

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO A BASE DE  
NANOTUBOS DE CARBONO MODIFICADOS COM FTALOCIANINA DE  
NÍQUEL PARA A DETERMINAÇÃO DO ANTI-INFLAMATÓRIO  
DICLOFENACO**

**Nayane Kédna Freitas de Sousa**

**SÃO LUÍS (MA)  
2019**

**NAYANE KÉDNA FREITAS DE SOUSA**

**DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO A BASE DE  
NANOTUBOS DE CARBONO MODIFICADOS COM FTALOCIANINA DE  
NÍQUEL PARA A DETERMINAÇÃO DO ANTI-INFLAMATÓRIO  
DICLOFENACO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka

**SÃO LUÍS (MA)**

**2019**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Sousa, Nayane Kédna Freitas de.

DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO A BASE DE NANOTUBOS DE CARBONO MODIFICADOS COM FTALOCIANINA DE NÍQUEL PARA A DETERMINAÇÃO DO ANTI-INFLAMATÓRIO DICLOFENACO / Nayane Kédna Freitas de Sousa. - 2019. 44 f.

Orientador(a): Auro Atsushi Tanaka.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

1. Diclofenaco. 2. Ftalocianina de níquel. 3. Nanotubos de carbono. 4. Sensor eletroquímico. I. Tanaka, Auro Atsushi. II. Título.

**DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO A BASE DE  
NANOTUBO DE CARBONO MODIFICADOS COM FTALOCIANINA DE  
NÍQUEL PARA A DETERMINAÇÃO DO ANTI-INFLAMATÓRIO  
DICLOFENACO**

**Nayane Kédna Freitas de Sousa**

**Aprovada em:    /    /**

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka (Orientador)  
DEQUI - CCET – UFMA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Teresa Cristina Rodrigues dos Santos Franco  
DETQI - CCET – UFMA

---

Prof. Dr. Iranaldo Santos da Silva  
DETQI - CCET – UFMA

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar a Deus por cada minuto da minha vida, sabedoria e coragem para passar por muitas dificuldades ao longo da pós-graduação e, acima de tudo, por ter me ajudado a vencer todos os obstáculos que apareceram durante o caminho. Toda honra, toda glória e todo louvor sejam dadas a Ele.

À minha mãe Deija Célia pelo acalento, conselhos e conversas incentivadoras na empreitada árdua e honrosa que é a vida.

Ao meu pai Benevenuto Nóia de Sousa Neto que sempre esteve ao meu lado em todas as minhas decisões, acreditando no meu potencial.

Ao meu marido Carlos Eduardo Gomes Bezerra, que me dedicou tempo, apoio, carinho, amor e atenção durante minha vida acadêmica e no processo de elaboração do presente trabalho.

A minha filha Evelyn que sempre alegrou os meus dias mais difíceis e é a principal razão para me fazer querer me superar a cada dia.

Aos meus irmãos Douglas de Freitas Ferreira e Iago Freitas de Sousa, que representam um apoio no marco familiar.

Às minhas avós Dalila Alves de Freitas e Maria Piedade Sousa que mesmo não estando neste plano sempre acreditaram em mim, se importaram com minha vida e meu futuro.

Às minhas queridas amigas que conquistei ao longo da vida Karla Janilee, Tamara Oliveira, Yani Yasmin e Rosyneves pelos momentos maravilhosos que carregou na memória.

Ao meu querido orientador Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka pela paciência, disposição e dedicação durante a preparação de todo o trabalho.

Às amigadas conquistadas de dentro laboratório de eletroquímica para a vida Geyse, Paulina, Lucas, Nara, William, Wemerson, Wellington, Heberth, Júnior, Anny e José sem vocês esse sonho não seria o mesmo.

À turma de mestrado 2017.2 e a todos os amigos que fiz durante a pós-graduação.

Agradeço também ao CNPq e a FAPEMA pelos auxílios à pesquisa concedidos ao Laboratório de Eletroquímica e à CAPES pela bolsa de estudo concedida durante a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>13</b> |
| 1.1 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO-ESTEROIDAIIS E A POLUIÇÃO AMBIENTAL .....  | 13        |
| 1.2 DICLOFENACO .....   | 14        |
| 1.3 SENSORES ELETROQUÍMICOS.....  | 15        |
| 1.4 ALOTROPIA DO CARBONO.....   | 16        |
| 1.5 NANOTUBOS DE CARBONO .....  | 16        |
| 1.6 FTALOCIANINA (MPC).....   | 17        |
| 1.7 TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS .....  | 17        |
| 1.7.1 <i>Voltametria cíclica</i> .....  | 18        |
| 1.7.2 <i>Voltametria de pulso diferencial</i> .....   | 18        |
| <b>2. OBJETIVO GERAL</b> .....  | <b>19</b> |
| 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....   | 19        |
| <b>3. EXPERIMENTAL</b> .....  | <b>20</b> |
| 3.1 MATERIAIS, REAGENTES E SOLUÇÕES .....   | 20        |
| 3.2 MEDIDAS ELETROQUÍMICAS.....   | 21        |
| 3.2.1 <i>Voltametria cíclica</i> .....  | 21        |
| 3.2.2 <i>Pré-tratamento do eletrodo CV</i> .....  | 21        |
| 3.2.3 <i>Modificação do eletrodo CV com NTC-NiPc</i> .....  | 22        |
| 3.2.4 <i>Determinação da área ativa do eletrodo CV/NTC-NiPc</i> .....   | 22        |
| 3.2.5 <i>Validação da metodologia</i> .....   | 23        |
| 3.2.6 <i>Parâmetros experimentais das medidas voltamétricas</i> .....   | 23        |
| <b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....  | <b>24</b> |
| 4.1 COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO DO DCF SOBRE O ELETRODO CV .....   | 24        |
| 4.1.1 <i>Voltametria cíclica</i> .....  | 24        |
| 4.2 COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO DO DCF SOBRE O ELETRODO CV MODIFICADO COM NTC E NTC-NiPc.....                  | 25        |
| 4.3 INFLUÊNCIA DO PH .....  | 26        |
| 4.4 INFLUÊNCIA DA NATUREZA DO ELETRÓLITO DE SUPORTE .....   | 27        |
| 4.5 ESTABILIDADE DO ELETRODO CV/NTC-NiPc .....  | 28        |
| 4.6 INFLUÊNCIA DA MODIFICAÇÃO DO ELETRODO CV COM NTC-NiPc .....   | 31        |
| 4.7 INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO ELETRÓLITO DE SUPORTE .....   | 31        |
| 4.8 DETERMINAÇÃO DE DCF SOBRE O ELETRODO CV/NTC-NiTSPc COM A TÉCNICA DE VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL..... | 32        |
| 4.8.1 <i>Amplitude de pulso</i> .....   | 33        |

|  |           |
|--|-----------|
| 4.8.2 Velocidade de varredura do potencial.....                        | 34        |
| 4.8.3 Tempo de deposição do pulso .....                                | 34        |
| 4.8.4 Curva analítica .....  | 35        |
| 4.9 TESTES DE QUANTIFICAÇÃO E RECUPERAÇÃO DE DCF EM AMOSTRAS REAIS ... | 38        |
| <b>5. CONCLUSÃO .....</b>  | <b>40</b> |
| <b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                              | <b>41</b> |

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Fórmula estrutural do diclofenaco sódico ..... 15
- Figura 2** - Célula eletroquímica com os eletrodos de trabalho CV, auxiliar Pt e referência Ag/AgCl e agitador magnético..... 21
- Figura 3** - Gráficos da dependência da corrente de pico ( $I_p$ ) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura do potencial ( $v^{1/2}$ ) obtidos a partir do voltamogramas cíclicos registrados sobre os eletrodos CV (A) e CV/NTC-NiPc (B) em solução KCl  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  contendo  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  a diferentes velocidades de varredura do potencial.  $D = 6,39 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  ..... 23
- Figura 4** - Voltamogramas cíclicos registrados sobre o eletrodo de CV em solução PBS  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7) na ausência (linha tracejada) e na presença de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DCF (linha sólida) (A). Varreduras sucessivas do eletrodo de CV em solução PBS  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7) na presença de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DCF (B).  $v = 50 \text{ mV.s}^{-1}$ . ..... 24
- Figura 5** - Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de CV/NTC (A) e CV/NTC-NiPc (B) em solução PBS  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7) na ausência e na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de DCF. Comparação dos voltamogramas cíclicos dos eletrodos CV, CV/NTC e CV/NTC-NiPc em solução PBS  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7) na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de DCF (C).  $v = 50 \text{ mV.s}^{-1}$ . ..... 25
- Figura 6** - Voltamogramas cíclicos da oxidação de DFC ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc em diferentes pH's  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  BR,  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$  (A) e dependência dos potenciais (linha vermelha) e das correntes (linha azul) de pico da oxidação de DFC com o pH (B)..... 27
- Figura 7** - Mecanismo da oxidação do diclofenaco proposto por Goyal e outros pesquisadores [44]. ..... 27
- Figura 8** - Voltamogramas cíclicos registrados sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc em soluções tampão BR, fosfato de sódio, fosfato de potássio e PBS ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7) contendo DCF ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ),  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 28
- Figura 9** - Voltamogramas cíclicos obtido da oxidação do DCF ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) no eletrodo de CV, CV/NTC e CV/NTC-NiPc em solução tampão PBS  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7.  $v = 50 \text{ mV.s}^{-1}$ ,  $E_i = 0,1 \text{ V}$ ;  $E_f = 0,75 \text{ V}$  ..... 29
- Figura 10** - Voltamogramas cíclicos da oxidação de DCF sobre os eletrodos CV/NTC (A) e CV/NTC-NiPc (B) em solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 7) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DCF,  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . Comparação do 2º ciclo voltamétrico da oxidação de DCF sobre os eletrodos CV, CV/NTC e CV/NTC-NiPc (C). ..... 30
- Figura 11** - Voltamogramas cíclicos da oxidação de DCF sobre os eletrodos CV (A), CV/NTC (B) e CV/NTC-NiPc (C) em solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 7)



contendo  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de DCF,  $v= 50 \text{ mV s}^{-1}$ . Comparação do 1° ciclo de oxidação sobre os respectivos eletrodos (D). ..... 30

**Figura 12** - Voltamogramas cíclicos registrados sobre o eletrodo CV modificado com NTC-NiPc em diferentes volumes do modificante. Tampão PBS (pH 7,0). ..... 31

**Figura 13**- Voltamogramas cíclicos da oxidação de DCF sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc em soluções tampão PBS (pH 7) de diferentes concentrações contendo  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  de DCF,  $v= 50 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 32

**Figura 14** - Voltamograma de pulso diferencial da oxidação de DCF sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc. Eletrólito:  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão PBS (pH 7,0) contendo  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de DCF. Amplitude de pulso de  $50 \text{ mV}$ ,  $v= 5 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t_d= 30 \text{ s}$ . ..... 33

**Figura 15** - Voltamogramas de pulso diferencial da oxidação de DCF sobre o eletrodo CV/CV-NiPc em uma solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão PBS (pH 7,0) contendo  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de DCF, para amplitudes de pulso variando de  $10$  a  $120 \text{ mV}$ ,  $v= 5 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t_d= 30 \text{ s}$  (A). Dependência da corrente do pico com a amplitude do pulso (B). ..... 33

**Figura 16** - Voltamogramas de pulso diferencial da oxidação de DCF sobre o eletrodo CV/CV-NiPc em uma solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão PBS (pH 7,0) contendo  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de DCF, para velocidades de varredura do potencial variando de  $5$  a  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , amplitude de pulso de  $110 \text{ mV}$ ,  $t_d= 30 \text{ s}$  (A). Dependência da corrente do pico com a velocidade de varredura do potencial (B). ..... 34

**Figura 17** - Voltamogramas de pulso diferencial da oxidação de DCF sobre o eletrodo CV/CV-NiPc em uma solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão PBS (pH 7,0) contendo  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de DCF, tempos de deposição do pulso ( $t_p$ ) variando de  $10$  a  $50 \text{ s}$ , amplitude de pulso de  $110 \text{ mV}$ ,  $v= 10 \text{ mV s}^{-1}$  (A). Dependência da corrente do pico com  $t_p$  (B). ..... 34

**Figura 18**- (A) Voltamogramas de pulso diferencial da oxidação de DCF sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc registradas após adições sucessivas de  $10 \mu\text{L}$  de uma solução  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  DCF em solução PBS (pH 7,0), amplitude do pulso=  $110 \text{ mV}$ ,  $v= 10 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t_d= 30 \text{ s}$  (A). Curva analítica da corrente de pico em função da concentração de DFC em solução PBS (pH 7,0) (B). ..... 35

