



FLAUDINER GOMES DE MOURA JUNIOR

**DETERMINAÇÃO ELETROQUÍMICA DE SULFANILAMIDA
UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO
MODIFICADO COM QUITOSANA E FTALOCIANINA DE
COBALTO**

FLAUDINER GOMES DE MOURA JUNIOR

**DETERMINAÇÃO ELETROQUÍMICA DE SULFANILAMIDA
UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO
MODIFICADO COM QUITOSANA E FTALOCIANINA DE
COBALTO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado de Curso da Engenharia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção do diploma de Graduação em Engenharia Química.

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

São Luís - MA
2019

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

Gomes de Moura Junior, Flaudiner.

Determinação eletroquímica de sulfanilamida utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com quitosana e ftalocianina de cobalto / Flaudiner Gomes de Moura Junior. - 2019.
68 f.

Orientador(a): Luiza Maria Ferreira Dantas.
Monografia (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

1. Eletrodo de carbono vítreo. 2. Ftalocianina de cobalto. 3. Quitosana. 4. Sulfanilamida. I. Maria Ferreira Dantas, Luiza. II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
Coordenação de Engenharia Química/CCET



**DETERMINAÇÃO ELETROQUÍMICA DE SULFANILAMIDA
UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO
COM QUITOSANA E FTALOCIANINA DE COBALTO**

FLAUDINER GOMES DE MOURA JUNIOR

ESTE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO FOI JULGADO ADEQUADO COMO
PARTE DOS REQUISITOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE BACHAREL EM
ENGENHARIA QUÍMICA

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr.^a LUIZA MARIA FERREIRA DANTAS
Orientadora – DETEQ/CCET/UFMA

Prof. Dr.^a AUDIRENE AMORIM SANTANA
DEEQ/CCET/UFMA

Dr.^a GEYSE ADRIANA CORRÊA RIBEIRO
PPGQuim/CCET/UFMA

São Luís, 06 de dezembro de 2019

À Deus, autor do meu destino, por ter me concedido graça e sabedoria nas horas difíceis. À minha mãe, Cleide Melo, por todo amor, carinho, paciência e apoio ao longo dessa árdua caminhada.

AGRADECIMENTOS

À Deus, autor da minha história, por ter me dado força e graça para enfrentar os obstáculos diários; sabedoria e ânimo, para lutar pelos meus sonhos; tranquilidade, para lidar com as mais diversas situações que surgiram ao longo dessa caminhada e por ter sido providência em todos os momentos da minha vida.

À minha mãe, Cleide Melo, por ter sido a calma diante das tempestades, pelas orações nos momentos de desesperos, pelo amor incondicional, carinho, compreensão, suporte emocional e financeiro, e por ser a minha maior fonte de inspiração e exemplo de vida.

Ao meu pai Flaudiner, irmão Deymon, cunhada Raiane e sobrinho Samuel, pelo carinho, amor, abdições e torcidas a cada vitória alcançada.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Luiza Dantas, pela oportunidade concedida, por todo conhecimento transmitido, pela amizade, incentivo e confiança ao longo desses quatro anos em que trabalhamos juntos.

Ao Prof. Dr. Iranaldo Silva, pela amizade e ajuda no desenvolvimento deste trabalho. Ao Prof. Dr. Auro Tanaka pelo suporte e apoio no laboratório de eletroquímica.

Aos meus tios, Jeane e Francisco, pela oportunidade de morar nessa cidade, pela confiança depositada e por todo suporte ao longo dessa jornada.

Aos meus primos, Eliuker, Jéssica e Alanna, pelo companheirismo, conversas, momentos de distrações e suporte em tudo que estava ao alcance.

À minha família, materna e paterna, por toda ajuda, orações, suporte emocional e financeiro e por sempre me incentivarem a não desistir dos meus sonhos.

À minha avó Maria Violeta (*in memoriam*), que não teve a oportunidade de me ver formando, mas que permanece viva em minhas memórias.

Aos amigos, Nara, Paulina, Geysel, William e Anny, pela amizade e auxílios nos momentos de dúvidas.

Aos colegas do Laboratório de Eletroquímica, os que permanecem e os que já saíram, pelo acolhimento, compartilhamento de informações e momentos de distrações ao longo desses anos.

As minhas amigas, Meyrelle, Máira, Emily, Ana Letícia e Anne, companheiras de trabalhos e irmãs na amizade que fizeram parte da minha formação e que vão continuar sempre presentes em minha vida.

Aos demais colegas do curso de Engenharia Química, pela amizade e momentos inesquecíveis.

Ao Luan Siqueira, pelo carinho, apoio e incentivo nessa reta final.

À Pastora Sandra, por todo incentivo e momentos de oração.

À Central Analítica de Química - UFMA, pelo apoio acadêmico e pelas análises realizadas no UV-Vis.

À Universidade Federal do Maranhão, corpo docente, direção e administração, pela oportunidade e conhecimento proporcionado.

À FAPEMA, pelo suporte financeiro ao projeto vinculado a este trabalho.

Muito Obrigado!

“Não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque eu sou teu Deus; eu te fortaleço, e te ajudo, e te sustento com a destra da minha justiça.”

