



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Centro de Ciências Exatas e Tecnologia

Programa de Pós-Graduação em Química

MYLLA KARLIANE VERA CRUZ FRÓZ

**APLICAÇÃO DE SENSOR ELETROQUÍMICO DE
GRAFENO INDUZIDO POR LASER PARA
DETERMINAÇÃO DA NIMESULIDA**

SÃO LUÍS – MA

2024

MYLLA KARLIANE VERA CRUZ FRÓZ

APLICAÇÃO DE SENSOR ELETROQUÍMICO DE GRAFENO INDUZIDO POR LASER PARA DETERMINAÇÃO DA NIMESULIDA

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão (PPGQuim - UFMA), como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Luiza Maria Ferreira Dantas.

SÃO LUÍS – MA

2024

Vera Cruz Froz, Mylla Karliane.

APLICAÇÃO DE SENSOR ELETROQUÍMICO DE GRAFENO INDUZIDO
POR LASER PARA DETERMINAÇÃO DA NIMESULIDA / Mylla Karliane
Vera Cruz Froz. - 2024.

61 p.

Orientador(a): Luiza Maria Ferreira Dantas.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
2024.

1. Anti-inflamatório Não Esteróide. 2. Nimesulida. 3.
Lige. 4. Sensor. I. Ferreira Dantas, Luiza Maria. II.
Título.

MYLLA KARLIANE VERA CRUZ FRÓZ

APLICAÇÃO DE SENSOR ELETROQUÍMICO DE GRAFENO INDUZIDO POR LASER PARA DETERMINAÇÃO DA NIMESULIDA

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão (PPGQuim - UFMA), como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em: 28/11/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^a . Dr^a . Luiza Maria Ferreira Dantas (Orientador- UFMA)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof^a . Dr^a . Pollyana Souza Castro (UFRN)
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Prof. Dr. Roberto Batista de Lima (UFMA)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Em especial...

A minha mãe, por tudo que fez e faz por mim.
Por nunca medir esforços para que eu chegasse
até aqui. Por sempre me incentivar a estudar e
buscar todos os meus sonhos. A ela eu dedico
este trabalho.

Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos! (Provérbios 16-3)

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, pelo dom da vida e por permitir que este sonho pudesse ser realizado, concedendo-me força para nunca desistir. Toda honra e toda glória seja dada a Ti, Senhor Jesus!

Agradeço a minha família, minha mãe que sonhou comigo esta conquista, que sempre me incentivou a estudar e buscar meus objetivos e nunca me abandonou. Aos meus filhos, por serem pacientes em meio minha ausência durante o curso. Ao meu esposo por ser companheiro e me apoiar na busca dos meus sonhos, pela compreensão e dedicação ao longo dessa jornada. Somente eu sei o quanto precisei de vocês perto de mim nessa caminhada. Foram dias alegres, mas também dias de lutas e superação. Eu amo muito vocês. Muito obrigada!

Quero agradecer também à minha orientadora, professora Luiza Dantas, por ter me dado essa oportunidade e me recebido com todo carinho nesse projeto. Confesso que sem você eu não conseguiria. Obrigada por todo conhecimento compartilhado, pela amizade, compreensão e paciência comigo. És uma inspiração, lhe admiro muito como profissional e principalmente como pessoa, vou levá-la para sempre em meu coração, muito obrigada! Agradeço também ao professor Iranaldo, que sempre esteve disposto a me ajudar e contribuir com orientações importantíssimas para o sucesso deste trabalho.

Ao pós-doc Luiz Ricardo que também contribuiu muito para a conclusão deste trabalho. Ao meu amigo Dianderson que nem tenho palavras para expressar toda minha gratidão a ele por esta conquista; por ser uma pessoa muito prestativa, estar sempre por perto me ajudando, me ensinando naquilo que fosse necessário e compartilhando todas suas experiências, de coração, meu muito obrigada. Aos amigos Matheus e Gabrielly que me acompanharam desde o início, compartilhando seus conhecimentos e experiências. Eu não teria conseguido sem vocês!

Ao Laboratório de Eletroquímica (LELQ) na pessoa dos professores, Auro Tanaka, Roberto, Illana e aos caros amigos: Carlos, Gustavo, Nayla, Samuel, Anderson, João Pedro, Antonio, Rebeca, Lizandra, Jéssica, José, Ingrid e aos demais colegas que fazem parte do LELQ, muito obrigada por todo apoio diário.

A FAPEMA, pelo financiamento do projeto ao qual este trabalho está vinculando. À UFMA e ao PPGQuim, pela oportunidade de cursar o mestrado.

RESUMO

A nimesulida (NMS) é um anti-inflamatório não esteroide da classe das sulfonanilidas, com propriedades analgésicas e antipiréticas, amplamente utilizada no tratamento de dores agudas e doenças inflamatórias, como artrite reumatoide e osteoartrite. A determinação da NMS é fundamental para o controle de qualidade em fármacos e interesse clínico. Desta forma, o uso de métodos eletroquímicos para a quantificação da NMS apresenta vantagens, como menor tempo de análise, custo relativamente baixo e possibilidade de obter baixos limites de detecção e alta sensibilidade, especialmente com o emprego das técnicas de pulso. Neste trabalho foi desenvolvido um método eletroanalítico simples, rápido, preciso, sensível e de baixo custo para determinação de NMS, utilizando eletrodos de grafeno induzidos por laser (LIGe) e a voltametria de onda quadrada (VOQ). As condições analíticas como o pH do eletrólito e parâmetros da técnica VOQ foram otimizadas. Após a otimização obteve-se uma faixa linear de trabalho de 11 a 131 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0,999$), limite de detecção de 1,29 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de quantificação de 4,29 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A repetibilidade do método foi avaliada, resultando em DPR de 1,90 % ($n = 15$). O método foi aplicado na determinação de NMS em amostra farmacêutica e em urina sintética. Para a primeira, foi obtido um valor de 101 mg/comprimido de NMS. Para a amostra de urina sintética três níveis de concentração foram fortificados para avaliar a exatidão do método, obtendo valores de recuperação de 97 a 111 %. Além disso, o método foi seletivo, com variação inferior a 3% quando avaliado a presença de espécies interferentes presentes nas amostras. Portanto, o sensor eletroquímico baseado em LIGe apresentou desempenho eletroanalítico satisfatório e promissor para a quantificação de NMS.

Palavras-chave: Anti-inflamatório não esteróide, Nimesulida, LIGe, Sensor.

ABSTRACT

Nimesulide (NMS) is a non-steroidal anti-inflammatory drug of the sulfonanilide class, with analgesic and antipyretic properties, widely used in the treatment of acute pain and inflammatory diseases, such as rheumatoid arthritis and osteoarthritis. The determination of NMS is essential for quality control in pharmaceuticals and clinical interest. Thus, the use of electrochemical methods for the quantification of NMS has advantages, such as shorter analysis time, relatively low cost and the possibility of obtaining low detection limits and high sensitivity, especially with the use of pulse techniques. In this work, a simple, fast, accurate, sensitive and low-cost electroanalytical method for the determination of NMS was developed, using laser-induced graphene electrodes (LIGe) and square-wave voltammetry (SWV). The analytical conditions such as the pH of the electrolyte and parameters of the SWV technique were optimized. After optimization, a linear working range of 11 to 131 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0.999$), detection limit of 1.29 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and quantification limit of 4.29 $\mu\text{mol L}^{-1}$ were obtained. The repeatability of the method was evaluated, resulting in a RSD of 1.90% ($n = 15$). The method was applied to the determination of NMS in pharmaceutical samples and in synthetic urine. For the first, a value of 101 mg/tablet of NMS was obtained. For the synthetic urine sample, three concentration levels were fortified to evaluate the accuracy of the method, obtaining recovery values of 97 to 111%. In addition, the method was selective, with a variation of less than 3% when evaluating the presence of interfering species present in the samples. Therefore, the electrochemical sensor based on LIGe presented satisfactory and promising electroanalytical performance for the quantification of NMS.

Keywords: Non-steroidal anti-inflammatory drug, Nimesulide, LIGe, Sensor.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1. Nimesulida	18
2.1.1. Determinação de Nimesulida	20
2.2. Técnicas Eletroanalíticas	23
2.2.1. Voltametria Cíclica	24
2.2.2. Voltametria de Onda Quadrada	26
2.3. Grafeno Induzido por Laser (LIG)	28
3. OBJETIVOS	31
3.1. Objetivo geral	31
3.2. Objetivos específicos	31
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	32
4.1. Instrumentação	32
4.2. Reagentes e Soluções	32
4.3. Fabricação dos eletrodos	33
4.3.1. Eletrodos de referência	33
4.3.2. Eletrodos de LIG	33
4.4. Procedimentos analíticos	34
4.5. Obtenção e preparo de amostra de fármaco	35
4.6. Preparação da amostra de urina sintética	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1. Estudo do LIGe	36
5.1.1. Reprodutibilidade na fabricação dos eletrodos de LIG	37
5.2. Caracterização EIE do LIGe	37
5.3. Comportamento eletroquímico da NMS	38
5.4. Influência do tempo de acumulação na oxidação da nimesulida	41
5.5. Estudo do efeito da velocidade de varredura	42
5.6. Estudo do pH	45
5.7. Estudo do eletrólito de suporte	47
5.8. Otimização dos parâmetros da VOQ para a determinação da NMS	48
5.8.1. Estudo da influência da amplitude (a)	48
5.8.2. Estudo do incremento de potencial (ΔE_s)	49
5.8.3. Estudo da influência de Frequência (f)	50
5.8.4. Repetibilidade das medidas	51
5.9. Curva analítica	51
5.10. Estudo dos interferentes	53
	10

5.11. Determinação de nimesulida em amostras farmacêutica e urina sintética _	54
6. CONCLUSÕES_____	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da NMS. Fonte: Autor, 2024.	18
Figura 2. (A) Variação do potencial no tempo durante a voltametria cíclica. (B) Voltamograma obtido pela relação entre corrente e potencial. Adaptado de (FILHO; et al., 2022).	25
Figura 3. Representação esquemática da voltametria de onda quadrada. Adaptado de (PACHECO et al., 2013).	27
Figura 4. Representação esquemática do processo de fabricação e preparação do eletrodo. (A) WorkSpecial WS4040 cortado a laser. (B) Preparação do eletrodo. Fonte: Autor, 2024.	34
Figura 5. VC do LIGe ($\varnothing = 5\text{mm}$) obtido na (—) ausência e (—) presença de 10 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] / \text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em solução $0,1\text{ mol L}^{-1}$ de KCl . Inserido: VC do LIGe em solução $0,1\text{ mol L}^{-1}$ de KCl . Condições experimentais: $\nu = 50\text{ mV s}^{-1}$	36
Figura 6. Estudo de reprodutibilidade dos LIGe obtido na presença de 10 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] / \text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em solução $0,1\text{ mol L}^{-1}$ de KCl . Condições experimentais: $\nu = 50\text{ mV s}^{-1}$	37
Figura 7. Diagrama de EIE do LIGe obtido na presença de 10 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] / \text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em solução $0,1\text{ mol L}^{-1}$ de KCl . Condições experimentais: $\nu = 50\text{ mV s}^{-1}$	38
Figura 8. VC do LIGe realizado em solução tampão fosfato $0,12\text{ mol L}^{-1}$ pH 5,0 (—) na ausência e (—) presença de NMS $100\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. Condições experimentais: na ausência de O_2 ; $\nu = 50\text{ mV s}^{-1}$	39
Figura 9. Mecanismo de reação proposto para redução da NMS	39
Figura 10. Mecanismo de reação proposto para oxidação da NMS. Adaptado de (DEROCO; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018).	40
Figura 11. Voltamogramas cíclicos do LIGe ($\varnothing = 5\text{mm}$) realizados em solução tampão fosfato $0,12\text{ mol L}^{-1}$ pH 5,0 (—) na ausência e (—) presença de NMS $30\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. Condições experimentais: com $\nu = 50\text{ mV s}^{-1}$	41
Figura 12. Estudo do tempo de acumulação (0-30 s) do LIGe ($\varnothing = 5\text{mm}$) realizado em solução tampão fosfato $0,12\text{ mol L}^{-1}$ pH 5,0 na presença de NMS $30\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. Condições experimentais: com $\nu = 50\text{ mV s}^{-1}$	42
Figura 13. (A) Voltamogramas cíclicos do eletrodo de LIGe na presença de NMS $30\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura (ν) ($10 - 100\text{ mV s}^{-1}$). (B)	

Dependência da I_p com a v . (C) Dependência da I_p e com a raiz quadrada da v . (D) Dependência do $\log$ da v com o $\log$ da I_p . (E) Dependência do potencial de pico (E_p) com o logaritmo natural da v . Condições experimentais: PB $0,12 \text{ mol L}^{-1}$; pH 5,0. 43

Figura 14. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de LIGe na presença de NMS $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH (2,00 – 8,0). (B) Dependência da I_p e E_p com o pH do meio. Condições Experimentais: amplitude = 60 mV; frequência = 10 Hz; incremento de potencial = 5 mV. 45

Figura 15. Composto de coloração amarelada formado pela reação da NMS com o hidróxido de sódio. Fonte: Autor, 2024..... 46

Figura 16. Reação das sulfonamidas com NaOH. Fonte : Adaptado de (SILVEIRA, 2008). 47

Figura 17. VOQ do LIGe na presença de NMS $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão BR (—) e fosfato (—); ambos de concentração de $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0), $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Condições Experimentais: amplitude = 60 mV; frequência = 10 Hz, incremento de potencial = 5 mV. 48

Figura 18. (A) Voltamogramas de onda da variação da amplitude (20 a 100 mV). (B) I_p e E_p em função da amplitude ($n = 3$). Condições experimentais: Solução tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0, NMS $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; $f = 10 \text{ Hz}$; $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ 49

Figura 19. (A) Voltamogramas de onda da variação do ΔE_s (1 a 10 mV). (B) I_p e E_p em função do ΔE_s ($n = 3$). Condições experimentais: Solução tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0, NMS $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; $a = 60 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$ 49

Figura 20. (A) Voltamogramas de onda quadrada da variação da f (5 a 25 Hz). (B) I_p e E_p em função da f ($n = 3$). Condições experimentais: Solução tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0, NMS $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; $a = 60 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$ 50

Figura 21. Estudo de repetibilidade ($n= 15$) do LIGe na presença de NMS $30 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (I_p vs. Ciclos). Inserido: VOQ para o estudo de repetibilidade ($n=15$). Condições experimentais: tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$; pH 7,0; $a = 60 \text{ mV}$; $f = 15 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$ 51

Figura 22. (A) VOQ obtidos usando o eletrodo de LIGe para concentrações de NMS variando entre 11 a $131 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0). Parâmetros da VOQ: $f = 15 \text{ Hz}$, $a = 60 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. (B) Curva analítica (I_p vs. C_{NMS}). 52

Figura 23. VOQ obtidos usando o LIGe para determinação de interferentes na resposta voltamétrica da NMS em tampão fosfato 0,12 mol L⁻¹ (pH 7,0). (A) Ureia (10 mmol L⁻¹); (B) Ácido Cítrico (10 mmol L⁻¹); (C) Glicose (10 mmol L⁻¹); (D) Ácido Oxálico (10 mmol L⁻¹). Parâmetros da VOQ: $f = 15$ Hz, $a = 60$ mV, $\Delta E_s = 10$ mV. 54

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AINE	Anti-inflamatório não esteroide
a	Amplitude
BR	Britton–Robinson
E_p	Potencial de pico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
E_{pa}	Potencial de pico anódico
I_{pa}	Corrente de pico anódico
I_{pc}	Corrente de pico catódico
I_p	Corrente de Pico
LD	Limite de detecção
LIGe	Eletrodo de Grafeno Induzido por Laser (Laser-Induced Graphene electrode)
LQ	Limite de quantificação
NMS	Nimesulida
PB	Tampão fosfato (do inglês: phosphate buffer)
VOQ	Voltametria de onda quadrada
VPD	Voltametria de pulso diferencial
VC	Voltametria cíclica
v	Velocidade de varredura

1. INTRODUÇÃO

A nimesulida (NMS) é um anti-inflamatório não esteroide (AINE) da classe das sulfonamidas, com propriedades analgésicas e antipiréticas (DE OLIVEIRA *et al.*, 2023; LIMA *et al.*, 2013), amplamente prescrita no Brasil devido à sua melhor eficácia em comparação com outros medicamentos similares, como diclofenaco, ibuprofeno e piroxicam (SHETTI *et al.*, 2019a). Apesar de ser um medicamento vantajoso devido seu custo baixo e tempo de ação rápido no organismo, quando administrado de forma indiscriminada, com altas doses e em conjunto com outros fármacos, pode apresentar efeitos colaterais graves, incluindo lesões gástricas, hepáticas e renais, além de insuficiência renal e hepatotoxicidade (BUKKITGAR *et al.*, 2016; SHETTI *et al.*, 2019a).

