42	0,00	2,23	0,15	0,065	99,89
Coeficientes da reta de regressão					
Coeficiente linear ^c			Coeficiente angular ^c		
Valor	$t_{\text{observado}}$	p	Valor	$t_{\text{observado}}$	p
0,1948	7,82	0,00	0,0272	110,43	0,00

^a $F_{\text{crítico}} (0,05; 1;13) = 4,67$; ^b $F_{\text{crítico}} (0,05; 3;10) = 3,71$; ^c $t_{\text{crítico}} (0,025; 13) = 2,16$

Fonte: o próprio autor

Figura 18 – Gráficos de (A) resíduos vs valor ajustado e (B) resíduos vs ordem de observação plotados a partir da análise de regressão linear da curva analítica de padrão externo construída para a determinação de LSNP.



Fonte: o próprio autor

5.2.3.3 Limite de detecção e limite de quantificação

Os valores de LD e LQ calculados foram $3,05 \text{ nmol L}^{-1}$ e $9,24 \text{ nmol L}^{-1}$, respectivamente. Esses valores são inferiores à concentração do primeiro ponto da curva analítica, indicando que o LSNP pode ser detectado e quantificado com adequada precisão e exatidão dentro da faixa de trabalho adotada.

O método desenvolvido para a determinação individual de LSNP usando o EDDB-PTC demonstrou excelente desempenho analítico, alcançando valores de LD menores do que aqueles reportados em outros métodos voltamétricos empregando diferentes eletrodos de trabalho (Tabela 13), exceto quando comparado com o método de voltametria de onda quadrada de redissolução catódica (VOQ-RC) usando o EPC (Al-Farhan et al., 2021). Sem a necessidade de etapas adicionais ao longo do procedimento, como preparação do eletrodo, preparo de amostra complexo, derivatização do analito, limpeza da superfície do eletrodo e etapas de pré-concentração do analito na superfície do eletrodo, o EDDB se destaca por sua simplicidade e sensibilidade para a determinação de LSNP em diferentes amostras, provando ser uma ótima alternativa para esse propósito.

Tabela 13 – Comparação entre as características analíticas do método proposto para determinação individual de LSNP empregando o EDDB-PTC e de outros métodos voltamétricos reportados na literatura.

Eletrodo	Técnica	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Faixa de trabalho ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
EGM	Polarografia	0,045	0,25 – 4,93	(El-Enany; Belal; Al-Ghannam, 2003)
EGPM	VPD-RA	0,072	1,43 – 3,55	(Razak et al., 2003)
β -CD/OG-SO ₃ H/ECV	VPD	0,11	0,21 – 190,4	(Hasanzadeh et al., 2014)
EPC	VOQ-RC	0,00022	0,00871 – 0,1089	(Al-Farhan et al., 2021)
EDDB-PTC	VPD	0,000305	0,00999 – 0,1960	Este trabalho

Abreviações: VPD-RA – Voltametria de pulso diferencial de redissolução anódica; VOQ-RC – Voltametria de onda quadrada de redissolução catódica.

Fonte: o próprio autor

5.2.3.4 Precisão

A precisão do método foi avaliada em termos de repetibilidade (10 medidas realizadas no mesmo dia) e precisão intermediária (5 medidas realizadas ao longo de 5 dias diferentes), e os resultados foram expressos em valores de DPR. O estudo foi conduzido para $49,8 \text{ nmol L}^{-1}$, resultando em valores de DPR de 3,43% e 3,39% para repetibilidade e precisão intermediária, respectivamente. Esses resultados demonstraram que o método proposto apresenta adequada precisão para a determinação de LSNP, uma vez que os valores de DPR obtidos se enquadram dentro da recomendação até 15% de variação para amostras farmacêuticas (Stöckl; D'Hondt; Thienpont, 2009).

Ainda, vale destacar que a precisão alcançada pelo método voltamétrico desenvolvido é comparável com aquelas de métodos cromatográficos previamente reportados na literatura, nos quais valores de DPR foram determinados na faixa de 1,12 a 10% para repetibilidade e de 1,7 a 11% para precisão intermediária (Qin et al., 2012; Sagirli; Ersoy, 2004; Tsakalof; Bairachtari; Georgarakis, 2003).

5.2.3.5 Exatidão

A exatidão do método para determinação individual de LSNP foi averiguada pela análise de amostras reais (formulações farmacêuticas comerciais, urina sintética fortificada e água de torneira fortificada).

Medicamentos comerciais com diferentes dosagens de LSNP foram analisados pelo método voltamétrico pela interpolação dos dados de intensidade de corrente obtidas para as amostras na curva de calibração externa. As mesmas amostras também foram analisadas pelo método titulométrico reportado na literatura (Basavaiah; Tharpa; Vinay, 2010). Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 14.

Tabela 14 – Resultados obtidos na análise da quantidade de LSNP nas amostras farmacêuticas usando o método voltamétrico e o método titulométrico.

Rotulado	Quantidade de LSNP (mg comprimido ⁻¹)		E ^b
	Voltametria ^a	Titulação ^a	
5	4,92 ± 0,24	5,20 ± 0,22	-5,38%
10	10,5 ± 0,2	10,4 ± 0,4	1,15%
20	20,4 ± 0,3	20,5 ± 0,5	-0,63%

^a Medidas realizadas em triplicata

^b E (erro relativo) = $100 \times [(voltametria - titulação)/titulação]$.

Fonte: o próprio autor

Aos dados experimentais foi aplicado o teste *t* pareado resultando em um valor de $t_{\text{calculado}} = -0,82$ menor que o valor de $t_{\text{crítico}} (0,025; 8) = 2,306$. Assim, não há evidências de diferenças estatísticas significativas entre os métodos em um nível de confiança de 95%.

Adicionalmente, estudos de adição e recuperação foram realizados nas amostras farmacêuticas. Para isso, três níveis de concentração de LSNP foram adotadas: 29,8; 79,2 e 128 nmol L⁻¹. A média de recuperação obtida foi de $100 \pm 4\%$ e está de acordo com a faixa recomendada de 80 – 110% pela AOAC (AOAC, 2023) para as concentrações utilizadas. Ainda, os resultados obtidos podem ser comparados com o de outros métodos reportados na literatura, como método voltamétrico (98,15 – 100,94%) (El-Enany; Belal; Al-Ghannam, 2003) e espectrofotométricos (99,86 – 100,5% e 98,75 – 100,45%) (Preetham; Sujana; Sankar, 2014; Raza; Ansari; Atta-ur-Rehman, 2005), destacando a boa exatidão do método para a determinação de LSNP em amostras farmacêuticas.

O método desenvolvido também foi aplicado para determinar LSNP em amostras de urina sintética e água de torneira fortificadas. Como discutido na seção 5.2.3.1, as taxas de recuperação (%) calculadas para as amostras fortificadas foram realizadas usando o método de calibração externa, uma vez que não foi observado efeito significativo de matriz. De acordo com os resultados organizados na Tabela 15, os valores médios das taxas de recuperação estão dentro da faixa recomendada de 80 – 110% para os níveis de concentração adotados no estudo (AOAC, 2023), demonstrando adequada exatidão do método na determinação de LSNP nessas amostras.

Os métodos cromatográficos desenvolvidos para determinação de LSNP

apresentaram taxas de recuperação no estudo da exatidão variando de 64,1 a 78,25% para amostras de urina (Sagirli; Ersoy, 2004; Wong; Charles, 1995) e de 65,8 a 72,2% para amostra de água (Wong; Charles, 1995). Sendo assim, é possível observar a excelente exatidão do método voltamétrico aqui reportado para determinação individual do anti-hipertensivo em amostras mais complexas.

Tabela 15 – Resultados obtidos na determinação individual de LSNP em água de torneira e urina sintética pelo método proposto

Amostra	Adicionado (nmol L ⁻¹)	Determinado ^a (nmol L ⁻¹)	Recuperação média ^b (%)
Água de torneira	0	não detectado	-
	20,0	20,2 ± 1,7	101
	49,7	51,8 ± 2,2	104
	99,0	104 ± 1,7	105
Urina sintética	0	não detectado	-
	20,0	20,7 ± 1,2	104
	49,7	47,5 ± 0,6	95,6
	99,0	93,2 ± 1,3	94,1

^an = 3; ^b $(C_1 - C_2/C_3) \times 100$

Fonte: o próprio autor

5.2.4 Otimização dos Parâmetros Instrumentais das Técnicas de VPD e VOQ e Curvas Analíticas para Determinação Simultânea de HCTZ e LSNP

As curvas analíticas foram construídas simultaneamente para HCTZ e LSNP usando as técnicas VPD e VOQ com os parâmetros instrumentais otimizados (Tabela 16). Os parâmetros analíticos obtidos para cada curva analítica estão reunidos na Tabela 17. Como pode ser observado, a VOQ forneceu curvas analíticas (Figura 19) com melhores resultados em termos de detectabilidade, curvas analíticas iniciando com concentrações menores, e maiores faixas de concentração de trabalho, sendo então escolhida para a determinação simultânea dos anti-hipertensivos.

Tabela 16 – Estudo dos parâmetros instrumentais das técnicas VPD e VOQ para determinação simultânea de HCTZ e LSNP usando o EDDB-PTC em solução tampão BR (pH 3,0).

Técnica	Parâmetros	Faixa estudada	Valor ótimo selecionado
VPD	a (mV)	10 – 140	110
	t_m (ms)	1 – 9	7
	v (mV s ⁻¹)	10 – 40	30
VOQ	a (mV)	10 – 70	60
	ΔE_s (mV)	1 – 6	4
	f (Hz)	10 – 50	20

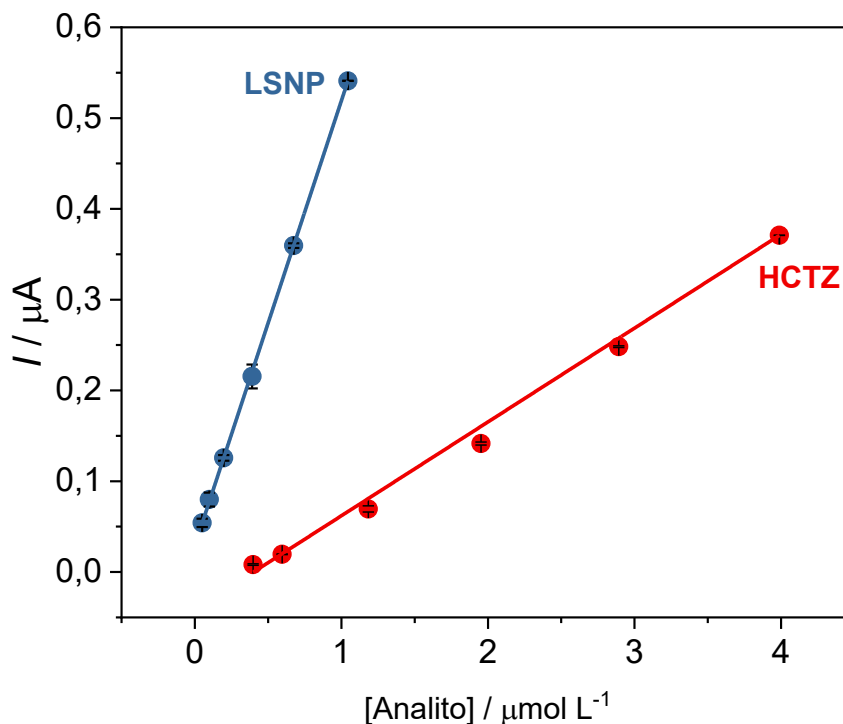
Fonte: o próprio autor

Tabela 17 – Parâmetros analíticos obtidos para as curvas analíticas construídas para determinação simultânea de HCTZ e LSNP usando as técnicas VPD e VOQ

Parâmetros analíticos	VPD		VOQ	
	HCTZ	LSNP	HCTZ	LSNP
Potencial de pico / V	1,23	1,57	1,20	1,57
Faixa linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	1,99 – 7,35	0,50 – 1,23	0,40 – 3,99	0,050 – 1,04
R^2	0,9963	0,9884	0,9953	0,9991
Sensitividade / $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$	0,250	0,321	0,102	0,489
Intercepto / μA	-0,365	0,0659	-0,0435	0,0293

Fonte: o próprio autor

Figura 19 – Curvas analíticas simultâneas construídas com os dados experimentais extraídos dos voltamogramas de onda quadrada ($a = 60 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $f = 20 \text{ Hz}$) para HCTZ ($0,40 - 3,99 \mu\text{mol L}^{-1}$) e LSNP ($0,050 - 1,04 \mu\text{mol L}^{-1}$) registrados em solução tampão BR (pH 3,0).



Fonte: o próprio autor

Ademais, curvas analíticas individuais para cada analito foram construídas na presença de uma concentração fixa do outro analito para avaliar se os processos de oxidação interferem entre si. De acordo com os dados experimentais obtidos, a relação linear entre intensidade de corrente e concentração para a determinação individual de HCTZ ($0,040 - 4,01 \mu\text{mol L}^{-1}$) na presença de $0,39 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LSNP pode ser expressa pela equação $I_{\text{HCTZ}} / \mu\text{A} = -0,0424 + 0,100 \times [\text{HCTZ}] / \mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,9930$) com a resposta do LSNP variando em 5,14%. Já para a determinação de LSNP ($0,049 - 1,07 \mu\text{mol L}^{-1}$) na presença de $2,91 \mu\text{mol L}^{-1}$, a relação segue a equação $I_{\text{LSNP}} / \mu\text{A} = 0,00222 + 0,493 \times [\text{LSNP}] / \mu\text{mol L}^{-1}$, com variação em 2,45% na resposta da HCTZ. Os coeficientes angulares determinados para as curvas analíticas individuais foram comparados com aqueles obtidos para determinação simultânea dos analitos por meio dos intervalos de confiança calculados para cada coeficiente angular em um nível de 95% de confiança (Tabela 18). A partir dos dados apresentados na Tabela 18, é possível observar a sobreposição dos valores dos coeficientes angulares

das curvas analíticas (simultânea e individual na presença do par) de ambos os analitos, indicando que não há evidências de diferenças significativas entre eles em um nível de 95% de confiança. Assim, é comprovado que o processo de oxidação de um anti-hipertensivo não interfere no processo de oxidação do outro, e por isso sua determinação simultânea pode ser realizada com exatidão e precisão adequadas.

Tabela 18 – Intervalos de confiança dos coeficientes angulares das curvas analíticas construídas simultaneamente para HCTZ e LSNP e individualmente para cada analito na presença do outro.

Analito	Simultânea		Um na presença do outro	
	Coeficiente angular	Intervalo de confiança ^a	Coeficiente angular	Intervalo de confiança ^a
HCTZ	0,102	0,0979 – 0,105	0,100	0,0957 – 0,105
LSNP	0,489	0,481 – 0,496	0,493	0,485 – 0,50

^aNível de confiança de 95%

Fonte: o próprio autor

5.2.5 Validação do Método Voltamétrico para Determinação Simultânea de HCTZ e LSNP

5.2.5.1 Limite de detecção e limite de quantificação

Os valores de LD determinados foram de 0,052 e 0,012 $\mu\text{mol L}^{-1}$, enquanto os valores de LQ foram de 0,16 e 0,037 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para HCTZ e LSNP, respectivamente. Esses valores são inferiores às concentrações iniciais usadas para construir as curvas analíticas, indicando que os anti-hipertensivos podem ser detectados e quantificados dentro da faixa de trabalho adotada.

Uma breve comparação com outros métodos reportados na literatura para determinação simultânea de HCTZ e LSNP (Tabela 19) revelou que o método voltamétrico aqui proposto apresentou excelentes resultados em termos de detectabilidade com menores valores de LD. Menores concentrações foram determinadas em amostras de plasma sanguíneo com o método empregando CL-EM/EM (Shah et al., 2017), porém é importante destacar que o método faz uso de extração em fase sólida e grandes quantidades de solvente orgânico para preparo da fase móvel. Ainda que o método voltamétrico desenvolvido empregando o EDDB

tenha sido aplicado apenas na determinação dos anti-hipertensivos em amostras farmacêuticas, a voltametria tem como grande vantagem a simplicidade de tratamento de amostra. Assim, como já reportado na literatura em outros estudos voltamétricos (Ali; Barzani; Yardım, 2022; Cetinkaya et al., 2021; Moraes et al., 2019), há evidências que o método proposto pode ser facilmente aplicado para determinar esses analitos em amostras de plasma sanguíneo após simples precipitação das proteínas da amostra usando pequenos volumes de solvente orgânico.