**Figura 19** – Curva de adição padrão ..... 39

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1</b> - Relação dos reagentes empregados no presente trabalho   | 20 |
| <b>Tabela 2</b> - Parâmetros experimentais utilizados nas medidas eletroquímicas para a quantificação de DCF em soluções aquosas                              | 24 |
| <b>Tabela 3</b> - Comparação das características de diferentes eletrodos à base de nanotubos de carbono modificados para detecção de DCF em soluções aquosas. | 37 |
| <b>Tabela 4</b> - Comparação das características de diferentes eletrodos à base de nanotubos de carbono modificados para detecção de DCF em soluções aquosas. | 38 |
| <b>Tabela 5</b> – Resultados do estudo de recuperação   | 39 |

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

|            |  |
|------------|--|
| NTC        | Nanotubos de carbono   |
| CV         | Carbono vítreo   |
| DMF        | Dimetilformamida   |
| VC         | Voltametria cíclica  |
| VPD        | Voltametria de pulso diferencial                                   |
| DCF        | Diclofenaco  |
| ECV        | Eletrodo de carbono vítreo   |
| SWCNT      | Nanotubos de carbono de paredes simples                            |
| MWCNT      | Nanotubos de carbono de paredes múltiplas                          |
| AINEs      | Anti-inflamatórios não esteroidais                                 |
| PBS        | Tampão fosfato salino  |
| VFMCNTPE   | Vinylferrocene modified multiwall carbon nanotubes paste electrode |
| IL/CNTPE   | Ionic liquid-modified carbon nanotubes paste electrode             |
| MWCNT/CuPc | Multi-walled carbon nanotubes/copper(II)-octabutoxy-phthalocyanine |
| TCPE       | Tyrosine-modified carbon paste electrode                           |
| EPPG       | Edge plane pyrolytic graphite sensor                               |

## RESUMO

Este trabalho apresenta o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para a determinação voltamétrica do anti-inflamatório diclofenaco (DCF) em soluções aquosas sobre um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono e ftalocianina de níquel (CV/NTC-NiPc). Em solução tampão fosfato salino (pH 7), na varredura anódica de potenciais, o DCF exibiu dois picos de oxidação em potenciais de 0,36 e 0,60 V vs. Ag/AgCl, sendo este último utilizado para as demais análises. Um estudo da dependência da corrente de pico com a concentração de DCF mostrou uma linearidade no intervalo  $7,9 \cdot 10^{-6} - 1,6 \cdot 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, e limites de detecção e de quantificação encontrados foram de 2.4 μmol L<sup>-1</sup> e 7.9 μmol L<sup>-1</sup>, respectivamente. A quantificação do DCF foi analisada em três diferentes amostras de fármacos e apresentou resultados dentro do permitido pela farmacopéia brasileira. Testes de recuperação foram realizados adicionando-se uma concentração conhecida de uma dessas amostras no DCF padrão, onde os valores de recuperação encontrados foram de 99 a 102%.

**Palavras-chave:** Diclofenaco, nanotubos de carbono, ftalocianina de níquel, sensor eletroquímico.

## ABSTRACT

The present work presents the development of an electrochemical sensor for the voltammetric determination of the anti-inflammatory diclofenac (DCF) in aqueous solutions on a glassy carbon electrode modified with carbon nanotubes and nickel phthalocyanine (CV/NTC-NiPc). In phosphate-buffered saline solution (pH 7), in the anodic potential scan, the DCF exhibited two oxidation peaks; the latter being used for the other analyzes. A study of the peak current dependence with the DCF concentration in the range  $7.9 \times 10^{-6}$  -  $1.6 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, and detection and quantification limits of 2.4 μmol L<sup>-1</sup> and 7,9 μmol L<sup>-1</sup>, respectively. DCF quantification was analyzed in three different tissue types and shows results within the limits allowed by the Brazilian pharmacopoeia. Recovery tests were performed by adding known concentration values of a DCF standard solution, and the recovery values ranged from 99 to 102%.

**Keywords:** Diclofenac, carbon nanotubes, nickel phthalocyanine, electrochemical sensor.

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1 Anti-inflamatórios não-esteroidais e a poluição ambiental**

Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) são os agentes terapêuticos mais comercializados ao redor do mundo, possuindo ação analgésica, antipirética e anti-inflamatória [1]. São fármacos de fácil aquisição, não necessitando de uma prescrição médica, e economicamente acessíveis à população, o que justifica seu amplo uso. Essa constante prática tem acarretado em danos, tanto para a saúde do ser humano como para o meio ambiente pois, mesmo quando utilizados para tratamentos de doenças comuns são eliminados pelo organismo diretamente para o sistema de esgotos que provavelmente não serão tratados adequadamente e posteriormente lançados em ambientes hídricos [2].

O elevado consumo dos AINEs favorece a poluição em ambientes hídricos no Brasil pois, são eliminados em concentrações tóxicas para organismos vivos dos ambientes aquáticos. O descarte incorreto é a principal prática que facilita essa contaminação [3] e uma vez que há a sua propagação pela água e por posteriormente não ser devidamente tratada podem retornar para o consumo humano.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) a grande maioria das doenças que afeta a população mundial envolve a contaminação da água resultado da falta de um planejamento, serviços e infraestrutura adequada do setor de saneamento. Em muitos países, os recursos investidos não são suficientes para promover um tratamento eficaz e de qualidade da água, e os problemas vinculados à essa deficiência refletem diretamente na saúde da população e conseqüentemente no bem-estar social [4]

Nos últimos anos, uma nova classe de contaminantes tem sido encontrada em ambientes aquáticos. São os denominados poluentes emergentes. São comumente encontrados em pequenas quantidades e, por esse motivo, a identificação e o monitoramento tem sido bastante desafiadora [5]. Ainda não se sabe os reais riscos que eles podem trazer à nossa saúde, mas já é de conhecimento que organismos afetados costumam apresentar alterações no sistema endócrino [6]. Os anti-inflamatórios não esteroidais fazem parte da atual descoberta e dentre os que requerem maior necessidade para

monitoramento destacam-se o diclofenaco, o ibuprofeno e logo após o naproxeno pois da classe são os mais comumente utilizados [2].

No Brasil ainda não há uma legislação específica vigente que determine limites máximos de concentração para a grande maioria desses poluentes e capazes de aplicar penalidades para o descarte de forma irregular desses contaminantes [2]. Enquanto a legislação não for atualizada e o hábito de descarte pelos sistemas de esgotos domésticos persistir, os problemas associados com a contaminação ambiental continuarão a aumentar. Por esta razão pesquisadores buscam meios de identificar de forma precisa a presença desses poluentes emergentes desenvolvendo estudos para determinar valores toleráveis de concentração no meio e poder enquadrar o poluente como contaminante ou não.

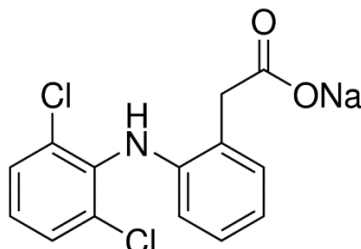
## 1.2 Diclofenaco

O ácido 2-[(2,6-diclorofenil)amino]benzeno acético, sal sódico conhecido como diclofenaco de sódio (DCF) é considerado um poluente emergente e pertencente a classe dos AINEs. Por se tratar de um fármaco largamente consumido ao redor do mundo, estudos envolvendo o diclofenaco são de interesse da comunidade científica. O DCF é um pó cristalino e branco, derivado do ácido fenil-acético [7] e sua fórmula estrutural é mostrada na Figura 1. Além disso, é um inibidor não seletivo, reversível e competitivo da ciclooxigenase, bloqueando subsequentemente a conversão do ácido araquidônico em precursores de prostaglandinas, e levando a uma inibição da formação de prostaglandinas que estão envolvidas na dor, inflamação e febre [8].

O diclofenaco sódico é um composto químico estável quando encontrado nos solos e em ambientes hídricos, porém é sensível a luminosidade. Sua degradação térmica leva a formação do ácido clorídrico, produto altamente solúvel em água que pode alterar o pH do meio, além de poluir rios, solo, flora, ar prejudicando a fauna [9]. O diclofenaco é encontrado no ar como vapor e como partícula, quando vapor é degradado por reações fotoquímicas com  $t = 2$  h e quando partícula é removido da natureza apenas por deposição seca ou úmida. No solo é encontrado no meio ambiente parcialmente dissociado/ionizado e não sofre volatilização assim como quando encontrado em ambientes hídricos. Neste último a fotólise direta é o meio mais significativa de degradação com  $t = 8$  dias [7]. De acordo com o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

(Inmetro), o diclofenaco de sódio é potencialmente tóxico para o meio ambiente e não deve ser descartado na rede de esgotos, em ambientes hídricos ou no solo.

**Figura 1** - Fórmula estrutural do diclofenaco sódico



Fonte: Sigma-Aldrich

### 1.3 Sensores eletroquímicos

Métodos analíticos; como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), eletroforese, fluorometria e espectrofotometria têm sido empregados na determinação de poluentes emergentes. A maioria requer um longo tempo nas etapas iniciais para preparação das amostras, maior quantidade de reagentes e, conseqüentemente, geram resíduos. Também envolvem o uso de instrumentação cara e sofisticada e longos tempos de análise [10]. Desta forma, há uma grande busca pelo desenvolvimento de métodos rápidos, mais eficientes e de baixo custo para a determinação quantitativa destes poluentes. Neste sentido, métodos eletroanalíticos apresentam-se como alternativas viáveis, pois permitem uma análise direta da amostra, com alta sensibilidade e sem a necessidade de etapas de separação ou pré-tratamento, bem como utilizando instrumentação de baixo custo [11].

Nas técnicas eletroanalíticas, o dispositivo capaz de medir as interações ocorridas na interface eletrodo-solução e que coleta dados oriundos de uma interação eletroquímica é denominado de sensor eletroquímico. Estes dispositivos permitem o reconhecimento de espécies químicas de interesse quando aplicado um valor de potencial fixo. Os sinais de corrente faradaica encontrados são proporcionalmente à concentração do analito, devido aos processos eletroanalíticos que ocorrem em sua interface [12]. A seletividade nas determinações analíticas é um ponto importante a ser avaliado durante a utilização dos sensores, visto que amostras complexas podem conter espécies que venham intervir no sinal encontrado. Mas em alguns casos as medições



podem ser feitas com eletrodos sem qualquer tipo de modificação. Uma maneira encontrada para diminuir a problemática da seletividade abrange a modificação da superfície do eletrodo.

A utilização de modificantes envolve o uso de reagentes moleculares imobilizados na superfície do eletrodo tornando-os, na maioria das vezes, dispositivos mais seletivos, além de servir como melhoria na capacidade de condução eletrônica e nas respostas de sinais de corrente. A escolha do eletrodo e do modificante apropriados para os demais sistemas deve ser feita, fundamentalmente, visando maior sensibilidade, seletividade e menor tempo de análise. Assim, diversos materiais têm sido empregados para uso em sensores eletroquímicos servindo como auxílio na busca pela determinação de poluentes emergentes em ambientes hídricos [12].

#### **1.4 Alotropia do carbono**

Nas última décadas, muitos trabalhos envolvendo sensores eletroquímicos estão associados a alótropos do carbono [13], uma vez que são considerados versáteis. Materiais carbonáceos não são tóxicos, possuem excelente condutividade térmica e elétrica, forte capacidade de adsorção, alto efeito eletrocatalítico, alta biocompatibilidade e alta área superficial [14]. Na natureza são encontrados facilmente em compostos orgânicos e, as duas formas alotrópicas do carbono encontradas são o grafite e o diamante [13]. A partir de 1991, utilizando grafite como matéria prima, surgiram os nanotubos de carbono [15], cujas aplicações englobam diversas áreas, como por exemplos circuitos integrados, medicina e biossensores [16]. Em 2004, a partir da esfoliação mecânica do grafite, pesquisadores sintetizaram o grafeno [17].

#### **1.5 Nanotubos de carbono**

Os nanotubos de carbono (NTCs) pertencem a família dos fulerenos e são formados por arranjos hexagonais de carbono dispostos em folhas de grafeno que são enrolados em forma de cilindro [18]. Existem dois tipos estruturais de NTCs: os nanotubos de carbono de parede simples (SWCNT) e de paredes múltiplas (MWCNT). No primeiro tipo apenas uma folha de grafeno é enrolada sobre si mesma e o segundo tipo constitui um conjunto de três ou mais nanotubos enrolados sobre si [19].

As características dos NTCs que justificam sua vasta utilização na área de sensores eletroquímicos estão na presença de alta área superficial, alta velocidade na transferência de elétrons e presença de grupos funcionais que possibilitam sua modificação com várias espécies [18]. A existência desses grupos químicos funcionais na estrutura química dos NTCs é que viabiliza seu uso uma vez que eles, em seu estado original, não respondem bem em solventes orgânicos e em meios aquosos [16]. Desta forma, a funcionalização dos nanotubos permite mudanças nas propriedades eletrônicas e mecânicas, de forma a facilitar sua interação com compostos químicos, como fármacos, tornando-os sensores altamente seletivos e com alta capacidade de detecção.