Isaías 41:10

JUNIOR, F. G. M. **Determinação eletroquímica de sulfanilamida utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com quitosana e ftalocianina de cobalto**. 2019. 68 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

RESUMO

A sulfanilamida (SFD) é uma substância pertencente ao grupo das sulfonamidas que atua no combate de processos infecciosos causados por bactérias gram-positivas e gram-negativas, além de protozoários. Por ser amplamente utilizada, a SFD é classificada como um poluente orgânico emergente, devido às complicações biológicas e danos ambientais que podem causar. Assim, o controle da biodisponibilidade desses medicamentos em alimentos, formulações farmacêuticas e fluidos biológicos, torna-se indispensável. Diante disso, este trabalho tem como objetivo desenvolver uma metodologia analítica para quantificação de SFD em compostos farmacêuticos utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com quitosana e ftalocianina de cobalto (ECV/QT/CoPc). Uma análise comparativa dos eletrodos mostrou que o ECV/QT/CoPc apresentou melhor resposta analítica frente àquele obtido com o eletrodo base (ECV) e modificado com quitosana (ECV/QT). A oxidação irreversível da SFD, quando modificado com QT/CoPc, ocorre em 0,97 V e apresenta um pico de redução em 0,14 V vs Ag/AgCl/KCl_{sat}, com potencial de pico fortemente influenciado pelo pH do meio. Na otimização dos parâmetros experimentais, verificou-se que o melhor eletrólito de suporte, nas condições analisadas, é o tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0); concentração, tanto de QT quanto CoPc, iguais a 5 mg mL⁻¹ e volume de QT/CoPc depositado sobre a superfície do ECV de 10 µL. O método desenvolvido em voltametria de pulso diferencial (VPD), nas condições otimizadas (a= 90 mV, t= 10 ms e ΔE_s= 5 mV), apresentou faixa linear de trabalho de 1,00 a 43,90 µmol L⁻¹ com limite de detecção e limite de quantificação iguais a 0,27 µmol L⁻¹ e 0,91 µmol L⁻¹, respectivamente. A metodologia proposta mostrou-se exata quando aplicada em amostra farmacológica e estatisticamente igual quando validada por espectrofotometria UV-Vis. Com isso, nota-se que o ECV/QT/CoPc é viável para a determinação de SFD em amostras farmacêuticas e outras matrizes, uma vez que as respostas foram estáveis e reprodutíveis.

Palavras-chave: Sulfanilamida. Eletrodo de carbono vítreo. Quitosana. Ftalocianina de cobalto.

JUNIOR, F. G. M. **Electrochemical determination of sulfanilamide using chitosan and cobalt phthalocyanine modified glassy carbon electrode**. 2019. 68 f. Graduate Work (Graduate in Chemical Engineering) – Curso de Engenharia do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

ABSTRACT

Sulphanilamide (SFD) is a substance that belongs to the group of sulfonamides and acts to combat infectious processes caused by gram-positive and gram-negative bacteria, as well as protozoa. Because it is widely used, SFD is classified as an emerging organic pollutant due to the biological complications and environmental damage it may cause. Thus, the control of the bioavailability of these drugs in food, pharmaceutical formulations and biological fluids becomes indispensable. Therefore, this work aims to develop an analytical methodology for quantifying SFD in pharmaceutical compounds using chitosan and cobalt phthalocyanine modified glassy carbon electrode (ECV/QT/CoPc). A comparative analysis of the electrodes showed that the ECV/QT/CoPc has better analytical response compared to that obtained with the base (ECV) and chitosan modified (ECV/QT) electrode. Irreversible oxidation of SFD, when modified with QT/CoPc, occurs at 0.97 V and has a reduction peak of 0.14 V vs Ag/AgCl/KCl_{sat}, with peak potential strongly influenced by the pH of the medium. In the optimization of the experimental parameters, it was verified that the best support electrolyte, under the analyzed conditions, is the 0.1 mol L⁻¹ phosphate buffer (pH 7.0); concentration of both QT and CoPc are equal to 5 mg mL⁻¹ and volume of QT/CoPc deposited on the ECV surface is about 10 µL. The method developed in differential pulse voltammetry (DPV) under the optimized conditions (a = 90 mV, t = 10 ms and ΔEs = 5 mV) presented a linear working range from 1.00 to 43.90 µmol L⁻¹ with detection limit and quantitation limit equal to 0.27 µmol L⁻¹ and 0.91 µmol L⁻¹, respectively. The proposed methodology was accurate when applied to a pharmacological sample and statistically the same when validated by UV-Vis spectrophotometry. Thus, it is noted that the ECV/QT/CoPc is viable for the determination of SFD in pharmaceutical samples and other matrices, since the responses were stable and reproducible.

Keywords: Sulfanilamide. Glassy carbon electrode. Chitosan. Cobalt Phthalocyanine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química das sulfonamidas.	5
Figura 2: Estrutura química da molécula de sulfanilamida.	7
Figura 3: (A) Estrutura da ftalocianina na forma ácida (H ₂ Pc) e de uma (B) metaloftalocianina (MPc).	12
Figura 4: Estrutura Química da Ftalocianina de Cobalto.	13
Figura 5: Estrutura química da Quitosana.	14
Figura 6: Sistema eletroquímico para estudo da sulfanilamida.	18
Figura 7: Metodologia para a modificação do eletrodo de carbono vítreo com ftalocianina de cobalto e quitosana.	20
Figura 8: Voltamogramas cíclicos obtido com ECV em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,0) na ausência (—) e presença de 25 μmol L ⁻¹ de SFD (—), 0,05 Vs ⁻¹	22
Figura 9: Voltamogramas cíclicos obtido com ECV na ausência e presença de modificantes sobre a superfície do eletrodo, em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,0) contendo 25 μmol L ⁻¹ de SFD, 0,05 Vs ⁻¹	24
Figura 10: Voltamogramas cíclicos obtido com ECV (A) e ECV/QT/CoPc (B) em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,0) contendo 25 μmol L ⁻¹ de SFD, 0,05 Vs ⁻¹	25
Figura 11: (A) Voltamogramas cíclicos obtidos sobre ECV/QT/CoPc a partir de uma solução 25 μmol L ⁻¹ de SFD em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,0), registrados em diferentes valores de velocidade de varredura. (B) Dependência linear de I_{pa} vs. $v^{1/2}$	26
Figura 12: Voltamogramas obtidos com ECV/QT/CoPc contendo 300 μmol L ⁻¹ de SFD em solução. (—) VC com $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$; (—) VOQ com $a = 50\text{mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s = 5\text{mV}$; (—) VPD com $a = 50\text{mV}$; $t = 5 \text{ ms}$, $\Delta E_s = 5\text{mV}$ e $v = 50\text{mVs}^{-1}$	27
Figura 13: (A) VPD obtidos com ECV/QT/CoPc em Tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ contendo 20 μmol L ⁻¹ de SFD, registrados em diferentes valores de pH. (B) Dependência de I_p e E_p em função do pH. Parâmetros: $t = 5\text{ms}$; $a = 50\text{mV}$; $\Delta E_s = 5\text{mV}$, $v = 0,05 \text{ Vs}^{-1}$	28
Figura 14: Mecanismo de oxidação da sulfanilamida.	29
Figura 15: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com ECV/QT/CoPc em diferentes tipos de eletrólito de suporte: (—) tampão Britton-Robinson, (—) tampão fosfato, (—) tampão Mcvainne e (—) tampão Sorensen, todos em 0,1 mol L ⁻¹ e com 20 μmol L ⁻¹ de SFD. Parâmetros: $t = 5\text{ms}$; $a = 50\text{mV}$; $\Delta E_s = 5\text{mV}$, $v = 0,05 \text{ Vs}^{-1}$	30
Figura 16: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos sobre ECV/QT/CoPc em tampão fosfato contendo 20 μmol L ⁻¹ de SFD, em diferentes valores de concentração de eletrólito. Parâmetros: $t = 5\text{ms}$; $a = 50\text{mV}$; $\Delta E_s = 5\text{mV}$, $v = 0,05 \text{ Vs}^{-1}$	31