Os AINEs constituem uma das classes de fármacos mais difundidas em todo mundo, utilizados no tratamento da dor aguda e crônica decorrente do processo inflamatório; possuem propriedades anti-inflamatórias, analgésica e antipirética e sua ação decorre da inibição da síntese de prostaglandinas (PG), mediante inibição das enzimas ciclooxigenase 1 (COX-1) e ciclooxigenase 2 (COX-2), criando subgrupos de anti-inflamatórios seletivos e não- seletivos para COX-2 (SHETTI *et al.*, 2019a). Os AINEs são usados principalmente no alívio da osteoartrite, artrite reumatoide, sintomas de febre e dor (YUE *et al.*, 2022).

Diversas técnicas analíticas, como as espectrofotométricas e cromatográficas, são aplicadas para a determinação da NMS, no entanto, muitas delas envolvem alto custo, etapas complexas de pré-tratamento de amostras e geração de resíduos tóxicos (BUKKITGAR *et al.*, 2016). Nesse sentido, os métodos eletroanalíticos podem apresentar algumas vantagens em comparação aos métodos convencionais, como menor consumo de reagente, menor tempo de análise, menor custo de instrumentação e uso de reagentes menos tóxicos (DEROCO; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018).

Para o desenvolvimento de métodos eletroanalítico a escolha do eletrodo de trabalho é fundamental (DEROCO; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018). Nanomateriais de carbono, como o grafeno, tem atraído grande interesse para uso em diferentes campos de pesquisa devido à sua estrutura única de monocamada plana de átomos de carbono organizados em células hexagonais (VIEIRA SEGUNDO; VILAR, 2016) (WONG; SANTOS; FATIBELLO-FILHO, 2017). Suas propriedades incluem alta condutividade elétrica e térmica, resistência mecânica, flexibilidade inerente e ampla área superficial, o que favorece sua aplicação em diversas áreas (SUN; WU; SHI, 2011).

Nos últimos anos, várias técnicas para obtenção do grafeno foram desenvolvidas, métodos físicos, tal como esfoliação mecânica (MATIAS; DE FARIA; *et al.*, 2022), e métodos químicos, como a redução química do óxido de grafite (LIN *et al.*, 2014) e a deposição química em fase vapor (VIEIRA SEGUNDO; VILAR, 2016), por exemplo. Contudo, um procedimento inovador para fabricar folhas de grafeno em uma única etapa por meio da conversão foto térmica de átomos de carbono sp^3 em carbono sp^2 por irradiação a laser pulsada IR ou UV-visíveis utilizando como substrato a poliimida. Este novo material, conhecido como grafeno induzido por laser (LIG) encontraram inúmeras aplicações na eletroquímica, incluindo a produção de supercapacitores e sensores (MATIAS; DE FARIA; *et al.*, 2022; MATIAS; ROCHA; *et al.*, 2022).

O LIGe tem se mostrado promissor na detecção de fármacos. Estudos recentes demonstraram a eficácia do LIG como uma plataforma portátil para detecção eletroquímica de tirosina (MATIAS; ROCHA; *et al.*, 2022) e ivermectina (FERREIRA *et al.*, 2024), utilizando técnicas voltamétricas que mostraram ampla faixa linear, baixos limites de detecção e boa seletividade em relação a interferentes.

Nesse contexto, um sensor eletroquímico utilizando LIGe produzido a partir da queima de poliimida comercial (Kapton) com laser de CO_2 foi aplicado para determinação eletroquímica da NMS em amostra de formulação farmacêutica e urina sintética por meio de técnicas voltamétricas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Nimesulida

A NMS, de acordo com a classificação da IUPAC, é designada quimicamente como N-(4-nitro-2-fenoxifenil) metanossulfonamida, pertencente ao grupo sulfonanilida, é composta por um anel benzênico, um grupo nitro fenila, e átomos de oxigênio entre eles formando um ângulo de 74,69° na estrutura cristalina (PHARMACOPOEIA, 2010). Este medicamento possui fórmula química $C_{13}H_{12}N_2O_5S$ e massa molar de $308,31 \text{ g mol}^{-1}$, apresenta-se na forma de um pó amarelo-pálido, cristalino polimorfo, levemente untuoso ao tato e não higroscópico; considerado um ácido fraco (SHETTI *et al.*, 2019a), possui pK_a em torno de 6,5, cuja estrutura química está representada na Figura 1.

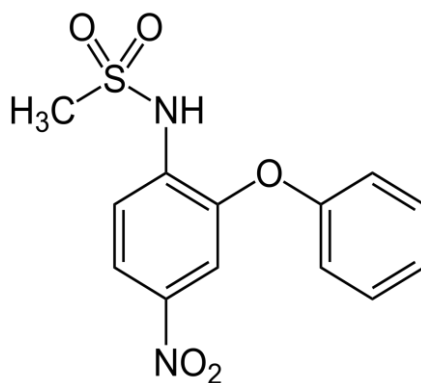


Figura 1. Estrutura química da NMS. Fonte: Autor, 2024.

A NMS foi primeiramente autorizada e vendida na Itália em 1985, depois se tornou um dos AINE's mais prescrito e usado mundialmente (MOSCOSO; ÁLVAREZ-LUEJE; SQUELLA, 2020). A NMS possui um modo de ação específico, pois é um inibidor seletivo da enzima da síntese de prostaglandina, a ciclo-oxigenase, a qual preferencialmente inibe a enzima COX-2, que é liberada durante a inflamação (COSTA *et al.*, 2022). É utilizada no tratamento da dor aguda e de doenças como artrite reumatoide, osteoartrites e possui ação analgésica e antipirética (WONG; SANTOS; FATIBELLO-FILHO, 2017). Além disso, a NMS também exerce outras ações que incluem a inibição de radicais livres de oxigênio, diminuição da produção de citocinas e enzimas degradantes e ativação de receptores de glucacorticóide (DAVIS; BROGDEN, 1994).

Conforme o sistema de classificação biofarmacêutica, os medicamentos podem ser divididos em quatro classes, dependendo de sua solubilidade e permeabilidade. Logo, drogas pertencentes à classe II, como NMS, são caracterizados por baixa solubilidade e

alta permeabilidade (DEVARUSHI *et al.*, 2019), praticamente insolúvel em água (aproximadamente $10 \mu\text{g mL}^{-1}$) (RUELA; ARAÚJO; PEREIRA, 2009) e soluções ácidas, é solúvel em acetonitrila e em soluções de hidróxidos alcalinos (PHARMACOPOEIA, 2010). O fármaco é comercializado atualmente em formas farmacêuticas orais, como comprimidos, gotas, granulados e suspensões, pois estas reduzem a incidência de efeitos indesejáveis associados à inibição da COX-1 fisiológica, como as irritações gastrointestinais (RUELA; ARAÚJO; PEREIRA, 2009). Após a administração oral de NMS 100 mg em comprimido, grânulos ou suspensão, o medicamento é bem absorvido com concentrações plasmáticas máximas médias de 2,86 a $4,58 \text{ mg L}^{-1}$ alcançadas dentro de 1,22 a 3,83 horas após a administração (GARCIA RAFAEL; DE TARSO FERNANDES RAMOS REGO, 2024). A NMS é rapidamente distribuída, principalmente em todo o compartimento de fluido extracelular; os valores de volume de distribuição variam de 0,19 a $0,39 \text{ L kg}^{-1}$. A meia-vida terminal estimada para a NMS varia de 1,96 a 4,73 horas (BERNAREGGI, 1993). Este medicamento é metabolizado pelo fígado e o principal metabólito é o derivado 4'-hidroxi (SANTOS DA SILVA *et al.*, 2013).

Entre seus efeitos adversos, está o fato de sua inadequada e prolongada utilização ocasionar casos graves de lesão no fígado, o que fez com que alguns países reexaminassem o perfil de segurança de sua utilização (DE OLIVEIRA *et al.*, 2023). A pesquisa contínua e o desenvolvimento de novas formulações e técnicas de administração são essenciais para maximizar o potencial terapêutico da NMS, considerando-se que a compreensão detalhada dos fatores que influenciam a solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade do fármaco permite o desenvolvimento de medicamentos mais eficazes e seguros para os pacientes. Dentre os métodos disponíveis na literatura para determinação da NMS destaca-se as técnicas cromatográficas e espectrométricas (PHARMACOPOEIA, 2010).

Dessa forma, torna-se fundamental o desenvolvimento de métodos analíticos rápidos, simples e de baixo custo que possam ser utilizados no controle de qualidade deste fármaco (DEROCO; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018; NIKOLAYCHUK, 2023; SHETTI *et al.*, 2019a; WONG; SANTOS; FATIBELLO-FILHO, 2017).

2.1.1. Determinação de Nimesulida

Para a determinação de fármacos no processo de controle de qualidade, diferentes métodos analíticos são reportados na literatura. Essas análises são realizadas normalmente por técnicas instrumentais como, espectrofotometria, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia em camada delgada (CCD) (COELHO; GIAROLA; PEREIRA, 2018).

A Farmacopeia Brasileira recomenda o doseamento da NMS por dois métodos: espectrofotometria de absorção no UV-Vis e CLAE (LIMA *et al.*, 2013). Geralmente, os métodos cromatográficos, juntamente com a leitura espectrométrica, são os principais métodos para a detecção de NMS devido ao seu alto nível de seletividade e sensibilidade; porém, esses métodos são trabalhosos, caros e requerem tempos de ensaio longo e etapas de pré-concentração (GOVINDASAMY *et al.*, 2017).

Dois métodos espectrofotométricos de ultravioleta simples e preciso (UV) foram relatados com uma faixa de detecção para a estimativa de NMS na forma pura e na forma de dosagem sólida usando 50 % v/v e 100 % v/v acetonitrila como sistema de solvente. Neste estudo, verificou-se que a linearidade para a NMS em ambos os métodos foi de 10 a 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com λ máximo de 300 nm. Os limites de detecção (LD) foram de 0,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 1,04 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, para acetonitrila 50% e 100% v/v (CHANDRAN *et al.*, 2000). Apesar da espectrofotometria UV-Vis ser uma técnica amplamente utilizada para determinação da NMS devido à simplicidade e rapidez (NIKOLAYCHUK, 2023; PINO *et al.*, 2019), sua seletividade pode ser comprometida pela presença substâncias interferentes, exigindo etapas de purificação preliminares (ROCHA; TEIXEIRA, 2004).

Por outro lado, a CLAE é considerada um método padrão ouro para a determinação de NMS devido à sua alta sensibilidade e seletividade (RUELA; ARAÚJO; PEREIRA, 2009). A otimização das condições cromatográficas, como a escolha da fase móvel e a configuração da coluna, é crucial para garantir uma análise precisa e reprodutível. Este método permite a separação eficaz da NMS de outras substâncias presentes na amostra, rápida detecção e quantificação (RUELA; ARAÚJO; PEREIRA, 2009). A CLAE é amplamente aplicada na análise de formulações farmacêuticas, amostras biológicas (como sangue e urina) e estudos de degradação e estabilidade (GRAZIELI; DA SILVA; COLLINS, 2011).

Um método rápido para quantificação de NMS em humor aquoso de coelhos foi desenvolvido utilizando CLAE com coluna de fase reversa C (18) (Ultracarb ODS) e

detecção UV a 300 nm. A fase móvel consistiu em 60% de acetonitrila e 40% de água contendo 1% de trietilamina ajustado para pH = 3,2 com ácido ortofosfórico. O tempo de retenção foi de 4,5 min. Um pré-tratamento com acetonitrila foi usado para desproteínizar amostras de humor aquoso. O limite de quantificação foi de 50 ng mL⁻¹, com recuperação superior a 90%. A relação entre as áreas dos picos e a concentração foi linear entre 0,05 e 2,5 µg mL⁻¹, com valores de R² acima de 0,99 (MALTESE; MAUGERI; BUCOLO, 2004).

Um método cromatográfico em camada delgada simples, rápido, reprodutível e estável para a análise de NMS tanto do fármaco a granel quanto de formulações farmacêuticas é relatado. A fase móvel foi composta por ciclohexano-etiletato (60:40, v/v), e a análise densitométrica foi realizada a 295 nm. A curva de calibração em metanol foi linear entre 100 e 900 ng, com limites de detecção e quantificação de 60 e 100 ng, respectivamente. A recuperação da NMS foi de 99,5% (PATRAVALE; D'SOUZA; NARKAR, 2001).

Entretanto, como mencionado, essas técnicas apresentam algumas desvantagens, como custo elevado, longo tempo de análise, alto consumo de reagentes e a necessidade de preparo da amostra, quando comparadas com as técnicas eletroquímicas que são técnicas sensíveis, rápidas e de custo baixo, podendo então, ser uma alternativa viável para aplicação no controle de qualidade de medicamentos (COELHO; GIAROLA; PEREIRA, 2018). Na literatura, exemplos de determinação de NMS usando métodos eletroquímicos são reportados, que determinam as formulações farmacêuticas, assim como, é possível encontrar relatos da determinação em outras matrizes, sendo algumas de interesse clínico, como amostras de urina real (SHETTI et al., 2020b) e sintética (SANTOS, ANDERSON M. *et al.*, 2022).

Os estudos de Deroco e colaboradores (2018), utilizando um ECV modificado com Carbon Black (CB) modificado com dihexadecilfosfato (DHP) para análise de urina e água por voltametria de onda quadrada (VOQ) atingiu LD de 1,6×10⁻² µmol L⁻¹ (DEROCO; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018). Enquanto, Moscoso e colaboradores (2020), utilizaram ECV modificado com MWCNT para análise de NMS em formulações farmacêuticas por voltametria de varredura linear (VVL) atingindo limite de detecção (LD) de 1,6×10⁻³ µmol L⁻¹ (MOSCOSO; ÁLVAREZ-LUEJE; SQUELLA, 2020).

Shetti e colaboradores (2019) utilizaram de eletrodo de pasta de carbono modificado com nanosílica (NS/CPE) em tampão fosfato pH 5,0 como eletrólito de

suporte por meio da VPD para análise de formulações farmacêuticas e urina humana apresentando limite de detecção $1,44 \text{ nmol L}^{-1}$ (SHETTI *et al.*, 2019a) . Lima e colaboradores (2013), utilizando um eletrodo de Diamante Dopado com Boro (DDB) associado a amperometria (AMP) em sistema de análise por injeção em fluxo (FIA – do inglês “*flow injection analysis*”), atingiram um LD de $8,1 \times 10^{-2} \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para formulações farmacêuticas (LIMA *et al.*, 2013).

Bukkitgar e colaboradores (2016) utilizaram a VPD para investigar o comportamento eletroquímico da NMS através de um eletrodo de carbono vítreo modificado por nanopartículas de óxido de titânio (TiO_2) que apresentou um limite de detecção de $3,37 \text{ nmol L}^{-1}$ e um limite de quantificação de $11,2 \text{ nmol L}^{-1}$ (BUKKITGAR *et al.*, 2016). Os dados citados se encontram dispostos na Tabela 1.

Tabela 1. Sensores e métodos relatados na literatura para análise eletroquímica de NMS.

Autor	Eletrodo de Trabalho	Técnica	Meio eletrolítico	Amostras
(DEROCO; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018)	CB-DHP/GC	VOQ	PB $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0	Urina, água de torneira e de lago
(MOSCOSO; ÁLVAREZ-LUEJE; SQUELLA, 2020)	ECV/MWCNT	VVL	BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0	Fármaco
(SHETTI <i>et al.</i> , 2019a)	NS/CPE	VPD	PB $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ pH 5,0	Fármaco, urina humana
(BUKKITGAR <i>et al.</i> , 2016)	TiO_2 /GCE	VPD	pH 2,0	Fármaco, urina humana

As técnicas voltamétricas apresentam vantagens que superam as técnicas tradicionais de análise em termos de sensibilidade, simplicidade, rapidez e custo (VALENGA *et al.*, 2020). Nessas técnicas, o eletrodo de trabalho é o local onde ocorre a reação redox do analito; assim, deve apresentar algumas características, como ampla faixa de potencial, condutividade elétrica adequada, reprodutibilidade da superfície e baixo custo. Portanto a escolha do material do eletrodo é de suma importância, pois este desempenha um papel crucial na fabricação de sensores de alta aplicabilidade (DEROCO; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018). A incorporação de nanomateriais em sensores eletroquímicos, como nanotubos de carbono, grafeno e nanopartículas metálicas aumentam a área superficial ativa dos eletrodos, melhorando a transferência de elétrons e a sensibilidade da detecção (PORTO; PEREIRA, 2022).