### **1.6 Ftalocianina (MPc)**

Dentre os diferentes tipos de sensores reportados na literatura estão aqueles que utilizam como espécie modificante as metaloftalocianinas (MPc, onde M representa um metal de transição). A descoberta das ftalocianinas aconteceu de forma acidental, em 1907 por Braun e Tcherniac. Atualmente possuem uma larga aplicação na modificação de superfícies de eletrodos, principalmente grafite e carbono, por apresentarem boa atividade eletrocatalítica frente a diferentes reações importantes [20]. Além disso, o sistema nanotubos de carbono modificados com metaloftalocianinas (MPc-NTCs) possui efeito sinérgico, ou seja, o bom desempenho do sensor é resultado da soma dos efeitos individuais das MPc's e dos NTCs de forma que nenhum deles altera as propriedades do outro [21].

### **1.7 Técnicas voltamétricas**

A voltametria é uma técnica eletroquímica que estuda a relação entre a corrente e o potencial durante a análise de uma espécie química de interesse em solução. Os primeiros estudos da corrente em função do potencial usados na identificação e quantificação de espécies eletroativas, foram realizados com um sistema de dois eletrodos, sendo o eletrodo de trabalho um eletrodo gotejante de mercúrio e a técnica denominada de polarografia, em 1922 [22]. A principal desvantagem do uso da polarografia é que ela faz uso do mercúrio, que é um composto tóxico. Os sistemas envolvendo o uso de dois eletrodos também são limitados uma vez que o potencial aplicado entre o eletrodo de trabalho e o de

referência afetam os resultados das medidas, pois quando o potencial passa por esse último eletrodo resulta em diferenças no fluxo de corrente por unidade de área e em reações que acabam afetando as análises [23]. Essas limitações acabaram com o surgimento do potenciostato, em 1942, e as células de três eletrodos passaram a ser comumente utilizadas [24].

Assim, voltametria é uma técnica eletroquímica onde, com o auxílio de um potenciostato, um potencial é aplicado sobre um eletrodo de trabalho numa célula eletroquímica e a corrente medida permite avaliar qualitativa e quantitativamente espécies de interesse presentes na solução eletrolítica [22]. A corrente flui entre o eletrodo de trabalho e um eletrodo auxiliar enquanto o potencial é aplicado entre o eletrodo de trabalho e um eletrodo de referência. Esse processo que ocorre nos eletrodos é o mesmo entre as técnicas de voltametria cíclica, de voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada; diferindo entre elas apenas a programação de aplicação do potencial e o registro da corrente.

#### *1.7.1 Voltametria cíclica*

A técnica de voltametria cíclica (VC) é a técnica mais utilizada para se estudar uma espécie eletroquímica com rapidez e obter informações importantes como a termodinâmica de processos redox e a cinética eletroquímica das reações ocorrendo sobre o eletrodo de trabalho [25]. Nela o potencial é variado linearmente com o tempo e a varredura do potencial iniciada numa região onde não ocorra processo redox. Em seguida, o potencial é deslocado para regiões mais negativas, onde uma espécie em solução é reduzida ou para regiões mais positivas onde a espécie se oxida [26]. O sentido da varredura de potencial pode ser revertido no momento que não houver mais reação de redução ou oxidação acontecendo e o ciclo é completado. O voltamograma gerado mostra a reversibilidade ou não dos compostos e fornece informações sobre seus mecanismos. Reações reversíveis apresentam picos voltamétricos de redução e de oxidação, enquanto que reações irreversíveis não apresentam um pico reverso.

#### *1.7.2 Voltametria de pulso diferencial*

Na técnica de voltametria de pulso diferencial (VPD) a corrente é medida em função do tempo de aplicação do pulso, e depende de como é programado

e aplicado. Na técnica de voltametria de pulso diferencial, pulsos de igual amplitude são aplicados sobre uma rampa linear de potencial e a medida é feita antes e depois da aplicação deles [27]. Assim, a diferença entre os dois pulsos gera voltamogramas de pulso que possuem por vantagem uma minimização da corrente capacitiva do sinal obtido [28]. Desta forma, essa correção de corrente permite limites de detecção na ordem de  $10^{-8}$  mol.L<sup>-1</sup> e torna a técnica de pulso mais sensível que a da voltametria cíclica.

## **2. OBJETIVO GERAL**

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver um sensor eletroquímico para a determinação do anti-inflamatório diclofenaco (DCF) em soluções aquosas.

### **2.1 Objetivos específicos**

- Estudar as propriedades redox do DCF sobre um eletrodo de carbono vítreo (CV) antes e após modificação com nanotubos de carbono não modificados (NTC) ou modificados com ftalocianina de níquel (NTC-NiPc);
- Estabelecer as melhores condições experimentais (eletrólito, pH e força iônica) para a determinação do DCF em soluções aquosas com as técnicas de voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial;
- Aplicar o sensor em amostras reais.

### 3. EXPERIMENTAL

**Tabela 1** - Relação dos reagentes empregados no presente trabalho

| Reagente                                  | Fórmula  | Procedência   |
|---|--|---------------|
| Ácido acético                             | CH <sub>3</sub> COOH   | Isofar        |
| Cloreto de potássio                       | KCl  | Merck         |
| Fosfato dissódico                         | Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                                   | Merck         |
| Fosfato monossódico                       | NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                                   | Merck         |
| Ftalocianina de níquel                    | NiPc   | Sigma-Aldrich |
| Diclofenaco de sódio                      | C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub> Na | Sigma-Aldrich |
| N,N-Dimetilformamida                      | C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO                                   | Merck         |
| Nanotubos de carbono de paredes múltiplas | MWCNT  | DropSens      |
| Cloreto de sódio                          | NaCl   | Merck         |
| Ácido fosfórico                           | H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>                                     | Isofar        |
| Ácido bórico                              | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                                     | Merck         |
| Hidróxido de sódio                        | NaOH   | Isofar        |
| Ferricianeto de potássio                  | C <sub>6</sub> N <sub>6</sub> FeK <sub>3</sub>                     | Merck         |

#### 3.1 Materiais, reagentes e soluções

Para as análises, foram utilizados reagentes de grau analítico sem purificação prévia (Tabela 1). As soluções foram preparadas com água purificada em sistema Millipore® Milli-Q Direct 8 e as medidas de pH foram realizadas com auxílio de um pHmetro Metrohm 827.

Soluções de tampão fosfato salino (PBS) foram preparadas com os reagentes Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e NaCl, de acordo com procedimentos descritos na literatura [29].

As soluções aquosas 1x10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de diclofenaco (DFC) foram diariamente preparadas em solução PBS antes do uso em virtude da sua instabilidade por fotodecomposição [30].

### 3.2 Medidas eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram feitas numa célula eletroquímica com três eletrodos (Figura 2), sendo um eletrodo de trabalho de carbono vítreo, um eletrodo auxiliar de platina (Pt) e um eletrodo de referência de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl). Utilizou-se um potenciostato/galvanostato Autolab 302N interfaceado a um microcomputador e gerenciado pelo software GPES 4.9, para aquisição e tratamento dos dados.

**Figura 2** - Célula eletroquímica com os eletrodos de trabalho CV, auxiliar Pt e referência Ag/AgCl e agitador magnético.



#### 3.2.1 Voltametria cíclica

Inicialmente, um estudo do comportamento eletroquímico do DCF foi realizado sobre o eletrodo CV em solução tampão fosfato (pH 7) na presença e na ausência de DCF  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , utilizando a técnica de voltametria cíclica. O sistema não apresentou problemas com a presença de oxigênio em solução e as medidas foram realizadas sem a necessidade de desaeração. Os voltamogramas cíclicos foram registrados entre 0,1 V e 0,85 V vs. Ag/AgCl em  $\text{KCl}_{\text{sat}}$  com as varreduras do potencial iniciadas no sentido anódico.

#### 3.2.2 Pré-tratamento do eletrodo CV

Antes de cada experimento eletroquímico, o eletrodo CV foi polido com alumina (tamanho de partícula  $0,3 \mu\text{m}$ ) suspensa em água. Em seguida, o eletrodo foi lavado com água deionizada e sonicado em água em banho ultrassônico UNIQUE USC-1400, para remoção de partículas impregnadas sobre a superfície do eletrodo durante o polimento.

### 3.2.3 Modificação do eletrodo CV com NTC-NiPc

A modificação do eletrodo foi feita de acordo com a literatura [31][32]. Inicialmente 1,1 mg de ftalocianina de níquel (NiPc) foi solubilizado em 2 mL de N,N-dimetilformamida (DMF). A solução obtida foi misturada com 10 mg de NTC e agitada durante uma hora até formação de uma suspensão. Após evaporação do solvente por um secador industrial a 300°, o sistema NTC-NiPc levado a estufa por 24 horas e armazenado.

Para a modificação do eletrodo CV, uma suspensão contendo 5,55 mg de NTC-NiPc em 2 mL de DMF foi preparada. Em seguida, uma alíquota de 5  $\mu$ L desta suspensão foi depositada sobre a superfície do eletrodo CV e submetida à secagem, com o auxílio de um secador (Figura 3) a 90°. Este procedimento foi repetido por mais três vezes, totalizando 20  $\mu$ L de suspensão na modificação do eletrodo.



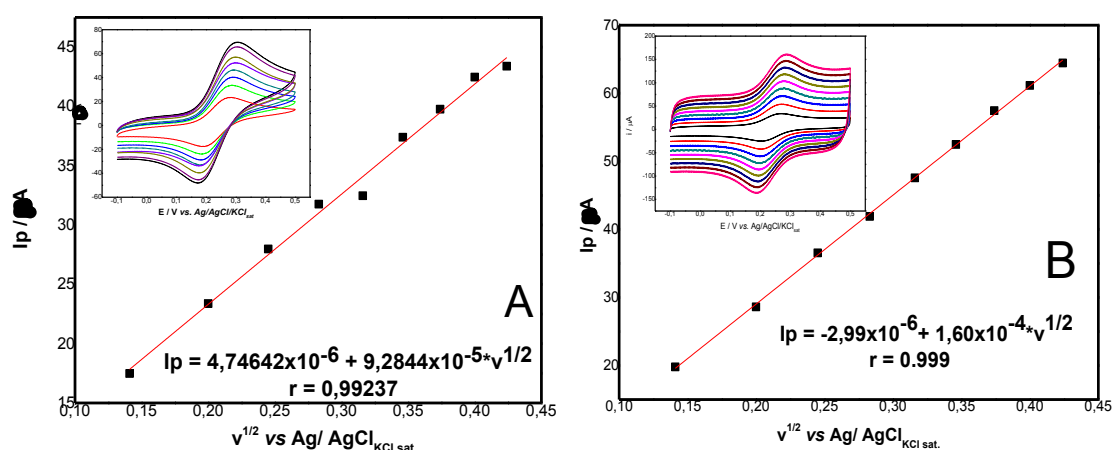
### 3.2.4 Determinação da área ativa do eletrodo CV/NTC-NiPc

As áreas ativas do eletrodo CV não modificado e modificado com NTC-NiPc foram estimadas a partir de experimentos de voltametria cíclica, realizados em diferentes velocidades de varredura do potencial, em soluções aquosas 1,0 mol L<sup>-1</sup> de KCl contendo 1x10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>], e os resultados analisados com base na equação de Randles-Sevcik [33] (Eq. 1):

$$I_p/v^{1/2} = (2,69 \times 10^5) A D^{1/2} n^{3/2} C \quad (1)$$

onde  $I_p$  representa a corrente de pico registrada na velocidade de varredura de potencial  $v$  ( $v.s^{-1}$ ),  $A$  ( $cm^2$ ) a área ativa do eletrodo,  $n$  o número de elétrons envolvidos,  $D$  ( $cm^2.s^{-1}$ ) e  $C$  ( $mol/cm^3$ ) o coeficiente de difusão e a concentração das espécies eletroativas em solução, respectivamente. Os resultados são apresentados na Figura 4 e permitiram calcular as áreas ativas dos eletrodos CV e CV/NTC-NiPc como sendo de  $4,7 \text{ cm}^2$  e  $8,1 \text{ cm}^2$ , respectivamente, ou seja, a modificação da superfície promoveu um aumento de 72% no valor na área ativa.

**Figura 3** - Gráficos da dependência da corrente de pico ( $I_p$ ) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura do potencial ( $v^{1/2}$ ) obtidos a partir do voltamogramas cíclicos registrados sobre os eletrodos CV (A) e CV/NTC-NiPc (B) em solução KCl  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  contendo  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $K_3[Fe(CN)_6]$  a diferentes velocidades de varredura do potencial.  $D = 6,39 \times 10^{-6} \text{ cm}^2.s^{-1}$ .



### 3.2.5 Validação da metodologia

De acordo com a ANVISA e o INMETRO alguns estudos são importantes de serem realizados para validação do método proposto. Neste trabalho adotou-se o cálculo para os limites de detecção e quantificação realizados a partir do estudo da curva analítica, além dos ensaios de recuperação baseados na literatura [34–36].