- Figura 17: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo $20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD, variando-se a (A) concentração de QT, (B) concentração de CoPc e (C) volume de QT/CoPc sobre a superfície do ECV. Parâmetros: $t = 5 \text{ ms}$; $a = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $v = 0,05 \text{ Vs}^{-1}$32
- Figura 18: VPD obtidos com ECV/QT/CoPc em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo $25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD, em diferentes amplitudes (A). Relação linear da I_{pa} com a variação da amplitude (B). Parâmetros: $t = 10 \text{ ms}$; $a = 5 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $v = 0,05 \text{ Vs}^{-1}$34
- Figura 19: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com ECV/QT/CoPc em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo $25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD, em diferentes tempos de pulso (A). Relação linear da I_{pa} com a variação do tempo de pulso (B). Parâmetros: $a = 90 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$; $v = 0,05 \text{ Vs}^{-1}$35
- Figura 20: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com ECV/QT/CoPc em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo $25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD, em diferentes valores de ΔE_s (A). Relação da I_{pa} com a variação do ΔE_s (B). Parâmetros: $a = 90 \text{ mV}$; $t = 10 \text{ ms}$; $v = 0,05 \text{ Vs}^{-1}$36
- Figura 21: Voltamogramas de pulso diferencial para diferentes concentrações da SFD sobre ECV/QT/CoPc em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0), com $a = 90 \text{ mV}$, $t = 10 \text{ ms}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ e $v = 0,05 \text{ Vs}^{-1}$ (A). Dependência da I_{pa} de oxidação com a concentração de SFD (B).....37
- Figura 22: Curva analítica de adição padrão obtida sobre ECV/QT/CoPc em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo adições sucessivas de SFD (A). Dependência da I_{pa} de oxidação com a concentração de SFD (B).....38
- Figura 23: (A) Espectros de absorção obtidos na (—) ausência de SFD, (—) com solução padrão de SFD $0,07 \text{ mmol L}^{-1}$ e (—) solução otológica de SFD $0,03 \text{ mmol L}^{-1}$, $\lambda = 260 \text{ nm}$. (B) Curva de calibração correspondente a sucessivas adições de solução padrão de SFD ($r = 0,999$).....41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Lista dos reagentes utilizados com suas respectivas procedências.....	17
Tabela 2: Parâmetros da voltametria de pulso diferencial avaliados e os valores escolhidos..	36
Tabela 3: Recuperação de SFD em solução otológica.	39
Tabela 4: Intervalo de recuperação aceitável do analito.....	40
Tabela 5: Quantidades de sulfanilamida obtidas por VPD (proposto) e UV-Vis.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BR	Tampão Britton-Robbinson
CoPc	Ftalocianina de Cobalto
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ECV	Eletrodo de Carbono Vítreo
ECV/QT	Eletrodo de Carbono Vítreo modificado com Quitosana
ECV/QT/CoPc	Eletrodo de Carbono Vítreo modificado com Quitosana e Ftalocianina de Cobalto
EQM	Eletrodo Quimicamente Modificado
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
OMS	Organização Mundial da Saúde
PABA	Ácido para-aminobenzóico
Pc	Ftalocianina
QT	Quitosana
RNA	Ácido Ribonucleico
SFD	Sulfanilamida
UV-Vis	Espectrofotometria de ultravioleta e visível
VC	Voltametria Cíclica
VOQ	Voltametria de Onda Quadrada
VPD	Voltametria de Pulso Diferencial
vs	Versus

LISTA DE SÍMBOLOS

a	Amplitude de pulso de potencial
ΔE_s	Incremento de varredura de potencial
ΔE_p	Diferença de Potencial de Pico
E_i	Potencial de varredura no sentido direto
E_{inv}	Potencial de varredura no sentido inverso
E_p	Potencial de Pico
f	Frequência de pulso
I_{pa}	Corrente de pico anódico
λ	Comprimento de onda
μ	Micro
S_b	Desvio padrão da média de medidas do branco
s	Inclinação da reta obtida na curva analítica
t	Tempo de pulso de potencial
v	Velocidade de varredura