A determinação de NMS tem aplicações cruciais em várias áreas. Na indústria farmacêutica, métodos analíticos precisos são essenciais para garantir a qualidade e eficácia das formulações (SHETTI; MALODE; *et al.*, 2020). Estudos de estabilidade e degradação são conduzidos para entender a durabilidade do fármaco sob diferentes condições de armazenamento e uso (MIRANDA *et al.*, 2023). Em diagnósticos médicos, a quantificação de NMS em amostras biológicas, como sangue e urina (BUKKITGAR *et al.*, 2016), é importante para monitorar a farmacocinética do fármaco, ajustar dosagens terapêuticas e investigar possíveis efeitos adversos. Desta forma, com o contínuo desenvolvimento de novos materiais e tecnologias, espera-se que os métodos de determinação de NMS continuem a evoluir, proporcionando maior sensibilidade, seletividade e precisão em diversas aplicações.

2.2. Técnicas Eletroanalíticas

A Eletroanalítica, também conhecida como Eletroanálise, está na interface entre ciência analítica e eletroquímica. Trata-se do desenvolvimento, caracterização, entendimento e aplicação de métodos de análise química empregando fenômenos eletroquímicos (ZANONI *et al.*, 2017). As técnicas eletroquímicas são técnicas analíticas poderosas e versáteis que oferecem alta sensibilidade, exatidão e precisão, bem como uma ampla faixa dinâmica linear, com custo de instrumentação relativamente baixo (LOWINSOHN; BERTOTTI, 1318)(FILHO; *et al.*, 2022).

A voltametria é uma técnica eletroanalítica que se baseia nos fenômenos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e a camada fina de solução adjacente a essa superfície. Essa técnica é classificada como dinâmica, pois a cela eletroquímica é operada na presença de corrente elétrica ($i > 0$) que, por sua vez, é medida em função da aplicação controlada de um potencial. Assim, nessa técnica, as informações sobre o analito são obtidas por meio da medição da magnitude da corrente elétrica que surge entre os eletrodos de trabalho e auxiliar ao se aplicar uma diferença de potencial entre os eletrodos de trabalho e de referência (ELGRISHI *et al.*, 2018; PACHECO *et al.*, 2013).

Diante disso, as técnicas eletroanalíticas apresentam-se como uma ótima alternativa para compostos farmacêuticos pois além de serem simples, de baixo custo e portáteis, apresentam elevada sensibilidade e baixos limites de detecção (LD) e

quantificação (LQ), além de permitirem a realização de análises em amostras em diversas matrizes sem que haja a necessidade de pré- tratamento (VELOSO *et al.*, 2022).

Os métodos voltamétricos comumente usados são varreduras lineares, cíclicas, de pulso diferencial e de onda quadrada.

2.2.1. Voltametria Cíclica

A voltametria cíclica (VC) trata-se de uma técnica eletroquímica amplamente utilizada, destacando-se como uma ferramenta essencial para a obtenção de informações qualitativas sobre reações eletroquímicas, sendo muitas vezes o primeiro experimento realizado na investigação de compostos, materiais biológicos e superfícies de eletrodos (ÖZKAN; USLU; ABOUL-ENEIN, 2003).

A principal vantagem da VC reside na sua capacidade de fornecer dados importantes sobre os potenciais redox dos sistemas estudados, sendo este um parâmetro crucial, uma vez que define o ponto em que a transferência de elétrons ocorre com igual probabilidade para a oxidação e a redução (ELGRISHI *et al.*, 2018). Determinar este potencial é fundamental para a compreensão da natureza eletroquímica de um composto ou material. Por meio da VC, torna-se possível obter curvas voltamétricas que refletem a resposta corrente-potencial do sistema, permitindo a identificação precisa desses potenciais redox (PACHECO *et al.*, 2013).

Outro aspecto importante da VC é a sua aplicação na avaliação da cinética de transferência de elétrons, que é um fator determinante na eficiência e na velocidade de reações eletroquímicas. A análise das curvas voltamétricas permite a determinação de parâmetros cinéticos, como o coeficiente de transferência de elétrons e as constantes de velocidade heterogênea. Esses parâmetros são obtidos a partir da forma e posição das ondas de oxidação e redução nas curvas voltamétricas, permitindo uma compreensão profunda das dinâmicas de transferência eletrônica em sistemas eletroquímicos (ELGRISHI *et al.*, 2018).

A metodologia de VC envolve a aplicação de um potencial variável ao longo do tempo a um eletrodo de trabalho imerso em uma solução contendo o analito de interesse, pois o potencial é varrido linearmente com o tempo em uma direção ($E_0 \rightarrow E_i$) e, em seguida, revertido, formando um ciclo, onde durante este processo a corrente resultante é medida como função do potencial aplicado (FILHO; *et al.*, 2022), como mostrado na Figura 2A. Segundo as convenções da União Internacional de Química Pura e Aplicada

(IUPAC) quando o valor de potencial se desloca no sentido dos potenciais mais positivos, obtém-se o ramo anódico da curva, devido a processos de oxidação, quando se desloca no sentido dos potenciais mais negativos (ou menos positivos) obtém-se o ramo catódico, associado a processos de redução. A resposta corrente-potencial obtida é chamada de voltamograma cíclico (Figura 2B). A análise desse voltamograma fornece informações detalhadas sobre os processos eletroquímicos que ocorrem no sistema.

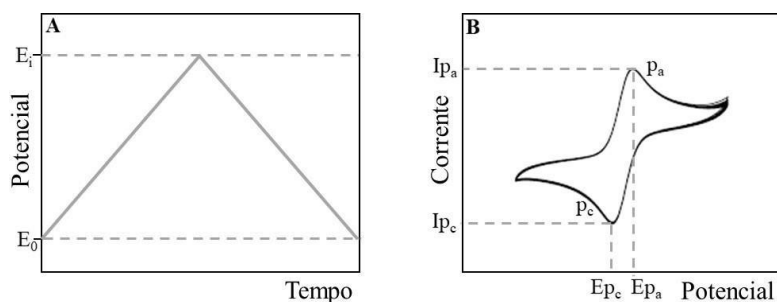


Figura 2. (A) Variação do potencial no tempo durante a voltametria cíclica. (B) Voltamograma obtido pela relação entre corrente e potencial. Adaptado de (FILHO; et al., 2022).

Para uma análise detalhada dos dados obtidos por VC, faz-se comum a utilização de modelos matemáticos e simulações computacionais, esses modelos ajudam a interpretar os voltamogramas, permitindo a extração de parâmetros quantitativos sobre os processos investigados. A combinação de experimentação e modelagem proporciona uma visão abrangente das reações eletroquímicas, permitindo uma compreensão mais profunda dos fenômenos subjacentes (COELHO; GIAROLA; PEREIRA, 2018).

A VC é amplamente aplicada em diversas áreas da ciência e tecnologia, onde na química analítica, é utilizada para a detecção e quantificação de espécies eletroativas (FILHO; et al., 2022), já na química de materiais, auxilia na síntese e caracterização de novos materiais com propriedades eletroquímicas desejáveis (PORTO; PEREIRA, 2022). Na bioeletroquímica, permite o estudo de processos redox em sistemas biológicos e a interação de biomoléculas com superfícies de eletrodos (WANG, HSIANG WEI et al., 2021).

Dessa forma, a VC é uma técnica poderosa e versátil que desempenha um papel crucial na investigação de reações eletroquímicas, pois sua capacidade de determinar potenciais redox formais, detectar reações químicas acopladas e avaliar a cinética de transferência de elétrons faz dela uma ferramenta indispensável em estudos eletroquímicos. A aplicação da VC em diferentes áreas de pesquisa continua a expandir

nosso conhecimento sobre processos eletroquímicos e a contribuir para o avanço da ciência e da tecnologia (GRAZIELI; DA SILVA; COLLINS, 2011).

2.2.2. Voltametria de Onda Quadrada

A voltametria de onda quadrada (VOQ) é uma técnica eletroanalítica que vem ganhando destaque desde sua introdução na década de 1950. É considerada uma das técnicas de pulso mais rápidas e sensíveis disponíveis, com limites de detecção que podem ser comparados aos obtidos por métodos cromatográficos e espectroscópicos. Esta técnica tem se tornado uma ferramenta essencial em diversas áreas de pesquisa científica e aplicações industriais devido à sua capacidade de proporcionar análises precisas e detalhadas de espécies eletroativas (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

A VOQ é uma técnica eletroanalítica que envolve a aplicação de uma sequência de pulsos de potencial sobrepostos a uma varredura de potencial linear. Esses pulsos têm uma forma quadrada, alternando entre dois níveis de potencial com uma frequência definida. A corrente é medida no final de cada meio ciclo, resultando em um voltamograma de onda quadrada que destaca os processos redox do analito (PACHECO *et al.*, 2013) conforme Figura 3. A natureza diferencial da medição de corrente – onde a diferença entre a corrente no final do pulso positivo e negativo é registrada – ajuda a minimizar os efeitos da corrente capacitiva e do ruído de fundo, melhorando significativamente a razão sinal/ruído (FILHO; *et al.*, 2022).

A VOQ é particularmente valorizada por sua sensibilidade e rapidez; a primeira característica advém de sua eficaz detecção com baixas concentrações de analitos, devido à sua capacidade de minimizar o ruído de fundo e melhorar a razão sinal/ruído. Esta alta sensibilidade é alcançada porque a corrente faradaica, associada ao processo redox do analito, é destacada em relação à corrente capacitiva, que é inerente à dupla camada elétrica do eletrodo. Enquanto, a segunda refere-se a velocidade de aquisição dos dados, pois frequências de 1 a 100 ciclos de onda quadrada por segundo permitem o uso de velocidades de varredura de potenciais extremamente rápidas (PACHECO *et al.*, 2013).

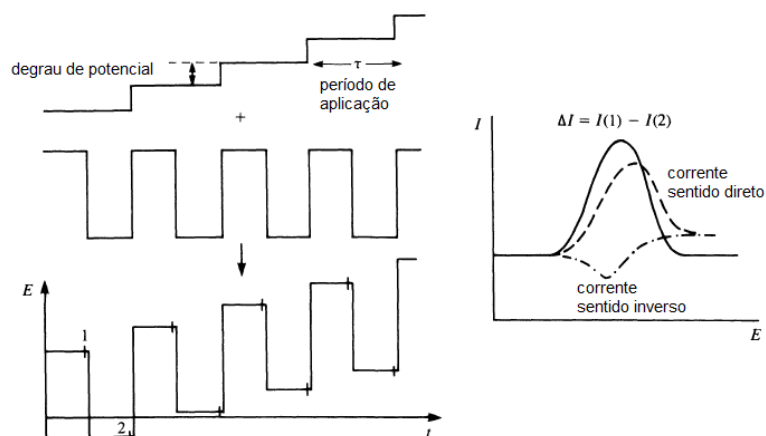


Figura 3. Representação esquemática da voltametria de onda quadrada. Adaptado de (PACHECO et al., 2013).

A análise dos dados obtidos por VOQ envolve a interpretação dos voltamogramas, onde picos de corrente indicam eventos redox, a posição dos picos no eixo de potencial fornece informações sobre os potenciais redox formais das espécies analisadas, a altura dos picos está relacionada à concentração do analito, a forma e a largura dos picos podem fornecer insights sobre a cinética do processo redox e a natureza das interações químicas envolvidas (DE SOUZA *et al.*, 2004).

Modelos matemáticos e simulações computacionais são frequentemente empregados para interpretar os voltamogramas de VOQ, permitindo uma análise quantitativa mais precisa. Parâmetros como coeficientes de difusão, constantes de velocidade de transferência de elétrons e coeficientes de transferência de carga podem ser extraídos dos dados experimentais, proporcionando uma compreensão detalhada dos mecanismos eletroquímicos subjacentes (ÖZKAN; USLU; ABOUL-ENEIN, 2003).

A aplicação da VOQ em estudos de sensores eletroquímicos é notável. Sensores utilizando esta técnica eletroanalítica têm sido desenvolvidos para a detecção de uma variedade de analitos: compostos farmacêuticos, orgânicos e inorgânicos (RIBEIRO *et al.*, 2014). A alta sensibilidade e especificidade da técnica permitem o desenvolvimento de dispositivos de detecção altamente seletivos e de baixo custo, com potencial para aplicações em diagnósticos médicos e monitoramento ambiental (DE SOUZA *et al.*, 2007).

Adicionalmente, a intensa utilização das técnicas voltamétricas na análise de compostos com aplicações farmacológicas e de moléculas de interesse biológico está intimamente relacionada com o desenvolvimento de métodos mais sensíveis, que

possibilitam a determinação em nível de ultra traços, principalmente em fluidos biológicos, no controle de qualidade em produtos farmacêuticos (DE SOUZA *et al.*, 2004).

2.3. Grafeno Induzido por Laser (LIG)

O grafeno, uma estrutura bidimensional composta por átomos de carbono organizados em uma rede hexagonal, é um dos materiais mais promissores na ciência e tecnologia devido às suas propriedades físicas e químicas excepcionais (SUN; WU; SHI, 2011; VIEIRA SEGUNDO; VILAR, 2016). Entre essas propriedades pode-se destacar a alta condutividade elétrica e térmica, resistência mecânica, e grande área superficial, o que torna o grafeno um material ideal para aplicações em eletrônica, sensores, armazenamento de energia e muito mais (URADE; LAHIRI; SURESH, 2023).

Um dos desenvolvimentos mais inovadores na utilização do grafeno é a criação de eletrodos de grafeno induzidos por laser (LIG, do inglês Laser-Induced Graphene) (COSTA *et al.*, 2022).

Os LIGe representam um avanço significativo na fabricação de dispositivos baseados em grafeno. Este método utiliza um laser de alta intensidade para transformar diretamente materiais ricos em carbono, como poliamida, em grafeno (LIN *et al.*, 2014). Durante o processo, a energia do laser provoca a descarbonização e rearranjo dos átomos de carbono, formando uma estrutura de grafeno poroso diretamente na superfície do substrato. A partir da utilização de técnicas de escrita direta a laser, é possível criar padrões de grafeno com alta resolução e em diversas formas adaptando-se a diferentes aplicações (LIN *et al.*, 2014). Além disso, o processo pode ser realizado a temperatura ambiente e pressão atmosférica (MATIAS; ROCHA; *et al.*, 2022), o que reduz significativamente os custos e complexidade em comparação com outros métodos de produção de grafeno. Este método é vantajoso porque é rápido, escalável e não requer etapas complexas de transferência de grafeno, como ocorre em métodos tradicionais de síntese (ZHANG *et al.*, 2017). O LIGe resultante, exibe uma alta área de superfície, aproximadamente ($340 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), alta porosidade, alta estabilidade térmica ($> 900 \text{ }^\circ\text{C}$) e excelente condutividade ($5 - 70 \text{ }\mu\text{S cm}^{-1}$) (ABDUL-AZIZ *et al.*, 2020; ALHAJJI; ZHANG; ALSHAREEF, 2021).

Os sensores de LIGe permitem obter vantagens, como por exemplo, sensibilidade, simplicidade e flexibilidade no processo de fabricação, baixo custo, liberdade de design,

robustez, reprodutibilidade, facilidade de operação, portabilidade e não requer um tratamento químico ou eletroquímico para seu uso em eletroanálises. Sua estrutura e composição favorece diversas aplicações incluindo dispositivos de armazenamento de energia, sensores e biossensores eletroquímicos (ALHAJJI; ZHANG; ALSHAREEF, 2021; CHENG *et al.*, 2021; WANG, FANGCHENG *et al.*, 2018; YE; JAMES; TOUR, 2019).

A espectroscopia de Raman, uma técnica versátil para caracterização de materiais baseados em grafeno, evidenciou as bandas características do grafeno na morfologia do LIG. Por exemplo, a banda D localizada em 1350 cm^{-1} está associada ao modo de formação ou desordem nas ligações de hibridização sp^2 , enquanto a banda G, atribuída a vibrações de carbono no plano sp^2 aparece em 1590 cm^{-1} e o sinal a 2700 cm^{-1} refere-se à banda 2D, originada de fônons de segunda ordem de zona limite (LIN *et al.*, 2014; MATIAS; DE FARIA; *et al.*, 2022). Essas bandas confirmam a formação de um material semelhante ao grafeno de alta qualidade.

Em imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do LIGe, observou-se uma superfície com uma configuração bem regular, rugosa, sugerindo uma alta porosidade obtida pela conversão fototérmica de poliimida em grafeno (COSTA *et al.*, 2022)(MATIAS; ROCHA; *et al.*, 2022). O aparecimento de poros é resultante da liberação de gases por causa de alta temperatura de irradiação localizada, isto dá origem a sítios eletroativos altamente acessíveis e melhoria da resposta eletroquímica. As elevadas temperaturas localizadas quebram o C=O, C-O e ligações N=C em poliimida; há liberação de gases e os compostos aromáticos restantes são rearranjados para formar estruturas de grafeno (CHENG *et al.*, 2021; LIN *et al.*, 2014).