Ainda, com o intuito de demonstrar as excelentes características experimentais do método proposto, foi realizada uma comparação com alguns métodos espectrofotométricos, cromatográficos e voltamétrico encontrados na literatura (Tabela 19). De acordo com as informações apresentadas na Tabela 19, cada método dispõe de características desejáveis para análises. No entanto, o método descrito neste trabalho se destaca pela alta detectabilidade dos analitos, aliado a análises rápidas, simples, ambientalmente amigáveis e de baixo custo. Além disso, apresenta tratamento de amostra simplificado, envolvendo poucos procedimentos e uso mínimo de solventes orgânicos.

Os métodos espectrofotométricos listados na Tabela 19, apesar de também serem simples e usarem poucas quantidades de solventes orgânicos, requerem maior atenção no preparo de amostra, com etapas de filtrações e preparação de grandes volumes de soluções padrão. Então, em comparação, o método voltamétrico apresenta vantagem em relação a redução de consumo de reagentes e geração de resíduos. Por fim, ainda pode ser elencado a não necessidade de preparo, renovação e limpeza frequentes da superfície do eletrodo, o que simplifica o procedimento.

Todos esses pontos levantados podem ser considerados para classificar o método desenvolvido de acordo com os princípios da Química Analítica Verde (Gałuszka; Migaszewski; Namieśnik, 2013). Portanto, considerando todos esses métodos apresentados, é possível verificar que o método voltamétrico proposto usando o EDDB é o que mais se aproxima desses princípios.

Tabela 19 – Comparação do desempenho analítico e características experimentais do método voltamétrico proposto empregando o EDDB com alguns dos outros métodos espectrofotométricos, cromatográficos e voltamétrico encontrados na literatura

Técnica	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		Faixa de trabalho ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		Características
	HCTZ	LSNP	HCTZ	LSNP	
CLAE-UV (Erk; Kartal, 1999)	–	–	3,36 – 134,36	3,70 – 138,11	- Determinação em formulações farmacêuticas; - Uso de solvente orgânico (acetonitrila); - Preparo de amostra: fase móvel e filtração; - Tempo de análise: \approx 10 min.
Espectrofotometria (Erk; Kartal, 1999)	–	–	20,15 – 470,27	39,46 – 320,60	- Determinação em formulações farmacêuticas; - Uso de solvente orgânico (metanol); - Preparo de amostra: 100% metanol e filtração; - Tempo de análise: < 1 min
CLAE-FR-DAF (Padmini et al., 2013)	0,024	0,35	16,80 – 83,98	4,93 – 24,66	- Determinação em formulações farmacêuticas; - Uso de solventes orgânicos (acetonitrila; metanol); - Preparo de amostra: metanol e solução de acetato de amônio, vortex (5 min), centrifugação e filtração - Tempo de análise: \approx 10 min
CLAE-FR (Maslarska; Peikova; Tsvetkova, 2013)	0,025	0,17	83,98 – 839,77	123,31 – 986,47	- Determinação em formulação farmacêutica e amostra de dissolução; - Uso de solvente orgânico (acetonitrila);

					- Preparo de amostra: vórtex (5min) e filtração; - Tempo de análise: < 8 min
Espectrofotometria (Patel; Prabhu; Walia, 2015)	296,8 nm: 0,92 209,4 nm: 0,25	296,8 nm: 5,25 209,4 nm: 1,18	296,8 nm: 13,44 – 67,18 209,4 nm: 3,36 – 16,8	296,8 nm: 23,31 – 616,54 209,4 nm: 12,33 – 61,65	- Determinação em formulações farmacêuticas; - Uso de pequena quantidade de solvente orgânico (metanol); - Preparo de amostra: 10% metanol: solução tampão HCl, sonicação (10 min) e filtração; - Tempo de análise: < 1 min.
CL-EM/EM (Shah et al., 2017)	–	–	0,0017 – 0,84	0,0012 – 0,62	- Determinação em plasma sanguíneo humano; - Uso de solvente orgânico (acetonitrila; metanol); - Uso de padrão interno; - Preparo de amostra: extração em fase sólida; - Tempo de análise: 2 min (instrumental); - Determinação de concentrações muito baixas.
VPD (Valezi; Eisele; Sartori, 2017)	0,78	1,70	1,99 – 70,8	9,97 – 442	- Determinação em formulações farmacêuticas e água de torneira; - Uso de pequena quantidade de solvente orgânico (metanol); - Preparo da amostra: 40% metanol; - Requer a preparação do eletrodo e ativação

					após cada 30 medidas; - Tempo de análise: < 2 min
VOQ (Este estudo)	0,052	0,020	0,40 – 3,99	0,050 – 1,045	- Determinação em formulações farmacêuticas; - Uso de pequena quantidade de solvente orgânico (metanol); - Preparo de amostra: 50% metanol e sonicação (5 min); - Pré-tratamento eletroquímico da superfície do eletrodo uma vez por dia de trabalho (4 min); - Tempo de análise: < 1 min

Abreviações: CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência; RF – fase reversa; DAF – detector de arranjo de fotodiodos; CL – cromatografia líquida; EM – espectroscopia de massas.

Fonte: o próprio autor

5.2.5.2 Precisão

A precisão do método para determinação simultânea dos analitos foi avaliada da mesma maneira como mencionado acima, em termos de repetibilidade e precisão intermediária. Dois níveis de concentração dos analitos foram adotadas no estudo e a variação na resposta voltamétrica foi determinada pelo valor calculado de DPR (Tabela 20). Os resultados obtidos (DPR) estão de acordo com o valor máximo recomendado de 15% para amostras farmacêuticas (Stöckl; D'Hondt; Thienpont, 2009), indicando adequada precisão do método desenvolvido para determinação de HCTZ e LSNP.

Tabela 20 – Estudo de repetibilidade e precisão intermediária para determinação simultânea de HCTZ e LSNP.

Analito	Concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DPR (%)	
		Repetibilidade ^a	Precisão Intermediária ^b
HCTZ	0,060	3,38	6,70
LSNP	0,0099	3,76	8,10
HCTZ	2,89	1,38	2,56
LSNP	0,068	3,07	5,88

^aN = 10 medidas; ^bN = 5 medidas por dia durante 5 dias.

Fonte: o próprio autor

5.2.5.3 Exatidão

A exatidão do método foi validada pela análise de HCTZ e LSNP em amostra farmacêutica combinada disponível comercialmente com dosagem de 12,5 mg e 10 mg, respectivamente. A amostra foi analisada pelo método voltamétrico desenvolvido pela interpolação das intensidades de corrente obtidas na curva analítica de padrão externo previamente construída e os resultados foram comparados estatisticamente com aqueles obtidos pelo método cromatográfico (Erk; Kartal, 1999). De acordo com os resultados dispostos na Tabela 21, não foi observada diferença significativa nas variâncias dos métodos ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$) e a dosagem média dos anti-hipertensivos determinada pelos dois métodos são estatisticamente iguais em um nível de confiança de 95%, uma vez que o valor de $t_{\text{calculado}}$ foi menor que o valor de $t_{\text{crítico}}$. Portanto, o

método desenvolvido demonstrou adequada exatidão para a determinação simultânea de HCTZ e LSNP em amostras farmacêuticas.

Tabela 21 – Resultados obtidos para análise de HCTZ e LSNP em amostra farmacêutica comercial usando o método voltamétrico e cromatográfico.

Analito	Quantidade (mg cp ⁻¹)		$F_{\text{calculado}}^b$	$t_{\text{calculado}}^c$	
	Rotulado	Voltametria ^a			Cromatografia ^a
HCTZ	12,5	12,4 ± 0,1	12,8 ± 0,4	16,0	-1,68
LSNP	10,0	9,93 ± 0,11	10,2 ± 0,3	7,44	-1,46

^aRealizado em triplicata; ^b $F_{\text{crítico}(0,05;2;2)} = 19,00$; ^c $t_{\text{crítico}(0,025;4)} = 2,77$.

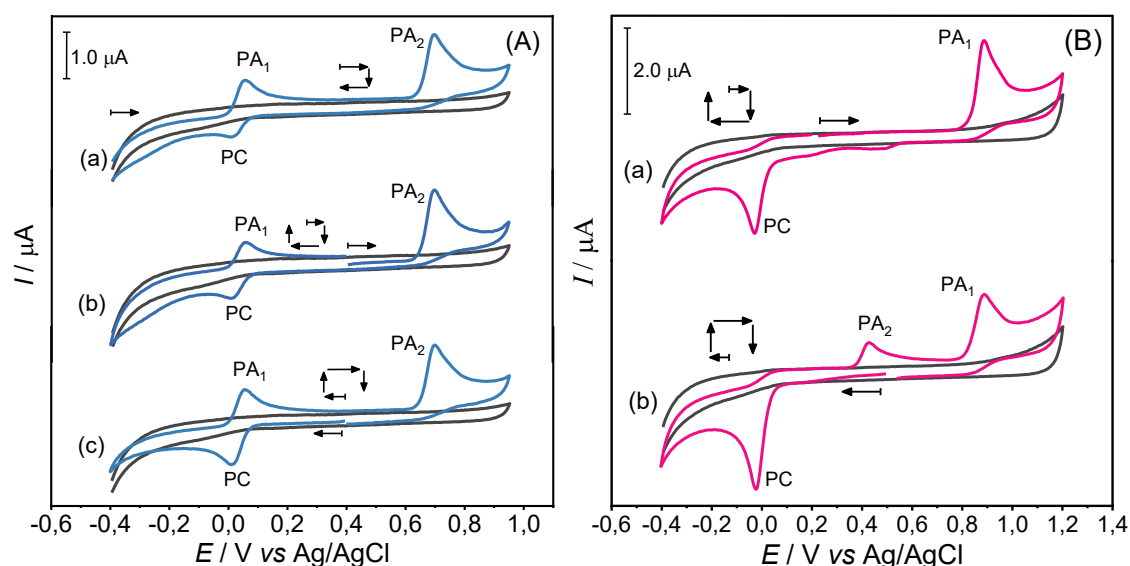
Fonte: o próprio autor

5.3 MÉTODO VOLTAMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS CORANTES ALIMENTÍCIOS ÍNDIGO CARMIM E CARMOISINA

5.3.1 Comportamento Eletroquímico do INDG e CRMS

Inicialmente, o comportamento eletroquímico dos corantes INDG e CRMS foi estudado individualmente na superfície do EDDB-PTC. Para isso, voltamogramas cíclicos (50 mV s⁻¹) foram registrados em solução de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ para 9,9 μmol L⁻¹ de cada analito sob diferentes configurações de varredura para avaliar também a dependência e reversibilidade de todos os processos eletroquímicos (Figura 20).

Figura 20 – (A) Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) registrados para $9,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de INDG em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ usando o EDDB-PTC: (a) varredura anódica começando em $-0,4 \text{ V}$; (b) varredura anódica começando em $+0,4 \text{ V}$; (c) varredura catódica começando em $+0,4 \text{ V}$. (B) Voltamogramas cíclicos (50 mV s^{-1}) registrados para $9,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CRMS em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ usando o EDDB-PTC: (a) varredura anódica começando em $+0,2 \text{ V}$; (b) varredura catódica começando em $+0,5 \text{ V}$.



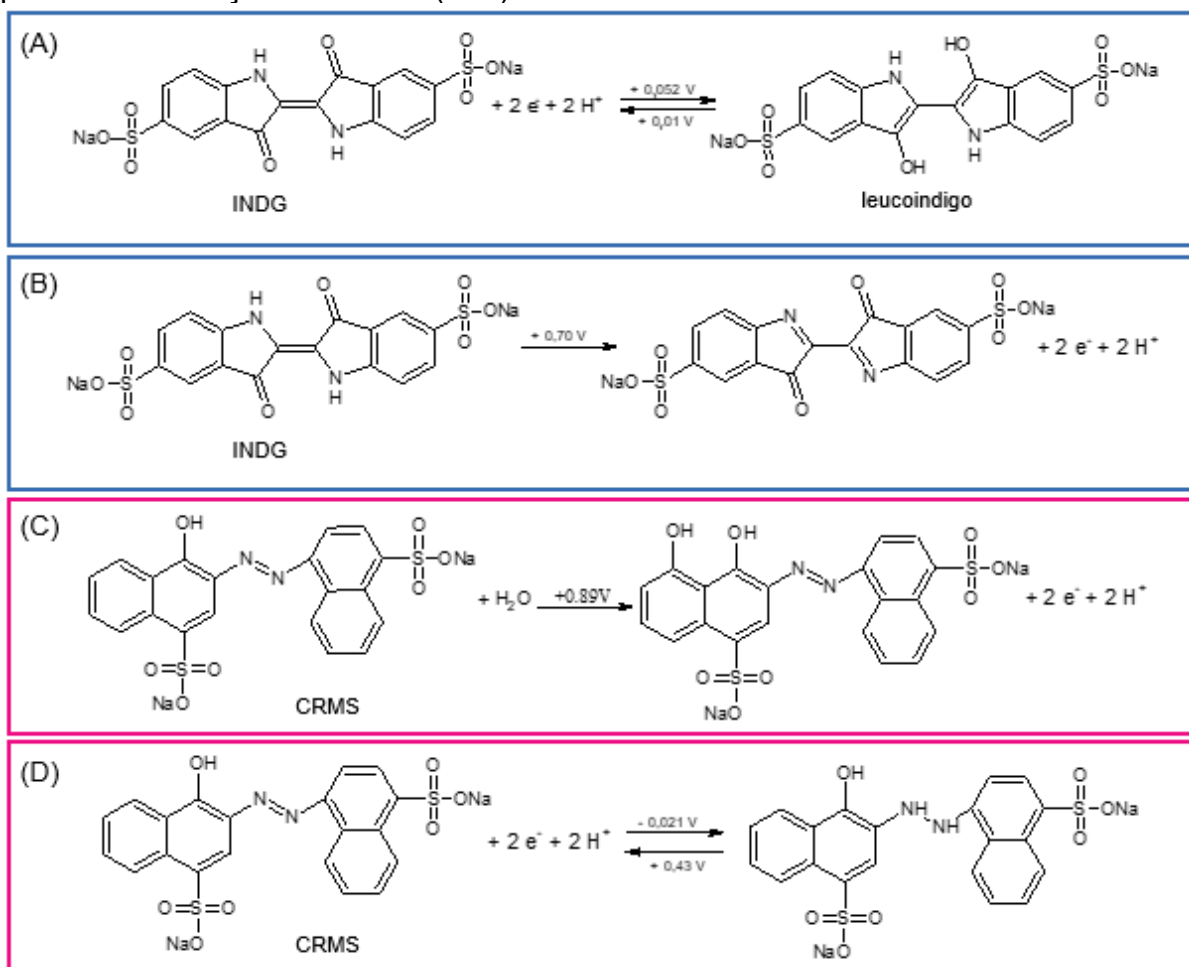
Fonte: o próprio autor

Como pode ser observado na Figura 20(A-a), o INDG exibe dois processos eletroquímicos, em concordância com um estudo previamente reportado na literatura usando um eletrodo de carbono vítreo modificado com o compósito Nafion/nanotubos de carbono de paredes múltiplas/sílica mesoporosa (Fogang et al., 2024). O primeiro é referente a um processo reversível com pico anódico (PA_1) em $+0,052 \text{ V}$ (vs Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$)) e pico catódico (PC) em $+0,01 \text{ V}$ envolvendo dois elétrons e dois prótons. De acordo com a literatura, esse processo é associado com a conversão redox leucoindigo/INDG (Figura 21(A)). O segundo processo é uma oxidação irreversível em $+0,70 \text{ V}$ (PA_2), que envolve dois elétrons e dois prótons (Figura 21(B)) (Fogang et al., 2024; Silva et al., 2016). Além disso, os outros voltamogramas registrados (Figura 20(A-b) e (A-c)) demonstraram a independência dos dois processos.