SUMÁRIO

FOLHA DE APROVAÇÃO.....	ii
DEDICATÓRIA.....	iii
AGRADECIMENTOS.....	iv
EPÍGRAFE.....	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xii
LISTA DE SÍMBOLOS.....	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo geral.....	4
2.2 Objetivos específicos.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 Sulfonamidas.....	5
3.1.1 Sulfanilamida.....	7
3.2 Eletrodos quimicamente modificados.....	10
3.2.1 Metaloftalocianinas.....	11
3.2.2 Quitosana.....	13
3.3 Técnicas eletroanalíticas.....	15
3.3.1 Voltametria cíclica.....	15
3.3.2 Voltametria de pulso diferencial.....	16
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
4.1 Reagentes e soluções.....	17
4.2 Instrumentação.....	18
4.3 Eletrodos.....	19
4.3.1 Eletrodo de trabalho.....	19
4.3.2 Eletrodo de referência.....	19
4.3.3 Contra-eletrodo.....	19
4.4 Limpeza do eletrodo.....	19
4.5 Preparo do eletrodo quimicamente modificado.....	20
4.6 Medidas Eletroquímicas.....	20
4.7 Análise comparativa por Espectrofotometria UV-Vis.....	20

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
5.1 Comportamento eletroquímico da Sulfanilamida (SFD) sobre eletrodo de carbono vítreo (ECV).....	22
5.2 Determinação voltamétrica da Sulfanilamida sobre ECV, ECV/QT e ECV/QT/CoPc.....	23
5.2.1 Verificação da estabilidade do ECV e ECV/QT/CoPc.....	25
5.3 Efeito da variação da velocidade de varredura na oxidação da SFD.....	26
5.4 Avaliação dos Parâmetros experimentais.....	27
5.4.1 Escolha da melhor técnica para o desenvolvimento do sensor.....	27
5.4.2 Efeito da concentração hidrogeniônica.....	28
5.4.3 Estudo do eletrólito de suporte.....	29
5.4.4 Efeito das concentrações de quitosana (QT) e ftalocianina (CoPc), e do volume de QT/CoPc depositado sobre a superfície do ECV.....	32
5.5 Desenvolvimento do método analítico para a quantificação da SFD por VPD.....	33
5.5.1 Otimização dos parâmetros da VPD.....	33
5.6 Curva analítica.....	36
5.6.1 Limite de detecção e quantificação.....	37
5.7 Aplicação analítica em amostra de fármaco veterinário.....	38
5.8 Estudo da recuperação da SFD.....	39
5.9 Validação do método.....	40
6. CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS.....	44

1. INTRODUÇÃO

A humanidade vive em uma época em que o seu crescimento populacional vem acompanhado da necessidade de se produzir mais alimentos, remédios e bens de consumo cada vez mais tecnológicos, os quais garantem às pessoas: uma vida saudável e mais longínqua. Dentre os produtos que garantem a sobrevivência e longevidade das pessoas, os alimentos e medicamentos ganham destaque dentro deste espectro de exigências (KALACHE; VERAS; RAMOS, 1987).

Entretanto, muitos alimentos encontram-se contaminados por uma série de produtos químicos usados em animais ou vegetais, para combater enfermidades ou aumentar a sua produção. A ingestão regular de alimentos que contenham certas substâncias químicas, mesmo em concentração residual, pode acarretar ao consumidor, pelo efeito acumulativo, manifestações tóxicas, alérgicas e mutagênicas e desenvolver resistência microbiana aos quimioterápicos, ou alterações genéticas com atividade oncogênica ou teratogênica (FULGÊNCIO, 1993).

Com relação ao uso indiscriminado de antibióticos, por exemplo, uma consequência é o aumento da resistência microbiológica, além da contaminação dos recursos hídricos. Em todo o mundo, substâncias químicas classificadas como antibióticos, antilipêmicos, hormônios, anestésicos, entre outros foram detectados no esgoto doméstico, em águas superficiais e de subsolo (DÓREA *et al.*, 2014).

Um levantamento publicado em 2014 registrou que 30.000 substâncias químicas foram comercializadas em quantidades maiores que uma tonelada, conduzindo um contínuo acréscimo de poluentes orgânicos nos meios aquáticos. Dentre esses poluentes estão os fármacos, que nos últimos anos, foram classificados como contaminantes ambientais emergentes assim considerados devido a estas moléculas serem biologicamente ativas (DÓREA *et al.*, 2014).

A 4-aminobenzenosulfonamida ($C_6H_8N_2O_2S$), denominada de sulfanilamida (SFD), constitui uma classe de antibióticos com propriedades antimicrobianas (SKÖLD, 2000) pertencente ao grupo das sulfonamidas (PETROVIĆ *et al.*, 2017). É também considerada um inibidor competitivo de reações enzimáticas envolvendo o ácido para-aminobenzóico (PABA) (SANTOS *et al.*, 2011).

Esse composto orgânico comprovou ser um fármaco eficaz no tratamento de um amplo espectro de processos infecciosos causados por bactérias gram-positivas e gram-negativas (LIAO *et al.*, 2016), e no combate de processos inflamatórios, urinários, oculares e

auditivos (WANG *et al.*, 2011). Além disso, é muito comum seu uso na medicina veterinária para tratar doenças causadas por bactérias e protozoários em gados (BILA; DEZOTTI, 2003).

Resíduos de SFD têm sido detectados em concentrações significativas em produtos animais e vegetais e também na fauna aquática, visto que apresenta alta persistência em meio aquoso e é de fácil bioacumulação (TADI; MOTGHARE; GANESH, 2014). De acordo com Tambosi (2008), as concentrações de alguns produtos farmacêuticos, em especial da classe dos antibióticos, como por exemplo, a eritromicina, norfloxacin, sulfametoxazol e sulfanilamida, em efluentes da estação de tratamento de esgoto (ETE) são reportadas numa concentração entre 9,0 e 353,0 ng L⁻¹, 85,0 e 320,0 ng L⁻¹, 10,0 a 90,0 ng L⁻¹ e em 207,0 ng L⁻¹, respectivamente. Para águas subterrâneas têm-se mencionado concentrações de 360,0 ng L⁻¹ para o antibiótico sulfametazina.

No Brasil, por exemplo, órgãos regulamentadores como a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) estabelecem, para que não ocorra perigo toxicológico para a saúde humana, quantidade máxima de ingestão diária de até 100 µg kg⁻¹ de sulfonamidas (SANTOS, 2015).