Além de suas propriedades intrínsecas, o LIGe pode ser funcionalizado para melhorar ainda mais suas características eletroquímicas e adequá-los a aplicações específicas. A funcionalização pode ser realizada pela introdução de grupos químicos específicos na superfície do grafeno, ou pela deposição de nanopartículas metálicas, óxidos ou outros materiais. Esta abordagem permite a customização das propriedades eletroquímicas dos LIGe's, ampliando suas possibilidades de uso em diferentes contextos (WANG, FANGCHENG *et al.*, 2018; VIVALDI *et al.*, 2021).

Os LIGe's exibem excelentes propriedades eletroquímicas, tornando-os ideais para aplicações em sensores e dispositivos de armazenamento de energia. A estrutura porosa do LIGe proporciona uma grande área superficial ativa, o que é benéfico para a

adsorção de moléculas e íons, melhorando a sensibilidade e capacidade de detecção em sensores eletroquímicos (SANTOS, NUNO F. *et al.*, 2021).

Dessa forma, pode-se inferir que os eletrodos de grafeno induzidos por laser representam um avanço significativo na utilização de grafeno para aplicações eletroquímicas. A capacidade de funcionalizar e customizar os LIGe amplia ainda mais seu potencial, possibilitando o desenvolvimento de soluções inovadoras para desafios técnicos e científicos. Com contínuos avanços na tecnologia de laser e na compreensão das propriedades do grafeno, espera-se que os LIGe desempenhem um papel cada vez mais importante no futuro da ciência e tecnologia eletroquímica.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Aplicação de sensor eletroquímico utilizando eletrodo de grafeno induzido por laser (LIGe) para determinação da NMS.

3.2. Objetivos específicos

- Investigar as propriedades eletroquímicas dos LIGe;
- Utilizar LIGe para determinar NMS.
- Otimizar parâmetros para detecção da NMS pela voltametria de onda quadrada utilizando o LIGe;
- Aplicar o sensor eletroquímico em amostras de fármacos e biológicas para determinação da NMS;
- Investigar a sensibilidade, seletividade e estabilidade do sensor eletroquímico.

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. Instrumentação

Para as medições eletroquímicas foi utilizado um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT-128N interligado com um computador e controlado pelo software NOVA 2.2.1. Uma célula eletroquímica (10 mL) convencional de três eletrodos foi utilizada, incluindo um fio de platina como eletrodo auxiliar, em eletrodo Ag|AgCl|KCl (3,0 mol L⁻¹) como referência e LIGe como eletrodo de trabalho.

Para dissolução dos reagentes e amostras sólidas foi utilizado um agitador de tubos tipo Vortex (Fisatom Equipamentos Científicos, São Paulo, Brasil) com velocidade fixa de 2800 rpm e um banho ultrassônico USC 1400 (Unique, São Paulo, Brasil). As medidas de pH foram realizadas utilizando-se um medidor de pH KASVI modelo K39-2014B, Paraná, Brasil.

4.2. Reagentes e Soluções

Os reagentes utilizados nos experimentos são de grau analítico e foram usados sem purificação prévia. As soluções foram preparadas em temperatura ambiente, utilizando água destilada e posteriormente deionizada (18,2 MΩ cm) obtida pelo sistema Mili-Q Direct 8 (Milipore). A solução estoque padrão de NMS (Sigma Aldrich) de 5 mmol L⁻¹ foi preparada em meio de hidróxido de sódio 0,10 mol L⁻¹. Na detecção eletroquímica, as soluções padrão de trabalho foram obtidas por diluição em meio dos eletrólitos investigados (tampão fosfato e tampão BR).

Soluções tampão Britton-Robinson (BR) foram preparadas utilizando-se volumes adequados de soluções de CH₃COOH, K₃PO₄ e H₃BO₃ todos de concentração igual a 0,04 mol L⁻¹ e seguidas do ajuste do pH com solução de NaOH (3,0 mol L⁻¹). Na Tabela 2 estão descritos todos os reagentes utilizados durante os experimentos.

Tabela 2. Lista de reagentes utilizados e suas respectivas procedências.

Reagente	Fórmula química	Procedência
Ácido acético	$C_2H_4O_2$	Merk S. A.
Ácido bórico	H_3BO_3	Isofar
Ácido fosfórico	H_3PO_4	Isofar
Ácido Oxálico	$C_2H_2O_4$	Dinâmica
Ácido cítrico	$C_6H_8O_7$	Dinâmica
Cloreto de potássio	KCl	Merk S. A.
Ferricianeto de potássio	$C_6N_6FeK_3$	Merk S. A.
Ferrocianeto de potássio	$C_6N_6FeK_4$	Merk S. A.
Fosfato dissódico	Na_2HPO_4	Isofar
Fosfato monopotássico	KH_2PO_4	Isofar
Glicose	$C_6H_{12}O_6$	Dinâmica
Hidróxido de sódio	NaOH	Isofar
Nimesulida	$C_{13}H_{12}N_2O_5S$	Sigma-Aldrich
Ureia	CH_4N_2O	Synth

4.3. Fabricação dos eletrodos

4.3.1. Eletrodos de referência

Para a confecção do eletrodo de referência de $Ag|AgCl|KCl_{saturado}$, um fio de prata foi polido com lixa d'água de granulometria 1200, para remoção de impureza, em seguida, foi lavado com água deionizada. Para deposição de AgCl na superfície do fio de prata, aplicou-se um potencial de 1,8 V contra um eletrodo de platina em solução de HCl 0,1 mol L⁻¹. Em seguida, o fio foi inserido dentro de uma pipeta de Pasteur contendo solução de KCl saturada, tendo sua ponta selada com um material inerte (separador de bateria) para o contato elétrico e a parte superior vedada com parafilme.

4.3.2. Eletrodos de LIG

Os LIGe foram confeccionados no Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica (NUPE) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia-MG e cedidos para Laboratório de Eletroquímica (LELQ) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). O eletrodo de grafeno induzido por laser (LIGe), foi fabricado por uma impressora do tipo WorkSpecial WS4040 cortado a laser; usando uma potência de 0,9 W, com uma duração de pulso de 14 μs , utilizando uma velocidade de impressão de 40 mm s⁻¹. A distância entre o substrato e a saída do laser foi de 10 mm, onde um conjunto com quatro eletrodos foi fabricado em 280 s. Uma fita de cobre foi empregada para melhorar contatos

elétricos e uma resina líquida isolante (esmalte de unha) foi usada para limitar a área de trabalho (COSTA *et al.*, 2022), conforme Figura 4.

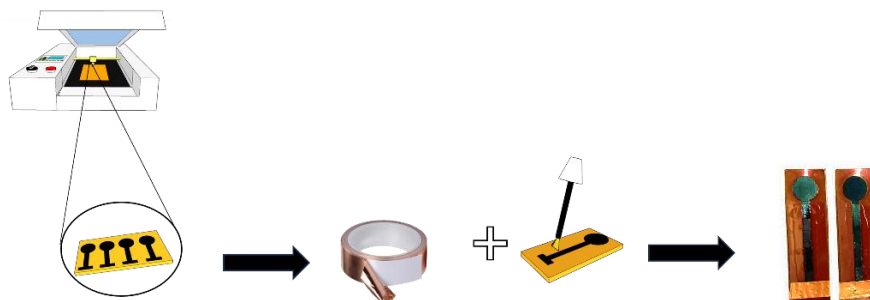


Figura 4. Representação esquemática do processo de fabricação e preparação do eletrodo. (A) WorkSpecial WS4040 cortado a laser. (B) Preparação do eletrodo. Fonte: Autor, 2024.

4.4. Procedimentos analíticos

O LIGE foi caracterizado eletroquimicamente utilizando a sonda de $K_3[Fe(CN)_6]$ / $K_4[Fe(CN)_6]$ 10 mmol L⁻¹ em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ por meio da VC na faixa de potencial de - 0,3 a 0,7 V com velocidade de varredura de potencial igual a 50 mV s⁻¹. Medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS do inglês: electrochemical impedance spectroscopy) foram realizadas empregando a sonda redox de $K_3[Fe(CN)_6]$ / $K_4[Fe(CN)_6]$ 10 mmol L⁻¹ em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹. Para isso, o potencial aplicado foi selecionado utilizando a VC a partir do potencial de meia-onda, $E_{1/2}$ de 0,2435 V, na faixa de frequência de 100 kHz a 0,1 Hz, com amplitude de 10 mV.

No desenvolvimento dos procedimentos voltamétricos para a determinação dos fármacos de NMS foram seguidas etapas semelhantes, como descritas a seguir: Primeiramente, foi identificado o melhor eletrólito suporte (composição e pH) para a obtenção do melhor sinal analítico para os fármacos estudados. Os parâmetros que influenciam a VOQ, tais como frequência, amplitude e incremento, foram avaliados e otimizados (15 Hz; 60 mV; 10 mV). As curvas analíticas foram construídas por meio da adição sucessiva de diferentes volumes das soluções estoque de NMS de forma a obter-se diferentes concentrações do analito na célula eletroquímica. O limite de detecção (LD) foi calculado como sendo três vezes o desvio-padrão do branco (n = 10), dividido pela inclinação da curva analítica (sensibilidade analítica). A precisão do procedimento voltamétrico foi verificada a partir de estudos de repetibilidade intra-dia (n = 15).

O procedimento voltamétrico desenvolvido foi empregado na análise de amostras farmacêuticas comerciais e urina sintética.

4.5. Obtenção e preparo de amostra de fármaco

Amostra farmacêutica contendo NMS foi adquirida em farmácia local. Cada comprimido continha 100 mg de NMS. A solução da amostra foi preparada da seguinte forma: dez comprimidos foram pesados em balança analítica e, com o auxílio de almofariz e pistilo, foram macerados. Em seguida, pesou-se a massa média de um único comprimido. Essa massa foi solubilizada em solução de NaOH ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) e transferida para um balão volumétrico de 25 mL (PHARMACOPOEIA, 2010). Em seguida foi aferido até o menisco com a mesma solução e levado a banho ultrassônico durante 20 minutos. Por fim, foram realizadas as diluições nas concentrações desejadas em eletrólito de suporte.

4.6. Preparação da amostra de urina sintética

Amostras de urina sintética foram preparadas adicionando 0,73 g de NaCl, 0,40 g de KCl, 0,28 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,56 g de Na_2SO_4 , 0,35 g de KH_2PO_4 , 0,25 g de NH_4Cl e 6,25 g de ureia em um balão volumétrico de 250 mL e dissolvidos em água (LAUBE; MOHR; HESSE, 2001). Em seguida, foi preparada uma solução de concentração de NMS e solubilizada em solução contendo 1 mL de urina sintética e 9 mL de tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo do LIGe

A resposta eletroquímica do LIGe foi avaliada por meio da VC empregando uma solução 10 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ / $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl, à velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Como pode ser visto na Figura 5, observou-se um par redox com picos bem definidos, característicos da sonda eletroquímica utilizada e apresentou um potencial de pico anódico (E_{pa}) de $0,32 \text{ V}$, enquanto o potencial de pico catódico foi de $0,13 \text{ V}$. A separação entre potenciais de pico (ΔE_p) foi de aproximadamente $0,20 \text{ V}$ vs $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}$ ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e $E_{1/2}$ para o $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ de $0,227 \text{ V}$, indicando assim um comportamento reversível.

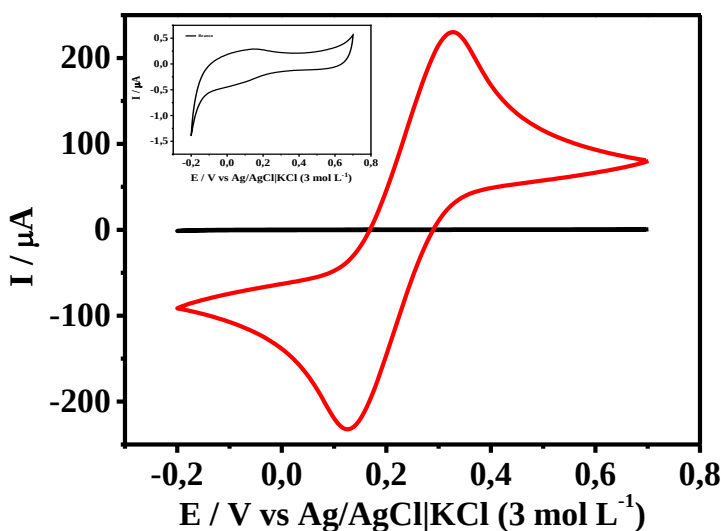


Figura 5. VC do LIGe ($\varnothing = 5 \text{ mm}$) obtido na (—) ausência e (—) presença de 10 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ / $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. Inserido: VC do LIGe em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. Condições experimentais: $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Pela análise da Figura 5, também foi possível verificar a ocorrência da transferência eletrônica no sistema, comparando a intensidade da corrente do pico anódico e catódico que obteve uma razão igual a 1, a qual representa uma taxa de reversibilidade da reação eletroativa de 100 %. Desse modo, pode-se inferir que o LIGe é um material que tem uma grande área superficial e poder de imobilizar espécies eletroativas, sendo capaz de atuar como sensor eletroquímico.

Estes resultados confirmam o que está reportado na literatura sobre o comportamento eletroquímico do LIGe que também foi avaliado empregando uma

solução de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e apresentou um potencial de pico anódico (E_{pa}) de $0,243 \text{ V}$, enquanto o potencial de pico catódico foi de $0,149 \text{ V}$ com uma separação entre potenciais de 94 mV e $E_{1/2}$ para o $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ de $0,196 \text{ V}$, demonstrando um desempenho eletroquímico semelhante obtido utilizando eletrodos convencionais de carbono vítreo. De mesmo modo, a resposta eletroquímica do eletrodo LIGe foi avaliada empregando uma solução de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, onde foi observado um $E_{1/2}$ para o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3/4}$ de $+0,21 \text{ V}$, um pico anódico em $+0,31 \text{ V}$ e o pico catódico em $+0,11 \text{ V}$ (MATIAS; ROCHA; *et al.*, 2022).

5.1.1. Reprodutibilidade na fabricação dos eletrodos de LIG

Para demonstrar a confiabilidade dos eletrodos produzidos foi realizado um estudo de reprodutibilidade, considerando o sinal analítico obtido a partir de 10 medidas utilizando 7 eletrodos diferentes em solução 10 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ / $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl , conforme Figura 6. Estudo de reprodutibilidade dos LIGe obtido na presença de 10 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ / $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl . Condições experimentais: $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. No estudo, as medidas entre os eletrodos apresentaram um desvio padrão relativo (RSD) de 4% , indicando uma boa estabilidade do LIGe.

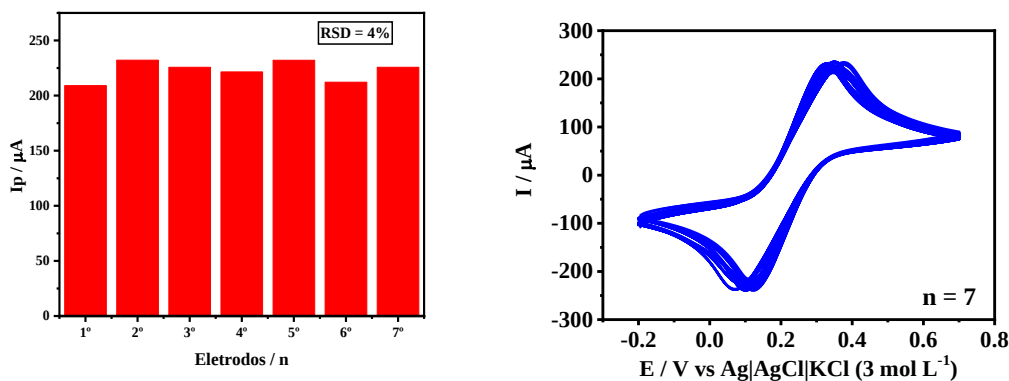


Figura 6. Estudo de reprodutibilidade dos LIGe obtido na presença de 10 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ / $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl . Condições experimentais: $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

5.2. Caracterização EIE do LIGe

Medidas de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE) foram realizadas com o LIGe a fim de estudar a resistência à transferência de carga na interface

eletrodo/solução. Os experimentos foram executados na presença do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 10 mmol L^{-1} em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ variando-se a frequência de 100 kHz a 0,1 Hz a partir do potencial de meia onda (0,2435 V). A Figura 7, apresenta o diagrama de Nyquist empregando-se o LIGe em comparação com um estudo de impedância realizado com ECV que apresentou valores de R_{ct} aproximados, demonstrando assim uma boa transferência eletrônica para o LIGe

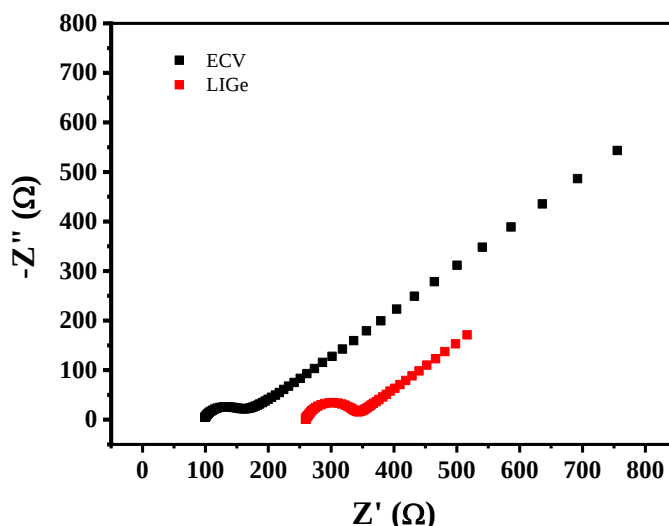


Figura 7. Diagrama de EIE do LIGe obtido na presença de 10 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ / $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl . Condições experimentais: $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Valores de resistência à transferência de carga (R_{ct}) representam numericamente a dificuldade de transferência de elétrons entre a sonda eletroquímica utilizada neste estudo e o eletrodo. Ao se analisar o espectro de impedância para o LIGe observa-se a formação de um semicírculo bem definido, indicando uma boa transferência eletrônica sobre a superfície do eletrodo. Os dados obtidos mostraram uma boa transferência eletrônica com o R_{ct} para o LIGe de $(82 \text{ } \Omega)$ comparada ao estudos realizados por MATIAS; ROCHA; *et al.*, 2022 que investigou o LIGe por EIE encontrando um R_{ct} de $395 \text{ } \Omega$.