### 3.2.6 Parâmetros experimentais das medidas voltamétricas

Os parâmetros voltamétricos utilizados nas medidas experimentais são apresentados na Tabela 2.



**Tabela 2** - Parâmetros experimentais utilizados nas medidas eletroquímicas para a quantificação de DCF em soluções aquosas.

| Técnica | Velocidade de varredura do potencial<br>mV s <sup>-1</sup> | Amplitude de Pulso<br>mV |
|---------|--|--------------------------|
| VC      | 50   | -----                    |
| VPD     | 10   | 110                      |

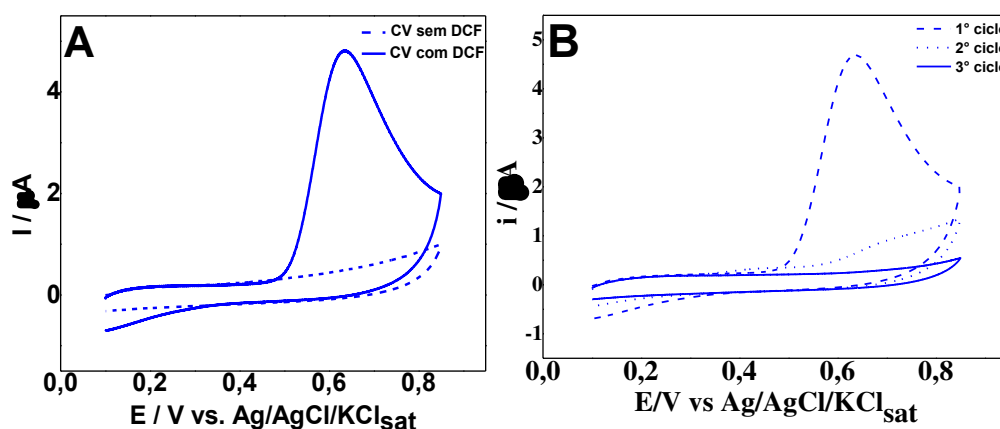
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Comportamento voltamétrico do DCF sobre o eletrodo CV

#### 4.1.1 Voltametria cíclica

Os voltamogramas cíclicos do eletrodo CV, registrados em uma solução tampão de fosfato salino (PBS, pH 7) antes e após adição de  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de DCF mostraram apenas a presença de um pico de oxidação em torno de 0.63 V vs. Ag/AgCl (Figura 5.A); comportamento este em concordância com a literatura [37,38]. Após cada varredura observou-se uma diminuição da corrente de pico, onde na terceira varredura o sinal do DCF não foi mais observado (Figura 5.B) indicando adsorção do(s) produto(s) da oxidação do DCF, com possível formação de um filme e consequente passivação da superfície do eletrodo [37,38].

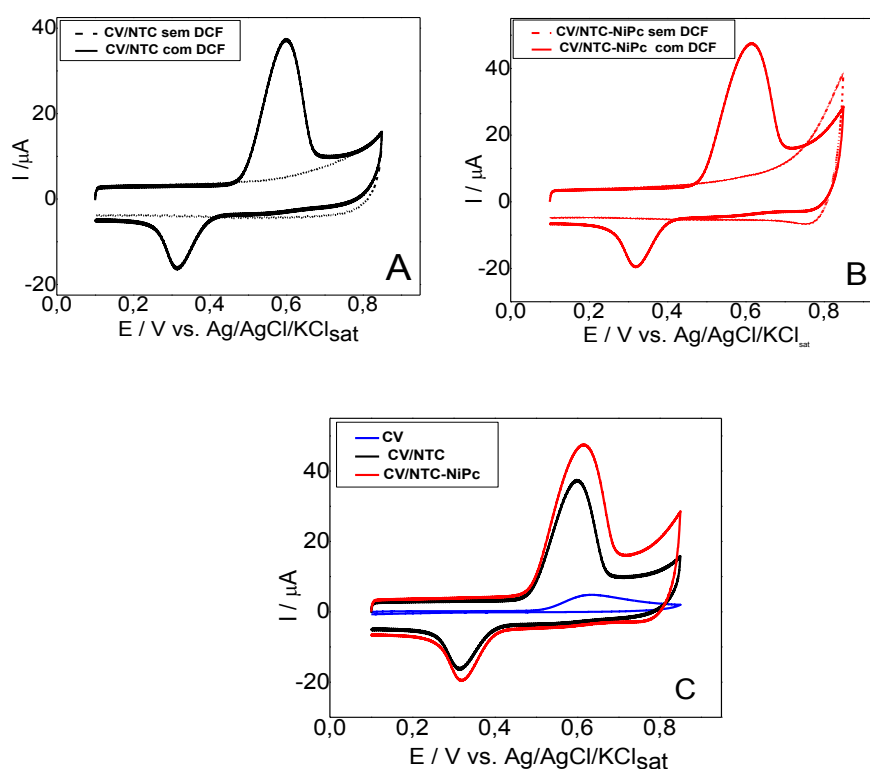
**Figura 4** - Voltamogramas cíclicos registrados sobre o eletrodo de CV em solução PBS 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 7) na ausência (linha tracejada) e na presença de 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de DCF (linha sólida) (A). Varreduras sucessivas do eletrodo de CV em solução PBS 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 7) na presença de 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de DCF (B).  $v = 50 \text{ mV.s}^{-1}$ .



## 4.2 Comportamento voltamétrico do DCF sobre o eletrodo CV modificado com NTC e NTC-NiPc

No intuito de melhorar a resposta eletroanalítica para a detecção de DCF em soluções aquosas, o eletrodo CV foi modificado inicialmente com NCT (Figura 6.A) e posteriormente com NTC-NiPc (Figura 6.B).

**Figura 5.** Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de CV/NTC (A) e CV/NTC-NiPc (B) em solução PBS  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7) na ausência e na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de DCF. Comparação dos voltamogramas cíclicos dos eletrodos CV, CV/NTC e CV/NTC-NiPc em solução PBS  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7) na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de DCF (C).  $v = 50 \text{ mV.s}^{-1}$ .



Com a modificação do eletrodo de CV com NTC ocorreu um deslocamento do potencial de pico de 0,63 para 0,60 V, bem como um aumento significativo na corrente de pico de oxidação do DCF, de  $4,8 \mu\text{A}$  para  $37,3 \mu\text{A}$  (Figura 6.A). Isso ocorreu como consequência, não somente do aumento na área ativa do eletrodo, mas também devido ao fato dos NTCs aumentarem, significativamente, a condutividade do eletrodo [39]. Interessante também notar que a modificação do eletrodo CV com NTC, além de promover um aumento significativo na corrente de oxidação do DCF, indicou a presença de um pico de redução em 0,32 V após reversão na direção da varredura de potenciais para valores menos positivos.

Um aumento ainda maior na corrente de oxidação do DCF foi observado com a modificação do NTC com NiPc. O voltamograma cíclico mostrou um aumento de 37,3  $\mu\text{A}$  (eletrodo CV-NTC) para 47,3  $\mu\text{A}$  (Figura 6.B) num potencial de 0,62 V, evidenciando um possível efeito sinérgico com a funcionalização dos NTC com NiPc [40].

A Figura 5C mostra uma comparação dos voltamogramas cíclicos da oxidação de DCF sobre os eletrodos CV, CV/NTC e CV/NTC-NiPc em solução PBS 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 7) e, com base nestes resultados, o eletrodo CV/NTC-NiPc foi definido como o mais adequado para dar continuidade ao trabalho na busca de um sensor eletroquímico para a detecção de DCF em soluções aquosas.

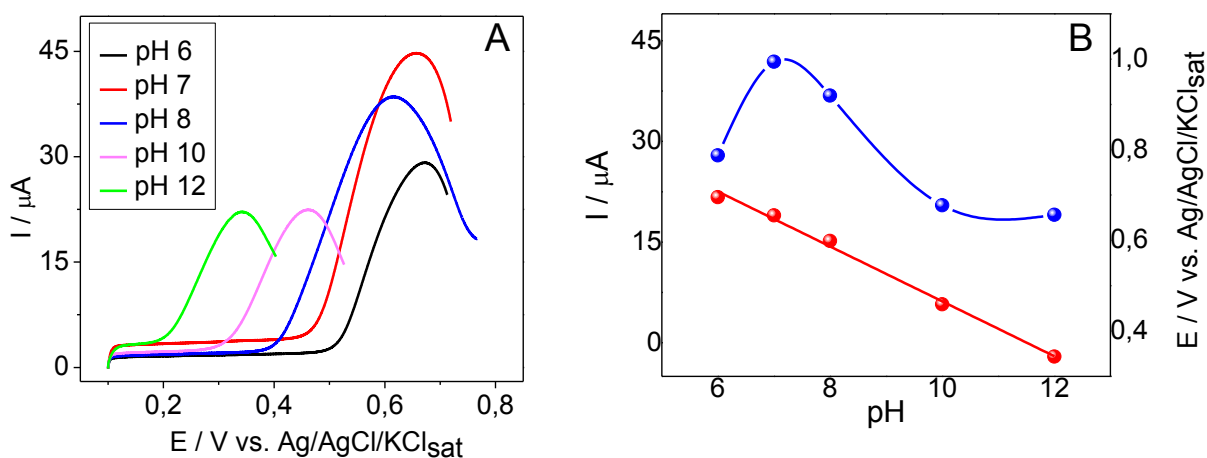
### 4.3 Influência do pH

A investigação da dependência do comportamento voltamétrico do eletrodo CV/NTC-NiPc com o pH é um passo importante para a otimização da detecção de DCF sobre o eletrodo CV modificado. No entanto é limitado pela solubilidade do DCF em soluções aquosas ácidas e básicas de diferentes pH [41] que, para valores de pH menores que 6,8 resultam em baixa solubilidade, variando de 0,0012 a 0,67 mg mL<sup>-1</sup>.

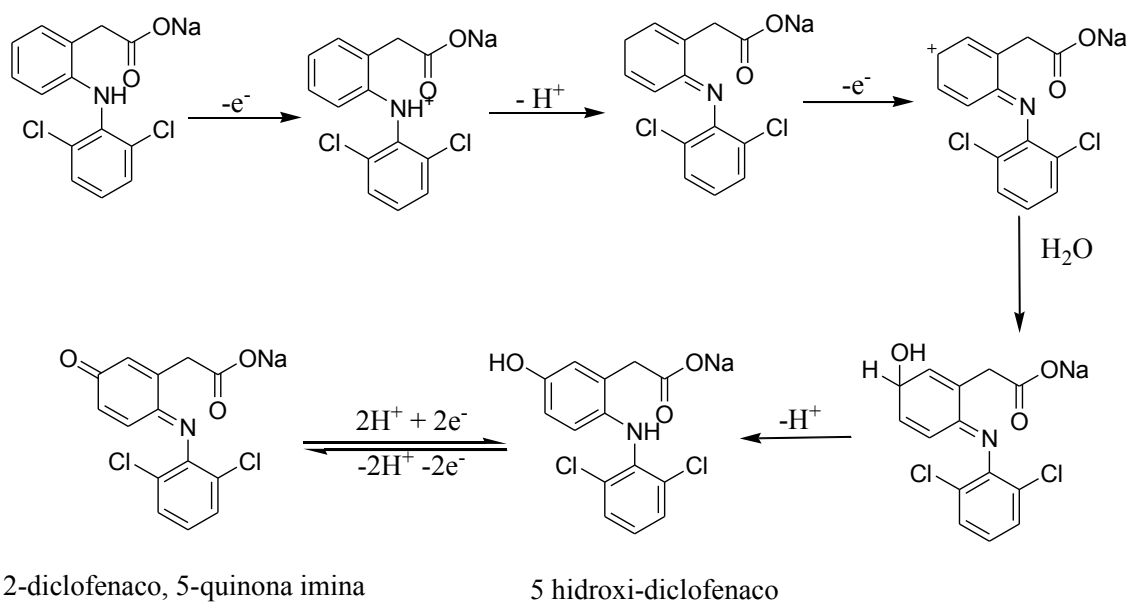
Assim sendo, a influência do pH da solução do eletrólito suporte nas respostas eletroquímicas (Figura 7.A) foi avaliada variando-se o pH entre 6 e 12 em soluções tampão Britton–Robinson (BR) 0,1 mol L<sup>-1</sup>. De acordo com a Figura 8A, a solução de pH 7 foi a que apresentou melhor comportamento voltamétrico, com valores de corrente de pico da ordem de 42  $\mu\text{A}$ , mostrando que em soluções aquosas ácidas ou alcalinas não ocorrem respostas eletroquímicas ideais para o estudo em questão, como já reportado na literatura [42] [43].