São por esses motivos que os pesquisadores têm-se empenhado na descoberta e aperfeiçoamento de processos físicos e químicos que visem o monitoramento eficiente desses fármacos para uso na medicina e veterinária; e de resíduos que podem causar complicações biológicas e/ou ambientais (BILA; DEZOTTI, 2003).

Estudos relacionados à oxidação eletroquímica da sulfanilamida (FERRAZ *et al.*, 2018), bem como de outras substâncias da mesma classe (CANALES *et al.*, 2019; WON *et al.*, 2013), permitem a determinação desses compostos por meio de técnicas eletroanalíticas, que se apresentam como alternativa aos métodos convencionais (métodos cromatográficos, espectrofotométricos etc.). As técnicas voltamétricas apresentam baixo custo, rapidez nas análises e alta sensibilidade (BABAEI *et al.*, 2011). Além disso, a aplicação de sensores eletroquímicos para a análise de fármacos e contaminantes ambientais tem despertado grande interesse da comunidade acadêmica, nos últimos anos, já que se trata de metodologia simples, precisa e de baixos limites de detecção e quantificação (ENGIN *et al.*, 2015).

O uso de eletrodos quimicamente modificados (EQM) para a determinação da SFD utilizando técnicas eletroquímicas tem sido aplicado, principalmente, por aumentar a sensibilidade e evitar que subprodutos de oxirredução adsorvam na superfície do eletrodo (TADI; MOTGHARE; GANESH, 2014; HE; YAN, 2018; VANONI *et al.*, 2019).

Dessa forma, as técnicas eletroquímicas, com a utilização de EQM, são uma alternativa promissora para a determinação da SFD, visto que possui resposta rápida, altas

velocidades no transporte de massa, elevada sensibilidade, entre outros. No presente trabalho, a SFD será estudada por meio da voltametria cíclica e, logo após, será desenvolvida uma metodologia para quantificá-la de forma mais sensível e seletiva.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver um procedimento analítico para a determinação de sulfanilamida (SFD) utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com quitosana (ECV/QT) e ftalocianina de cobalto (ECV/QT/CoPc).

2.2 Objetivos específicos

- Modificar o eletrodo de carbono vítreo (ECV) com quitosana (QT) e ftalocianina de cobalto (CoPc);
- Verificar as respostas eletroquímicas dos eletrodos modificados com QT e QT/CoPc na presença e ausência da sulfanilamida (SFD);
- Avaliar a eletroatividade da SFD em diferentes meios e concentrações;
- Estudar a influência da concentração de QT e CoPc na sensibilidade do sistema;
- Escolher a melhor técnica voltamétrica para a determinação da SFD;
- Desenvolver um método analítico para a detecção da SFD;
- Aplicar o método desenvolvido na determinação de SFD em amostras comerciais do fármaco;
- Validar o método desenvolvido comparando seus resultados com análises em Espectrofotometria UV-Vis.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Sulfonamidas

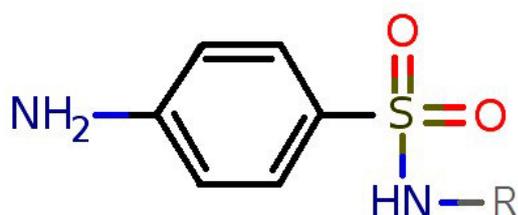
As sulfonamidas constituem uma classe de antibióticos pertencentes a um grupo de antimicrobianos de origem natural e/ou sintética (KIM *et al.*, 2019). A primeira sulfonamida a ser sintetizada foi a sulfanilamida, em 1908, por Paul Gelmo, quando a preparou como parte de um projeto de pesquisa de novos corantes azóicos. Desde então, foi utilizada como produto intermediário nas indústrias de corantes (RANG *et al.*, 2016).

No entanto, os primeiros efeitos desses compostos são datados da década de 30 (STAFFIERI, 2019) quando Klarer e Mietzsch sintetizaram um grupo de azo corantes envolvendo algumas sulfonamidas, incluindo o prontossil, que após testes com métodos clássicos de triagem (*in vitro*), mostrou-se eficaz contra culturas bacterianas. Foi Gerhard Domagk, porém, quem observou a atividade do prontossil em ratos e coelhos infectados com estreptococos e estafilococos (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

As evidências da atividade quimioterápica do prontossil em virtude do metabolito formado estimulou a formação de grupos de pesquisas e conduziu ao desenvolvimento de novas rotas de síntese, com estudos de análogos e derivados da sulfanilamida. Estes, deveriam proporcionar o aumento no seu espectro antibacteriano, melhorar o transporte e distribuição nos tecidos e fluidos corporais, bem como aumentar sua solubilidade na água. Além disso, esse conhecimento propiciou o estabelecimento da moderna quimioterapia antibacteriana com grandes modificações na evolução clínica de diversas enfermidades (MARQUES, 2007).

O grupo das sulfonamidas compreende seis fármacos principais: sulfanilamida, sulfisoxazol, sulfacetamida, ácido para-aminobenzóico, sulfadiazina e sulfametoxazol, sendo as duas últimas de maior importância clínica (ERBETTA, 2017). Estruturalmente, as sulfonamidas consistem de um anel de benzeno com grupo amina (NH_2) na posição C_4 e ácido sulfônico com diferentes grupos alquila (Figura 1).

Figura 1: Estrutura química das sulfonamidas.



Fonte: Próprio autor (2019).

As sulfonamidas são muito utilizadas, atualmente, na medicina humana e veterinária no tratamento de doenças infecciosas (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). Na pecuária, por exemplo, utiliza-se com o objetivo de prevenir o crescimento de bactérias, tratar as infecções de certos protozoários e microrganismos e aumentar a sua produção (RAHMAN *et al.*, 2009); já na medicina humana é aplicada no tratamento de diversos tipos de infecções, tais como urinárias, vaginais e de garganta (FERRAZ *et al.*, 2018).