Por outro lado, o comportamento voltamétrico da CRMS observado nesse estudo (Figura 20(B)) está de acordo com reportado por Micheletti e colaboradores (Micheletti et al., 2020) usando também o EDDB. Inicialmente, um pico anódico irreversível pode ser observado em $+0,89 \text{ V}$ (vs Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$)) (PA_1), que é atribuído a um processo de oxidação envolvendo a transferência de dois elétrons e

dois prótons (Figura 21 (C)) (Sokolová et al., 2018). O segundo processo observado é relacionado à redução do grupo azo ($-N=N-$) da molécula (PC) em potencial $-0,021$ V, envolvendo dois elétrons e dois prótons (Sarvestani; Doroudi, 2022). Ainda, em uma varredura anódica subsequente (Figura 20(B-b)), um novo pico anódico pode ser observado em $+0,43$ V (PA_2), o qual é provavelmente devido a reoxidação do produto de redução de PC (Figura 21(D)) (Micheletti et al., 2020; Yu; Jia; Ma, 2004). Dado todos os processos eletroquímicos dos corantes no EDDB e suas características, apenas os processos de oxidação irreversíveis do INDG ($+0,70$ V; PA_2) e da CRMS ($+0,89$ V; PA_1) foram considerados para o desenvolvimento do método de determinação analítica.

Figura 21 – Reações estequiométricas propostas para o (A) processo eletroquímico reversível do INDG (PA_1 e PC), (B) oxidação irreversível do INDG (PA_2), (C) oxidação irreversível da CRMS (PA_1) e (D) redução irreversível da CRMS (PC) e reoxidação do produto de redução da CRMS (AP_2).



Fonte: o próprio autor

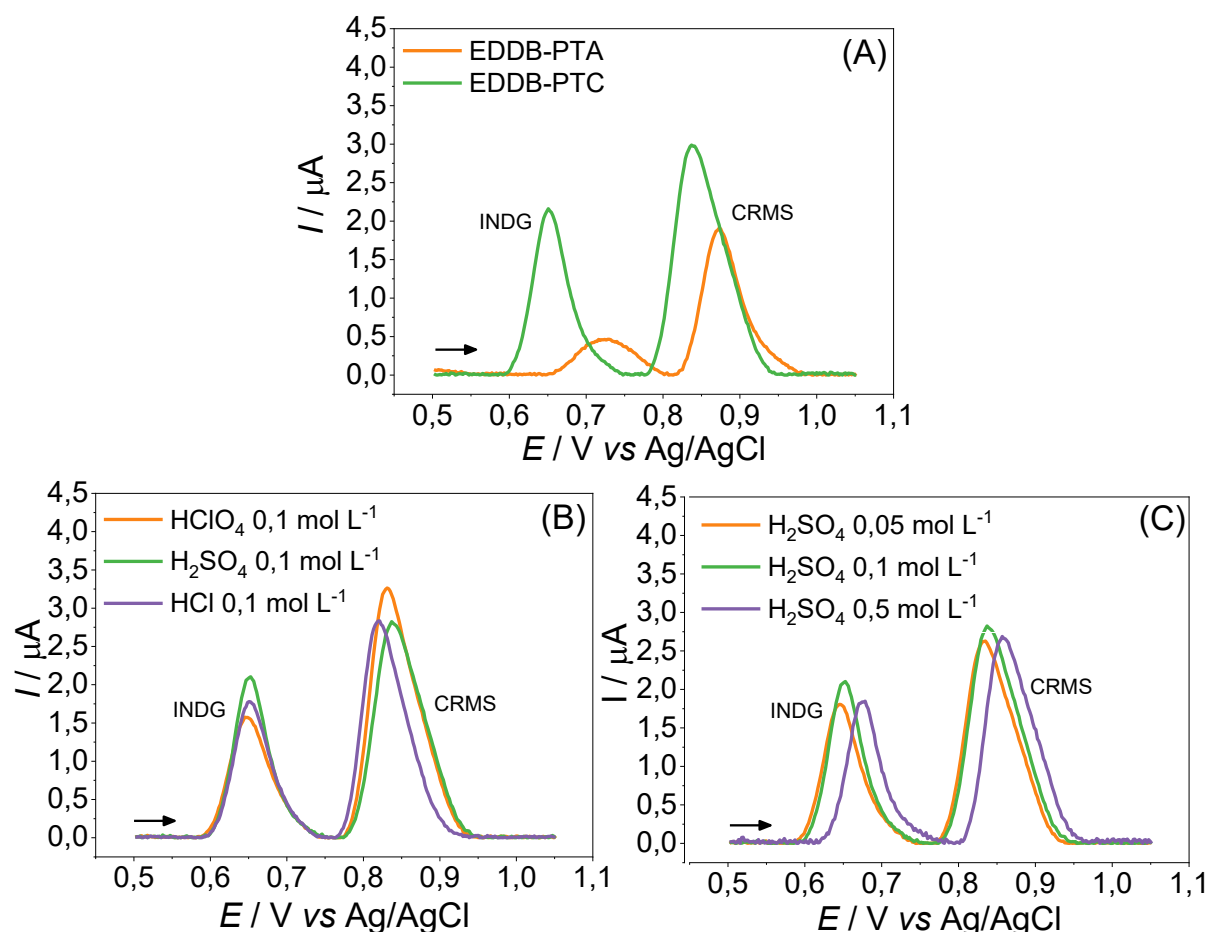
5.3.1.1 Influência do pré-tratamento superficial do EDDB e do eletrólito suporte

Primeiramente, foi avaliado a influência do tipo de pré-tratamento na resposta voltamétrica dos corantes. Assim, medidas eletroquímicas de INDG e CRMS foram realizadas utilizando um EDDB-PTA e um EDDB-PTC em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 22(A)).

Como pode ser observado, melhores respostas voltamétricas foram obtidas ao usar o EDDB-PTC, uma vez que os picos de oxidação de ambos os corantes apresentaram maior intensidade de corrente com maior separação de pico ($\Delta E_p = 0,19 \text{ V}$) e maior repetibilidade ($\text{DPR} \leq 0,57\%$). Conseqüentemente, o EDDB-PTC foi utilizado em todos os experimentos subsequentes.

Em seguida, o eletrólito suporte para determinação analítica dos corantes foi escolhido em duas etapas: um estudo dos ácidos na concentração fixa de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 22(B)) e a concentração do ácido escolhido (Figura 22(C)). De acordo com os voltamogramas apresentados, respostas voltamétricas semelhantes para os corantes foram obtidas em termos de intensidade de corrente e repetibilidade. No entanto, a solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi favorável para uma maior intensidade de corrente do pico de oxidação do INDG e, portanto, considerando seu tamanho menor em relação ao da CRMS, esta solução foi escolhida para determinação simultânea dos corantes.

Figura 22 – Voltamogramas de onda quadrada ($a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $f = 30 \text{ Hz}$) registrados para $9,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ de INDG e $9,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CRMS: (A) usando um EDDB-PTA e um EDDB-PTC; (B) usando um EDDB-PTC em soluções a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 , H_2SO_4 e HCl ; (C) usando um EDDB-PTC em solução de H_2SO_4 em diferentes concentrações ($0,05$, $0,1$ e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$).

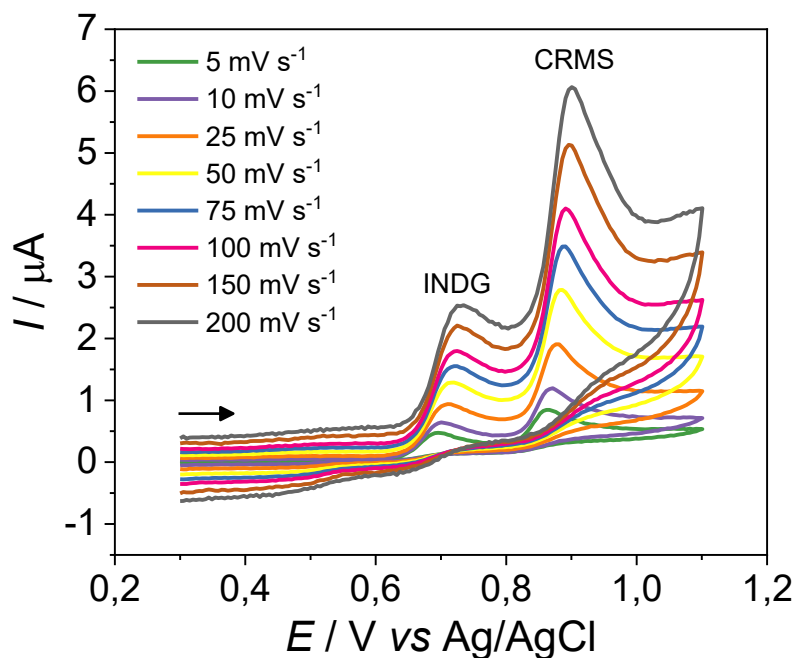


Fonte: o próprio autor

5.3.1.2 Estudo da velocidade de varredura

A influência da taxa de varredura na resposta eletroquímica dos corantes foi investigada por VC em uma solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando um EDDB-PTC. Neste experimento, voltamogramas cíclicos foram registrados individualmente para $9,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ de INDG e $9,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CRMS, variando a velocidade de 5 a 200 mV s^{-1} (Figura 23). Os resultados demonstraram que, para os processos de oxidação de ambos os corantes, o aumento da velocidade de varredura causa um aumento na intensidade da corrente. Esse aumento é acompanhado por um leve deslocamento nos potenciais de oxidação para valores mais positivos, indicativo de comportamento característico de processos irreversíveis (Gosser, 1993).

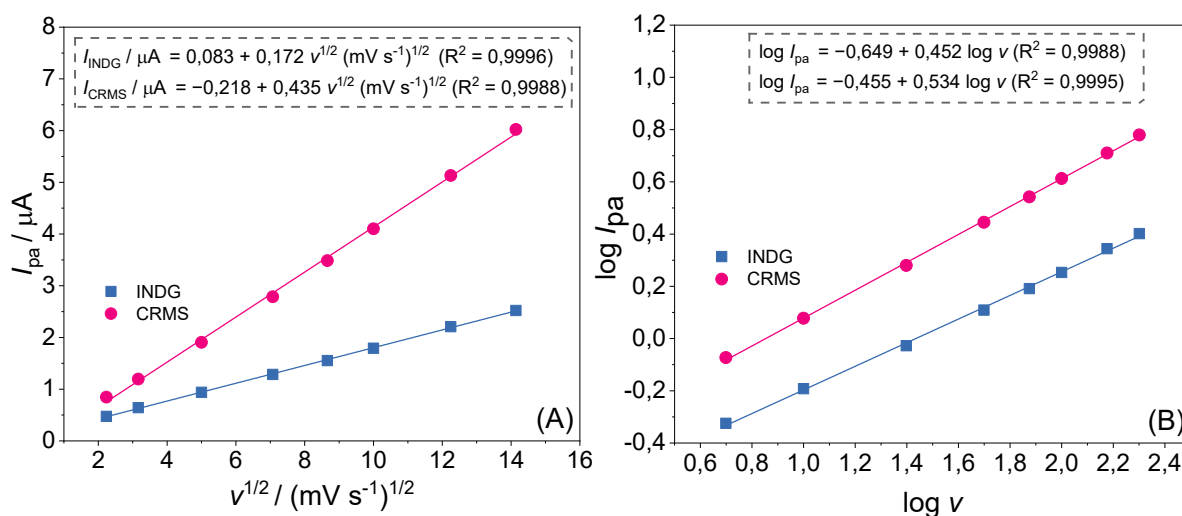
Figura 23 – Voltamogramas cíclicos registrados para $9,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ de INDG e $9,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CRMS em diferentes velocidades de varredura ($5 - 200 \text{ mV s}^{-1}$) em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ usando o EDDB-PTC.



Fonte: o próprio autor

Além disso, as características dos processos de oxidação irreversíveis do INDG e da CRMS foram determinadas observando o comportamento dos gráficos de I_{pa} vs $v^{1/2}$ e $\log I_{pa}$ vs $\log v$ (Figura 24) plotados com os dados extraídos dos voltamogramas obtidos no estudo da velocidade de varredura (Figura 23). A relação linear obtida entre I_{pa} e $v^{1/2}$ ($R^2 > 0,99$; Figura 24(A)) indica que a oxidação de ambos os corantes é controlada predominantemente pela difusão das espécies para a superfície do eletrodo. Essa característica é confirmada pelos coeficientes angulares de 0,452 (INDG) e 0,534 (CRMS) verificados no gráfico de $\log I_{pa}$ vs $\log v$ (Figura 24(B)) próximos do valor de 0,5 teoricamente estabelecido para processos eletroquímicos controlados por difusão (Gosser, 1993).

Figura 24 – Gráficos de (A) I_{pa} vs $v^{1/2}$ e (B) $\log I_{pa}$ vs $\log v$ plotados com os dados extraídos do estudo da velocidade de varredura (Figura 23).



Fonte: o próprio autor

5.3.2 Otimização dos Parâmetros Instrumentais das Técnicas de VPD e VOQ e Curvas Analíticas para Determinação Simultânea de INDG e CRMS

Os parâmetros instrumentais das técnicas de VPD e VOQ foram estudados individualmente objetivando alcançar o melhor desempenho analítico para a determinação simultânea de INDG e CRMS. A otimização foi realizada registrando voltamogramas para $4,95 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cada corante em uma solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, variando um parâmetro enquanto os outros dois eram mantidos fixos. A Tabela 22 resume a otimização realizada e exibe os parâmetros estudados, seus respectivos intervalos e os valores selecionados para cada parâmetro das técnicas voltamétricas.

Tabela 22 – Parâmetros instrumentais das técnicas de VPD e VOQ estudados e valores ótimos selecionados para determinação simultânea de INDG e CRMS usando o EDDB-PTC em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Técnica	Parâmetros	Faixa estudada	Valor ótimo selecionado
VPD	a / mV	10 – 100	80
	t_m / ms	1 – 5	3
	$v / \text{mV s}^{-1}$	10 – 40	30
VOQ	a / mV	10 – 50	20
	$\Delta E_s / \text{mV}$	1 – 4	2
	f / Hz	10 – 100	60

Fonte: o próprio autor

Em seguida, curvas analíticas de padrão externo para determinação simultânea de INDG e CRMS foram construídas usando as técnicas com os parâmetros otimizados. Os parâmetros analíticos das curvas resultantes de cada técnica foram comparados na Tabela 23. Como pode ser observado, a VPD apresentou melhor desempenho analítico em termos de detectabilidade e sensibilidade; portanto, todo o estudo de validação foi realizado utilizando a VPD.

Tabela 23 – Parâmetros analíticos obtidos para as curvas de padrão externo construídas para determinação simultânea de INDG e CRMS usando as técnicas VPD e VOQ.

Parâmetros analíticos	VPD		VOQ	
	INDG	CRMS	INDG	CRMS
Potencial de pico / V	0,72	0,92	0,75	0,96
Faixa linear / nmol L^{-1}	1,99 – 21,26	0,99 – 12,56	9,98 – 69,03	9,98 – 69,03
R^2	0,999	0,990	0,997	0,984
Sensibilidade / μA	0,0417	0,1492	0,0658	0,1075
Intercepto / $\mu\text{A L nmol}^{-1}$	0,1054	0,0738	0,00994	0,0055

Fonte: o próprio autor

Curvas analíticas de padrão externo individuais para cada corante, na ausência e presença do outro, foram construídas usando a VPD para avaliar possíveis interferências do processo de oxidação de um corante no processo do outro. Os coeficientes angulares de cada curva construída foram comparados por meio dos valores de IC calculados no nível de 95% de confiança (Tabela 24). Os dados

demonstram sobreposição do IC dos coeficientes angulares das curvas analíticas, para ambos os corantes, indicando que não há evidências de diferenças significativas entre as curvas analíticas.

Ainda, a variação do sinal voltamétrico para o corante com concentração fixa na construção da curva analítica do outro foi avaliada calculando o DPR das medidas. O valor de DPR calculado para a intensidade de corrente de 9,9 nmol L⁻¹ de INDG foi de 3,70%, enquanto que para 4,98 nmol L⁻¹ de CRMS, o valor determinado foi de 3,90%, confirmando assim que não há interferência de um corante na resposta do outro. Portanto, o método desenvolvido para a determinação simultânea dos corantes também pode ser utilizado para a determinação individual de cada um deles, em matrizes contendo ou não o outro.

Tabela 24 – Intervalos de confiança dos coeficientes angulares das curvas analíticas de padrão externo construídas simultaneamente para INDG e CRMS, e individualmente para um corante na ausência e presença do outro.