A dependência do potencial do pico da oxidação de DCF com o pH do eletrólito foi de 60 mV/pH (linha vermelha na Figura 7.B), o que indicou o envolvimento de um mesmo número de elétrons e de prótons na oxidação do DCF sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc em soluções aquosas, na região de potenciais estudada. Um possível mecanismo da oxidação do diclofenaco foi proposto por Goyal e outros pesquisadores [44] (Figura 8), com o envolvimento de 2 prótons acoplados a 2 elétrons, levando a formação do 5-hidroxiclofenaco após oxidação, e ao 2-diclofenaco, 5-quinona imina como o produto de oxidação.

**Figura 6** - Voltamogramas cíclicos da oxidação de DFC ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc em diferentes pH's  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  BR,  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$  (A) e dependência dos potenciais (linha vermelha) e das correntes (linha azul) de pico da oxidação de DFC com o pH (B).



**Figura 7** - Mecanismo da oxidação do diclofenaco proposto por Goyal e outros pesquisadores [44].

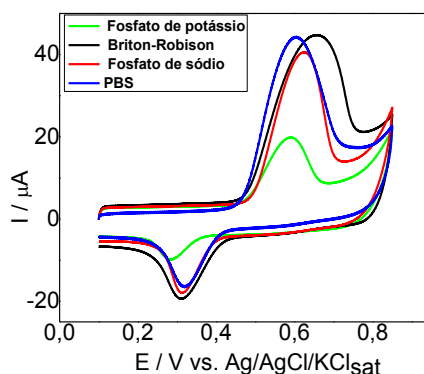


#### 4.4 Influência da natureza do eletrólito de suporte

A influência da natureza do eletrólito de suporte sobre o sinal eletroanalítico foi testada em quatro diferentes soluções tampão de pH 7: (1) fosfato de potássio, (2) Britton–Robinson, (3) Fosfato de sódio e (4) PBS. Os resultados (Figura 9) mostraram que o melhor comportamento voltamétrico do

DCF foi registrado na solução tampão PBS [33,43] que, além de aumentar o valor de corrente de oxidação ( $I_p$ ), ainda deslocou o potencial para valores menos positivos.

**Figura 8** - Voltamogramas cíclicos registrados sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc em soluções tampão BR, fosfato de sódio, fosfato de potássio e PBS ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7) contendo DCF ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ),  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .



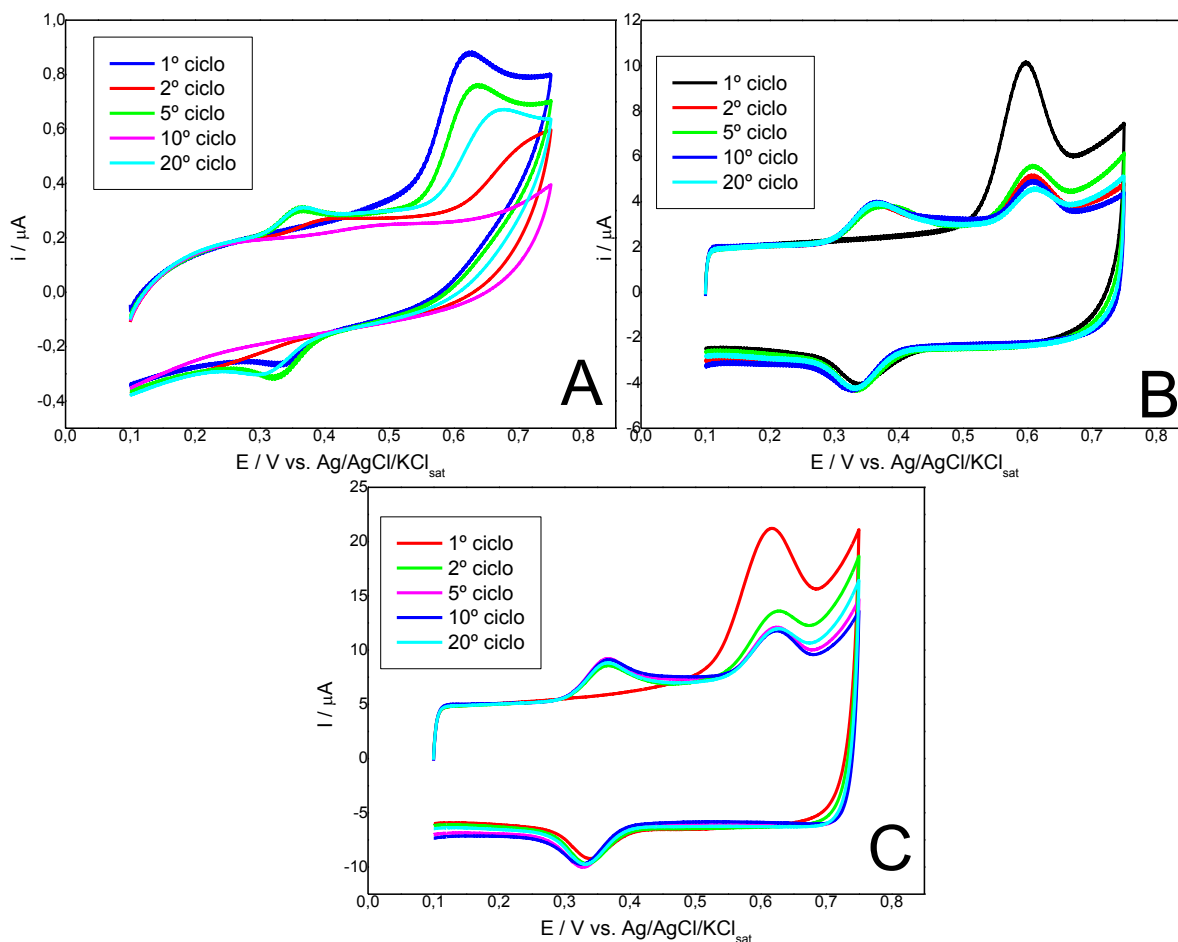
#### 4.5 Estabilidade do eletrodo CV/NTC-NiPc

A estabilidade dos eletrodos CV, CV/NTC e CV/NTC-NiPc para a detecção de DCF em solução PBS  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7) foi avaliada. Verificou-se que: (1) o eletrodo de CV apresentou um rápido decréscimo da corrente com o aumento no número de ciclos voltamétricos e, praticamente não apresentando o pico de oxidação do DCF já no 20º ciclo (Figura 10.A); (2) o eletrodo CV/NTC exibiu um decréscimo considerável da corrente entre o primeiro e o segundo ciclo, seguido de diminuição progressiva nos ciclos subsequentes, mantendo-se perfil voltamétrico mesmo no 20º ciclo (Figura 10.B); (3) o eletrodo CV/NTC-NiPc apesar de também ter apresentado um decréscimo da corrente nos ciclos iniciais, mostrou uma estabilização no perfil voltamétrico a partir do 5º ciclo (Figura 10.C).

Os experimentos também mostraram que a partir do 2º ciclo, a eletrooxidação do DCF em solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  PBS (pH 7), além do pico de oxidação registrado em torno de  $0,60 \text{ V}$  no 1º ciclo, apresenta um segundo processo redox, com potenciais de pico anódico e catódico em  $\sim 0,36 \text{ V}$  e  $\sim 0,33 \text{ V}$ , respectivamente (Figura 11). De acordo com a literatura [45], a presença deste processo redox reversível é resultado da forte adsorção dos produtos de reação do DCF na superfície do eletrodo, o que foi fortemente favorecido com a

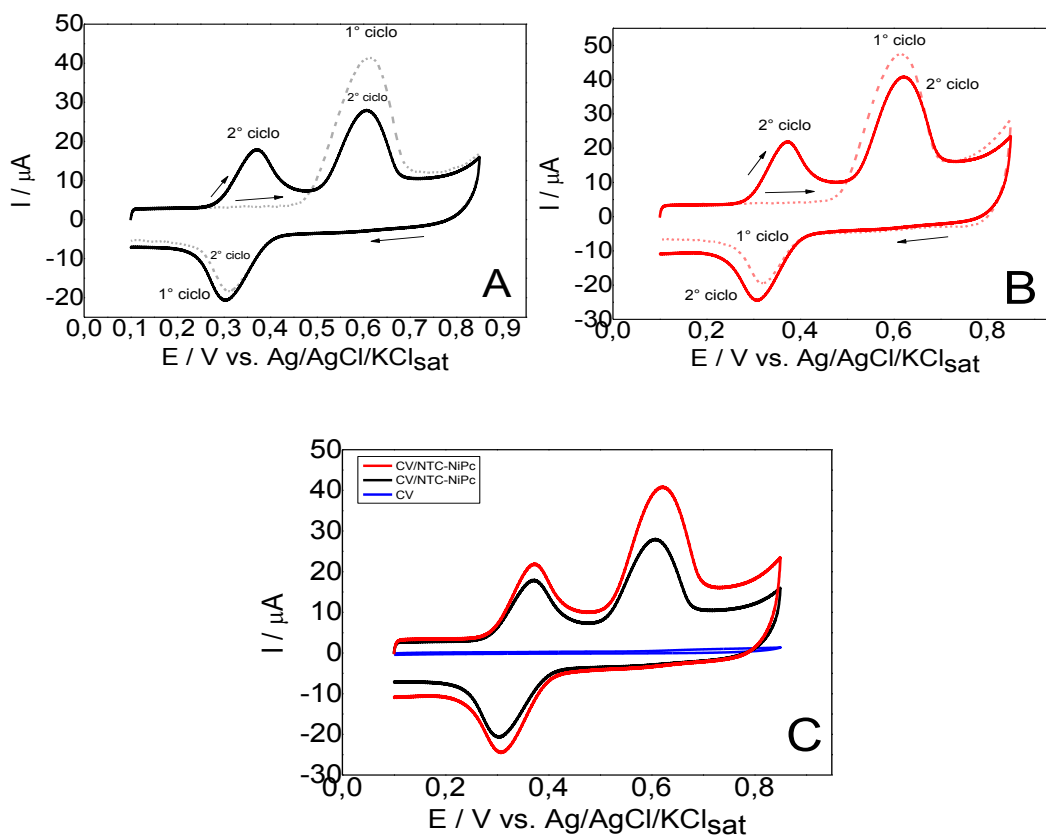
modificação do eletrodo CV com NTC, envolvendo a transferência de 2 prótons acoplados a 2 elétrons [43].

**Figura 9** - Voltamogramas cíclicos obtido da oxidação do DCF ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) no eletrodo de CV, CV/NTC e CV/NTC-NiPc em solução tampão PBS  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7.  $v = 50 \text{ mV.s}^{-1}$ ,  $E_i = 0,1 \text{ V}$ ;  $E_f = 0,75 \text{ V}$

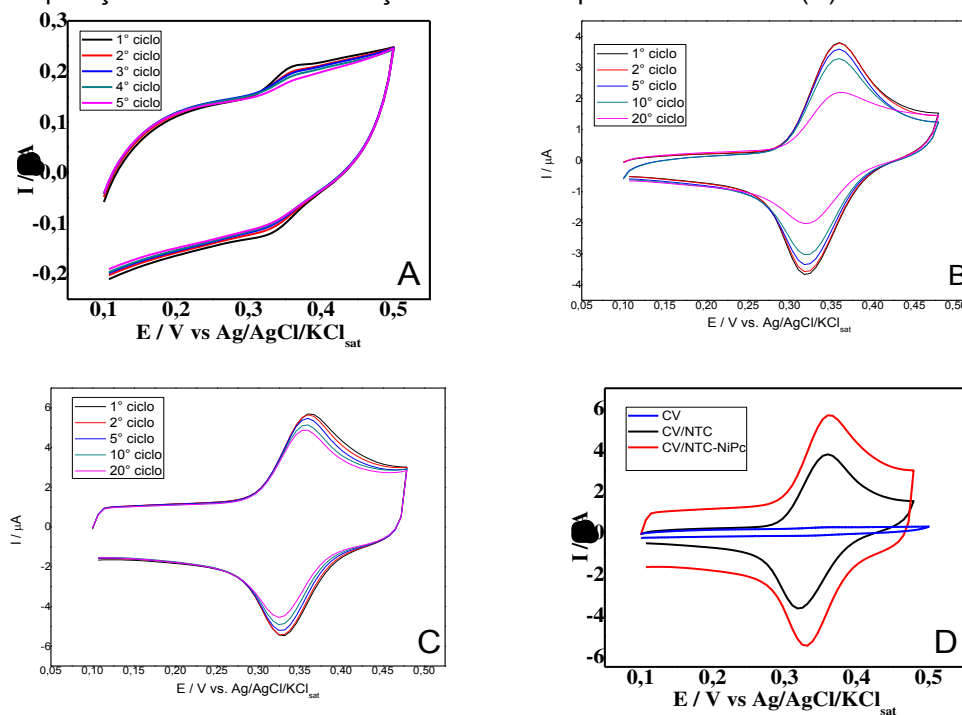


Para ciclos voltamétricos realizados entre 100 mV e 475 mV, onde o processo redox reversível foi observado, os voltamogramas cíclicos (Figura 12) confirmaram a estabilidade do eletrodo CV/NTC-NiPc para a determinação de DCF em soluções aquosas e a adoção deste intervalo de potenciais para os demais experimentos.