As sulfonamidas são capazes de inibir uma variedade de bactérias interferindo em uma reação bioquímica particular (síntese do ácido fólico) que é essencial para sobrevivência das mesmas. Sua atividade quimioterápica deve-se à competição com o ácido p-aminobenzóico (PABA), um importante precursor da síntese de ácidos nucleicos, no ciclo de metabolismo do ácido fólico. Estruturalmente, o PABA e as sulfonamidas são análogos, tendo como diferença principal a presença de um grupo ácido carboxílico no PABA e um grupo sulfona na sulfonamida (BRAGA, 2009).

A ação bacteriostática da sulfonamida é interrompida quando há excesso de PABA, diminuição da afinidade entre a enzima e a sulfonamida e presença de pus ou produtos de degradação tecidual, já que estes apresentam timidina e purinas, possibilitando às bactérias a síntese dos ácidos nucleicos (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014; RANG *et al.*, 2016).

Um levantamento bibliográfico realizado por Fernandes (2011), no período de 1937 a 2011, mostrou que existem, aproximadamente, 4.620 métodos analíticos propostos para a determinação de sulfonamidas. Em maior número de publicação encontram-se os métodos analíticos baseados em técnicas espectrofotométricas ou eletroquímicas. Os métodos desenvolvidos possuem grande aplicação em formulações farmacêuticas para controle de qualidade e em alguns casos aplicados em diversas matrizes, tais como: fluídos biológicos (urina, sangue e plasma), alimentos de origem animal (leite, ovos, carnes e mel) e em amostras de água.

Entretanto, em 2019, uma pesquisa realizada na base de dados do site Web of Science revelou que nos últimos 20 anos cerca de 1.536 trabalhos trataram da determinação de sulfonamidas, e que apenas 66 utilizaram-se de técnicas voltamétricas.

Errayess *et al.* (2017) desenvolveram um método espectrofotométrico sensível para a determinação de derivados de sulfonamida, em água potável, água do mar e formulações farmacêuticas e veterinárias, como sulfanilamida (SFD), sulfadiazina (SDZ), sulfacetamida (SCT), sulfametoxazol (SMX), sulfamerazina (SMR), sulfadimetoxina (SDX), sulfametiazol (SMT) e Sulfatiazol (STZ). A metodologia proposta mostrou-se sensível com limites de detecção e quantificação de $0,019 - 0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,06 - 0,16 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

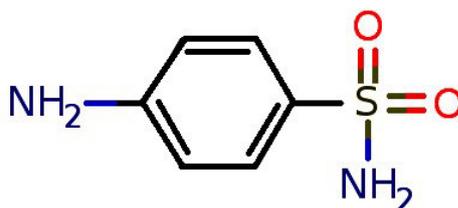
Estudos conduzidos por Santos et al. (2005) mostraram a quantificação de sulfonamidas em amostras de leite pela técnica de eletroforese capilar acoplada à espectrometria de massas. Os resultados obtidos foram na ordem de $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, com adição de metanol e ácido fórmico e parametrização de vazão, pressão e temperatura.

A reação de eletrooxidação de sulfamerazina (SMR) e norfloxacin (NOR) foi investigado por Canales et al. (2019) utilizando-se eletrodo de carbono vítreo e a técnica de voltametria cíclica. O método eletroquímico desenvolvido apresentou uma relação linear para ambos os fármacos com limites de detecção de 38,10 e 29,60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e quantificação de 115,4 e 89,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para NOR e SMR, respectivamente. Para precisão, um erro de 1,96% e 4,55% foi obtido com relação à análise de um padrão de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de SMR e NOR, respectivamente.

3.1.1 SULFANILAMIDA

A 4-aminobenzenosulfonamida ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$), denominada de sulfanilamida (SFD), é um composto pertencente ao grupo dos antibióticos e à classe das sulfonamidas (LIAO *et al.*, 2016). Comumente, é encontrada em medicamentos que agem no combate de doenças bacterianas, uma vez que ela atua como um inibidor competitivo da enzima bacteriana sintetase de dihidroperato que catalisa a síntese de ácido fólico, que por sua vez é essencial para a síntese do DNA e RNA bacteriano (VASCONCELLOS *et al.*, 2017). Estruturalmente, a substância contém o grupo funcional sulfamil ($-\text{SO}_2\text{NHR}-$) ligado a uma anilina ($-\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2-$). A estrutura química da sulfanilamida é mostrada na Figura 2.

Figura 2: Estrutura química da molécula de sulfanilamida.



Fonte: Próprio autor (2019).

Para a substância possuir atividade antibacteriana, os grupos amina e sulfonamida devem estar na posição *para*, um em relação ao outro (SARMAH; MEYER; BOXALL, 2006). Com respeito ao grupo $-\text{SO}_2\text{NH}_2-$ é relevante que o enxofre esteja ligado diretamente ao anel benzênico; e o substituinte $p\text{-NH}_2$, cujo N recebeu a designação de N4, só pode ser trocado por radicais capazes de converter *in vivo* a molécula em grupo amina livre. Vale ressaltar ainda que as permutações feitas no grupo amina, em que o nitrogênio foi nomeado de

N1, influenciam sobre a atividade antibacteriana da substância; e que, a substituição dos núcleos aromáticos heterocíclicos na posição N1 produz compostos ligeiramente eficientes (BRUNTON; HILAL-DANDAN, 2015; OLIVEIRA, 2005).

A sulfanilamida pode ser adotada em diversos processos infecciosos e é considerada como uma opção no tratamento de inflamações do trato respiratório superior e inferior, exacerbações agudas de quadros crônicos de bronquite, bronquiectasia, faringite, sinusite, otite média aguda em crianças, tratamento e profilaxia (primária e secundária) da pneumonia (por *Pneumocystiscarinii*), infecções urinárias e renais, cistites agudas e crônicas, pielonefrites, uretrites, prostatites; infecções genitais, gastrintestinais, febre tifóide e paratifóide, portadores de cólera, diarreia causada pela *Escherichia coli*, shigellose; pele e tecidos moles, pio dermite, furúnculos, abscessos e feridas contaminadas; osteomielite aguda e crônica, brucelose aguda, nocardiose, blastomicose, entre outras infecções bacterianas (FERREIRA, 2009).