5.3. Comportamento eletroquímico da NMS

O LIGe foi utilizado para determinar o comportamento eletroquímico da NMS em solução tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ pH 5,0, por meio da voltametria cíclica, em uma faixa de potencial de -1,2 a 1,3 V vs $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl} (3 \text{ mol L}^{-1})$ na ausência e após adição

100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ desse analito, sem a presença de oxigênio, os resultados obtidos estão apresentados na Figura 8.

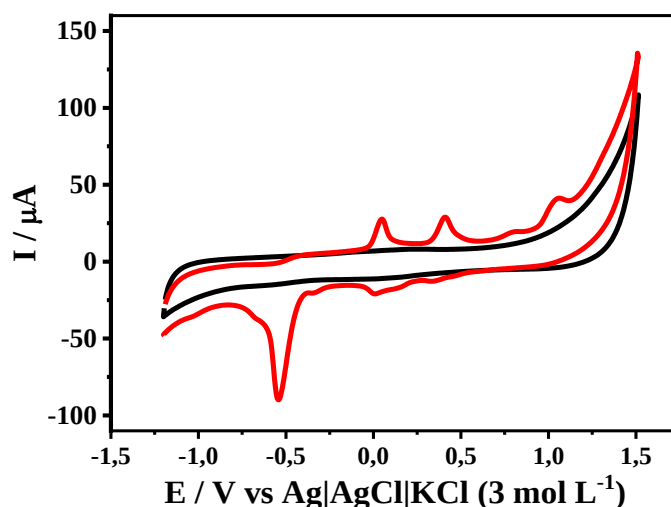


Figura 8. VC do LIGe realizado em solução tampão fosfato 0,12 mol L⁻¹ pH 5,0 (—) na ausência e (—) presença de NMS 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Condições experimentais: na ausência de O₂; $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Foi possível verificar que a NMS apresenta dois centros redox. A porção de -NH (amida) é oxidada em potenciais mais positivos, enquanto o grupo nitro-NO₂ pode sofrer processos de redução em potenciais mais negativos. Como pode ser observado na Figura 8, o VC mostra na primeira varredura catódica começando em -1,2 V, um pico acentuado com E_{pc} de -0,5 V. Este pico corresponde a redução do grupo nitro presente na estrutura da NMS de forma irreversível para formar um derivado de hidroxilamina de acordo com a Figura 9.

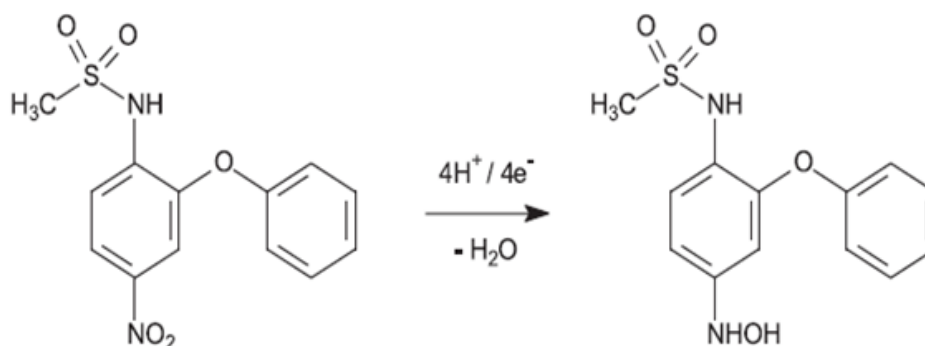


Figura 9. Mecanismo de reação proposto para redução da NMS .

Este comportamento foi semelhante ao estudo realizado por (MOSCOSO; ÁLVAREZ-LUEJE; SQUELLA, 2020). Um mecanismo de processo de redução da NMS envolvendo quatro elétrons e quatro prótons é relatado na literatura (GOULARTE *et al.*, 2022b; MIRANDA *et al.*, 2017).

Posteriormente, seguindo a varredura em direção a potenciais mais positivos, o grupo -NHOH é oxidado ao grupo nitroso (-NO) de forma quase-reversível (este processo inicia em torno de 0,20 V), liberando dois elétrons e dois prótons (Equação B). Na segunda varredura catódica, o grupo -NO é reduzido gerando novamente o grupo -NHOH de forma quase-reversível (o processo inicia em torno de -0,30 V). O pico de oxidação da NM (1,0 V) provavelmente está relacionado com um processo de oxidação irreversível do grupo metilsulfonamida presente em sua estrutura conforme Figura 10.

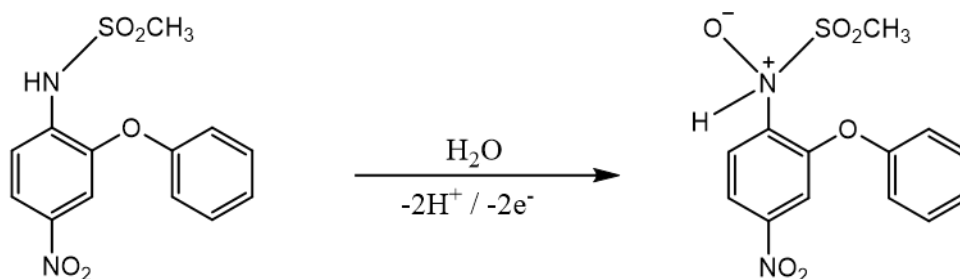


Figura 10. Mecanismo de reação proposto para oxidação da NMS. Adaptado de (DEROCO; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018).

Os processos eletroquímicos da NMS que ocorrem sobre o eletrodo de LIGe são semelhantes aos descritos na literatura quando mercúrio, carbono vítreo e BDD foram usados como eletrodos de trabalho em pH 7,5 (LIMA *et al.*, 2013). Contudo, devido à necessidade da remoção do gás oxigênio na região de potenciais mais negativos, onde acontece a redução da NMS, para o desenvolvimento do método de determinação da NMS utilizou-se um intervalo de potencial de 0,5 a 1,3 V vs Ag|AgCl|KCl (3,0 mol L⁻¹).

Na Figura 11, um pico anódico (I_{pa}) em potencial de 1,0 V vs Ag|AgCl|KCl (3,0 mol L⁻¹) foi obtido, enquanto nenhum potencial de pico de redução foi verificado, indicando assim que dentro dessa faixa de potencial, o processo no eletrodo é irreversível, assim como em outros trabalhos reportados na literatura que investigam a oxidação da NMS (DE OLIVEIRA *et al.*, 2023; DEROCO; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018). De acordo com os trabalhos descritos na literatura sobre a reação de oxidação da

NMS, o sinal anódico é provavelmente devido à oxidação do grupo metilsulfonamida presente em sua estrutura (BUKKITGAR *et al.*, 2016; SANTOS DA SILVA *et al.*, 2013).

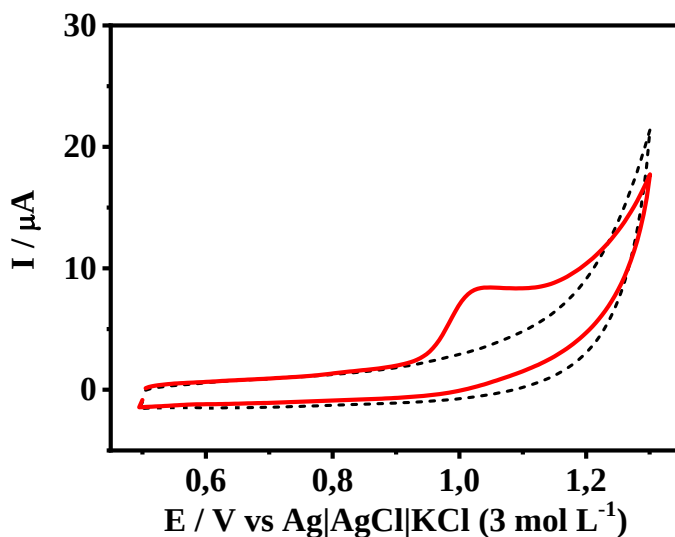


Figura 11. Voltamogramas cíclicos do LIGe ($\varnothing = 5\text{mm}$) realizados em solução tampão fosfato $0,12\text{ mol L}^{-1}$ pH 5,0 (—) na ausência e (—) presença de NMS $30\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. Condições experimentais: com $v = 50\text{ mV s}^{-1}$.

5.4. Influência do tempo de acumulação na oxidação da nimesulida

O tempo de acumulação especifica o tempo necessário para que o analito seja absorvido pelos sítios eletroativos da superfície do eletrodo (PATIL *et al.*, 2022). O efeito deste tempo no comportamento eletroquímico da NMS foi avaliado em um intervalo de tempo de 0 a 30 s por meio da VC.

Na Figura 12, observa-se que com o aumento do tempo de acumulação acontece o aumento da adsorção da NMS na superfície do eletrodo, até um tempo de 20s (PRABHU *et al.*, 2021). Entretanto, o incremento de corrente obtido com o aumento de tempo de acumulação não forneceu uma diferença significativa, portanto, este tempo não foi utilizado para as análises posteriores experimentais.

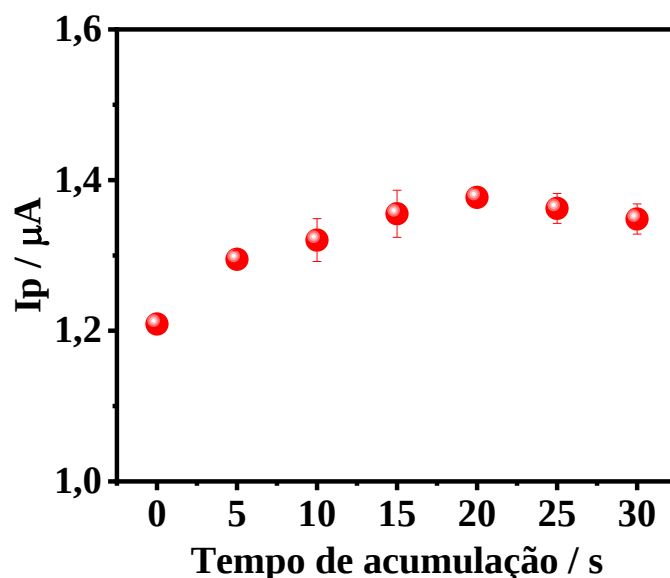


Figura 12. Estudo do tempo de acumulação (0-30 s) do LIGe ($\varnothing = 5\text{mm}$) realizado em solução tampão fosfato $0,12\text{ mol L}^{-1}$ pH 5,0 na presença de NMS $30\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. Condições experimentais: com $v = 50\text{ mV s}^{-1}$.

5.5. Estudo do efeito da velocidade de varredura

O comportamento eletroquímico da NMS em LIGe foi avaliado por meio da variação de velocidade de varredura entre $10\text{ a }100\text{ mV s}^{-1}$ em tampão fosfato $0,12\text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0, a fim de verificar qual o tipo de processo predominante na superfície do eletrodo. Na Figura 13A, o aumento na corrente de pico (I_p) foi observado com o aumento da velocidade de varredura. Ao se avaliar o comportamento da I_p em função da v , dado apresentado na Figura 13B, observa-se uma relação linear entre eles e a equação da reta correspondente é dada por $I_p = 0,013 v (\text{mV s}^{-1}) + 0,920$ e o coeficiente de correlação é igual a 0,985.

Com os dados obtidos neste estudo, construiu-se um gráfico a partir da dependência entre a I_p versus a raiz quadrada da velocidade de varredura ($\sqrt{v}$) (Figura 13C), que apresentou a equação: $I_p (\mu A) = 0,194 v^{1/2} (\text{mVs}^{-1}) + 0,247$; $r = 0,997$, sendo assim, foi possível constatar a linearidade da reta obtida, sugerindo que o processo no eletrodo é controlado por difusão (SHETTI *et al.*, 2019c; SHETTI; MALODE; *et al.*, 2020). Além disso, um gráfico para o logaritmo da taxa de velocidade de varredura ($\log v$) versus $\log I_p$ foi obtido com a equação: $\log I_p (\mu A) = 0,426 \text{ Log } v - 0,514$; $r = 0,998$ (Figura 13D), que apresentou uma inclinação de 0,426, um valor aproximado ao valor teórico de 0,5 para um processo controlado por difusão (FILHO; *et al.*, 2022).

Portanto, é possível confirmar que o processo de transferência de carga na superfície do eletrodo é controlado totalmente por difusão em que a espécie eletroativa se difunde do seio da solução para a superfície do eletrodo (PACHECO *et al.*, 2013).

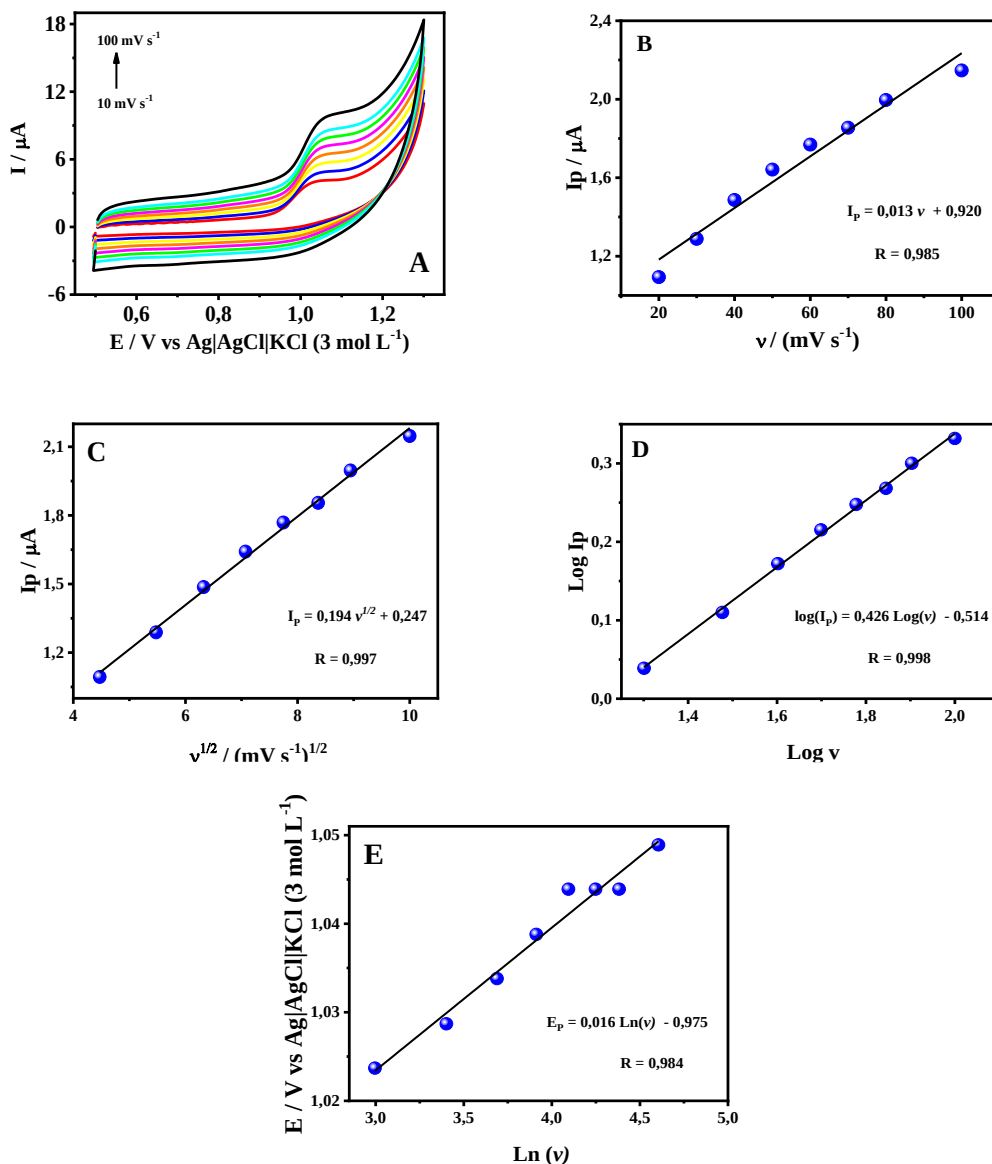


Figura 13. (A) Voltamogramas cíclicos do eletrodo de LIGe na presença de NMS 30 μmol L⁻¹ em diferentes velocidades de varredura (v) (10 – 100 mV s⁻¹). (B) Dependência da I_p com a v . (C) Dependência da I_p e com a raiz quadrada da v . (D) Dependência do log da v com o log da I_p . (E) Dependência do potencial de pico (E_p) com o logaritmo natural da v . Condições experimentais: PB 0,12 mol L⁻¹; pH 5,0.