Curva Analítica	INDG		CRMS	
	Coefficiente angular	IC ^a	Coefficiente angular	IC ^a
Simultânea	0,1054	0,1036–0,1073	0,0738	0,0693–0,0783
Individual (presença do outro)	0,1065	0,1044–0,1087	0,0741	0,0702–0,0781
Individual (ausência do outro)	0,1041	0,1020–0,1063	0,0791	0,0756–0,0826

^anível de 95% de confiança

Fonte: o próprio autor

5.3.3 Validação do Método Voltamétrico para Determinação Simultânea de INDG e CRMS

5.3.3.1 Efeito de matriz e seletividade

O efeito de matriz das amostras de água de rio e de água de torneira na determinação simultânea de INDG e CRMS foi avaliado. Para isso, curvas analíticas simultâneas foram construídas na presença de cada amostra no eletrólito suporte

(adição de padrão à matriz da amostra). Em seguida, os coeficientes angulares foram comparados com aqueles da curva analítica construída no eletrólito de suporte puro (calibração por padrão externo) utilizando os valores de IC calculados em um nível de 95% de confiança (INMETRO, 2020). Como mostrado na Tabela 25, a sobreposição dos valores de IC indica que o efeito de matriz não é significativo na resposta voltamétrica dos corantes. Sendo assim, sua quantificação simultânea pode ser realizada pelo método de calibração externa utilizando a regressão linear obtida a partir da curva analítica construída no eletrólito de suporte (H_2SO_4 0,1 mol L^{-1}).

Tabela 25 – Intervalos de confiança dos coeficientes angulares das curvas analíticas de padrão externo e adição de padrão construídas em solução de H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} na ausência e presença de água de rio e água de torneira.

Curva analítica	INDG		CRMS	
	Coef. angular	IC ^a	Coef. angular	IC ^a
Padrão externo	0,1054	0,1036–0,1073	0,0738	0,0693–0,0783
Adição de padrão (presença de água de rio)	0,1038	0,1015–0,1060	0,0759	0,0738–0,0779
Adição de padrão (presença de água de torneira)	0,1040	0,1015–0,1065	0,0763	0,0724–0,0802

^anível de 95% de confiança

Fonte: o próprio autor

Além disso, foi realizado um estudo de seletividade para avaliar o impacto de diversos compostos potencialmente interferentes no sinal analítico dos corantes (intensidade de corrente e/ou potencial de pico) (Thompson; Ellison; Wood, 2002). Os compostos selecionados para o estudo foram cuidadosamente escolhidos com base na probabilidade de estarem presentes nas amostras em análise. Especificamente, para as amostras ambientais (água de torneira e água de rio), outros corantes alimentícios (amarelo crepúsculo, tartrazina, vermelho 40 e amaranço) e certos íons (NH_4^+ , NO_3^- , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} e Mn^{2+}) foram investigados. Já para as amostras de bebidas, os mesmos corantes foram examinados juntamente com outros aditivos alimentares (ácido tartárico, ácido cítrico, sacarose e ácido ascórbico). O estudo envolveu o registro de voltamogramas de pulso diferencial para 9,8 nmol L^{-1} de INDG e 9,8 nmol L^{-1} de CRMS na ausência e presença de cada composto interferente em

proporções molares de 1:1, 1:10, 1:100, 1:1000 e 1:10000. A avaliação foi realizada calculando o DPR das correntes de oxidação dos analitos em ambas as condições (Tabela 26).

No geral, íons e aditivos alimentares não interferem significativamente no sinal voltamétrico dos corantes ($\text{DPR} \leq 8,35\%$). No entanto, interferências notáveis podem ocorrer para alguns compostos em concentrações mais altas, como NO_3^- (1:10000), Fe^{2+} (1:1000 e 1:10000) e ácido ascórbico (1:10000), que causaram alterações superiores a 13,96%.

Em relação aos outros corantes alimentícios investigados, é necessário maior atenção. Esses corantes são moléculas eletroativas que podem apresentar diversos processos eletroquímicos (Silva; Wong; Fatibello-Filho, 2020; Tran et al., 2019; Zhang et al., 2022), e, assim, exibir picos de oxidação que se sobrepõem aos do INDG e da CRMS. Conforme observado na Tabela 26, em concentrações iguais às de INDG e CRMS, nenhum dos outros corantes estudados induziu alterações significativas nos sinais voltamétricos dos analitos ($\text{DPR} \leq 6,10\%$), exceto o amarantho, que interferiu na resposta da CRMS ($\text{DPR} = 23,10\%$). Porém, em concentrações mais altas desses corantes, as respostas voltamétricas do INDG e da CRMS sofreram alterações mais substanciais, com DPR superior a 10,47%. Apesar desses resultados, a determinação simultânea de INDG e CRMS continua viável em amostras de alimentos e águas ambientais. Tipicamente, as concentrações de corantes nessas amostras são baixas, não ultrapassando os limites estabelecidos neste estudo.

Tabela 26 – Valores de DPR calculados para as variações na resposta voltamétrica do INDG e da CRMS na ausência e presença de compostos possivelmente interferentes.

Composto interferente	Razão Molar (INDG:Interferente)					Razão Molar (CRMS:Interferente)				
	1:1	1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:1	1:10	1:100	1:1000	1:10000
NO ₃ ⁻	-	1,30	2,90	5,79	13,96	-	0,56	1,52	1,28	2,39
NH ₄ ⁺	-	3,08	2,47	2,00	1,19	-	1,76	0,70	0,17	1,22
Cu ²⁺	-	1,49	4,00	4,65	4,32	-	0,42	2,70	3,29	4,87
Zn ²⁺	-	1,99	3,34	2,89	6,51	-	0,07	1,15	1,12	1,80
Fe ²⁺	-	4,77	2,83	73,98	99,80	-	1,62	0,03	70,77	94,71
Fe ³⁺	-	4,41	4,35	3,15	4,11	-	4,15	0,43	4,23	2,78
Mn ²⁺	-	0,15	0,52	2,80	0,72	-	5,36	4,91	2,30	3,35
Ácido tartárico	-	2,02	0,63	3,02	8,35	-	1,51	1,70	0,86	0,23
Ácido cítrico	-	0,08	1,88	4,37	7,80	-	1,07	2,58	2,97	1,75
Sacarose	-	1,00	2,12	0,60	5,37	-	0,24	0,96	2,89	0,92
Ácido ascórbico	-	0,43	2,83	1,54	52,06	-	0,37	0,46	64,38	66,81
Amarelo crepúsculo	3,84	5,42	56,16	-	-	1,16	41,68	109,79	-	-
Tartrazina	4,39	10,47	49,56	-	-	1,82	1,78	1,46	-	-
Vermelho 40	5,14	27,77	100,4	-	-	2,90	56,72	125,14	-	-
Amaranto	6,10	25,63	107,81	-	-	23,10	102,58	133,50	-	-

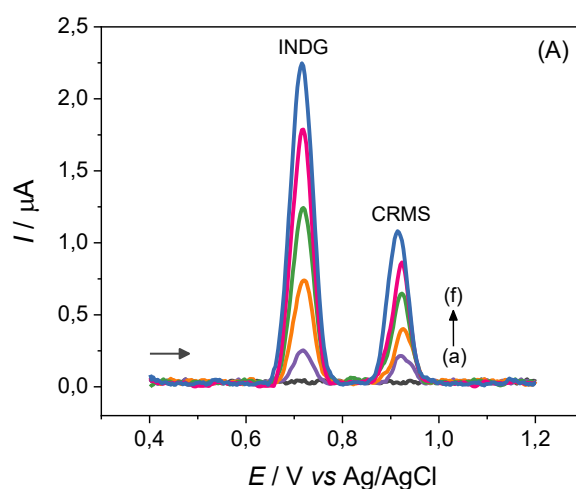
Fonte: o próprio autor

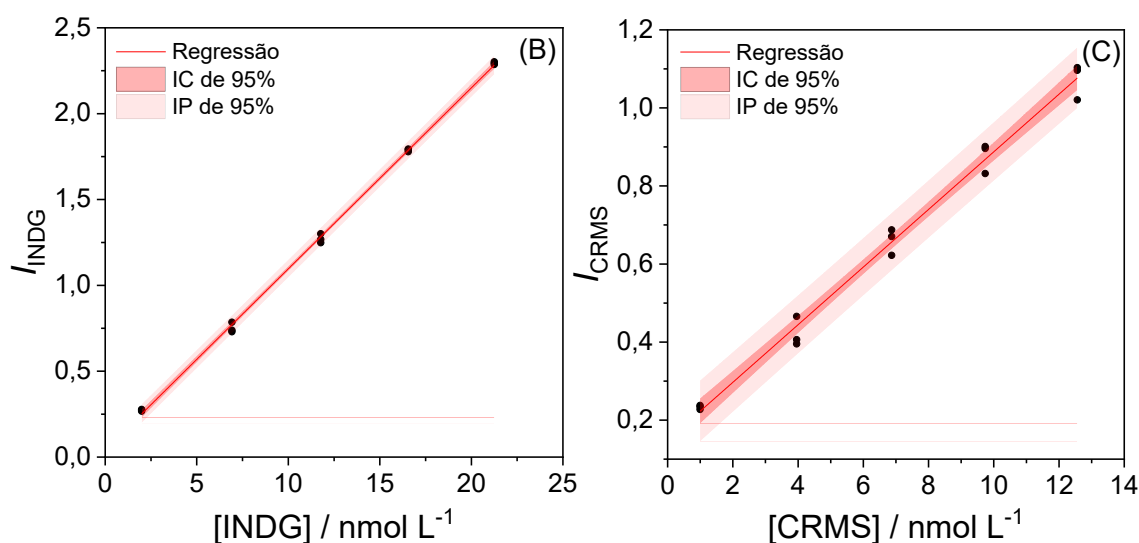
5.3.3.2 Linearidade

Considerando o melhor desempenho analítico da VPD para a determinação simultânea dos corantes, conforme discutido na seção 5.3.2, foi realizado um estudo para avaliar a linearidade da curva analítica obtida por meio de calibração com padrão externo.

Os voltamogramas de pulso diferencial registrados para diferentes concentrações de INDG e CRMS em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando o EDDB-PTC (Figura 25(A)) demonstraram um aumento na intensidade de corrente dos processos de oxidação dos corantes proporcional ao aumento de suas concentrações. Assim, um ajuste linear foi aplicado aos dados extraídos dos voltamogramas, e as curvas analíticas resultantes são apresentadas nas Figuras 25(B) e (C). Vale destacar que, embora alguns resultados tenham ficado fora IC, todos estão contidos dentro do IP, indicando que a regressão exibiu um nível adequado de incerteza no nível de 95% de confiança.

Figura 25 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial ($a = 80 \text{ mV}$, $t_m = 3 \text{ ms}$ e $v = 30 \text{ mV s}^{-1}$) registrados em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ usando o EDDB-PTC para: (a) eletrólito suporte; $1,99 \text{ nmol L}^{-1}$ de INDG e $0,99 \text{ nmol L}^{-1}$ de CRMS; (c) $6,92 \text{ nmol L}^{-1}$ de INDG e $3,96 \text{ nmol L}^{-1}$ de CRMS; (d) $11,78 \text{ nmol L}^{-1}$ de INDG e $6,87 \text{ nmol L}^{-1}$ de CRMS; (e) $16,55 \text{ nmol L}^{-1}$ de INDG e $9,74 \text{ nmol L}^{-1}$ de CRMS; (f) $21,26 \text{ nmol L}^{-1}$ de INDG e $12,56 \text{ nmol L}^{-1}$ de CRMS. (B) e (C) Curvas analíticas de padrão externo para INDG e CRMS plotadas com os dados extraídos dos voltamogramas de pulso diferencial da Figura 25(A), incluindo o IC e IP no nível de 95% de confiança.





Fonte: o próprio autor

Foi realizada uma análise de regressão linear simples (nível de 95% de confiança) nos dados experimentais para avaliar a linearidade dentro da faixa de concentração adotada (Tabela 27). Os resultados indicaram que a regressão no modelo linear é significativa, pois os valores de F_{reg} observados são maiores que o valor de $F_{\text{crítico}}$. Os coeficientes de determinação (R^2) das curvas analíticas de padrão externo para INDG e CRMS foram de 99,91% e 98,98%, respectivamente. Esses valores representam as porcentagens de variabilidade dos dados explicadas pelo modelo linear ajustado. Os gráficos de resíduos (Figura 26) sugerem que os resíduos seguem uma distribuição normal, são independentes entre si (Figura 26(A) e (C)) e apresentam homogeneidade das variâncias (Figura 26(B) e (D)). Além disso, o teste de Cochran aplicado confirmou a homoscedasticidade das variâncias, uma vez que os valores de $C_{\text{observado}}$ para INDG e CRMS de 0,5172 e 0,3426, respectivamente, foram menores do que o $C_{\text{crítico}(0,05;3;5)}=0,6838$. Assim, esses resultados demonstram a adequabilidade da aplicação de um modelo de regressão linear simples aos dados de calibração.

Além disso, o teste de falta de ajuste, aplicado a um nível de 95% de confiança de 95% ($F_{\text{faj}} < F_{\text{crítico}(0,05; 3;10)}$), confirma que o modelo linear não apresentou falta de ajuste significativa. Isso reafirma a adequação do modelo para explicar a relação entre a intensidade da corrente e a concentração do analito.

Por fim, a significância dos coeficientes da equação de regressão foi avaliada utilizando o teste t , também a um nível de 95% de confiança. Conforme mostrado na

Tabela 27, tanto os coeficientes lineares quanto angulares foram considerados estatisticamente significativos ($t_{\text{observado}} > t_{\text{crítico}}$). Consequentemente, devem ser incluídos nos modelos de acordo com as seguintes equações: $I_{pa} / \mu\text{A} = 0,0417 + 0,1054 \times [\text{INDG}] / \text{nmol L}^{-1}$ e $I_{pa} / \mu\text{A} = 0,1492 + 0,0738 \times [\text{CRMS}] / \text{nmol L}^{-1}$.

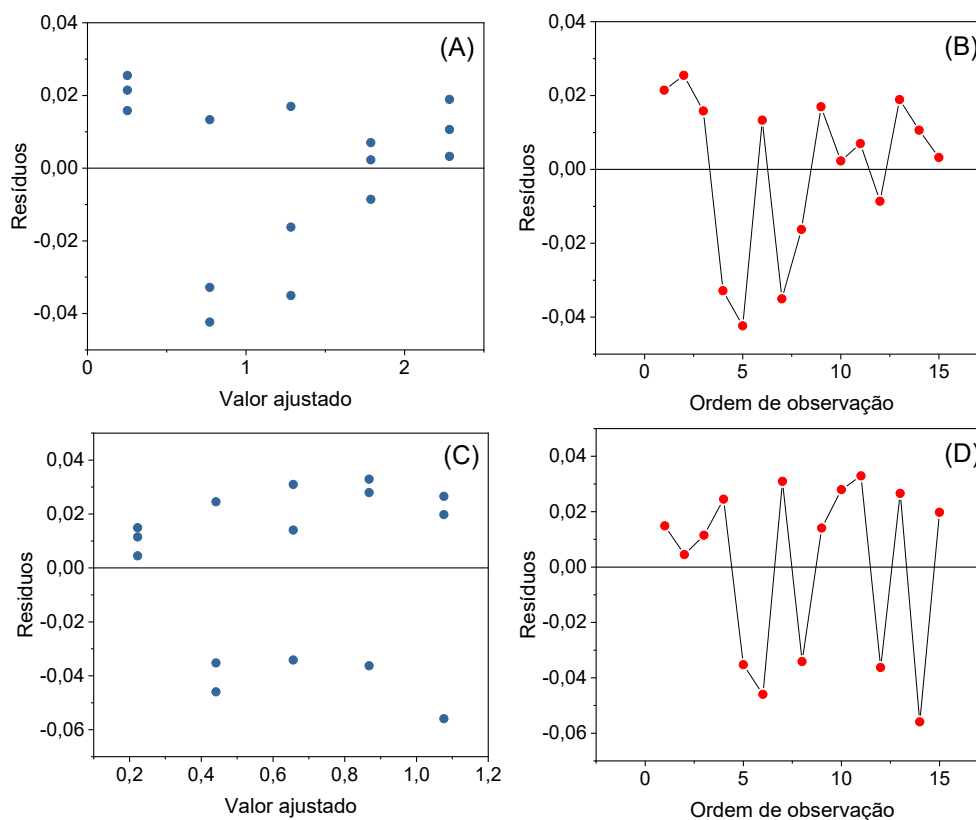
Tabela 27 – Resultados da análise de regressão linear da curva analítica de padrão externo para a determinação simultânea de INDG e CRMS no nível de 95% de confiança.