Em relação à toxicidade desse medicamento, o mesmo não oferece perigo à saúde humana quando ingerida em baixas concentrações, no entanto, em altas concentrações pode desencadear problemas no sistema digestório, náuseas, alergias cutânea, estomatites, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade. Como medida preventiva, países pertencentes à União Europeia incluíram valores restritos de SFD e derivados de no máximo $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ em alimentos de origem animal. No Brasil, a concentração máxima permitida é também de $100 \mu\text{g kg}^{-1}$; já na Polônia a concentração aumenta para $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ em frutas e vegetais (BARAN *et al.*, 2011).

A SFD é identificada como o principal produto de degradação da droga sulfametoxazol, comercialmente conhecida como Bactrim e Trimetoprim, e ainda é o principal composto do medicamento utilizado para o tratamento de ulcerações e lesões dérmicas, Paraqueimol (YARGEAU *et al.*, 2008). Na veterinária, está presente em formulações usadas no tratamento tópico de otites simples e infecciosas sensíveis (BARBOSA, 2017).

3.1.1.1 Métodos para determinação de sulfanilamida

A análise de fármacos de diferentes classes terapêuticas vem sendo alvo de pesquisadores no que diz respeito ao controle de qualidade na produção, uma vez que, de acordo com a OMS (Organização Mundial da Saúde), é necessário garantir que os medicamentos produzidos atendam às necessidades prioritárias da saúde e aos padrões de

qualidade, eficácia e de segurança, caso contrário, todos os outros serviços de saúde serão certamente comprometidos (ORGANIZATION, 2007).

Além desses, o controle de qualidade de fármacos veterinários é particularmente relevante, uma vez que podem permanecer resíduos desses medicamentos nos animais tratados e destinados ao consumo humano, caso não seja observadas as boas práticas veterinárias, seja em função do uso exagerado e/ou indevido, ou mesmo do não cumprimento das normas que regulamentam tais usos (DORETTO, 2012). Com isso, é imprescindível o desenvolvimento de métodos rápidos, eficazes e de confiança para controle de qualidade de medicamentos; e que possam ser utilizados em análises práticas e de rotina (PARISOTTO *et al.*, 2005).

Embora relevantes, poucos métodos foram desenvolvidos para a quantificação de SFD em produtos farmacêuticos e termoterápicos (FERRAZ *et al.*, 2018). Porém, encontra-se na literatura alguns trabalhos envolvendo a determinação simultânea de SFD e outros medicamentos da mesma classe pelo método de cromatografia (ZHOU *et al.*, 2012; SHAABAN; GÓRECKI, 2011), espectrofotometria (ERRAYESS *et al.*, 2017) e fluorescência (MAUDENS; ZHANG; LAMBERT, 2004; GARCÍA *et al.*, 2005). Para dosagem em amostras farmacêuticas, a farmacopeia brasileira recomenda utilizar o método de Espectrofotometria no infravermelho (ANVISA, 2010).

Sereshti *et al.* (2014) realizaram um estudo utilizando o método de extração líquido-líquido miniaturizado em sistema de seringa (SALLE) acoplada com cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-UV) para a extração de SFD, como produtos farmacêuticos polares a partir de amostras de água complexas. A extração foi realizada por injeção rápida do solvente de extração numa solução de amostra salina. O sistema de extração proposto é muito simples, barato e tem potencialidade para ser automatizado. O método foi validado com uma boa linearidade e uma precisão satisfatória.

Ferraz *et al.* (2018) investigaram a SFD em solução otológica, urina e soro humano por técnicas eletroanalíticas no eletrodo de carbono vítreo. O método desenvolvido utilizando a voltametria de onda quadrada apresentou melhores resultados que a cronoamperometria, visto que, em condições otimizadas, apresentou uma resposta linear de 5,0 a 74,70 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com limites de detecção e quantificação de 0,92 e 3,10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. As taxas de recuperação nas formulações farmacêuticas e amostras de urina e soro humano foram próximas a 100%.

He e Yan (2018) apresentaram um sensor eletroquímico simples e viável baseado no grafeno funcionalizado com nanopartícula de ouro para a determinação da SFD. Os resultados

mostraram uma ampla faixa linear de 0,1 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com limite de detecção 0,011 $\mu\text{mol L}^{-1}$, boa estabilidade e taxa de recuperação aceitável. Com isso, percebeu que o sensor desenvolvido pode ser aplicado com sucesso para a detecção da substância em amostras de carne de animais.

Estudos conduzidos por Tadi e colaboradores (2014) averiguaram a sulfanilamida utilizando eletrodo de pasta de carbono modificado com pirrol. A técnica de voltametria de pulso diferencial proporcionou um valor de limite de detecção igual a 0,02 $\mu\text{mol L}^{-1}$ possuindo duas faixas de linearidade, sendo de 0,05 a 1,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 1,1 a 48,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um valor de sensibilidade de 1,158 e 0,012 $\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Resultados que garantiram a melhor sensibilidade com a modificação de eletrodos foram retratados por Wei et al. (2017), o qual mostrou o desenvolvimento de um sensor eletroquímico à base de eletrodo de carbono vítreo modificado com polímero molecularmente impresso e óxido de grafeno. O material modificante foi preparado por polimerização e precipitação na presença de sulfanilamida como molécula modelo. Os resultados indicaram que o sensor apresentou boa afinidade e excelente resposta eletroquímica para a SFD, uma vez que, sob condições otimizadas na técnica da voltametria de onda quadrada, a intensidade da corrente de pico de oxidação mostrou duas faixas dinâmicas lineares de 10,0 a 1000 ng mL^{-1} e de 200 a 1000 ng mL^{-1} com desvio padrão inferior a 5%.