**Figura 10** - Voltamogramas cíclicos da oxidação de DCF sobre os eletrodos CV/NTC (A) e CV/NTC-NiPc (B) em solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 7) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DCF,  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . Comparação do 2º ciclo voltamétrico da oxidação de DCF sobre os eletrodos CV, CV/NTC e CV/NTC-NiPc (C).



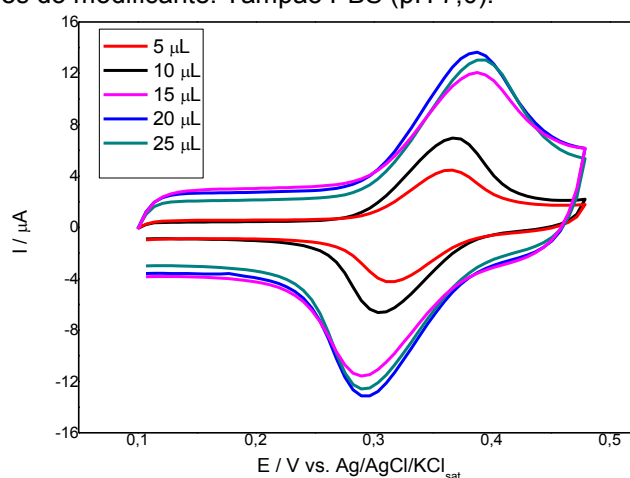
**Figura 11** - Voltamogramas cíclicos da oxidação de DCF sobre os eletrodos CV (A), CV/NTC (B) e CV/NTC-NiPc (C) em solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 7) contendo  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de DCF,  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . Comparação do 1º ciclo de oxidação sobre os respectivos eletrodos (D).



#### 4.6 Influência da modificação do eletrodo CV com NTC-NiPc

Para avaliar a influência da modificação do eletrodo CV com NTC-NiPc na oxidação do DCF em soluções aquosas, o volume da suspensão contendo NTC-NiPc depositado sobre a superfície do eletrodo CV foi modificado de 5 a 25  $\mu\text{L}$  e os resultados são mostrados na Figura 13. Os resultados indicaram um volume 20  $\mu\text{L}$  da suspensão contendo NTC-NiPc como o adequado para a modificação da superfície do eletrodo CV (área ativa de  $\sim 4.7 \text{ cm}^2$ ).

**Figura 12** - Voltamogramas cíclicos registrados sobre o eletrodo CV modificado com NTC-NiPc em diferentes volumes do modificante. Tampão PBS (pH 7,0).

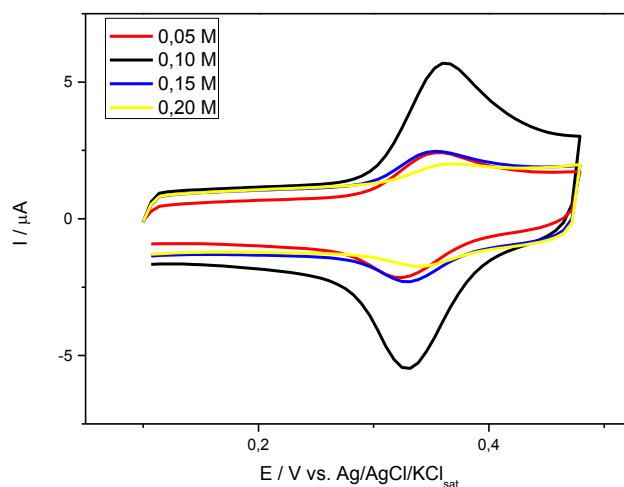


#### 4.7 Influência da concentração do eletrólito de suporte

A influência da concentração do eletrólito de suporte na oxidação do DCF sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc em solução PBS (pH 7) foi avaliada para concentrações variando de  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  a  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (Figura 14). A queda observada no valor da corrente após a concentração de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  envolve a movimentação dos íons  $\text{H}^+$  que depende das cargas formadas na superfície do eletrodo e que também está atrelado ao envolvimento da camada difusa. Esta última é mais espessa quando a concentração dos íons na solução for menor, portanto quando a concentração dos íons da solução é maior que a suportada pelo sistema a tendência é a neutralização das cargas e consequentemente queda no valor da corrente [46]. Desta forma os voltamogramas indicaram  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  como adequado e suficiente, sendo utilizada nos estudos subsequentes.



**Figura 13-** Voltamogramas cíclicos da oxidação de DCF sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc em soluções tampão PBS (pH 7) de diferentes concentrações contendo  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  de DCF,  $v= 50 \text{ mV s}^{-1}$ .



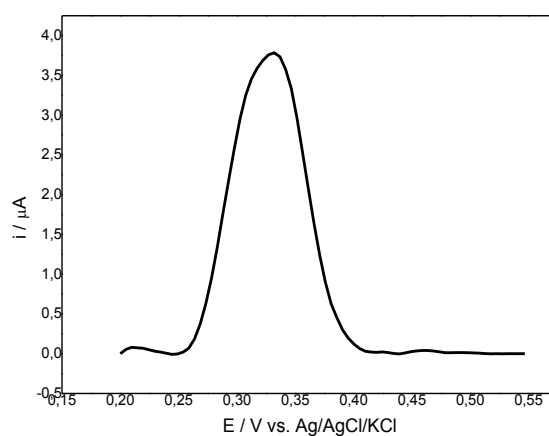
#### 4.8 Determinação de DCF sobre o eletrodo CV/NTC-NiTsPc com a técnica de voltametria de pulso diferencial

Após a realização dos estudos realizados com a técnica de voltametria cíclica (VC) e com a finalidade de utilizar o eletrodo CV/NTC-NiPc como um sensor eletroquímico para a determinação de DCF em soluções aquosas, a técnica de voltametria de pulso diferencial (VPD) foi utilizada. Nesta técnica, um pulso de potencial de pequena amplitude é aplicado sobre a rampa linear crescente de potencial e a corrente final é obtida pela diferença entre as correntes medidas em dois intervalos de tempo, antes da aplicação do pulso e próximo do final do pulso. Deste modo, a corrente capacitiva é compensada, uma vez que o seu decaimento é rápido (exponencial) em relação à corrente faradáica (linear), aumentando a sensibilidade da técnica voltamétrica, com limites de detecção da ordem de  $10^{-8} \text{ mol/L}$ .

Assim, um experimento inicial foi realizado para avaliação da aplicação da técnica VPD na detecção de DCF sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc em soluções aquosas. O voltamograma registrado mostrou a presença de um pico de oxidação bem definido, com potencial de pico localizado em  $0,33 \text{ V vs Ag/AgCl}$ .

Para melhorar o sinal analítico com esta técnica, os parâmetros amplitude de pulso (A), velocidade de varredura do potencial (v) e tempo de deposição do pulso ( $t_d$ ) foram otimizados e os resultados são apresentados a seguir.

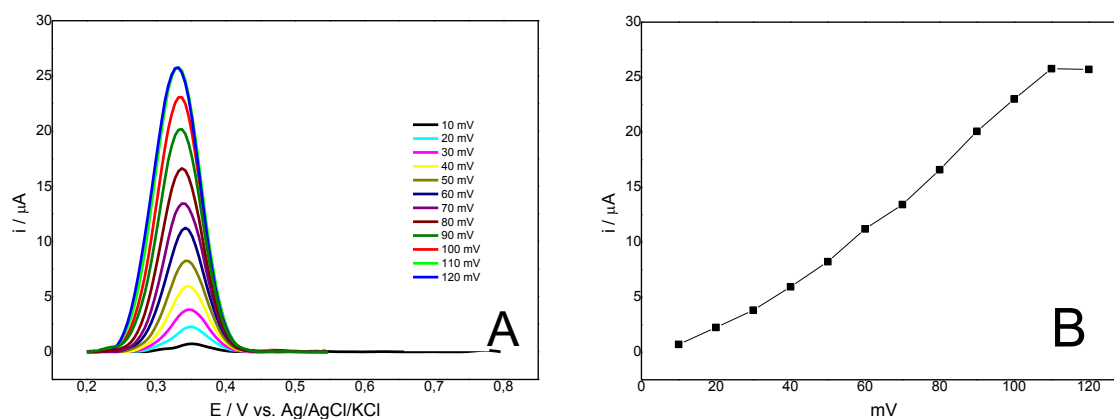
**Figura 14** - Voltamograma de pulso diferencial da oxidação de DCF sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc. Eletrólito: 0,1 mol L<sup>-1</sup> de tampão PBS (pH 7,0) contendo 50 μm L<sup>-1</sup> de DCF. Amplitude de pulso de 50 mV,  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t_d = 30 \text{ s}$ .



#### 4.8.1 Amplitude de pulso

Os voltamogramas de pulso diferencial registrados a uma velocidade de varredura do potencial de  $5 \text{ mV s}^{-1}$  para diferentes amplitudes de pulso são apresentados na Figura 16.A e indicaram um comportamento linear da corrente de pico para amplitude de pulsos no intervalo de 10 a 110 mV (Figura 16.B). Assim, a amplitude de pulso de 110 mV foi definida para dar sequência ao desenvolvimento da metodologia.

**Figura 15** - Voltamogramas de pulso diferencial da oxidação de DCF sobre o eletrodo CV/CV-NiPc em uma solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de tampão PBS (pH 7,0) contendo 50 μm L<sup>-1</sup> de DCF, para amplitudes de pulso variando de 10 a 120 mV,  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t_d = 30 \text{ s}$  (A). Dependência da corrente do pico com a amplitude do pulso (B).



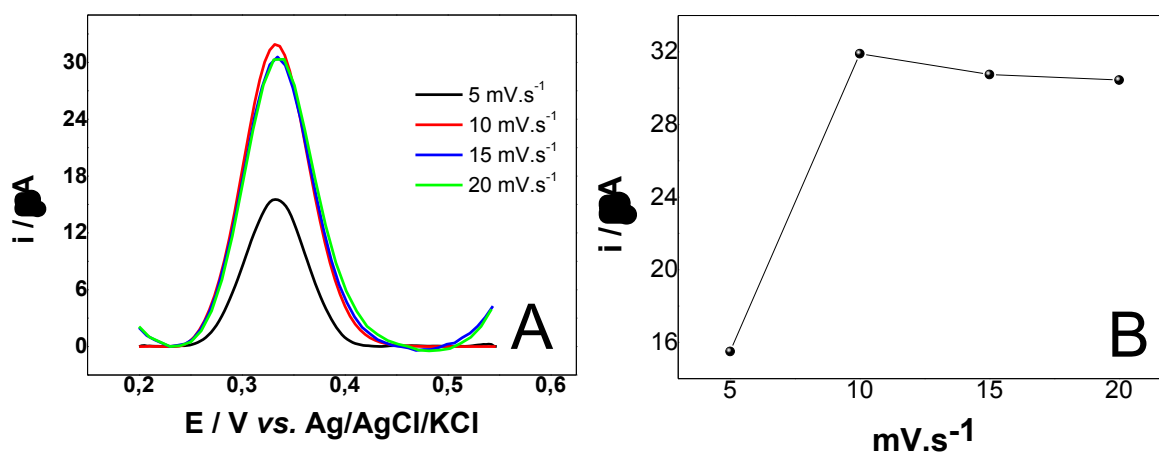
#### 4.8.2 Velocidade de varredura do potencial

Após definição da amplitude do pulso em 110 mV e mantendo-se o tempo de duração do pulso em 30 s, voltamogramas de pulso diferencial foram registrados para velocidades de varredura do potencial variando entre 5 mV s<sup>-1</sup> e 25 mV s<sup>-1</sup> (Figura 17.A). Uma análise destes voltamogramas (Figura 17.B) indicou a velocidade de 10 mV s<sup>-1</sup> como sendo adequada para a continuidade do trabalho.

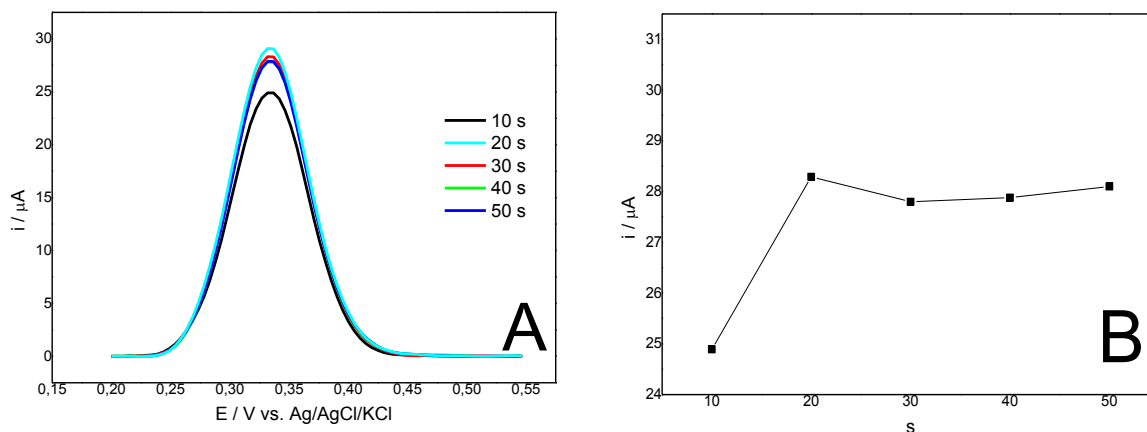
#### 4.8.3 Tempo de deposição do pulso

Após definir a amplitude de pulso em 110 mV e a velocidade de varredura do potencial em 10 mV s<sup>-1</sup>, variou-se o tempo de duração do pulso ( $t_p$ ) entre 10 s e 50 s no registro dos voltamogramas de pulso diferencial (Figura 18.A) e a dependência da corrente do pico de oxidação do DFC com  $t_p$  (Figura 18.B) permitiu definir como sendo de 20 s a melhor resposta do sistema.