Parâmetros		INDG	CRMS
Regressão	$F_{\text{reg}}^{\text{a}}$	14794,53	1264,07
	p	0,00	0,00
Falta de ajuste	$F_{\text{faj}}^{\text{b}}$	3,22	0,45
	p	0,07	0,73
S_{x/y}		0,0229	0,0329
R² (%)		99,91	98,98
Coeficiente linear	Valor	0,0417	0,1492
	$t_{\text{observado}}^{\text{c}}$	3,55	9,03
	p	0,004	0,00
Coeficiente angular	Valor	0,1054	0,0738
	$t_{\text{observado}}^{\text{c}}$	121,63	35,55
	p	0,00	0,00

^a $F_{\text{crítico}}(0,05;1;13)=4,67$; ^b $F_{\text{crítico}}(0,05;3;10)=3,71$; ^c $t_{\text{crítico}}(0,025;13)=2,16$

Fonte: o próprio autor

Figura 26 – Gráficos de (A e C) resíduos vs valor ajustado e (B e D) resíduos vs ordem de observação plotados a partir da análise de regressão linear da curva analítica de padrão externo construída para a determinação simultânea de INDG e CRMS, respectivamente.



Fonte: o próprio autor

5.3.3.3 Limite de detecção e limite de quantificação

Os valores de LD determinados foram 0,598 e 0,273 nmol L⁻¹, enquanto os valores de LQ foram 1,812 e 0,827 nmol L⁻¹ para INDG e CRMS, respectivamente. Esses valores são menores do que as concentrações iniciais usadas para construir as curvas analíticas, indicando que os corantes podem ser detectados e quantificados dentro da faixa de trabalho adotada.

Ainda, os valores de LD obtidos no estudo foram comparados com aqueles relatados na literatura para a determinação cromatográfica simultânea de INDG e CRMS (Tabela 28). Os dados organizados na tabela mostram que a voltametria combinada com o EDDB oferece detectabilidade comparável à cromatografia, apresentando valores de LD inferiores aos dos métodos relatados anteriormente. Embora o método desenvolvido por Gholami e colaboradores (Gholami et al., 2021)

apresente um LD menor, é notável que as concentrações mais baixas das faixas de trabalho são maiores do que as do método voltamétrico. Essa discrepância pode ser referente as diferenças nos métodos usados para calcular o LD. Conseqüentemente, os baixos valores de LD alcançados pelo método voltamétrico o tornam uma excelente alternativa para a análise de corantes em várias amostras.

Tabela 28 – Comparação entre o método voltamétrico desenvolvido e outros métodos cromatográficos relatados na literatura para a determinação simultânea de INDG e CRMS.

Técnica	INDG / $\mu\text{mol L}^{-1}$		CRMS / $\mu\text{mol L}^{-1}$		Ref.
	Faixa de trabalho	LD	Faixa de trabalho	LD	
CLAE-FR-DAD	0,0536 – 81,484	0,0173	0,0259 – 110,0	0,00866	(Minioti; Sakellariou; Thomaidis, 2007)
CLAE-DAD	0,268 – 8,577	0,107	0,199 – 19,903	0,179	(Dixit; Khanna; Das, 2010)
CLAE-UV	2,144 – 21,443	0,172	3,981 – 49,758	2,23	(Khanavi et al., 2012)
UPLC-PDA	0,536 – 107,216	0,214	0,498 – 99,516	0,199	(Yang; Zhang; Shao, 2014)
CLAE-DAD-IT-TOF/EM	0,435 – 43,744	0,219	0,147 – 47,967	0,0239	(Li et al., 2015)
CLAE-FR-UV	10,722 – 107,216	1,205	9,952 – 99,516	1,738	(Mazdeh et al., 2016)
CLAE-DAD	0,107 – 5,447	0,0686	0,0995 – 5,055	0,0935	(Zahedi et al., 2020)
CLAE-DAD	0,150 – 107,216	0,0429	0,0398 – 99,516	0,00995	(Hamidi; Nemati; Lotfipour, 2021)
CLAE-PDA	0,0107 – 2,144	0,0000858	0,00995 – 1,99	0,0000398	(Gholami et al., 2021)
CLAE-DAD	1,0722 – 21,443	0,101	0,995 – 19,903	0,0975	(Palianskikh et al., 2022)
VPD/EDDB-PTC	0,00199 – 0,0213	0,000598	0,00099 – 0,0126	0,000273	Este trabalho

Abreviações: FR – fase reversa; DAD – detector de arranjo de diodos, do inglês diode array detector; PDA – detector de arranjo de fotodiodos, do inglês photodiode array detector; IT-TOF – do inglês ion trap time of flight; EM – espectrometria de massas.

Fonte: o próprio autor

5.3.3.4 Precisão

A precisão do método foi avaliada calculando o DPR das medidas voltamétricas de dois níveis de concentração para cada corante. Os resultados obtidos no estudo foram organizados na Tabela 29 e demonstraram precisão adequado do método para determinação de INDG e CRMS, uma vez que todos os valores de DPR calculados estão abaixo do limite máximo recomendado de 21%, conforme as diretrizes da AOAC (AOAC, 2023), para esses níveis de concentração.

A precisão estimada do método desenvolvido é comparável à dos métodos cromatográficos relatados na literatura para a determinação dos corantes em diferentes produtos alimentícios. Os valores de DPR para esses métodos cromatográficos variaram entre 0,34 e 7,04% para repetibilidade e entre 0,5 e 6,77% para precisão intermediária (Dixit; Khanna; Das, 2010; Gholami et al., 2021; Hamidi; Nemati; Lotfipour, 2021; Mazdeh et al., 2016; Minioti; Sakellariou; Thomaidis, 2007; Yang; Zhang; Shao, 2014; Zahedi et al., 2020). Esses valores são próximos aos obtidos pelo método desenvolvido, o que demonstra que o método voltamétrico usando o EDDB-PTC também apresenta boa precisão para determinação de INDG e CRMS.

Tabela 29 – Estudo de repetibilidade e precisão intermediária para determinação simultânea de INDG e CRMS.

Analito	Concentração (nmol L ⁻¹)	DPR (%)	
		Repetibilidade ^a	Precisão intermediária ^b
INDG	6,92	3,16	4,28
CRMS	3,96	2,86	5,74
INDG	16,55	1,68	3,91
CRMS	9,74	2,59	4,38

^an = 10 medidas; ^bn = 5 medidas por dia durante 5 dias

Fonte: o próprio autor

5.3.3.5 Exatidão

Testes de recuperação foram conduzidos para avaliar a exatidão do método

desenvolvido para a determinação simultânea de INDG e CRMS em amostras ambientais fortificadas. Esses experimentos foram realizados para quatro níveis de concentração de cada corante, cobrindo as faixas de trabalho das curvas analíticas estabelecidas para o método (Tabela 30). Considerando que as recuperações obtidas variaram de 97,0 a 104,5%, e que estão dentro da faixa recomendada de 60–115%, conforme estipulado pela diretriz da AOAC para os níveis de concentração adotados (AOAC, 2023), é possível observar que o método apresenta exatidão adequada para determinação simultânea dos corantes em amostras de águas.

Tabela 30 – Resultados do teste de recuperação para o estudo de exatidão do método desenvolvido para determinação simultânea de INDG e CRMS em amostras de água.

Amostra	INDG			CMSN		
	Adicionado (nmol L ⁻¹)	Determinado ^a (nmol L ⁻¹)	Recuperação média (%) ^b	Adicionado (nmol L ⁻¹)	Determinado ^a (nmol L ⁻¹)	Recuperação média (%) ^b
Água de torneira	0	não detectado	–	0	não detectado	–
	4,00	4,06 ± 0,15	101,5	3,00	2,92 ± 0,11	97,2
	6,97	6,78 ± 0,23	97,3	4,98	4,90 ± 0,22	98,5
	11,85	11,64 ± 0,031	98,3	7,90	8,25 ± 0,17	104,5
	16,65	16,79 ± 0,21	100,9	10,77	10,75 ± 0,33	99,8
Água de rio	0	não detectado	–	0	não detectado	–
	4,00	3,92 ± 0,12	97,9	3,00	2,96 ± 0,11	98,7
	6,97	6,85 ± 0,055	98,3	4,98	5,15 ± 0,057	103,4
	11,85	11,50 ± 0,17	97,0	7,90	8,14 ± 0,11	103,0
	16,65	16,19 ± 0,14	97,2	10,77	10,60 ± 0,10	98,4

^an = 3; ^b(C₁–C₂/C₃)×100

Fonte: o próprio autor.

A exatidão do método desenvolvido também foi avaliada para a determinação individual de CRMS em amostras de bebidas (suco de uva e refrigerante de uva). O teor do corante nas amostras foi quantificado interpolando as respostas voltamétricas na curva de calibração externa do método. Além disso, as amostras também foram analisadas usando um método cromatográfico descrito na literatura (Minitoti; Sakellariou; Thomaidis, 2007). Os resultados foram então comparados estatisticamente a um nível de 95% de confiança (Tabela 31), não mostrando diferenças significativas nas variâncias dos métodos ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$) e nas concentrações dos analitos obtidas por ambos os métodos ($t_{\text{calculado}} < t_{\text{crítico}}$). Esses resultados indicam a exatidão adequada do método voltamétrico desenvolvido para a determinação de INDG e CRMS em amostras de bebidas industrializadas.

Ainda, considerando o limite máximo de CRMS permitido pela ANVISA de 50 mg L⁻¹ para bebidas gaseificadas e não gaseificadas, vale destacar que as amostras analisadas estão de acordo com a regulamentação (BRASIL, 2023).

Tabela 31 – Resultados obtidos na determinação voltamétrica e cromatográfica de CRMS em amostras de bebidas industriais.

Amostras	Concentração de CRMS (mg L ⁻¹) ^a		$F_{\text{calculado}}^b$	$t_{\text{calculado}}^c$
	Voltametria	Cromatografia		
Suco	30,08 ± 0,59	30,54 ± 0,15	15,907	1,33
Refrigerante	26,44 ± 0,68	26,09 ± 0,23	8,827	-0,86

^a n = 3; ^b $F_{\text{crítico}}(0,05; 2; 2) = 19,00$; ^c $t_{\text{crítico}}(0,025; 4) = 2,776$.

Fonte: o próprio autor

5.4 ANÁLISE DE VERDURA DOS MÉTODOS VOLTAMÉTRICOS DESENVOLVIDOS

A veridura dos métodos voltamétricos propostos foi avaliada pelo software “Analytical GREENness calculator” desenvolvido por Pena-Pereira e colaboradores (Pena-pereira; Wojnowski; Tobiszewski, 2020). Para cada método desenvolvido foi realizada uma análise de veridura. No entanto, para a determinação dos anti-hipertensivos, devido às principais diferenças do ponto de vista da química verde estarem relacionadas ao tratamento da amostra, as análises foram realizadas de acordo com o tipo de amostra. Os pictogramas obtidos podem ser observados na Figura 27.

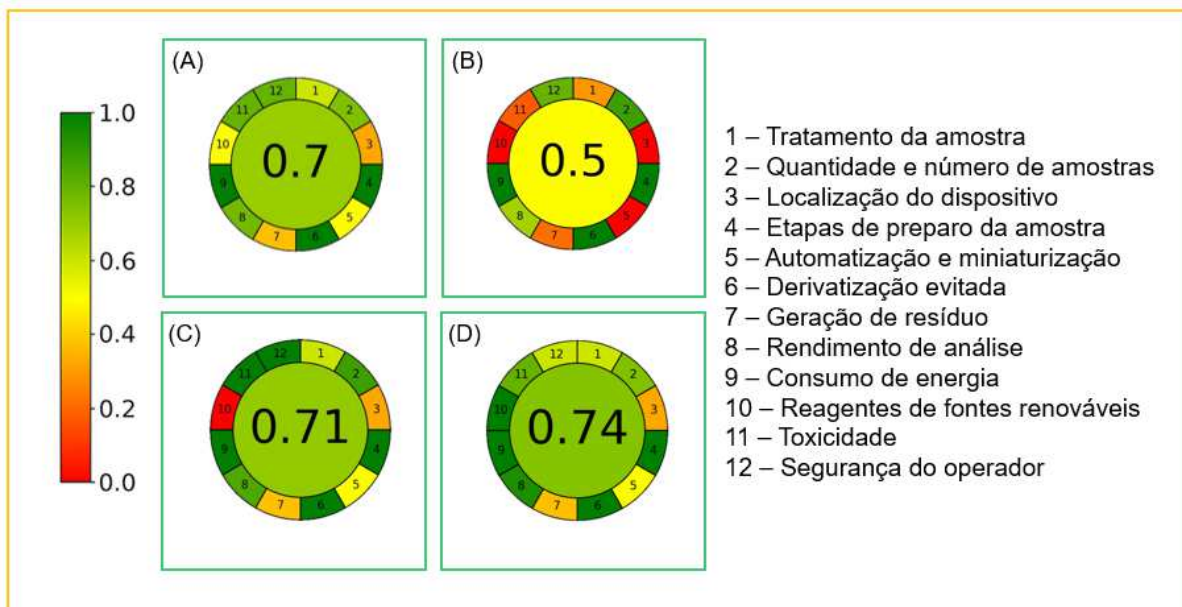
As principais diferenças relacionadas ao preparo das amostras e análises se dá pelo fato de que as amostras ambientais, biológicas e até mesmo alimentícias

(bebidas) poderem ser coletadas e analisadas diretamente no local ou nas proximidades usando sistemas portáteis, enquanto que as amostras farmacêuticas, embora simples de preparar (maceração, pesagem e dissolução), precisam ser coletadas na linha de produção e enviadas a um laboratório para análise. Essas diferenças causam impactos significativos nos resultados da análise de verdura como pode ser observado na Figura 27.

No entanto, de maneira geral, os procedimentos analíticos apresentaram alta pontuação de verdura, indicando seu baixo impacto ambiental. Esses resultados positivos estão de acordo com as expectativas uma vez que a voltametria é considerada uma técnica ambientalmente amigável devido às suas características que incluem, mas não se limitam a simplicidade, baixo consumo de reagentes e consequente reduzida geração de resíduos, portabilidade e baixo consumo de energia.

É importante destacar que o uso do EDDB aumenta significativamente o índice de verdura do método devido às suas características únicas. Seu excelente desempenho analítico elimina a necessidade de modificações superficiais para a determinação analítica de concentrações muito baixas dos analitos, enquanto sua baixa adsorção superficial dispensa etapas de limpeza. Além disso, sua ampla faixa de potencial de trabalho permite a determinação simultânea de múltiplos analitos. Diferentemente de eletrodos modificados, que requerem etapas adicionais de preparação e renovação da camada modificadora, maior consumo de reagente na síntese dos modificadores, e consequente maior geração de resíduo, o EDDB simplifica o processo analítico e reduz o impacto ambiental das análises.

Figura 27 – Resultados da análise de verdeza química pelo software “Analytical GREENness calculator” dos métodos voltamétricos propostos para (A) determinação individual de LOP, (B) determinação individual de LSNP e simultânea de LSNP e HCTZ em amostras farmacêuticas, (C) determinação individual de LSNP em amostras ambientais e biológicas e (D) determinação simultânea de INDG e CRMS.



Fonte: o próprio autor

6 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste trabalho demonstraram que métodos voltamétricos foram desenvolvidos e validados usando o EDDB para determinação individual de LOP e LSNP, bem como a determinação simultânea dos anti-hipertensivos HCTZ e LSNP e dos corantes alimentícios INDG e CRMS em diferentes amostras.

Os procedimentos voltamétricos provaram ser altamente eficientes, simples, rápidos e ambientalmente amigáveis para diferentes aplicações analíticas. A validação intralaboratorial confirmou a confiabilidade dos métodos, demonstrando seletividade, sensibilidade, precisão e exatidão adequadas.