Estes resultados estão de acordo com (SHETTI; SHANBHAG; *et al.*, 2020), utilizando um eletrodo de carbono modificado com resina amberlite XAD-4 para oxidação e determinação da NMS por meio da Voltametria de onda quadrada (VOQ) que apresentou também um processo controlado por difusão. Assim como (YUE *et al.*, 2022)

que desenvolveu um sensor voltamétrico para a determinação de NMS usando eletrodo de carbono vítreo modificado com poli(L-cisteína) e composto de grafeno (GR/p(L-Cys)/GCE) por meio da VC e da Voltametria de pulso diferencial (VPD) que demonstrou um processo controlado por difusão.

A partir da análise da Figura 13E, pode-se observar que o potencial de pico da oxidação da NMS foi dependente da taxa de velocidade de varredura, pois os valores de potenciais deslocaram para valores mais positivos com o aumento da velocidade, tal fato pode caracterizar a irreversibilidade do processo de oxidação da NMS dentro da faixa de potencial estudada (BUKKITGAR *et al.*, 2016), assim como pode ser visto por meio da relação linear entre o potencial de pico (E_p) e o logaritmo natural da velocidade expressa pela seguinte equação: $E_p = 0,016 \ln(v) - 0,975$; $r = 0,984$.

A relação entre o E_p e o $\ln(v)$ também foi usada para determinar o número de elétrons envolvidos no processo de oxidação da NMS através da equação de Laviron (Equação 1) para o processo irreversível no eletrodo (LAVIRON, 1979).

$$E_p = E^{o'} - \left(\frac{RT}{\alpha n F} \right) \ln \left(\frac{RT k_s}{\alpha n F} \right) + \left(\frac{RT}{\alpha n F} \right) \ln(v) \quad \text{Equação 1}$$

Onde, E_p é o valor do potencial de pico, E^o é o potencial padrão redox da espécie, R é a constante universal dos gases ideais ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$); T é a temperatura (298 K); F é a constante de Faraday (96485 C mol^{-1}); α é o coeficiente de transferência, n é o número de elétrons transferidos e v é a velocidade de varredura. Para o cálculo do valor de α , a equação (2) foi usada, onde $E_{p1/2}$ corresponde ao potencial de meia onda (DE OLIVEIRA *et al.*, 2023).

Com os dados obtidos por meio do estudo da velocidade de varredura, é possível calcular o número de elétrons envolvidos na reação global de oxidação da NMS, esse número pode ser obtido por meio da diferença entre o potencial de pico (E_p) e o potencial de meia onda ($E_{1/2}$) para as diferentes velocidades de varredura, aplicando-se à equação 2 (BUKKITGAR *et al.*, 2016; PRABHU *et al.*, 2021).

$$\alpha = \frac{47,7}{E_p - E_{p1/2}} (mV) \quad \text{Equação 2}$$

Considerando-se o valor obtido para $\alpha = 0,95$, a diferença entre o $E_p - E_{1/2}$ foi de 50 mV e o número de elétrons (n) calculado foi de $1,7$ valor bem próximo de 2 , o qual é o número de elétrons apresentado no mecanismo de oxidação da NMS disposto na

literatura (BUKKITGAR *et al.*, 2016; DEROCO; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018; SHETTI; MALODE; *et al.*, 2020; YUE *et al.*, 2022). Considerando os resultados obtidos e estudos prévios da literatura, o mecanismo de reação de oxidação proposto para NMS envolve 2 elétrons e 2 prótons, formando o metilsulfonamida, assim como representado na Figura 10.

5.6. Estudo do pH

Para o desenvolvimento do método analítico, a influência do pH do eletrólito de suporte na reação de oxidação da NMS $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ foi avaliada por meio da VOQ empregando o LIGe em diferentes valores de pH (2,0 – 8,0). Os voltamogramas obtidos foram registrados na Figura 14A. É importante ressaltar, que a delimitação dessa faixa de pH baseou-se em estudos previamente reportados na literatura a respeito dos processos de oxidação da NMS, nos quais observou-se que em meios mais alcalinos, há quedas de sinal analítico, resultando em menor sensibilidade e resolução de picos (MOSCOSO; ÁLVAREZ-LUEJE; SQUELLA, 2020).

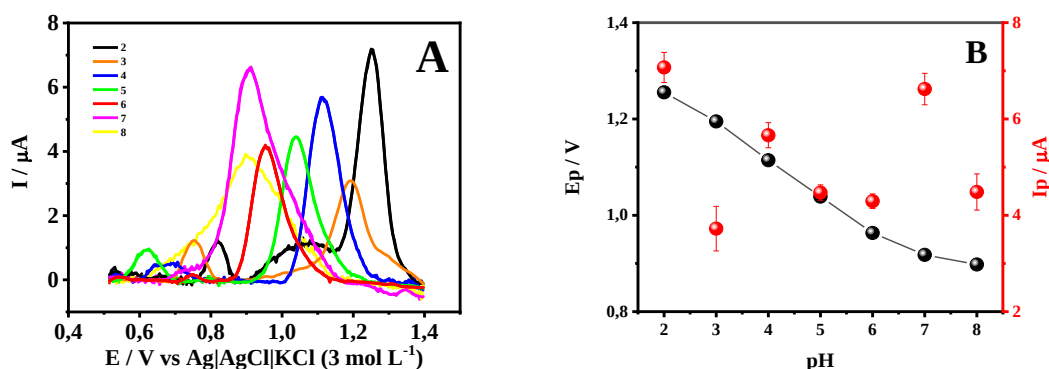


Figura 14. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de LIGe na presença de NMS $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH (2,00 – 8,0). (B) Dependência da I_p e E_p com o pH do meio. Condições Experimentais: amplitude = 60 mV; frequência = 10 Hz; incremento de potencial = 5 mV.

Analisando a Figura 14B, E_p vs. pH, observa-se que a intensidade da I_p foi elevada para a solução tampão de pH 2,0, entretanto o valor de E_p elevado neste meio não é favorável para este estudo, em virtude de possíveis interferentes nessa faixa de potencial. Desse modo, levando-se em consideração a segunda maior intensidade de corrente, o pH 7,0 foi selecionado para estudos posteriores. Ademais, houve uma sutil quebra da linearidade entre os pH 6,0 e 7,0, o que está de acordo com o valor de pK_a (6,5) da NMS

(SANTOS DA SILVA *et al.*, 2013). De forma simultânea, foi observado que os picos de potenciais foram deslocados para potenciais menos positivos com o aumento nos valores de pH (LIMA *et al.*, 2013), esse comportamento sugere a participação de prótons na reação geral do eletrodo. Além disso, esse deslocamento dá-se a uma taxa de $0,062 \text{ V pH}^{-1}$, dado obtido por meio da Equação 3, que representa a regressão linear da curva pH vs E_p :

$$E_p(V) = -0,062 (\pm 0,004) \text{ pH} + 1,365 (\pm 0,0247); R = 0,968 \quad \text{Equação 3}$$

Essa informação implica que o número de prótons envolvidos no processo redox é igual ao número de elétrons, pois o valor da inclinação está próximo do valor nerstiano de 59 mV s^{-1} para um número igual de transferência de prótons e elétrons durante a reação (DEROCO; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018). Esses resultados corroboram com o mecanismo apresentado na Figura 10.

Existe uma relação entre a solubilidade da NMS e o pH do meio, que estabelece uma crescente ionização da mesma à medida que o pH aumenta, uma vez que possui caráter fracamente ácido. Logo, a elevação do pH promove maior solubilização da NMS (CHANDRAN *et al.*, 2000). A solubilidade da NMS é alta em solventes orgânicos, já em água possui uma baixa solubilidade, cerca de $0,01 \text{ mg mL}^{-1}$. Em meio ácido a NMS é praticamente insolúvel (KOVARIKOVA. *et al.*, 2003).

A NMS quando em solução de hidróxido de sódio, desenvolve uma coloração amarela (FACULDADE; FARMACEUTICAS; YAKABE, 1998). Esta afirmação está consoante ao estudo de pH realizado, pois a solução apresentou uma coloração amarelada com o aumento do pH em tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ em um intervalo de (5,0 – 10,0) conforme Figura 15.

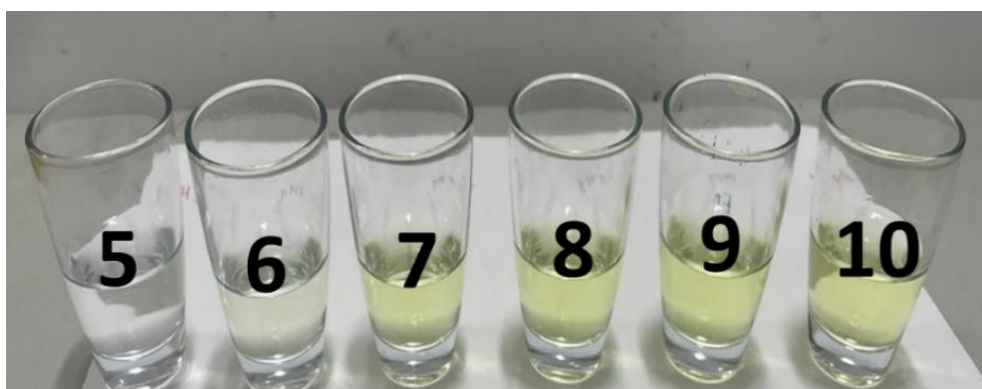


Figura 15. Composto de coloração amarelada formado pela reação da NMS com o hidróxido de sódio. Fonte: Autor, 2024.

A alteração da cor pode ser explicada devido as sulfonamidas monossustituídas que possuem um hidrogênio ácido ligado ao nitrogênio, ao serem tratadas com hidróxido de sódio transformam-se num sal solúvel conforme a Figura 16. Logo, a NMS, possuindo um hidrogênio ácido, ligado ao nitrogênio em sua molécula, ao ser tratada com NaOH, transforma-se num sal solúvel cujas estruturas em ressonância absorvem no visível (FACULDADE; FARMACEUTICAS; YAKABE, 1998).

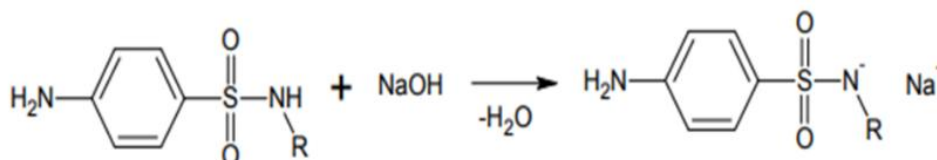


Figura 16. Reação das sulfonamidas com NaOH. Fonte : Adaptado de (SILVEIRA, 2008).

5.7. Estudo do eletrólito de suporte

A natureza do eletrólito de suporte desempenha um papel essencial no comportamento de substâncias eletroquimicamente ativas (GOULARTE *et al.*, 2022a). Com base nisso, o estudo do eletrólito de suporte foi realizado utilizando-se duas soluções eletrolíticas diferentes: tampão BR e tampão fosfato de mesma concentração 0,12 mol L⁻¹ e pH 7,0. Os testes foram realizados registrando-se os VOQ na ausência e presença de 10 µmol L⁻¹ de NMS, os resultados obtidos estão apresentados na Figura 17.

Os resultados mostram que em ambos os eletrólitos avaliados, há a presença do pico anódico referente à oxidação da NMS, porém o maior valor de I_p, melhor resolução de pico foi obtido em solução tampão fosfato 0,12 mol L⁻¹ (pH 7,0). Portanto, este foi escolhido como eletrólito de suporte para realização dos testes posteriores.

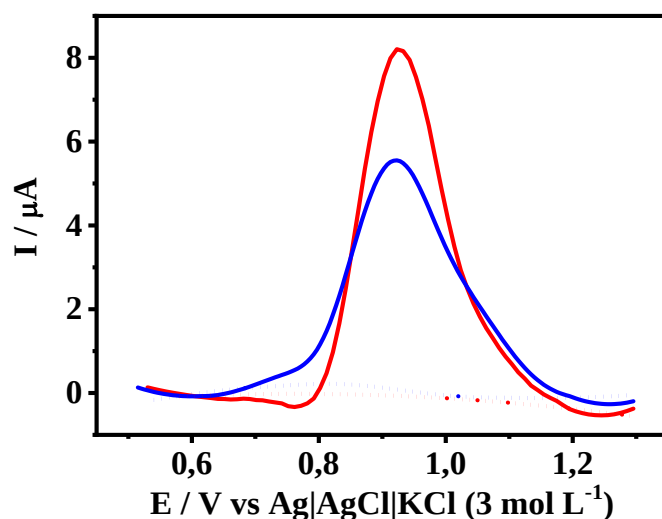


Figura 17. VOQ do LIGe na presença de NMS $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão BR (—) e fosfato (—); ambos de concentração de $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0), $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Condições Experimentais: amplitude = 60 mV; frequência = 10 Hz, incremento de potencial = 5 mV.

5.8. Otimização dos parâmetros da VOQ para a determinação da NMS

A fim de melhorar as condições experimentais, os parâmetros da VOQ foram otimizados. A frequência (f), amplitude de pulso (a), e incremento de potencial (ΔE_s) foram avaliados com a solução de NMS $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0). Os valores selecionados foram avaliados levando-se em consideração a estabilidade, repetibilidade, magnitude de corrente e melhor resolução de pico.

5.8.1. Estudo da influência da amplitude (a)

A influência da amplitude de aplicação de pulso de potencial foi avaliada na oxidação da NMS. Como é possível constatar, a partir da análise da Figura 18, a I_p aumenta continuamente com os valores de amplitude de 20 a 40 mV, a partir deste valor observa-se uma variação mínima de I_p entre as amplitudes seguintes 60, 80 e 100 mV, assim como um aumento do desvio padrão entre as medidas, o que não torna vantajoso o uso de amplitudes maiores. Desse modo a amplitude de 60 mV foi selecionada para prosseguir com os demais estudos.

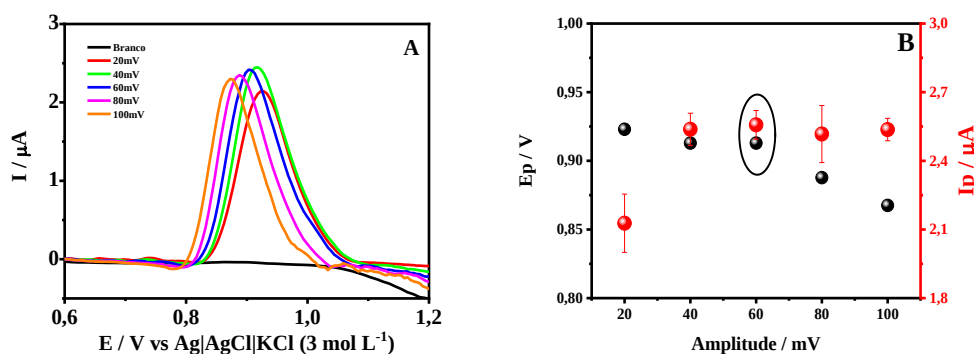


Figura 18. (A) Voltamogramas de onda da variação da amplitude (20 a 100 mV). (B) I_p e E_p em função da amplitude ($n = 3$). Condições experimentais: Solução tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0, NMS $10 \mu\text{mol L}^{-1}$; $f = 10 \text{ Hz}$; $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$.

5.8.2. Estudo do incremento de potencial (ΔE_s)

Na VOQ a velocidade efetiva é o resultado do produto de frequência de pulsos de potencial (f) pelo incremento de potencial (ΔE_s). Logo, a sensibilidade do método pode melhorar com o aumento do ΔE_s . Em contrapartida, com ΔE_s maiores pode ocorrer alargamento nos picos, comprometendo assim a resolução destes (DE SOUZA *et al.*, 2004). Na Figura 19, estão representados os VOQ da NMS registrados com diferentes valores de ΔE_s . De acordo com os dados obtidos, a corrente de pico aumenta continuamente com o aumento do incremento de potencial. Observa-se uma melhor definição de I_p obtida em 10 mV, assim como um menor desvio entre as medidas, desse modo, este parâmetro foi escolhido para os estudos posteriores.