**Figura 16** - Voltamogramas de pulso diferencial da oxidação de DCF sobre o eletrodo CV/CV-NiPc em uma solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de tampão PBS (pH 7,0) contendo 50 μm L<sup>-1</sup> de DCF, para velocidades de varredura do potencial variando de 5 a 20 mV s<sup>-1</sup>, amplitude de pulso de 110 mV,  $t_d = 30$  s (A). Dependência da corrente do pico com a velocidade de varredura do potencial (B).



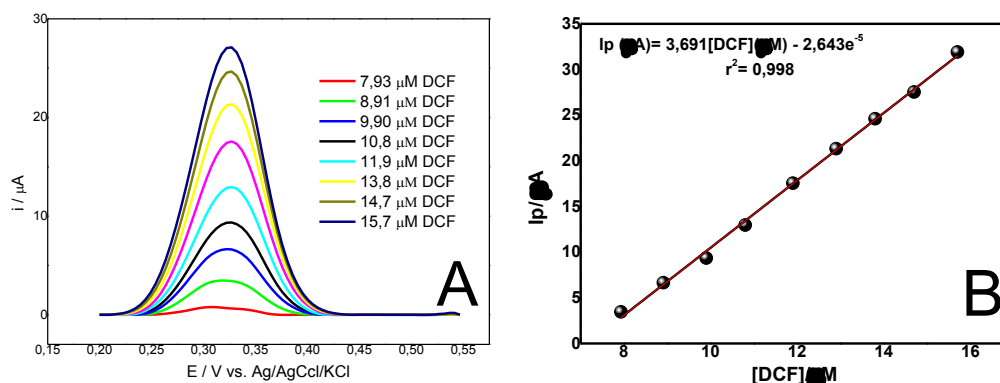
**Figura 17** - Voltamogramas de pulso diferencial da oxidação de DCF sobre o eletrodo CV/CV-NiPc em uma solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de tampão PBS (pH 7,0) contendo 50 μm L<sup>-1</sup> de DCF, tempos de deposição do pulso ( $t_p$ ) variando de 10 a 50 s, amplitude de pulso de 110 mV,  $v = 10$  mV s<sup>-1</sup> (A). Dependência da corrente do pico com  $t_p$  (B).



#### 4.8.4 Curva analítica

Uma vez estabelecidas as melhores condições experimentais para a determinação de DCF sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc com a técnica VPD, voltamogramas foram registrados após adições sucessivas de alíquotas de 10  $\mu L$  de uma solução  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de DCF numa solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 7,0), como mostrados na Figura 19.A. A partir de dados extraídos desta figura, a curva analítica foi construída (Figura 19.B) e apresentou uma dependência linear da corrente de pico da oxidação de DCF com a concentração em solução no intervalo de  $7,9 \times 10^{-6}$  a  $1,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ; de acordo com a equação  $I_p (\mu A) = 3,7x[DCF] \mu A \text{ mol L}^{-1} - 26,4 \times 10^{-6} \mu A$  e um coeficiente de correlação 0,998.

**Figura 18-** (A) Voltamogramas de pulso diferencial da oxidação de DCF sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc registradas após adições sucessivas de 10  $\mu L$  de uma solução  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  DCF em solução PBS (pH 7,0), amplitude do pulso= 110 mV,  $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t_d = 30 \text{ s}$  (A). Curva analítica da corrente de pico em função da concentração de DFC em solução PBS (pH 7,0) (B).



A partir destes dados os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para avaliação do eletrodo CV/NTC-NiPc como um sensor eletroquímico para a determinação de DCF em soluções aquosas foram calculados. Por definição, LD

é a menor concentração do analito em análise que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, empregando determinado procedimento experimental, e o limite de quantificação (LQ) definido como a menor concentração do analito que pode ser quantitativamente determinada [47].

O LD pode ser calculado a partir da relação [48]:

$$LD = \frac{3x\sigma}{S} \quad (2)$$

onde S é o desvio padrão da média de medidas do branco tomadas no potencial do pico da oxidação do DCF e  $\sigma$  é o coeficiente angular obtido a partir da curva analítica. Além disso, o LQ a partir da equação [48]:

$$LQ = \frac{10x\sigma}{S} \quad (3)$$

Assim, a partir da média de 10 brancos obtidos no potencial equivalente ao do pico da oxidação do DCF, bem como considerando a média das correntes nos voltamogramas de  $3,2 \times 10^{-5}$  A e o valor obtido para  $\sigma$  de  $\sim 2,9 \times 10^{-7}$ , os valores de LD e LQ foram calculados como sendo de  $2,4 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> e  $7,9 \cdot 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Estes valores são comparáveis aos de outros autores para a determinação do DCF em soluções aquosas (Tabela 3) e a sensores à base de NTC (Tabela 4). Os dados das tabelas mostram alguns resultados mais sólidos para os valores de LQ e LD, no entanto, tem-se a vantagem do sensor proposto neste trabalho apresentar maior simplicidade na sua preparação e menor custo. Além disso, o bom desempenho do sistema CV/NTC-NiPc pode ser atribuído à eficiência do compósito NTC-NiPc em promover uma transferência de carga entre o eletrodo CV modificado e o analito DCF.

**Tabela 3 - Comparação das características de diferentes eletrodos modificados para a detecção de DCF.**

| ELETRODO    | ELETRÓLITO                           | TÉCNICA | FAIXA LINEAR                                     | LD (mol L <sup>-1</sup> ) | LQ (mol L <sup>-1</sup> ) | REF.           |
|-------------|--------------------------------------|---------|--|---------------------------|---------------------------|----------------|
| Pt          | TBACIO <sub>4</sub><br>/ACETONITRILA | VPD     | 4,72X10 <sup>-6</sup> A<br>5,50X10 <sup>-5</sup> | 9,43X10 <sup>-7</sup>     | 2,83X10 <sup>-6</sup>     | [10]           |
| MWCNT/CuPc  | FOSFATO<br>(PH 7,5)                  | VC      | 4,0×10 <sup>-5</sup> A<br>6,7×10 <sup>-4</sup>   | 1,3X10 <sup>-5</sup>      | 4,0X10 <sup>-5</sup>      | [33]           |
| TCPE        | PBS                                  | VPD     | 10X10 <sup>-6</sup> A<br>140X10 <sup>-6</sup>    | 3,28X10 <sup>-6</sup>     | -----                     | [38]           |
| IL/CNTPE    | PBS<br>(PH 7,0)                      | VPD     | 5,0X10 <sup>-7</sup> A<br>3,0X10 <sup>-4</sup>   | 2,0X10 <sup>-7</sup>      | -----<br>-                | [43]           |
| EPPG        | FOSFATO<br>(PH 7,2)                  | VOQ     | 1X10 <sup>-8</sup> A<br>1X10 <sup>-6</sup>       | 6.2×10 <sup>-9</sup>      | -----                     | [45]           |
| VFMCNTPE    | PBS<br>(PH 7,0)                      | VOQ     | 5X10 <sup>-6</sup> A<br>6,0X10 <sup>-4</sup>     | 2,0X10 <sup>-6</sup>      | -----                     | [49]           |
| CV/NTC-NIPC | PBS<br>(PH 7,0)                      | VPD     | 7,9X10 <sup>-6</sup> A<br>1,6X10 <sup>-5</sup>   | 1,6X10 <sup>-7</sup>      | 5,4X10 <sup>-7</sup>      | ESTE TRABA LHO |

VFMCNTPE: Vinylferrocene modified multiwall carbon nanotubes paste electrode

TCPE: Tyrosine-modified carbon paste electrode

EPPG: Edge plane pyrolytic graphite sensor

IL/CNTPE: Ionic liquid-modified carbon nanotubes paste electrode

**Tabela 4 - Comparação das características de diferentes eletrodos à base de nanotubos de carbono modificados para detecção de DCF em soluções aquosas.**

| Eletrodo    | Eletrólito          | Técnica | Faixa Linear (mol L <sup>-1</sup> )            | LD (mol L <sup>-1</sup> ) | LQ (mol L <sup>-1</sup> ) | Ref.          |
|-------------|---------------------|---------|--|---------------------------|---------------------------|---------------|
| VFMCNTPE    | PBS<br>(pH 7,0)     | VOQ     | 5x10 <sup>-6</sup> a<br>6,0x10 <sup>-4</sup>   | 2,0x10 <sup>-6</sup>      | -----                     | [49]          |
| IL/CNTPE    | PBS<br>(pH 7,0)     | VPD     | 5,0x10 <sup>-7</sup> a<br>3,0x10 <sup>-4</sup> | 2,0x10 <sup>-7</sup>      | -----                     | [43]          |
| MWCNT/CuPc  | Fosfato<br>(pH 7,5) | VC      | 4,0×10 <sup>-5</sup> a<br>6,7×10 <sup>-4</sup> | 1,3x10 <sup>-5</sup>      | 4,0x10 <sup>-5</sup>      | [33]          |
| CV/NTC-NiPc | PBS<br>(pH 7,0)     | VPD     | 7,9x10 <sup>-6</sup> a<br>1,6x10 <sup>-5</sup> | 1,6x10 <sup>-7</sup>      | 5,4x10 <sup>-7</sup>      | Este trabalho |

VFMCNTPE: Vinylferrocene modified multiwall carbon nanotubes paste electrode

IL/CNTPE: Ionic liquid-modified carbon nanotubes paste electrode

MWCNT/CuPc: multi-walled carbon nanotubes/copper(II)-octabutoxy-phthalocyanine

#### 4.9 Testes de quantificação e recuperação de DCF em amostras reais

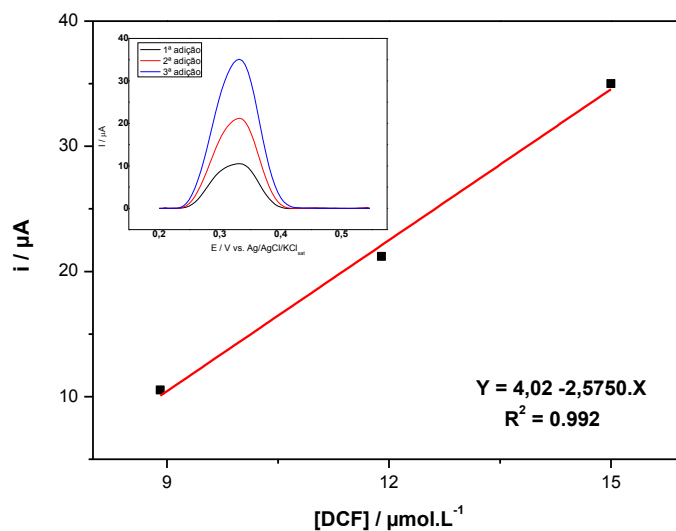
O teste para a validação do método proposto foi realizado para três diferentes amostras reais. Para quantificação das amostras adicionou-se 13,40 M de cada uma das amostras e a partir dos valores do coeficiente angular e linear obtidos pela equação da reta da curva analítica calculou-se a porcentagem recuperada. Os valores obtidos estão na tabela 5.

**Tabela 5** – Valores para quantificação de três laboratórios diferentes de DCF.

| <b>Amostra</b> | <b>Adicionado<br/>μM</b> | <b>Encontrado<br/>μM</b> | <b>Recuperado<br/>%</b> |
|----------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| A              | 13,40                    | 12,6                     | 94,0                    |
| B              | 13,40                    | 12,4                     | 92,5                    |
| C              | 13,40                    | 12,8                     | 95,5                    |

Os resultados revelam que as três amostras se encontram dentro das concentrações indicadas pelo fabricante, podendo variar entre 90 a 110% segundo a farmacopeia brasileira (2010).