Além disso, o baixo impacto ambiental dos métodos foi avaliado por meio de métrica de verdura disponível na literatura, destacando que a voltametria associada ao EDDB é uma excelente alternativa às ferramentas analíticas tradicionais, uma vez que suas características estão em total alinhamento com os princípios da Química Verde. Entre as vantagens das análises voltamétricas estão a simplicidade, baixo custo, rapidez e segurança, que somadas às características do EDDB agrega ainda mais caráter verde aos métodos desenvolvidos. O uso do EDDB elimina a necessidade de etapas adicionais de limpeza frequente, modificações ou renovações superficiais, bem como o consumo de reagentes associado à síntese de materiais modificadores, ao mesmo tempo em que garante elevado desempenho analítico.

Portanto, os métodos propostos neste trabalho representam alternativas promissoras do ponto de vista ambiental e analítico para o controle de qualidade de produtos farmacêuticos e alimentícios, monitoramento ambiental e análises clínicas.

REFERÊNCIAS

- ABDUSSALAM-MOHAMMED, Wanisa; ALI, Amna Qasem; ERRAYES, Asma O. Green Chemistry: Principles, Applications, and Disadvantages. **Chemical Methodologies**, v. 4, n. 4, p. 408–423, 1 jun. 2020.
- AHMED, Abdul Majeed Khorsheed; TAPABASHI, Nashwan Omar; ALLAH, Noor Mansoor Ghaib. Spectrophotometric Determination of Lisinopril Drug by Oxidative Coupling Reaction with 4-aminonaphthalene-1- sulfonic acid Reagent. **Tikrit Journal of Pure Science**, v. 26, n. 1, p. 53–59, 2021.
- AKTAS, Esra S.; ERSOY, Lale; SAGIRLI, Olcay. A new spectrofluorimetric method for the determination of lisinopril in tablets. **Il Farmaco**, v. 58, n. 2, p. 165–168, 2003.
- AL-FARHAN, Badriah Saad *et al.* Cathodic Stripping Voltammetric Determination of Lisinopril in Dosage Forms and Biological Fluids. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 65, n. 7, p. 421–428, 8 dez. 2021.
- ALI, Hoshyar Saadi; BARZANI, Hemn A. H.; YARDIM, Yavuz. An unmodified boron-doped diamond electrode for electroanalytical investigation and sensitive voltammetric quantification of antiviral drug famciclovir in the pharmaceutical formulation and serum samples. **Diamond and Related Materials**, v. 123, p. 108871, mar. 2022.
- AL-QASMI, Noha *et al.* The efficacy of the ZnO:α-Fe₂O₃ composites modified carbon paste electrode for the sensitive electrochemical detection of loperamide: A detailed investigation. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 783, p. 112–124, dez. 2016.
- ALTUNKAYNAK, Yalçın; ÖNAL, Günay; LEVENT, Abdulkadir. Application of boron-doped diamond electrode for rapid and sensitive voltammetric detection of vildagliptin in anionic surfactant medium. **Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly**, v. 154, n. 2, p. 181–190, 7 fev. 2023.
- AMCHOVA, Petra; KOTOLOVA, Hana; RUDA-KUCEROVA, Jana. Health safety issues of synthetic food colorants. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 73, n. 3, p. 914–922, dez. 2015.
- ANASTAS, Paul T. Green Chemistry and the Role of Analytical Methodology Development. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 3, p. 167–175, set. 1999.
- ANASTAS, Paul T.; WARNER, John C. **Green Chemistry: Theory and Practice**. New York: Oxford University Press, 1998.
- AOAC. Guidelines for Standard Method Performance Requirements. *In*: LATIMER, George W. (Org.). **Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL**. online edn ed. New York: Oxford University Press New York, 2023. p. AF-1–AF-18.
- ARAFAT, Tawfiq *et al.* Determination of loperamide in human plasma and saliva by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**,

v. 972, p. 81–88, dez. 2014.

ARDILA-LEAL, Leidy D. *et al.* A Brief History of Colour, the Environmental Impact of Synthetic Dyes and Removal by Using Laccases. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 3813, 22 jun. 2021.

ATLAS, Steven A. The Renin-Angiotensin Aldosterone System: Pathophysiological Role and Pharmacologic Inhibition. **Journal of Managed Care Pharmacy**, v. 13, n. 8 Supp B, p. 9–20, out. 2007.

BALUCHOVÁ, Simona *et al.* Recent progress in the applications of boron doped diamond electrodes in electroanalysis of organic compounds and biomolecules – A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1077, p. 30–66, 2019.

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

BASAVAI AH, K. *et al.* Spectrophotometric determination of lisinopril in pharmaceuticals using ninhydrin- a modified approach. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 17, n. 2, 14 jul. 2020.

BASAVAI AH, K.; THARPA, K.; VINAY, K. B. Titrimetric assay of lisinopril in aqueous and non-aqueous media. **Eclética Química**, v. 35, n. 2, p. 07–14, 2010.

BATISTA JUNIOR, Almir Custodio *et al.* Assessing Antiparasitic Compounds Persistence in Cattle Hair by DART-MS. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 36, n. 1, p. 201–208, 1 jan. 2025.

BEASLEY, Christopher A. *et al.* Development and validation of a stability indicating HPLC method for determination of lisinopril, lisinopril degradation product and parabens in the lisinopril extemporaneous formulation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 37, n. 3, p. 559–567, mar. 2005.

BECK, Rachel *et al.* Quantification of Loperamide by Gas Chromatography Mass Spectrometry. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 41, n. 9, p. 729–734, 1 nov. 2017.

BERKEL, Caglar; ÖZBEK, Oguz. Green Electrochemical Sensors, Their Applications and Greenness Metrics Used: A Review. **Electroanalysis**, v. 36, n. 11, 15 nov. 2024.

BHATIA, Meenakshi; DASS, Rameshwar; RATH, Goutam. RP-HPLC bioanalytical Method of Itopride hydrochloride for determination and its Pharmacokinetic applications. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 15, n. 9, p. 4012–4016, 28 set. 2022.

BITEW, Zelalem; AMARE, Meareg. Recent reports on electrochemical determination of selected antibiotics in pharmaceutical formulations: A mini review. **Electrochemistry Communications**, v. 121, p. 106863, dez. 2020.

BOZHANOV, S.; SMERIKAROVA, M.; MASLARSKA, V. Quantitative determination of Lisinopril Dihydrate in pharmaceutical preparations by direct potentiometry. **IOP**

Conference Series: Materials Science and Engineering, v. 729, n. 1, p. 012059, 1 jan. 2020.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 778, de 01 de março de 2023. [S.l.: S.n.].

BRETT, Ana Maria Oliveira; BRETT, Christopher M. A. **Eletroquímica princípios, métodos e aplicações**. 1. ed. New York: Oxford University Press Inc., 1993.

BROSLER, Priscilla *et al.* In-house vs. commercial boron-doped diamond electrodes for electrochemical degradation of water pollutants: A critical review. **Frontiers in Materials**, v. 10, 23 mar. 2023.

BURROWS, Adam J. D. Palette of Our Palates: A Brief History of Food Coloring and Its Regulation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, n. 4, p. 394–408, 16 out. 2009.

ÇETIN, Gülten; SUNGUR, Sıdıka. A Spectrophotometric Method for the Determination of Lisinopril in Tablet Formulation. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 1, p. 1–10, jan. 2006.

CETINKAYA, Ahmet *et al.* Simple and highly sensitive assay of axitinib in dosage form and biological samples and its electrochemical behavior on the boron-doped diamond and glassy carbon electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 386, p. 138443, ago. 2021.

CHANDER, Vikas *et al.* Development and Validation of RP-HPLC Method for the Estimation of Lisinopril in Tablet Dosage Form. **Analytical Chemistry Letters**, v. 2, n. 5, p. 309–313, jan. 2012.

CHANDER, Vikas *et al.* Pharmaceutical compounds in drinking water. **Journal of Xenobiotics**, v. 6, n. 1, 10 jun. 2016.

CHAUHAN, Chetan. Contemporary voltammetric techniques and its application to pesticide analysis: A review. **Materials Today: Proceedings**, v. 37, p. 3231–3240, 2021.

CHEN, H. *et al.* Determination of loperamide in rat plasma and bovine serum albumin by LC. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 22, n. 3, p. 555–561, abr. 2000.

CHILLAWAR, Rakesh R.; TADI, Kiran Kumar; MOTGHARE, Ramani V. Voltammetric techniques at chemically modified electrodes. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 70, n. 4, p. 399–418, 21 abr. 2015.

COLDIBELI, Bruna *et al.* Non-hazardous Electrochemical Sensing Approach for Health and Environmental Monitoring: Use of the Boron-Doped Diamond Electrode. *In*: MANJUNATHA, J. G.; HUSSAIN, C. M. (Orgs.). **Recent Developments in Green Electrochemical Sensors: Design, Performance, and Applications**. [S.l.]: ACS, 2023. p. 223–268.

COLDIBELI, Bruna; SARTORI, Elen Romão. Nanostructured materials-based electrochemical biosensor devices for quantification of antioxidants. *In*: MANJUNATHA, Jamballi G. (Org.). **Novel Nanostructured Materials for Electrochemical Bio-Sensing Applications**. [S.l.]: Elsevier, 2024. p. 161–193.

COULTATE, Tom; BLACKBURN, Richard S. Food colorants: their past, present and future. **Coloration Technology**, v. 134, n. 3, p. 165–186, 9 jun. 2018.

DE DIEGO, M.; SOTO, J.; MENNICKENT, S. Stability-Indicating LC Method for the Simultaneous Determination of Lisinopril and Hydrochlorothiazide. **Journal of Chromatographic Science**, v. 52, n. 10, p. 1193–1197, 1 nov. 2014.

DERAYEA, Sayed M.; BADR EL-DIN, Khalid M.; MOHAMMED, Fatma F. Selective spectrofluorimetric method for determination of Lisinopril in pharmaceutical preparations and in presence of hydrochlorothiazide: Application to content uniformity testing. **Luminescence**, v. 32, n. 8, p. 1482–1487, 6 dez. 2017.

DERAYEA, Sayed M.; BADR EL-DIN, Khalid M.; MOHAMMED, Fatma F. An innovative validated spectrofluorimetric method for determination of Lisinopril in presence of hydrochlorothiazide; application to content uniformity testing. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 188, p. 318–323, jan. 2018.

DIXIT, Sumita; KHANNA, Subhash K.; DAS, Mukul. Simultaneous Determination of Eight Synthetic Permitted and Five Commonly Encountered Nonpermitted Food Colors in Various Food Matrixes by High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 93, n. 5, p. 1503–1514, 1 set. 2010.

DURAZZO, Alessandra *et al.* Food dyes and health: Literature quantitative research analysis. **Measurement: Food**, v. 7, p. 100050, set. 2022.

EISELE, Ana Paula Pires *et al.* Simultaneous determination of hydrochlorothiazide and valsartan in combined dosage forms: electroanalytical performance of cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 732, p. 46–52, out. 2014.

EISELE, Ana Paula Pires; VALEZI, Camila Farinha; SARTORI, Elen Romão. Exploiting the high oxidation potential of carisoprodol on a boron-doped diamond electrode: an improved method for its simultaneous determination with acetaminophen and caffeine. **The Analyst**, v. 142, n. 18, p. 3514–3521, 2017.

EL SHERIF, Z. A. *et al.* Spectrophotometric determination of loperamide hydrochloride by acid-dye and charge-transfer complexation methods in the presence of its degradation products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 22, n. 1, p. 13–23, fev. 2000.

EL-EMAM, Ali A. *et al.* Determination of lisinopril in dosage forms and spiked human plasma through derivatization with 7-chloro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole (NBD-Cl) followed by spectrophotometry or HPLC with fluorimetric detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 34, n. 1, p. 35–44, jan. 2004.

EL-ENANY, Nahed; BELAL, Fathalla; AL-GHANNAM, Sheikha. Polarographic Determination of Lisinopril in Pharmaceuticals and Biological Fluids Through Treatment with Nitrous Acid. **Microchimica Acta**, v. 141, n. 1–2, p. 55–61, 1 jan. 2003.

EL-GINDY, Alaa *et al.* Spectrophotometric, septrofluorimetric and LC determination of lisinopril. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 25, n. 5, p. 913–922, 2001a.

EL-GINDY, Alaa *et al.* Spectrophotometric and HPTLC-densitometric determination of lisinopril and hydrochlorothiazide in binary mixtures. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 25, n. 5, p. 923–931, 2001b.

ELQUDABY, Hoda M.; MOHAMED, Gehad G.; EL DIN, Ghada M. G. Utilization of phosphotungestic acid in the conductometric determination of loperamide hydrochloride and trimebutine antidiarrhea drugs. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, n. 8, p. 686–691, ago. 2013.

ERK, Nevin. Comparative Study of the Ratio Spectra Derivative Spectrophotometry, Derivative Spectrophotometry and Vierordt's Method Appued to the Analysis of Lisinopril and Hydrochlorothiazide in Tablets. **Spectroscopy Letters**, v. 31, n. 3, p. 633–645, abr. 1998.

ERK, Nevin; KARTAL, Murat. Comparison of High - Performance Liquid Chromatography and Absorbance Ratio Methods for the Determination of Hydrochlorothiazide and Lisinopril in Pharmaceutical Formulations. **Analytical Letters**, v. 32, n. 6, p. 1131–1141, jan. 1999.

FARIDBOD, F. *et al.* Potentiometric Determination of Loperamide Hydrochloride by Loperamide PVC Membrane and Nano-Composite Electrodes. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 7, n. 8, p. 7643–7654, ago. 2012.

FATIBELLO-FILHO, Orlando *et al.* **Eletroanálises: Aspectos Teóricos e Práticos**. São Carlos: EdUFSCar, 2022.

FIX, Gustavo; COLDIBELI, Bruna; SARTORI, Elen Romão. An affordable and green voltammetric approach for the determination of sotalol in biological, environmental, and pharmaceutical samples. **Electroanalysis**, v. 36, n. 8, 30 ago. 2024.

FOGANG, Sengor Gabou *et al.* Nafion/Multiwalled Carbon Nanotubes/Mesoporous Silica Composite Modified Glassy Carbon Electrode for the Simultaneous Electrochemical Determination of Indigo Carmine and Carbendazim by Differential Pulse Voltammetry. **Analytical Letters**, v. 57, n. 8, p. 1241–1256, 23 maio 2024.

FREITAS, Jhonys M. *et al.* Fast and portable voltammetric method for the determination of the amphetamine adulterant ephedrine in natural over-the-counter weight-loss products. **Microchemical Journal**, v. 160, p. 105757, jan. 2021.

GAŁUSZKA, Agnieszka *et al.* Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 37, p. 61–72, jul.

2012.

GAŁUSZKA, Agnieszka; MIGASZEWSKI, Zdzisław; NAMIEŚNIK, Jacek. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78–84, out. 2013.

GANIYU, Soliu O. *et al.* Opportunities and challenges of thin-film boron-doped diamond electrochemistry for valuable resources recovery from waste: Organic, inorganic, and volatile product electrosynthesis. **Current Opinion in Electrochemistry**, v. 32, p. 100903, abr. 2022.

GHOLAMI, Zahra *et al.* Vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on hydrophobic deep eutectic solvent for the simultaneous identification of eight synthetic dyes in jellies and drinks using HPLC-PDA. **Microchemical Journal**, v. 170, p. 106671, nov. 2021.

GOLAN, D. E. *et al.* **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 3ª Ed. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

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

GOTI, Andrea; NANNELLI, Luca. Synthesis of nitrones by methyltrioxorhenium catalyzed direct oxidation of secondary amines. **Tetrahedron Letters**, v. 37, n. 33, p. 6025–6028, ago. 1996.

GUERRERO-GARCÍA, Carolina; RUBIO-GUERRA, Francisco. Combination therapy in the treatment of hypertension. **Drugs in Context**, v. 7, p. 1–9, jun. 2018.

GUPTA, Deeksha *et al.* Simultaneous spectrophotometric determination of drug components from their dosage formulations. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 270, p. 120819, abr. 2022.

HAMIDI, Samin; NEMATI, Mahboob; LOTFIPOUR, Farzaneh. Simultaneous determination of synthetic dyes in gummy candy using novel mesoporous magnetic graphene oxide@zein aerogel followed by a high performance liquid chromatography-diode array detector. **Journal of microbiology, biotechnology and food sciences**, v. 11, n. 3, p. e3785, 1 dez. 2021.

HARDMAN, Joel G.; LIMBIRD, Lee E.; GILMAN, Alfred G. **Goodman & Gilman's – The pharmacological basis of therapeutics**. 9. ed. New York: McGraw-Hill, 1996.