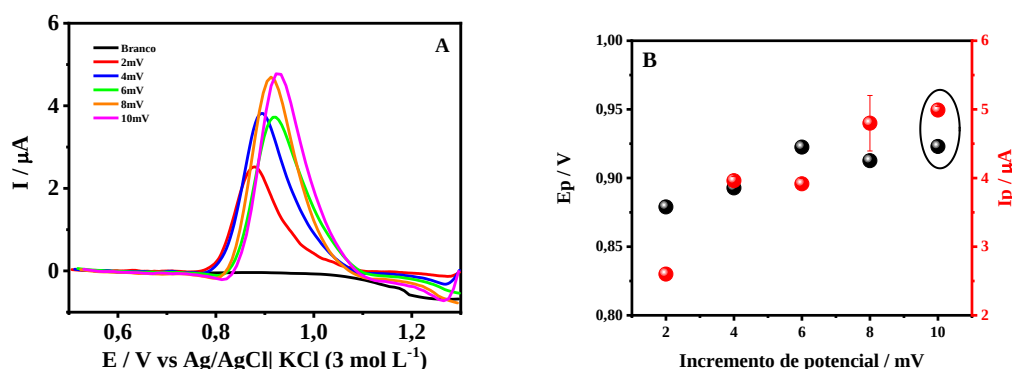


Figura 19. (A) Voltamogramas de onda da variação do ΔE_s (1 a 10 mV). (B) I_p e E_p em função do ΔE_s ($n = 3$). Condições experimentais: Solução tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0, NMS $10 \mu\text{mol L}^{-1}$; $a = 60 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$.

5.8.3. Estudo da influência de Frequência (f)

A frequência de aplicação de pulsos de potencial é um parâmetro importante na VOQ, pois melhora a sensibilidade e possibilita observar o tipo de processo e o número de elétrons envolvidos na transferência eletrônica (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

Os VOQ obtidos para a NMS em função da variação da frequência estão representados na Figura 20. Observa-se que, com o aumento no valor da frequência, ocorre um aumento proporcional na intensidade de I_p e um o deslocamento dos E_p para regiões mais positivas. No entanto, observa-se também que as frequências 20 e 25 Hz, apresentaram menor estabilidade e resolução de picos, assim como, maiores desvios entre as medidas e maiores valores de E_p . Sendo assim, optou-se então por utilizar a frequência de 15 Hz, para que não tenha interferência em medidas posteriores.

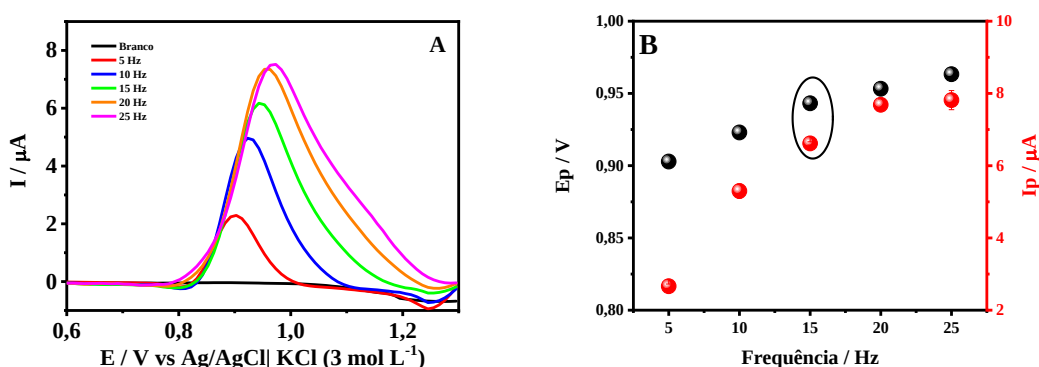


Figura 20. (A) Voltamogramas de onda quadrada da variação da f (5 a 25 Hz). (B) I_p e E_p em função da f ($n = 3$). Condições experimentais: Solução tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0, NMS $10 \mu\text{mol L}^{-1}$; $a = 60 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Na Tabela 3, estão descritos os intervalos em que cada parâmetro foi estudado e os respectivos valores selecionados.

Tabela 3 - Parâmetros experimentais estudados para a técnica de VOQ e os respectivos valores selecionados para a determinação de NMS.

Parâmetro	Intervalo	Selecionado
Frequência (Hz)	5 a 25	15
Amplitude (mV)	20 a 100	60
Incremento de potencial (mV)	2 a 10	10

5.8.4. Repetibilidade das medidas

A fim de avaliar a precisão do método proposto na determinação da NMS um estudo de repetibilidade foi realizado considerando o sinal analítico obtido a partir de 15 medidas consecutivas em solução padrão de NMS $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ sob as condições otimizadas.

Avaliando-se os resultados apresentados na Figura 21, é possível observar que não houve variação significativa nos valores de I_p , devido ao baixo desvio padrão relativo da análise ($< 2,0\%$). Isto sugere uma boa estabilidade para a resposta do eletrodo, e indica também que não foi observada diminuição significativa na atividade do eletrodo.

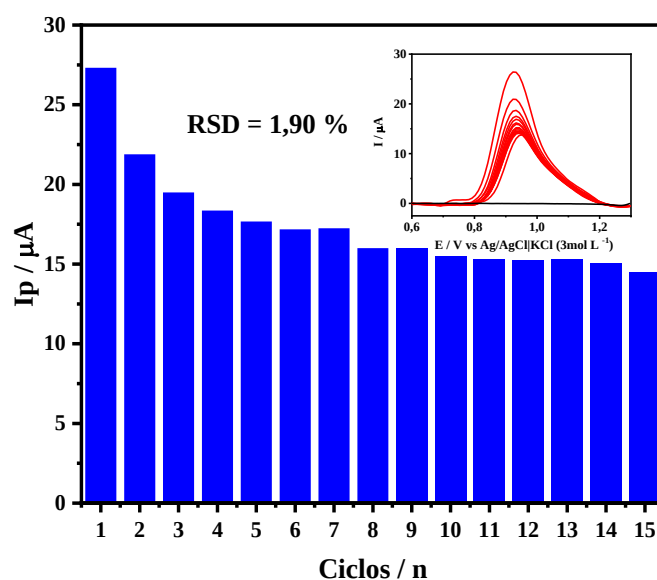


Figura 21. Estudo de repetibilidade ($n=15$) do LIGe na presença de NMS $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ (I_p vs. Ciclos). Inserido: VOQ para o estudo de repetibilidade ($n=15$). Condições experimentais: tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$; pH 7,0; $a = 60 \text{ mV}$; $f = 15 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

5.9. Curva analítica

Após a otimização dos parâmetros da VOQ, a curva analítica foi construída adicionando-se na célula eletroquímica, alíquotas sucessivas da solução estoque (1 mmol L^{-1}) de NMS em tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0), utilizando o LIGe. Como pode ser observado na Figura 22, a curva analítica foi linear no intervalo de 11 a $131 \mu\text{mol L}^{-1}$ e obedeceu à seguinte equação de regressão linear: $I_p (\mu\text{A}) = 4,999 + 0,181 C_{\text{NMS}} (\mu\text{mol L}^{-1})$, $r^2 = 0,999$. Os valores de limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram

calculados por meio das equações $LD = \frac{3,3s}{b}$ e $LQ = \frac{10s}{b}$, onde s é o desvio padrão do branco ou o erro padrão do coeficiente linear da reta e b a inclinação da curva analítica obtida da curva de calibração (BRASIL, 2017). Os valores obtidos para o LD e o LQ foram de 1,29 e 4,29 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

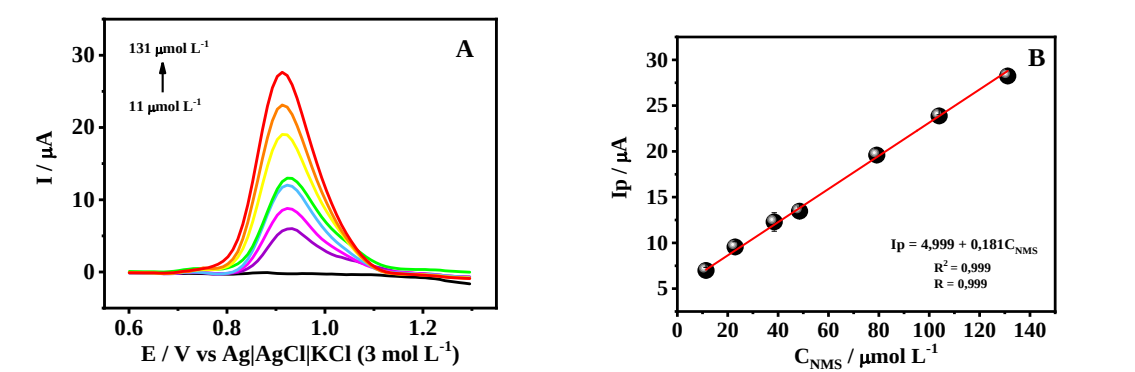


Figura 22. (A) VOQ obtidos usando o eletrodo de LIGe para concentrações de NMS variando entre 11 a 131 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato 0,12 mol L^{-1} (pH 7,0). Parâmetros da VOQ: $f = 15\text{ Hz}$, $a = 60\text{ mV}$, $\Delta Es = 10\text{ mV}$. (B) Curva analítica (I_p vs. C_{NMS}).

Os LD e LQ obtidos pelo sistema analítico proposto evidenciam vantagens quando comparado a outros reportados na literatura para determinação de NMS, conforme Tabela 4, principalmente quanto ao tempo e facilidade de fabricação, uma vez que neste sensor eletroquímico não foi empregado um eletrodo modificado.

Tabela 4- Comparação dos parâmetros analíticos obtido por diferentes métodos relatados na literatura para determinação da NMS.

Eletrodo	Técnica	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Amostras	Referências
BNC/CPE	VOQ	0.01 – 0,55	0,011	Urina /Fármaco	(PRABHU <i>et al.</i> , 2021)
NS/CPE	VOQ	0,01 – 0,35	0,000101	Urina /Fármaco	(SHETTI; MALODE; <i>et al.</i> , 2020)
3Ds-NPGE	VOQ	10 – 50	0,018	Urina/Fármaco/Água de torneira/Leite materno	(DE OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2023)
GGR/p(L-Cys)/GCE	VPD	1-55	0,3	Água de torneira /Água de rio	(YUE <i>et al.</i> , 2022)
XAD/CPE	VOQ	1-50	0,0128	Urina/ Fármaco	(SHETTI; SHANBHAG; <i>et al.</i> , 2020)
LIG	VOQ	11 – 131	1,29	Urina/ Fármaco	Este trabalho

BNC-CPE-Eletrodo de pasta de carbono modificado com argila de betonita; NS-CPE- Eletrodo de pasta de carbono misturado com nanosílica; 3Ds- NPGE-Eletrodo 3D misturado com esmalte e grafite; GR/p(L-Cys) -GCE-Eletrodo de carbono vítreo modificado com ácido cisteína; XAD-CPE- Eletrodo de pasta de carbono modificado com resina de amberlite XAD-4; Técnica: VOQ – Voltametria de onda quadrada; VPD – Voltametria de pulso diferencial.

A partir da Tabela 4, foi possível constatar que o procedimento analítico empregando o LIGe e a técnica eletroquímica de VOQ proporcionou uma maior faixa de trabalho em comparação com os demais trabalhos. Ademais, embora este obtido um limite de detecção superior aos métodos comparados, a detectabilidade também se encontra na mesma ordem de grandeza (mmol L^{-1}) destes. As aplicações mais comuns para determinação da NMS, incluem amostras farmacêuticas e biológicas.

Foi também possível observar a presença de sensores de baixo custo e descartáveis que apresentam características semelhantes a este, porém, necessitam de etapas complexas de modificação na superfície do eletrodo. Deste modo, com o LIGe são obtidas algumas vantagens, como simplicidade na preparação do sensor, resposta rápida, baixo custo, seletividade, reprodutibilidade, sensibilidade, portabilidade.

5.10. Estudo dos interferentes

A seletividade do método proposto foi avaliada, investigando-se possíveis interferentes presentes nas amostras de NMS. Foram consideradas como interferentes em potencial os seguintes compostos: ureia, glicose, ácido oxálico e ácido cítrico, baseados em estudos prévios realizados por (PRABHU *et al.*, 2021; SHETTI *et al.*, 2019b; WONG; SANTOS; FATIBELLO-FILHO, 2017). Para avaliar o efeito destes compostos sobre a resposta voltamétrica, medidas foram realizadas para uma solução de NMS 1 mmol L^{-1} na ausência e na presença dos possíveis interferentes. As razões entre as concentrações de analito/interferente estudadas foram de 1:10.

A partir dos voltamogramas da Figura 23, é possível verificar que não houve diferença significativa na corrente entre os sinais da NMS com os interferentes analisados. Em contrapartida, na Figura 23D, referente a análise do ácido oxálico, foi possível observar a presença de um pico de oxidação com uma intensidade de $25 \mu\text{A}$, em um potencial de $1,2 \text{ V vs Ag|AgCl|KCl (3 mol L}^{-1}\text{)}$, ou seja, maior que o potencial de oxidação da NMS, que pode sugerir o motivo pelo qual não influenciou na resposta voltamétrica da NMS.

Na Tabela 5, são apresentados os valores de RSD obtidos pela comparação das correntes de pico anódica obtidas na ausência e na presença de cada interferente estudado.

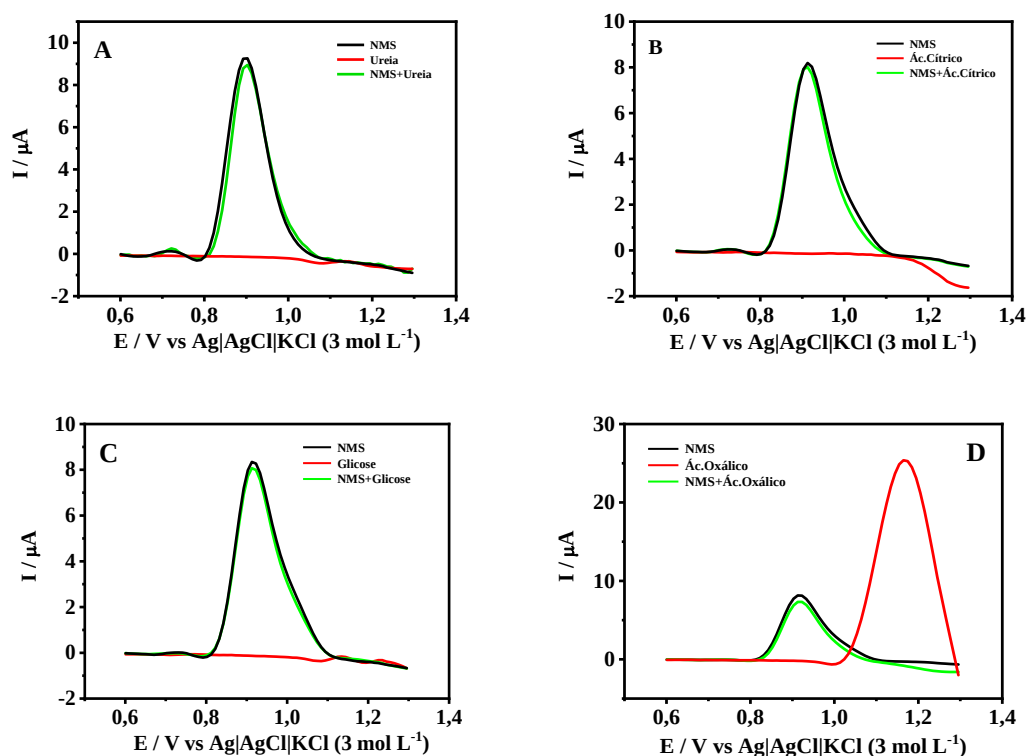


Figura 23. VOQ obtidos usando o LIGe para determinação de interferentes na resposta voltamétrica da NMS em tampão fosfato $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0). (A) Ureia (10 mmol L^{-1}); (B) Ácido Cítrico (10 mmol L^{-1}); (C) Glicose (10 mmol L^{-1}); (D) Ácido Oxálico (10 mmol L^{-1}). Parâmetros da VOQ: $f = 15 \text{ Hz}$, $a = 60 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$.

Como pode ser observado na Tabela 5, não há interferência significativa sobre a determinação voltamétrica de NMS, uma vez que os valores de RSD obtidos ficaram abaixo de $+3,0\%$. Dessa forma, a metodologia pode ser utilizada para a detecção da NMS mesmo com a presença destas espécies.