O teste de recuperação possibilitou a construção de uma reta relacionando as concentrações do analito após três adições de padrão de DCF obtidos por VPD após cada uma das adições a fim de se estimar a recuperação para cada uma das concentrações adicionadas de DCF. A Figura 20 mostra a curva de adição padrão que foi construída a partir da intensidade de pico registrada em função de cada uma das adições do padrão do DCF na presença de uma amostra real. Os voltamogramas obtidos para a solução inicial de DCF e para a adição de três alíquotas 8,9 μM, 11,9 μM e 15,0 μM de padrão de DCF nas amostras também estão ilustrados na Figura 20. A relação entre  $I_p$  e a concentração de DCF nesta análise apresentou boa linearidade sendo o valor de  $R^2 = 0,992$ .

**Figura 19** – Curva de adição padrão

As concentrações recuperadas e as porcentagens de recuperação (Tabela 6) mostram uma boa exatidão do método, sendo as porcentagens de recuperação obtidos entre 99,36% a 101,94%.

**Tabela 6** – Resultados do estudo de recuperação

| Amostra | Conc. Adicionada $\mu\text{M}$ | Conc. Encontrada $\mu\text{M}$ | Recuperação % |
|---------|--------------------------------|--------------------------------|---------------|
| A       | 8,9                            | 9,01                           | 101,19        |
| A       | 11,9                           | 12,13                          | 101,94        |
| A       | 15,0                           | 14,90                          | 99,36         |



## 5. CONCLUSÃO

No presente trabalho, a oxidação de diclofenaco (DCF) em soluções aquosas foi inicialmente estudada com a técnica de voltametria cíclica sobre um eletrodo de carbono vítreo (CV) antes e após modificações com nanotubos de carbono não-modificados (CV/NTC) e modificados com ftalocianina de níquel (CV/NTC-NiPc). As modificações realizadas, principalmente sobre o eletrodo CV/NTC-NiPc, mostraram um aumento significativo na corrente do pico voltamétrico em comparação com o eletrodo CV não modificado. Além disso, os resultados também indicaram uma dependência da oxidação do DCF com o pH da solução, e envolvendo 2 prótons e 2 elétrons, com possível formação de 5-hidróxiclofenaco e 2-diclofenaco, 5-quinona imina. Este estudo quando associados com o realizado com a técnica de voltametria de pulso diferencial permitiu definir o eletrodo CV/NTC-NiPc como um eficiente sensor voltamétrico para a detecção de DCF em soluções aquosas e a realização de uma avaliação quantitativa num intervalo de  $7,9 \times 10^{-6}$  a  $1,6 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, com limites de detecção e de quantificação de  $1,6 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> e  $5,4 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente, em boa concordância com outros sistemas reportados na literatura. A validação do sensor proposto foi realizada através dos testes de quantificação e recuperação e mostraram resultados satisfatórios variando entre 90 a 110% e de 99,36 a 101,94%, respectivamente. Assim sendo, foi possível concluir que o método proposto é versátil para a determinação do DCF devido a sua sensibilidade, simplicidade experimental e curto tempo de análise.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] MARQUES DA SILVA, J.; PEREIRA MENDONÇA, P.; PARTATA, A. K. Anti-inflamatórios não-esteróides e suas propriedades gerais. **Revista Científica do ITPAC**, v. 7, n. n.4, Pub. 5, [s.d.].
- [2] STELATO, E. DA S. et al. Avaliação da presença de resíduos de anti-inflamatórios não esteroides nos córregos veado e cedro do município de Presidente Prudente (SP), Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais (Online)**, n. 39, p. 97–113, 2016.
- [3] SILVA, R. F. et al. Identificação e quantificação de contaminantes emergentes em estações de tratamento de esgoto. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 3, p. 702–715, 2016.
- [4] AYACH, L. R. et al. Saúde, saneamento e percepção de riscos ambientais urbanos. **Caderno de Geografia**, v. 22, n. 37, p. 47–64, 2012.
- [5] ARIAS, D. G. **Contaminantes emergentes, seus efeitos no meio ambiente e desafios para novos e desafios para novos mecanismos de purificação de água**. Disponível em: <[http://www.graq.isep.ipp.pt/uploadFiles/file/Poluentes Emergentes Joao Vilaca.pdf](http://www.graq.isep.ipp.pt/uploadFiles/file/PoluentesEmergentes%20Joao%20Vilaca.pdf)>.
- [6] FILHO, R. W. R.; LUVIZOTTO-SANTOS, R.; VIEIRA, E. M. Poluentes Emergentes como Desreguladores Endócrinos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 2, n. 3, p. 283–288, 2007.
- [7] **Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos - FISPQ**. Disponível em: <[http://www.inmetro.gov.br/metcientifica/mrc-descricao/mrc-8937-FISPQ\\_MRC\\_8937\\_Informacoes\\_de\\_Seguranca\\_e\\_Transporte.pdf](http://www.inmetro.gov.br/metcientifica/mrc-descricao/mrc-8937-FISPQ_MRC_8937_Informacoes_de_Seguranca_e_Transporte.pdf)>.
- [8] NATIONAL INSTITUTE FOR HEALTH AND CARE EXCELLENCE. **Diclofenac Sodium**. Disponível em: <<https://bnf.nice.org.uk/drug/diclofenac-sodium.html>>. Acesso em: 5 maio. 2019.
- [9] **Ficha de informação de segurança de produto químico ácido clorídrico - FISPQ**. Disponível em: <<http://www.sasil.com.br/br/hp/upload/FISPQ-AcidoCloridrico.pdf>>. Acesso em: 20 ago. 2019.
- [10] YILMAZ, B. et al. Differential pulse voltammetric determination of diclofenac in pharmaceutical preparations and human serum. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 2, p. 285–294, 2015.
- [11] GONÇALVES, D. et al. Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) em estado sólido de manchas de Cromatografia de Camada Delgada (CCD): Um novo método de análise para fitoativos antioxidantes. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 330–334, 2011.
- [12] LOWINSOHN, D.; BERTOTT, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318–1325, 2006.
- [13] SILVA, T.; SALLES, M.; PAIXÃO, T. Investigação do uso de eletrodo de carbono vítreo modificado com hexacioanoferrato de rutênio para detecção de procaína. **Química Nova**, v. 38, n. 1, p. 85–90, 2015.
- [14] HOU, J. et al. Graphene-based electrochemical energy conversion and storage : fuel cells , supercapacitors and lithium ion batteries. p. 15384–15402,

2011.

[15] OLIVEIRA, M. M.; ZARBIN, A. Nanoestruturas de carbono (nanotubos, grafeno): QUO VADIS? **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1533–1539, 2013.

[16] RIOS, I. et al. Nanotubos de carbono: potencial de uso em medicina veterinária. **Ciência Rural**, v. 44, n. 10, p. 1823–1829, 2014.

[17] VILAR, E. O.; SEGUNDO, J. E. D. Grafeno: Uma revisão sobre propriedades, mecanismos de produção e potenciais aplicações em sistemas energéticos. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 2016, p. 54–57, 2017.

[18] DUMITRESCU, I.; UNWIN, P. R.; MACPHERSON, J. V. Electrochemistry at carbon nanotube: perspective and issues. **Chemical Communications**, v. 0, n. 45, p. 6886–6901, 2009.

[19] LEALA, C. et al. Caracterização e avaliação in vitro de nanocompósitos de poli (L-ácido láctico) e nanotubos de carbono de paredes múltiplas purificados. **Química Nova**, v. XY, n. 00, p. 1–9, 2015.

[20] BRAUN, A.E.; TCHERNIAC, J. Phthalocyanines: Synthesis. **Ann. Ber**, v. 40, p. 2709–2718, 1907.

[21] DONG, G.; HUANG, M.; GUAN, L. Iron phthalocyanine coated on single-walled carbon nanotubes composite for the oxygen reduction reaction in alkaline media. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 14, p. 2557–2559, 2012.

[22] PACHECO, W. F. et al. Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516–537, 2013.

[23] MANOEL, L. Voltametria: Conceitos e Técnicas. **Chemkeys**, n. li, 2003.

[24] ROUNTREE, K. J. et al. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. **Journal of chemical education**, n. 95, p. 197–206, 2017.

[25] ALENCAR, M. et al. Construção de célula eletroquímica para observação de amostras in situ em estereomicroscópio. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1–9, 2010.

[26] SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Princípios de Análise Instrumental. In: 5. ed. Porto Alegre: BOOKMAN, 2012. p. 501–516.

[27] WANG, J. et al. Bismuth-Coated Carbon Electrodes for Anodic Stripping Voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 14, p. 3218–3222, 2000.

[28] SOUZA, D. DE; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81–89, 2003.

[29] PHILLIPS, T. **How to Make Phosphate Buffered Saline (PBS)**. Disponível em: <<https://www.thebalance.com/make-phosphate-buffered-saline-375492>>.

[30] QIN, M. et al. Photochemical characteristics of diclofenac and its photodegradation of inclusion complexes with  $\beta$ -cyclodextrins. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 559–562, 2012.

[31] SCHERSON, D. et al. Transition metal macrocycles supported on high area carbon: Pyrolysis — mass spectrometry studies. **Electrochimica Acta**, v. 31, n. 10, p. 4–7, 1986.

[32] MTHETHWA, T.; ANTUNES, E.; NYOKONG, T. Photophysical properties of a new water soluble tetra thiamine substituted zinc phthalocyanine conjugated to

gold nanorods of different aspect ratios. **Dalton Transactions**, n. 22, p. 1–19, 2014.

[33] WONG, A.; MARESTONI, L. D.; SOTOMAYOR, M. D. P. T. Monitoring of diclofenac with biomimetic sensor in batch and FIA systems. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 7, p. 1283–1291, 2014.

[34] MENSINK, C. K. et al. Rational Illustration design for bioanalytical methods validation using an assay method for total captopril in plasma experimental. v. 730, p. 381–394, 1996.

[35] BEATRIZ, C. et al. Revisão. v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

[36] MEIJA, J.; PAGLIANO, E. Coordinate Swapping in Standard Addition Graphs for Analytical Chemistry: A Simplified Path for Uncertainty Calculation in Linear and Nonlinear Plots. 2014.

[37] LUCAS, F. W. D. S. et al. Diclofenac on Boron-Doped Diamond Electrode: From Electroanalytical Determination to Prediction of the Electrooxidation Mechanism with HPLC-ESI / HRMS and Computational Simulations. **Langmuir**, v. 30, p. 5645–5654, 2014.

[38] CHETHANA, B. K.; BASAVANNA, S.; NAIK, Y. A. Voltammetric Determination of Diclofenac Sodium Using Tyrosine-Modified Carbon Paste Electrode. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 51, p. 10287–10295, 2012.

[39] ZAPOROTSKOVA, I. V et al. **Carbon nanotube: Sensor properties. A review.** Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.moem.2017.02.002>>.

[40] GERALDO, D. A. et al. Electrooxidation of hydrazine catalyzed by noncovalently functionalized single-walled carbon nanotubes with CoPc. **Electrochimica Acta**, v. 53, n. 27, p. 1–2, 2008.

[41] KINCL, M. et al. Study of physicochemical parameters affecting the release of diclofenac sodium from lipophilic matrix tablets. **Acta Chimica Slovenica**, v. 51, n. 3, p. 409–425, 2004.

[42] RAJKUMAR, M.; DEVADAS, B.; CHEN, S. Single step electrochemical fabrication of highly loaded palladium nanoparticles decorated chemically reduced graphene oxide and its electrocatalytic applications. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 452, p. 39–45, 2014.

[43] ENSAFI, A. A.; IZADI, M.; KARIMI-MALEH, H. Sensitive voltammetric determination of diclofenac using room-temperature ionic liquid-modified carbon nanotubes paste electrode. **Ionics**, v. 19, p. 137–144, 2013.

[44] GOYAL, R. N.; CHATTERJEE, S.; RANA, A. R. S. The effect of modifying an edge-plane pyrolytic graphite electrode with single-wall carbon nanotubes on its use for sensing diclofenac. **Carbon**, v. 48, n. 14, p. 4136–4144, 2010.

[45] GOYAL, R. N.; CHATTERJEE, S.; AGRAWAL, B. Electrochemical investigations of diclofenac at edge plane pyrolytic graphite electrode and its determination in human urine. **Sensors & Actuators: B. Chemical**, v. 145, n. 2, p. 743–748, 2010.

[46] PAVLOV, D. **Lead-Acid Batteries: Science and Technology: A handbook of lead-acid battery technology and its influence on the product.** 2nd Edition

ed. [s.l: s.n.].

[47] IMOTO, M. N. DETERMINAÇÃO DOS LIMITES DE DETECÇÃO ( LD ) E QUANTIFICAÇÃO ( LQ ) EM ANÁLISE DE RESÍDUOS. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, n. 18, p. 35–44, 2008.

[48] NAWAZ, M. Simultaneous determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in pharmaceutical formulation and human SERUM by reversed phase high performance liquid chromatography. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 939–943, 2012.

[49] MOKHTARI, A. et al. Application of modified multiwall carbon nanotubes paste electrode for simultaneous voltammetric determination of morphine and diclofenac in biological and pharmaceutical samples. **Sensors & Actuators B: Chemical**, v. 169, p. 96–105, 2012.