HASANZADEH, Mohammad *et al.* Determination of lisinopril using β -cyclodextrin/graphene oxide-SO₃H modified glassy carbon electrode. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 44, n. 7, p. 821–830, 17 jul. 2014.

HILLAERT, S.; DE GRAUWE, K.; VAN DEN BOSSCHE, W. Simultaneous determination of hydrochlorothiazide and several inhibitors of angiotensin-converting enzyme by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 924, n. 1–2, p. 439–449, jul. 2001.

HOANG, Nguyen Tien *et al.* Electrochemical degradation of pesticide Padan 95SP by boron-doped diamond electrodes: The role of operating parameters. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 3, p. 105205, jun. 2021.

HOYOS-ARBELÁEZ, Jorge; VÁZQUEZ, Mario; CONTRERAS-CALDERÓN, José. Electrochemical methods as a tool for determining the antioxidant capacity of food and beverages: A review. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1371–1381, abr. 2017.

HUANG, Jinchang *et al.* Development of a liquid chromatography/tandem mass spectrometry assay for the quantification of lisinopril in human plasma. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 20, n. 2, p. 248–252, 30 jan. 2006.

IBRAHIM, Maha Mahmoud *et al.* Solid Contact Potentiometric Sensor for The Assay of Loperamide Hydrochloride in Its Pharmaceutical Formulation and Spiked Plasma Samples. **Analytical & Bioanalytical Electrochemistry**, v. 14, n. 10, p. 904–920, 2022a.

IBRAHIM, Maha Mahmoud *et al.* Newly Developed Nano Sensitive Carbon Paste Electrode Modified with Silver Sulphadiazine and Zinc Oxide for Voltammetric Determination of Loperamide Hydrochloride in Pharmaceutical Formulation and in Human Plasma. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 169, n. 5, p. 056507, 2022b.

ICH. **ICH Harmonised Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2(R1)**. Geneva, Switzerland: [S.n.].

IDRIS, Abubakr M. *et al.* Multi-response optimization of sequential injection chromatographic method for determination of lisinopril and hydrochlorothiazide. **Analytical Methods**, v. 4, n. 7, p. 2081, 2012.

INMETRO. **Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos - DOQ-CGCRE-008 - Revisão 09**. [S.l.: S.n.].

IQBAL, Muzaffar *et al.* A Simple, Sensitive, and Greener HPLC-DAD Method for the Simultaneous Analysis of Two Novel Orexin Receptor Antagonists. **ACS Omega**, v. 9, n. 21, p. 23101–23110, 28 maio 2024.

IVANOVIĆ, D. *et al.* Validation of an analytical procedure for simultaneous determination of hydrochlorothiazide, lisinopril, and their impurities. **Acta Chromatographica**, n. 18, p. 143–156, 2007.

JAMAKHANDI, CM *et al.* New Fluorimetric Method of Determination for Lisinopril Dosage Forms. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, v. 2, n. 3, p. 182–187, 2010.

JOHANSEN, S.; JENSEN, J. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of loperamide and its main metabolite desmethylloperamide in biological specimens and application to forensic cases. **Journal of Chromatography B**, v. 811, n. 1, p. 31–36, 5 nov. 2004.

KABIR, Homayun *et al.* Method Validation for Assay of Loperamide Hydrochloride by HPLC in Loperamide Hydrochloride Tablets. **International Journal of Advanced Research in Chemical Science**, v. 4, n. 4, 2017.

KARIMI, Fatemeh *et al.* Advancement in electrochemical strategies for quantification of Brown HT and Carmoisine (Acid Red 14) From Azo Dyestuff class. **Food and Chemical Toxicology**, v. 165, p. 113075, jul. 2022.

KHANA VI, Mahnaz *et al.* Development of a Green Chromatographic Method for Simultaneous Determination of Food Colorants. **Food Analytical Methods**, v. 5, n. 3, p. 408–415, 14 jun. 2012.

KÖNIG, J. Food colour additives of synthetic origin. *In*: MICHAEL J. SCOTTER (Org.). **Colour Additives for Foods and Beverages**. [S.l.]: Elsevier, 2015. p. 35–60.

KOUNAVES, Samuel P. Voltammetric techniques. *In*: SETTLE, Frank A. (Org.). **Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry**. [S.l.]: Prentice Hall, 1997. p. 709–726.

KOUSOULOS, Constantinos *et al.* Development of a rapid liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the determination of lisinopril, applicable for a bioequivalence study, employing a 96-well format solid phase extraction protocol. **Analytica Chimica Acta**, v. 551, n. 1–2, p. 177–183, out. 2005.

KOZAK, Jędrzej *et al.* First Screen-Printed Sensor (Electrochemically Activated Screen-Printed Boron-Doped Diamond Electrode) for Quantitative Determination of Rifampicin by Adsorptive Stripping Voltammetry. **Materials**, v. 14, n. 15, p. 4231, 2021.

KRAFT, Alexander. Doped diamond: a compact review on a new, versatile electrode material. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 2, p. 355–385, 2007.

KUMAR, Deepak *et al.* A Comprehensive Review on Analytical Method Development using RP-HPLC and Recent Advances in Pharmaceutical Applications. **Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology**, v. 2, n. 2, p. 53–60, 11 abr. 2023.

KUMPF, Vanessa J. Pharmacologic Management of Diarrhea in Patients With Short Bowel Syndrome. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 38, n. 1S, 24 maio 2014.

LAUBE, Norbert; MOHR, Bernhard; HESSE, Albrecht. Laser-probe-based investigation of the evolution of particle size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urines. **Journal of Crystal Growth**, v. 233, n. 1–2, p. 367–374, 1 nov. 2001.

LEIS, H. J. *et al.* Quantitative determination of the angiotensin-converting enzyme inhibitor lisinopril in human plasma by stable isotope dilution gas chromatography/negative ion chemical ionization mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 12, n. 21, p. 1591–1594, 15 nov. 1998.

LENARDÃO, Eder João *et al.* “Green chemistry”: os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 123–129, jan. 2003.

LEULESCU, Marian *et al.* Azorubine: physical, thermal and bioactive properties of the widely employed food, pharmaceutical and cosmetic red azo dye material. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 143, n. 6, p. 3945–3967, 23 mar. 2021.

LI, Xiu Qin *et al.* Identification and determination of 34 water-soluble synthetic dyes in foodstuff by high performance liquid chromatography-diode array detection-ion trap time-of-flight tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 182, p. 316–326, 1 set. 2015.

LIPSKIKH, O. I. *et al.* Sensors for voltammetric determination of food azo dyes - A critical review. **Electrochimica Acta**, v. 260, p. 974–985, jan. 2018.

LIU, Yu Xiu *et al.* Determination of lisinopril using anion exchange chromatography with integrated pulsed amperometric detection. **Chinese Chemical Letters**, v. 23, n. 3, p. 335–338, 2012.

LOURENCAO, Bruna C. *et al.* Analytical Applications of Electrochemically Pretreated Boron-Doped Diamond Electrodes. **ChemElectroChem**, v. 7, n. 6, p. 1291–1311, mar. 2020.

LU, Yuanyuan *et al.* A review of the identification and detection of heavy metal ions in the environment by voltammetry. **Talanta**, v. 178, p. 324–338, fev. 2018.

MARIANO, Renan Silva *et al.* Ultra-sensitive determination of serotonergic antidepressant vortioxetine in pharmaceutical and blood samples at the boron-doped diamond electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 952, p. 117962, jan. 2024.

MARTINS, Natália *et al.* Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. **Trends in Food Science & Technology**, v. 52, p. 1–15, jun. 2016.

MASLARSKA, Vania; PEIKOVA, Lily; TSVETKOVA, Boyka. RP – HPLC Method for the Simultaneous Determination of Lisinopril and Hydrochlorothiazide in Pharmaceutical Formulation. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 22, n. 46, p. 253–256, 2013.

MATTOS, Gabriel Junquetti *et al.* The performance of boron-doped diamond electrode for the determination of ramipril and its association with hydrochlorothiazide. **Electroanalysis**, v. 29, n. 4, p. 1180–1187, abr. 2017.

MAZDEH, Fatemeh Zamani *et al.* Determination of 8 Synthetic Food Dyes by Solid Phase Extraction and Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 1, p. 173, 11 maio 2016.

MICHELETTI, Lais *et al.* Assessment of the use of boron-doped diamond electrode for highly sensitive voltammetric determination of the azo-dye carmoisine E-122 in food and environmental matrices. **Talanta**, v. 220, p. 121417, dez. 2020.

MINIOTI, Katerina S.; SAKELLARIOU, Christina F.; THOMAIDIS, Nikolaos S. Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. **Analytica Chimica Acta**, v. 583, n. 1, p. 103–110, jan. 2007.

MOHAMMED, Fatma; BADR EL-DIN, Khalid; DERAYEA, Sayed. Two smart spectrophotometric methods for simultaneous determination of Lisinopril and Hydrochlorothiazide in binary mixtures. **Journal of advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 2, p. 47–53, 30 jan. 2019.

MORAES, Jaqueline Tobias *et al.* Advanced sensing performance towards simultaneous determination of quaternary mixture of antihypertensives using boron-doped diamond electrode. **Microchemical Journal**, v. 134, p. 173–180, set. 2017.

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**, v. 11, n. 31, p. 4006–4013, 2019.

MOTA, Isadora Gomes Cavalcante *et al.* Artificial Dyes: Health Risks and the Need for Revision of International Regulations. **Food Reviews International**, v. 39, n. 3, p. 1578–1593, 3 abr. 2023.

NETO, Antonio Gomes dos Santos *et al.* Core–Shell Chitosan Cobalt Ferrite Nanoparticles for Ultrasensitive Simultaneous Voltammetric Determination of Pb(II) and Cd(II). **ACS Applied Nano Materials**, v. 7, n. 16, p. 18499–18510, 23 ago. 2024.

NOTSU, Hideo *et al.* Introduction of oxygen-containing functional groups onto diamond electrode surfaces by oxygen plasma and anodic polarization. **Electrochemical and Solid-State Letters**, v. 2, n. 10, p. 522–524, 6 out. 1999.

OHORO *et al.* Distribution and Chemical Analysis of Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in the Environmental Systems: A Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 17, p. 3026, 21 ago. 2019.

OLIVEIRA, Cristiana L. *et al.* Electroanalytical Determination of Trimetazidine in Pharmaceuticals and Synthetic Urine Using an Anodically Treated Boron-Doped Diamond (BDD) Electrode and Square Wave Voltammetry (SWV). **Analytical Letters**, v. 58, n. 2, p. 242–251, 22 jan. 2025.

OLIVEIRA, Micael Estevão Pereira de *et al.* Dyes and pigments used in foods: an integrative literature review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e316101018925, 13 ago. 2021.

OPARIL, Suzanne *et al.* Hypertension. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1,

p. 18014, 22 mar. 2018.

PACHECO, Wagner Felipe *et al.* Voltammetry: A brief review about concepts. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516–537, 2013.

PADMINI, V. Leela *et al.* Simultaneous estimation of lisinopril and hydrochlorthiazide in bulk, pharmaceutical dosage forms and in dissolution samples by RP-HPLC-PDA method. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 8, p. 195–202, 2013.

PADUA, Ana A. F. *et al.* Lisinopril quantification in human plasma by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 809, n. 2, p. 211–216, out. 2004.

PALIANSKIKH, Alena I. *et al.* Development and validation of the HPLC-DAD method for the quantification of 16 synthetic dyes in various foods and the use of liquid anion exchange extraction for qualitative expression determination. **Food Chemistry**, v. 369, p. 130947, fev. 2022.

PARASKEVAS, G.; ATTA-POLITOU, J.; KOUPPARIS, M. Spectrophotometric determination of lisinopril in tablets using 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene reagent. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 29, n. 5, p. 865–872, 2002.

PATEL, Kanaksundar; HASHIMOTO, Kazuhito; FUJISHIMA, Akira. Application of Boron-Doped CVD-Diamond Film to Photoelectrode. **Denki Kagaku oyobi Kogyo Butsuri Kagaku**, v. 60, n. 7, p. 659–661, 5 jul. 1992.

PATEL, Nil; PRABHU, Prabhakara; WALIA, Sandeepsingh. Spectrophotometric quantitative estimation of hydrochlorothiazide and lisinopril in bulk drugs and pharmaceutical dosage form. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 9, p. 1684–1701, 2015.

PATEL, Rashmin B.; PATEL, Mrunali R. A NOVEL VALIDATED STABILITY INDICATING ANALYTICAL HPTLC METHOD FOR QUANTITATION OF HYDROCHLOROTHIAZIDE AND LISINOPRIL IN TABLET FORMULATION. **Indian Drugs**, v. 59, n. 06, p. 47–51, 4 jul. 2022.

PECKOVÁ, Karolina; MUSILOVÁ, Jana; BAREK, Jiří. Boron-doped diamond film electrodes - new tool for voltammetric determination of organic substances. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 39, n. 3, p. 148–172, 2009.

PENA-PEREIRA, Francisco; WOJNOWSKI, Wojciech; TOBISZEWSKI, Marek. AGREE - Analytical GREENness Metric Approach and Software. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 14, p. 9429–10184, 2020.

PÉREZ-LEMUS, N. *et al.* Analytical methodologies for the determination of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in sewage sludge: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1083, p. 19–40, nov. 2019.

PERIS-VICENTE, Juan; ESTEVE-ROMERO, Josep; CARDA-BROCH, Samuel.

Validation of Analytical Methods Based on Chromatographic Techniques: An Overview. *In: Analytical Separation Science*. New Jersey: Wiley, 2015. p. 1757–1808.

PŁOTKA-WASYLKA, J. A new tool for the evaluation of the analytical procedure: Green Analytical Procedure Index. *Talanta*, v. 181, p. 204–209, maio 2018.

POPA, E. *et al.* Selective electrochemical detection of dopamine in the presence of ascorbic acid at anodized diamond thin film electrodes. *Electrochemical and Solid-State Letters*, v. 2, n. 1, p. 49–51, 1999.

POTT, Crisla Maciel; ESTRELA, Carina Costa. Histórico ambiental: desastres ambientais e o despertar de um novo pensamento. *Estudos Avançados*, v. 31, n. 89, p. 271–283, abr. 2017.

PRAMOD, Kumar *et al.* Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Simultaneous Estimation of Hydrochlorothiazide and Lisinopril in Bulk Drug and Its Formulations. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, v. 6, n. 2, p. 212–215, 2013.

PREETHAM, D. Noel; SUJANA, K.; SANKAR, P. D. S. Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for the Estimation of Lisinopril in Bulk and Pharmaceutical Formulation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, v. 25, n. 1, p. 257–259, 2014.

QIN, Feng *et al.* Quantitative determination of lisinopril in human plasma by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry and its application in a pharmacokinetic study. *Biomedical Chromatography*, v. 26, n. 6, p. 691–696, 19 jun. 2012.

QIN, Weiwei *et al.* Rapid quantification of lisinopril in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*, v. 21, n. 4, p. 415–421, 15 abr. 2007.

QUEIROZ, Nathalia L. *et al.* Electrochemistry Study of Antineoplastic Raltitrexed Oxidation Mechanism and its Interaction with DNA. *Electroanalysis*, v. 30, n. 6, p. 1184–1191, 14 jun. 2018.

QUESADA, Heloise Beatriz *et al.* Surface water pollution by pharmaceuticals and an alternative of removal by low-cost adsorbents: A review. *Chemosphere*, v. 222, p. 766–780, maio 2019.

RADI, A.; ELMOGY, T. Differential Pulse Voltammetric Determination of Loperamide in a Pharmaceutical Dosage Form. *Scientia Pharmaceutica*, v. 72, n. 3, p. 239–248, 9 set. 2004.

RAFSON, Jessica P. *et al.* Analysis and Stability Study of Isoeugenol in Aquaculture Products by Headspace Solid-Phase Microextraction Coupled to Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 72, n. 25, p. 14411–14418, 26 jun. 2024.

RAHMAN, Nafisur; ANWAR, Nishat; KASHIF, Mohammad. Application of π -acceptors to the spectrophotometric determination of lisinopril in commercial dosage forms. **II Farmaco**, v. 60, n. 6–7, p. 605–611, jun. 2005.