Tabela 5. Efeito de possíveis interferentes sobre a determinação voltamétrica de NMS a um nível de concentração de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

Possível interferente	Razão analito: interferente	Variação da I_p (%)
Ureia	1:10	2,24
Glicose	1:10	0,37
Ácido oxálico	1:10	2,66
Ácido cítrico	1:10	2,27

5.11. Determinação de nimesulida em amostras farmacêutica e urina sintética

O LIGe foi aplicado em amostras de formulação farmacêutica e amostra de urina sintética para monitorar a concentração de NMS.

Para análise da amostra farmacêutica realizou-se a determinação de NMS por meio da curva de calibração externa utilizando a equação $I_p (\mu A) = 4,999 + 0,181 C_{NMS} (\mu mol L^{-1})$, obtendo-se o resultado de 101 mg/comprimido de NMS. Com base nas informações cedidas pelo fabricante a massa de NMS presente em um comprimido é de 100 mg. Este resultado corrobora com o valor apresentado na (PHARMACOPOEIA, 2010), que estabelece um valor mínimo de 95%, e no máximo de 105% da quantidade declarada de NMS em comprimidos. Dessa forma, estes resultados indicaram boa exatidão do método otimizado ao ser aplicado no monitoramento da NMS, utilizando apenas uma etapa de preparação rápida e simples que consiste na diluição da amostra no eletrólito suporte.

Foi realizada a determinação de NMS em amostras de urina sintética preparadas em três concentrações diferentes de 44,43; 58,38 e 85,09 $\mu mol L^{-1}$ e estas foram analisadas em termos da porcentagem de recuperação. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6 - Determinação de NMS em amostra de urina sintética.

AMOSTRA	Adicionado ($\mu mol L^{-1}$)	Encontrado ($\mu mol L^{-1}$)	Recuperação (%)
Urina	44,43	42,91 ($\pm 1,52$)	97
	58,38	63,76 ($\pm 5,38$)	109
	85,09	94,84 ($\pm 9,75$)	111

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi possível demonstrar que a poliimida comercial pode ser convertida em filmes porosos de grafeno, em um processo único, escalável usando um laser de CO₂ com emissão na região do infravermelho (IV), resultando na formação de um material com alta condutividade elétrica.

Além disso, através das medições voltamétricas, observou-se um processo irreversível e controlado por difusão, assim como um mecanismo de reação envolvendo dois prótons e dois elétrons envolvidos na reação de oxidação da NMS.

Ademais, por meio das otimizações dos parâmetros das técnicas estudadas, foi possível garantir melhor desempenho para o método, o qual se obteve baixos limites de detecção e quantificação e uma ampla faixa de trabalho.

Contudo, foi possível concluir que um método eletroanalítico simples, rápido, preciso, sensível e de baixo custo para determinação de nimesulida empregando um eletrodo de grafeno induzido por laser pode ser utilizado em um sensor eletroquímico para determinação de fármacos e amostras biológicas sintéticas como uma ferramenta promissora nas aplicações eletroquímicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDUL-AZIZ, Mohamed R.R. *et al.* High Performance Supercapacitor Based on Laser Induced Graphene for Wearable Devices. *IEEE Access*, v. 8, p. 200573–200580, 2020.
- ALHAJJI, Eman; ZHANG, Fan; ALSHAREEF, Husam N. Status and Prospects of Laser-Induced Graphene for Battery Applications. *Energy Technology*. John Wiley and Sons Inc., 1 out. 2021
- BERNAREGGI, Alberto. The Pharmacokinetic Profile of Nimesulide in Healthy Volunteers. *Drugs*, v. 46, n. 1, p. 64–72, 1993.
- BRASIL. Resolução RDC no 166, de 24 de julho de 2017. *Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências*, v. 2017, p. 87, 2017.
- BUKKITGAR, Shikandar D. *et al.* Electrochemical oxidation of nimesulide in aqueous acid solutions based on TiO₂ nanostructure modified electrode as a sensor. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 778, p. 103–109, 1 out. 2016.
- CHANDRAN, Sajeev *et al.* New ultraviolet spectrophotometric method for the estimation of nimesulide. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 26, n. 2, p. 229–234, 2000.
- CHENG, Le *et al.* Laser-induced graphene for environmental applications: Progress and opportunities. *Materials Chemistry Frontiers*. Royal Society of Chemistry., 7 jul. 2021
- COELHO, Malena Karla L.; GIAROLA, Juliana F.; PEREIRA, Arnaldo César. Electrochemical sensors based on polymers printed molecularly and the determination of drugs in pharmaceutical and biological samples. *Revista Virtual de Química*, v. 10, n. 5, p. 1180–1206, 2018.
- COSTA, Waleska R.P. *et al.* Affordable equipment to fabricate laser-induced graphene electrodes for portable electrochemical sensing. *Microchimica Acta*, v. 189, n. 5, 1 maio 2022.
- DAVIS, Rick; BROGDEN, Rex N. Nimesulide: An Update of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Efficacy. *Drugs*, v. 48, n. 3, p. 431–454, 1994.
- DE OLIVEIRA, Wallace Burger Veríssimo *et al.* Composite material immobilized in 3D-printed support, an economical approach for electrochemical sensing of nimesulide. *Microchemical Journal*, v. 188, p. 108463, 1 maio 2023.
- DE SOUZA, Djenaine *et al.* Utilização da múltipla voltametria de onda quadrada na determinação eletroanalítica de compostos orgânicos e inorgânicos. *Quim. Nova*. 2007.
- DE SOUZA, Djenaine *et al.* Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações. *Quim. Nova*, 2004.
- DE SOUZA, Djenaine; MACHADO, Sergio A S; AVACA, Luis A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. *Quim. Nova*, 2003.
- DEROCO, Patrícia B.; ROCHA-FILHO, Romeu C.; FATIBELLO-FILHO, Orlando. A new and simple method for the simultaneous determination of amoxicillin and nimesulide using carbon black within a dihexadecylphosphate film as electrochemical sensor. *Talanta*, v. 179, p. 115–123, 1 mar. 2018.
- DEVARUSHI, Umesh S *et al.* Electro oxidation and analytical applications of nimesulide

at graphene oxide and reduced graphene oxide modified carbon paste electrode. *Science Direct*, 2019.

ELGRISHI, Noémie *et al.* A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *Journal of Chemical Education*, v. 95, n. 2, p. 197–206, 13 fev. 2018.

YAKABE, Clarice. Universidade De São Paulo Determinação Espectrofotométrica Da Nimesulida Em Formulações Farmacêuticas. 1998.

FERREIRA, Dianderson C.M. *et al.* Lab-made CO₂ laser-engraved electrochemical sensors for ivermectin determination. *Analytical Methods*, v. 16, n. 25, p. 4136–4142, 2024.

FILHO, ORLANDO FATIBELLO *et al.* *Eletroanálises- aspectos teóricos e práticos*. EDUFSCAR, 2022.

GARCIA RAFAEL, Guilherme; DE TARSO FERNANDES RAMOS REGO, Paulo. Análise de perda do princípio ativo no processo de manipulação de cápsulas de nimesulida. *Revista Sociedade Científica*, v. 7, n. 1, p. 631–650, 5 fev. 2024.

GOULARTE, Rayane Bueno *et al.* Novel analytical sensing strategy using a palladium nanomaterial-based electrode for nimesulide electrochemical reduction. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 920, n. March, p. 116622, 2022a.

GOULARTE, Rayane Bueno *et al.* Novel analytical sensing strategy using a palladium nanomaterial-based electrode for nimesulide electrochemical reduction. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 920, 1 set. 2022b.

GOVINDASAMY, Mani *et al.* Highly sensitive determination of non-steroidal anti-inflammatory drug nimesulide using electrochemically reduced graphene oxide nanoribbons. *RSC Advances*, v. 7, n. 52, p. 33043–33051, 2017.

GRAZIELI, Carla; DA SILVA, Azevedo; COLLINS, Carol H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. *Quim. Nova*, 2011.

HENRIQUE DA SILVA JUNIOR, Cleber; FEDOSI FURST, Cassio. *O uso da nimesulida e seus possíveis efeitos colaterais*.

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, nov. 2001.

LAVIRON, E. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 101, n. 1, p. 19–28, 1979.

LIMA, Amanda Barbosa *et al.* Determinação de nimesulida por análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos. *Química Nova*, v. 36, n. 9, p. 1296–1302, 2013.

LIN, Jian *et al.* Laser-induced porous graphene films from commercial polymers. *Nature Communications*, v. 5, 2014.

LOWINSOHN, Denise; BERTOTTI, Mauro. *Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos*. *Quim. Nova*, 1318.

MALTESE, Adriana; MAUGERI, Francesco; BUCOLO, Claudio. Rapid determination

of nimesulide in rabbit aqueous humor by liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, v. 804, n. 2, p. 441–443, 25 maio 2004.

MATIAS, Tiago A.; ROCHA, Raquel G.; *et al.* Infrared Laser-Induced Graphene Sensor for Tyrosine Detection. *ChemElectroChem*, v. 9, n. 14, 27 jul. 2022.

MATIAS, Tiago A.; DE FARIA, Lucas V.; *et al.* Prussian blue-modified laser-induced graphene platforms for detection of hydrogen peroxide. *Microchimica Acta*, v. 189, n. 5, 1 maio 2022.

MIRANDA, Luciane *et al.* Direct Determination of Nimesulide in Natural Waters and Wastewater by Cathodic Stripping Voltammetry. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 73, n. 4, p. 631–640, 2017.

MIRANDA, Luciane *et al.* Estudo de Degradação do Anti-Inflamatório Nimesulida Empregando Sistema Modelo. *Revista Virtual de Química*, v. 15, n. 1, p. 35–42, 2023.

MOSCOSO, R.; ÁLVAREZ-LUEJE, A.; SQUELLA, J. A. Nanostructured interfaces containing MWCNT and nitro aromatics: A new tool to determine Nimesulide. *Microchemical Journal*, v. 159, 1 dez. 2020.

NIKOLAYCHUK, Pavel Anatolyevich. UV-Spectrophotometric Determination of the Active Pharmaceutical Ingredients Meloxicam and Nimesulide in Cleaning Validation Samples with Sodium Carbonate. *J*, v. 6, n. 2, p. 248–266, 22 abr. 2023.

ÖZKAN, Sibel A.; USLU, Bengi; ABOUL-ENEIN, Hassan Y. Analysis of Pharmaceuticals and Biological Fluids Using Modern Electroanalytical Techniques. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, v. 33, n. 3, p. 155–181, 1 jul. 2003.

PACHECO, W F; *et al.* Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos Voltammetry: A Brief Review About Concepts. *Rev. Virtual Quim*, 2013.

PATIL, Vinoda B. *et al.* Glucose-based carbon electrode for trace-level detection of acetaminophen. *Electrochemical Science Advances*, v. 2, n. 5, p. 1–9, 2022.

PATRAVALE, V B; D’SOUZA, S; NARKAR, Y. HPTLC determination of nimesulide from pharmaceutical dosage forms. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 25, n. 3–4, p. 685–688, jun. 2001.

PHARMACOPOEIA, Brazilian. Farmacopeia Brasileira. *Farmacopeia Brasileira*, 5^a edição, v. 1, p. 1–523, 2010.

PINO, K. F.D. *et al.* Spectrophotometric Determination of Nimesulide, Tribulus terrestris, and Amoxicillin in an Alkaline Medium, in Clinical and Commercial Samples. *Journal of Applied Spectroscopy*, v. 85, n. 6, p. 1151–1157, 15 jan. 2019.

PORTO, Laís Sales; PEREIRA, Arnaldo César. Synthesis, Structural and Electrochemical Characterization of Nanomaterials Aiming Its Application in Electrochemical Sensor Development. *Revista Virtual de Química*, v. 14, n. 2, p. 247–257, 2022.

PRABHU, Keerthi *et al.* Clay-based carbon sensor for electro-oxidation of nimesulide. *Materials Chemistry and Physics*, v. 272, 1 nov. 2021.

RIBEIRO, Francisco W.P. *et al.* Analytical determination of nimesulide and ofloxacin in pharmaceutical preparations using square-wave voltammetry. *Journal of Analytical Chemistry*, v. 69, n. 1, p. 62–71, jan. 2014.

- ROCHA, Fábio R P; TEIXEIRA, Leonardo S G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria uv-vis. *Quim. Nova*, 2004.
- RUELA, André Luís Morais; ARAÚJO, Magali Benjamim; PEREIRA, Gislaine Ribeiro. Desenvolvimento e validação de um método analítico rápido por cromatografia líquida de alta eficiência para determinação de nimesulida em estudos de liberação in vitro. *Química Nova*, 2009.
- SANTOS, Anderson M. *et al.* Using Carbon Paste Electrode Modified with Graphene and Nanodiamond for the Determination of Nimesulide in Biologic and Environmental Samples. *Electroanalysis*, v. 34, n. 9, p. 1441–1449, 2022.
- SANTOS DA SILVA, Iranaldo *et al.* Strategies to avoid electrode fouling for nimesulide detection using unmodified electrodes. *Analytical Methods*, v. 5, n. 14, p. 3546–3551, 21 jul. 2013.
- SANTOS, Nuno F. *et al.* IR and UV Laser-Induced Graphene: Application as Dopamine Electrochemical Sensors. *Advanced Materials Technologies*, v. 6, n. 6, 1 jun. 2021.
- SHETTI, Nagaraj P.; SHANBHAG, Mahesh M.; *et al.* Amberlite XAD-4 modified electrodes for highly sensitive electrochemical determination of nimesulide in human urine. *Microchemical Journal*, v. 153, n. November 2019, p. 104389, 2020.
- SHETTI, Nagaraj P. *et al.* Electro-oxidation and determination of nimesulide at nanosilica modified sensor. *Materials Science for Energy Technologies*, v. 2, n. 3, p. 396–400, dez. 2019a.
- SHETTI, Nagaraj P.; MALODE, Shweta J.; *et al.* Novel nanoclay-based electrochemical sensor for highly efficient electrochemical sensing nimesulide. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, v. 137, 1 fev. 2020.
- SILVEIRA, Cristine Durante de Souza. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação de sulfonamidas empregando eletrodo de diamante dopado com boro. p. 1–86, 2008.
- SUN, Yiqing; WU, Qiong; SHI, Gaoquan. *Graphene based new energy materials. Energy and Environmental Science*, abr. 2011.
- URADE, Akanksha R.; LAHIRI, Indranil; SURESH, K. S. *Graphene Properties, Synthesis and Applications: A Review. JOM*. Springer., 1 mar. 2023
- VALENGA, Marcia Gabriela Pianaro *et al.* Development and validation of voltammetric method for determination of amoxicillin in river water. *Analytica Chimica Acta*, v. 1138, p. 79–88, 2020.
- VELOSO, William Barros *et al.* Rapid and sensitivity determination of macrolides antibiotics using disposable electrochemical sensor based on Super P carbon black and chitosan composite. *Microchemical Journal*, v. 172, p. 106939, 1 jan. 2022.
- VIEIRA SEGUNDO, J E D; VILAR, E O. Grafeno: Uma revisão sobre propriedades, mecanismos de produção e potenciais aplicações em sistemas energéticos. n. 11, p. 54–57, 2016.
- VIVALDI, Federico Maria *et al.* Three-Dimensional (3D) Laser-Induced Graphene: Structure, Properties, and Application to Chemical Sensing. *ACS Applied Materials and Interfaces*. American Chemical Society., 7 jul. 2021
- WANG, Fangcheng *et al.* Laser-induced graphene: preparation, functionalization and

applications. *Materials Technology*, v. 33, n. 5, p. 340–356, 16 abr. 2018.

WANG, Hsiang Wei *et al.* Cyclic Voltammetry in Biological Samples: A Systematic Review of Methods and Techniques Applicable to Clinical Settings. *Signals*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)., 1 mar. 2021

WONG, Ademar; SANTOS, Anderson Martin; FATIBELLO-FILHO, Orlando. Determination of piroxicam and nimesulide using an electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and PEDOT:PSS. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 799, p. 547–555, 15 ago. 2017.

YE, Ruquan; JAMES, Dustin K.; TOUR, James M. Laser-Induced Graphene: From Discovery to Translation. *Advanced Materials*. Wiley-VCH Verlag., jan. 2019

YUE, Xizhuang *et al.* Simultaneous determination of cefotaxime and nimesulide using poly(L-cysteine) and graphene composite modified glassy carbon electrode. *Microchemical Journal*, v. 174, 1 mar. 2022.

ZANONI, Maria Valnice Boldrin *et al.* Overview of the Electrochemistry and Electroanalytical chemistry in Brazil. *Quimica Nova*, v. 40, n. 6, p. 663–669, 1 jul. 2017.

ZHANG, Jibo *et al.* Efficient Water-Splitting Electrodes Based on Laser-Induced Graphene. *ACS Applied Materials and Interfaces*, v. 9, n. 32, p. 26840–26847, 16 ago. 2017.