RAHMAN, Nafisur; SINGH, Manisha; HODA, Md. Nasrul. Optimized and validated spectrophotometric methods for the determination of lisinopril in pharmaceutical formulations using ninhydrin and ascorbic acid. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 5, p. 1001–1009, out. 2005.

RAJENDRACHARI, Shashanka *et al.* Assessing the Food Quality Using Carbon Nanomaterial Based Electrodes by Voltammetric Techniques. **Biosensors**, v. 12, n. 12, p. 1173, 15 dez. 2022.

RAJENDRAPRASAD, Nagaraju; BASAVIAH, Kanakapura. Development of membrane electrodes for selective determination of lisinopril in pharmaceuticals. **Journal of Analytical Science and Technology**, v. 10, n. 1, p. 37, 21 dez. 2019.

RAJU, V. Bhaskara; RAO, A. Lakshmana. Development, Estimation and Validation of Lisinopril in Bulk and its Pharmaceutical Formulation by HPLC Method. **Journal of Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 340–344, 13 jan. 2012.

RANG, H. P. *et al.* **Rang & Dale's Pharmacology**. 7. ed. London: Elsevier, 2012.

RASTKARI, Noushin; AHMADKHANIHA, Reza. Development and validation of a high-performance liquid chromatography method for determination of lisinopril in human plasma by magnetic solid-phase extraction and pre-column derivatization. **Biomedical Chromatography**, v. 32, n. 3, 16 mar. 2018.

RAZA, Asad; ANSARI, Tariq Mahmood; ATTA-UR-REHMAN. Spectrophotometric Determination of Lisinopril in Pure and Pharmaceutical Formulations. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 52, n. 5, p. 1055–1059, out. 2005.

RAZAK, Abdel Omayma. Electrochemical study of hydrochlorothiazide and its determination in urine and tablets. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 34, n. 2, p. 433–440, 2004.

RAZAK, O. *et al.* The utilization of copper(II) phosphate for the anodic stripping voltammetric assay of alendronate sodium, desferrioxamine mesylate and lisinopril. **Talanta**, v. 59, n. 5, p. 1061–1069, 10 abr. 2003.

RISTEA, Madalina-Elena; ZARNESCU, Otilia. Indigo Carmine: Between Necessity and Concern. **Journal of Xenobiotics**, v. 13, n. 3, p. 509–528, 20 set. 2023.

RIVAI, Harrizul; PUSPITA, Renny; MISFADHILA, Sesry. Recent Study on Development and Validation of Loperamide Hydrochloride Tablet Analysis Method with Absorbance and Area under Curve Methods Spectrophotometrically. *In: Technological Innovation in Pharmaceutical Research Vol. 3. [S.l.]: Book Publisher International, 2021. p. 48–58.*

SABR, Muhammad Wshiar *et al.* Spectrophotometric Determination of Loperamide Hydrochloride by Ion-Pair Formation with Rose Bengal Reagent. **Food Analytical Methods**, v. 16, n. 7, p. 1172–1179, 19 jul. 2023.

SADEGHI, Abbas *et al.* The effect of diazinon on the removal of carmoisine by *Saccharomyces cerevisiae*. **Desalination and Water Treatment**, v. 137, p. 273–278, jan. 2019.

SAGIRLI, Olcay; ERSOY, Lale. An HPLC method for the determination of lisinopril in human plasma and urine with fluorescence detection. **Journal of Chromatography B**, v. 809, n. 1, p. 159–165, 2004.

SALAMA, Fathy *et al.* Application of PVC Membrane and Modified Carbon Nanotubes Paste as Electrochemical Sensors for Potentiometric Determination of Loperamide Hydrochloride. **Journal of Advanced Pharmacy Research**, v. 4, n. 2, p. 46–55, 3 abr. 2020.

SALAMANCA-NETO, Carlos Alberto Rossi *et al.* Differential pulse voltammetric method for the individual and simultaneous determination of antihypertensive drug metoprolol and its association with hydrochlorothiazide in pharmaceutical dosage forms. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 230, p. 630–638, 2016.

SANTOS, Fernanda da Silva *et al.* Review—Recent Advances of Electrochemical Techniques in Food, Energy, Environment, and Forensic Applications. **ECS Sensors Plus**, v. 1, n. 1, p. 013603, 1 mar. 2022.

SARAKHMAN, Olha; ŠVORC, Ľubomír. A Review on Recent Advances in the Applications of Boron-Doped Diamond Electrochemical Sensors in Food Analysis. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 52, n. 4, p. 791–813, 19 maio 2022.

SARTORI, Elen R. *et al.* Square-wave voltammetric determination of acetylsalicylic acid in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode without the need of previous alkaline hydrolysis step. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 2, p. 360–366, 2009.

SARVESTANI, Mohammad Reza Jalali; DOROUDI, Zohreh. A Comprehensive Review on Electroanalytical Methodologies for the Determination of Carmoisine (E122). **Food Analytical Methods**, v. 15, n. 6, p. 1565–1574, 27 jun. 2022.

SCHILLER, Lawrence R. *et al.* Mechanism of the Antidiarrheal Effect of Loperamide. **Gastroenterology**, v. 86, n. 6, p. 1475–1480, jun. 1984.

SCHILLER, Lawrence R. Antidiarrheal Drug Therapy. **Current Gastroenterology Reports**, v. 19, n. 5, p. 18, 10 maio 2017.

SHAH, A. H. *et al.* pH dependent electrochemical characterization, computational studies and evaluation of thermodynamic, kinetic and analytical parameters of two phenazines. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 162, n. 3, p. H115–H123, 2015.

SHAH, Jaivik V. *et al.* Fast and sensitive LC–MS/MS method for the simultaneous determination of lisinopril and hydrochlorothiazide in human plasma. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 7, n. 3, p. 163–169, jun. 2017.

SHEHAB, Ahlam A.; MOHAMMED, Dawood H.; MAHMOOD, Hana Sh. Mahmood. Spectrophotometric Determination of Loperamide Hydrochloride in Pure and Pharmaceutical Dosage Forms Using Oxidative Coupling Reaction. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 64, n. 12, p. 7371–7376, 2021.

SHEN, Shi; YANG, Xing; SHI, Yaqin. Application of quantitative NMR for purity determination of standard ACE inhibitors. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 114, p. 190–199, out. 2015.

SHI, Meiyun *et al.* Overview of sixteen green analytical chemistry metrics for evaluation of the greenness of analytical methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 166, p. 117211, set. 2023.

SHISHOV, A. Yu.; MOKHODOEVA, O. B. Green Chemistry Metrics in Analytical Chemistry. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 79, n. 5, p. 487–499, 6 maio 2024.

SHRAITAH, Mohammad; OKDEH, Malek MS. New Method for Spectrophotometric Determination of Lisinopril in Pure Form and in Pharmaceutical Formulations. **Modern Chemistry & Applications**, v. 4, n. 1, p. 1000172, 2016.

SHULYAK, Nataliia *et al.* Spectrophotometric methods for the determination of lisinopril in medicines. **Pharmacia**, v. 68, n. 4, p. 811–818, 18 out. 2021.

SHULYAK, Nataliya *et al.* DEVELOPMENT OF SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR DETERMINATION OF LISINOPRIL IN TABLET DOSAGE FORM. **Acta Medica Leopoliensia**, v. 28, n. 1–2, p. 104–117, 30 jun. 2022.

SILVA, Tiago Almeida *et al.* Electroanalytical sensing of indigo carmine dye in water samples using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 769, p. 28–34, maio 2016.

SILVA, Tiago Almeida; WONG, Ademar; FATIBELLO-FILHO, Orlando. Electrochemical sensor based on ionic liquid and carbon black for voltammetric determination of Allura red colorant at nanomolar levels in soft drink powders. **Talanta**, v. 209, p. 120588, mar. 2020.

SKOOG, Douglas A. *et al.* **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed. São Paulo: Thomson Learning, 2007.

SOKOLOVÁ, Romana *et al.* Application of spectroelectrochemistry in elucidation of electrochemical mechanism of azoquinoline dye 2-methyl-5-[(E)-phenyldiazenyl]quinolin-8-ol. **Electrochimica Acta**, v. 270, p. 509–516, abr. 2018.

STANCIU, Cornel N.; GNANASEGARAM, Samantha A. Loperamide, the “Poor Man’s Methadone”: Brief Review. **Journal of Psychoactive Drugs**, v. 49, n. 1, p. 18–21, 5 jan. 2017.

STICH, E. Food Color and Coloring Food: Quality, Differentiation and Regulatory Requirements in the European Union and the United States. *In*: CARLE, Reinhold; SCHWEIGGERT, Ralf M. (Orgs.). **Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages**. [S.l.]: Elsevier, 2016. p. 3–27.

STÖCKL, Dietmar; D'HONDT, Heidi; THIENPONT, Linda M. Method validation across the disciplines—Critical investigation of major validation criteria and associated experimental protocols. **Journal of Chromatography B**, v. 877, n. 23, p. 2180–2190, 2009.

STOIMENOVA, Tanja Bakovska *et al.* Development and validation of a fast, simple, cost-effective and robust HPLC method for lisinopril determination in solid pharmaceutical dosage forms. **Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 36, n. 2, p. 201, 29 nov. 2017.

STREEL, B. *et al.* Validation of a liquid chromatographic-tandem mass spectrometric method for the determination of loperamide in human plasma. **Journal of Chromatography B**, v. 814, n. 2, p. 263–273, 25 jan. 2005.

SUFFREDINI, Hugo B. *et al.* Enhanced electrochemical response of boron-doped diamond electrodes brought on by a cathodic surface pre-treatment. **Electrochimica Acta**, v. 49, n. 22, p. 4021–4026, 2004.

SURA, Ramya Sri; CVS, Subrahmanyam; RACHAMALLA, Shyam Sunder. Bioanalytical RP-HPLC method development and validation of clopidogrel bisulfate in wistar rat plasma and its application to pharmacokinetic study. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, v. 14, n. 1, p. 106–111, 7 jan. 2022.

ŠVORC, Ľubomír; RIEVAJ, Miroslav; BUSTIN, Dušan. Green electrochemical sensor for environmental monitoring of pesticides: Determination of atrazine in river waters using a boron-doped diamond electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 181, p. 294–300, 1 maio 2013.

SWAIN, Greg M.; RAMESHAM, Rajeshuni. The electrochemical activity of boron-doped polycrystalline diamond thin film electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 65, n. 4, p. 345–351, 1993.

SWEETMAN, Sean C. **Martindale: The Complete Drug Reference**. 36. ed. London: Pharmaceutical Press, 2009.

TATSUMI, Yusuke; FIORANI, Andrea; EINAGA, Yasuaki. Electrochemical Synthesis of Hydrogen Peroxide from Carbonate Aqueous Electrolyte by Boron-Doped Diamond Electrode at Industrial-scale Current Densities. **ACS Applied Energy Materials**, v. 7, n. 13, p. 5390–5397, 8 jul. 2024.

THOMPSON, Michael; ELLISON, Stephen L. R.; WOOD, Roger. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835–855, 2002.

TKACZYK, Angelika; MITROWSKA, Kamila; POSYNIAK, Andrzej. Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review. **Science of The Total Environment**, v. 717, p. 137222, maio 2020.

TRAN, Quang Thuan *et al.* Highly sensitive and rapid determination of sunset yellow in drinks using a low-cost carbon material-based electrochemical sensor. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, n. 28, p. 7539–7549, 23 nov. 2019.

TSAKALOF, Andreas; BAIRACHTARI, Kyriaki; GEORGARAKIS, Manolis. Development of a liquid chromatography–mass spectrometry method for monitoring the angiotensin-converting enzyme inhibitor lisinopril in serum. **Journal of Chromatography B**, v. 783, n. 2, p. 425–432, jan. 2003.

TUZIMSKI, Tomasz; PETRUCZYNIK, Anna. Review of Chromatographic Methods Coupled with Modern Detection Techniques Applied in the Therapeutic Drugs Monitoring (TDM). **Molecules**, v. 25, n. 17, p. 4026, 3 set. 2020.

TYSZCZUK-ROTKO, Katarzyna; KOZAK, Jędrzej; CZECH, Bożena. Screen-Printed Voltammetric Sensors—Tools for Environmental Water Monitoring of Painkillers. **Sensors**, v. 22, n. 7, p. 2437, 22 mar. 2022.

VALEZI, Camila Farinha *et al.* An improved method for simultaneous square-wave voltammetric determination of amlodipine and enalapril at multi-walled carbon nanotubes paste electrode based on effect of cationic surfactant. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 205, p. 234–243, 2014.

VALEZI, Camila Farinha; EISELE, Ana Paula Pires; SARTORI, Elen Romão. Versatility of a carbon paste electrode coupled to differential pulse voltammetry for determination of lisinopril with its associations (hydrochlorothiazide and amlodipine). **Analytical Methods**, v. 9, n. 31, p. 4599–4608, 21 ago. 2017.

VAUTIER, Manon; GUILLARD, Chantal; HERRMANN, Jean-Marie. Photocatalytic Degradation of Dyes in Water: Case Study of Indigo and of Indigo Carmine. **Journal of Catalysis**, v. 201, n. 1, p. 46–59, jul. 2001.

WONG, Yiu-chung; CHARLES, Bruce Gordon. Determination of the angiotensin-converting enzyme inhibitor lisinopril in urine using solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 673, n. 2, p. 306–310, nov. 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Hypertension**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>>. Acesso em: 18 out. 2024.

WU, Peter E.; JUURLINK, David N. Clinical Review: Loperamide Toxicity. **Annals of Emergency Medicine**, v. 70, n. 2, p. 245–252, ago. 2017.

XHAFERAJ, Majlinda; NAEGELE, Edgar; PARR, Maria Kristina. Ion exchange in

supercritical fluid chromatography tandem mass spectrometry (SFC-MS/MS): Application for polar and ionic drugs and metabolites in forensic and anti-doping analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1614, p. 460726, mar. 2020.

XU, Tao *et al.* Electrochemical oxidation degradation of Rhodamine B dye on boron-doped diamond electrode: Input mode of power attenuation. **Journal of Cleaner Production**, v. 401, p. 136794, maio 2023.

YÁÑEZ-SEDEÑO, P.; CAMPUZANO, S.; PINGARRÓN, J. M. Electrochemical (bio)sensors: promising tools for green analytical chemistry. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 19, p. 1–7, out. 2019.

YANG, Yi; ZHANG, Jing; SHAO, Bing. Quantitative analysis of fourteen synthetic dyes in jelly and gummy candy by ultra performance liquid chromatography. **Anal. Methods**, v. 6, n. 15, p. 5872–5878, 2014.

YU, Jiefei; JIA, Jinping; MA, Zifeng. Comparison of Electrochemical Behavior of Hydroxyl-substituted and Nonhydroxyl-substituted Azo Dyes at a Glassy Carbon Electrode. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 51, n. 6, p. 1319–1324, dez. 2004.

YU, Jin Hee *et al.* LC–MS determination and bioavailability study of loperamide hydrochloride after oral administration of loperamide capsule in human volunteers. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 36, n. 2, p. 421–427, out. 2004.

YUAN, Gang *et al.* Electrocatalytic methyl esterification of fatty acid using boron-doped-diamond electrodes. **Algal Research**, v. 46, p. 101816, mar. 2020.

ZACHARIS, ConstantinosK. *et al.* Rapid spectrofluorimetric determination of lisinopril in pharmaceutical tablets using sequential injection analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 379, n. 5–6, 19 jul. 2004.

ZAHEDI, Maryam *et al.* Validation of an analytical method for determination of eight food dyes in beverage and fruit roll-ups by ion-pair HPLC-DAD. **Journal of Shahrekord University of Medical Sciences**, v. 22, n. 3, p. 126–134, 29 jun. 2020.

ZHANG, Qiaoyun *et al.* An electrochemical method for determination of amaranth in drinks using functionalized graphene oxide/chitosan/ionic liquid nanocomposite supported nanoporous gold. **Food Chemistry**, v. 367, p. 130727, jan. 2022.

ZHOU, N. *et al.* Development and Validation of LC--MS Method for the Determination of Lisinopril in Human Plasma and its Application in a Bioequivalence Study. **Journal of Chromatographic Science**, v. 46, n. 10, p. 848–853, 1 nov. 2008.

ZOUNR, Zahid Ali. Determination of Lisinopril in Pure and Tablet form by Using 2-Hydroxynaphthaldehyde as Derivatizing Reagent. **Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 115–126, 30 jun. 2021.