Vanoni et al. (2019) desenvolveram um método analítico baseado na modificação do eletrodo de pasta de carbono com sal tetrassódico do ácido ftalocianinatetrassulfônico de níquel (II) (NiTsPc) e cloreto de 3-*n*-propil (3 metilpiridínio) silsesquioxano (Si_3PicCl). Em resposta, o eletrodo modificado apresentou maior corrente quando comparado ao eletrodo sem modificação. O pico de oxidação aumentou com a concentração de SFD na faixa de 35 a 301 $\mu\text{mol L}^{-1}$, tendo valores de limite de detecção e quantificação iguais a 12,0 e 35,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

3.2 Eletrodos quimicamente modificados

O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM) foi introduzido no vocabulário eletroquímico, por Murray e colaboradores na década de 70, para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, convenientemente imobilizadas em suas superfícies. O principal objetivo dessa modificação é pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução como uma forma de alterar a reatividade e seletividade do eletrodo base, permitindo assim, o desenvolvimento de sensores com várias finalidades, a qual se pode citar a catálise de reações orgânicas e inorgânicas (PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002).

Existem várias formas de realizar a modificação de um eletrodo. De forma geral, o método mais utilizado para a imobilização de um agente modificador na superfície do eletrodo consiste em adsorção irreversível direta, o qual traz uma incorporação simples e rápida de compostos sobre os eletrodos base. No entanto, para que a modificação seja vantajosa, a sensibilidade da detecção de um analito deve ser aumentada e o substrato empregado deve apresentar características eletroquímicas apropriadas e adequadas ao método selecionado (PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002).

Em processos eletrocatalíticos, como oxidação ou redução, de uma molécula reagente que apresente uma cinética de transferência de elétrons lenta na superfície do eletrodo, a utilização de EQM pode acelerar a troca de elétrons com a espécie envolvida ou, até mesmo, antecipar o início da reação, reduzindo o sobre potencial de ativação. Permitindo, assim, o desenvolvimento de procedimentos e técnicas eletroanalíticas mais eficientes, com maiores sensibilidades e seletividades ao sistema, quando comparado aos eletrodos base (DANTAS, 2007; NAHUZ *et al.*, 2000).

Dentre as espécies químicas mais utilizadas como agentes modificadores de superfícies eletródicas, os macrociclos de metais de transição, especificamente, as metalofalocianinas e metaloporfirinas têm se destacado, devido as suas potencialidades de aplicação em eletroanálise e eletrocatalise. Para tanto, a capacidade de usar a ftalocianina de cobalto (CoPc) e análogos em conjunto com eletrodos de carbono de diversas formas tem possibilitado avanços significativos na quantificação de alguns analitos (KOZUB; COMPTON, 2010; ARAGÃO *et al.*, 2017).

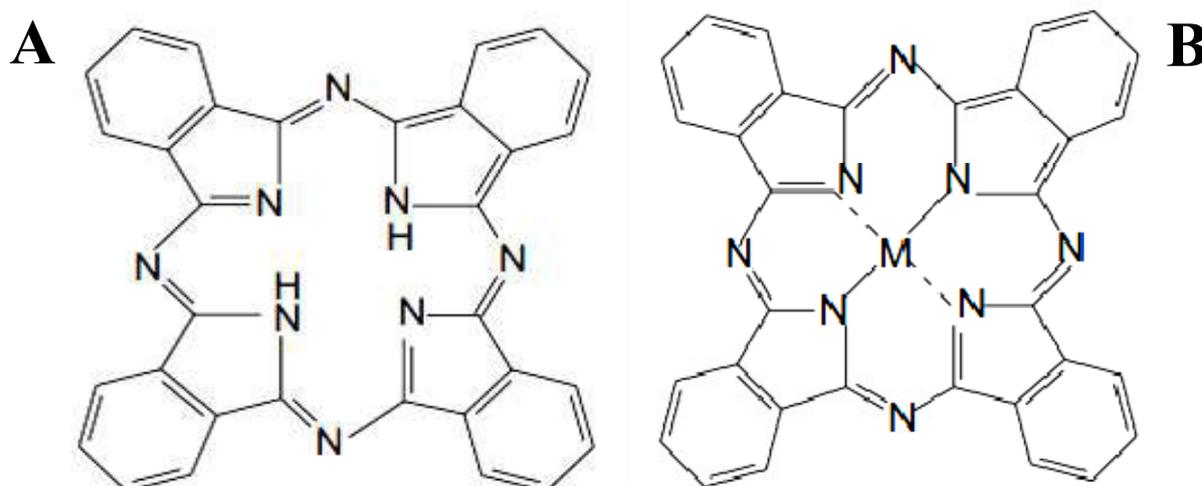
Além disso, atualmente, a união de agentes modificadores e eletrocatalíticos tem auxiliado na detecção de inúmeras substâncias (VANONI *et al.*, 2019). Uma molécula que vem atraindo a atenção dos pesquisadores é a quitosana, principalmente, por dispor de propriedades físicas e químicas capazes de melhorar o sinal analítico das análises (CORRÊA, 2013).

3.2.1 METALOFALOCIANINAS

A ftalocianina (Pc) foi, inicialmente, estudada por Linstead em 1933 e refere-se a uma classe de compostos orgânicos de coloração azul intensa (LEZNOFF; LEVER, 1996). Estruturalmente, apresenta-se na forma de um anel formado por átomos de nitrogênio e dois átomos centrais de hidrogênio, a ftalocianina na sua forma ácida (H₂Pc), conforme apresentado na Figura 3A.

Os dois átomos de hidrogênio centrais do sistema podem ser substituídos por uma variedade de metais e metalóides para a formação das metalofteralocianinas, Figura 3B. Fisicamente, os complexos formados, são altamente coloridos e normalmente insolúveis em solventes comuns, possuindo leve solubilidade em solventes aromáticos com ponto de ebulição elevado (TODD *et al.*, 1998).

Figura 3: (A) Estrutura da ftalocianina na forma ácida (H_2Pc) e de uma (B) metalofteralocianina (MPc).



Fonte: Próprio autor (2019).

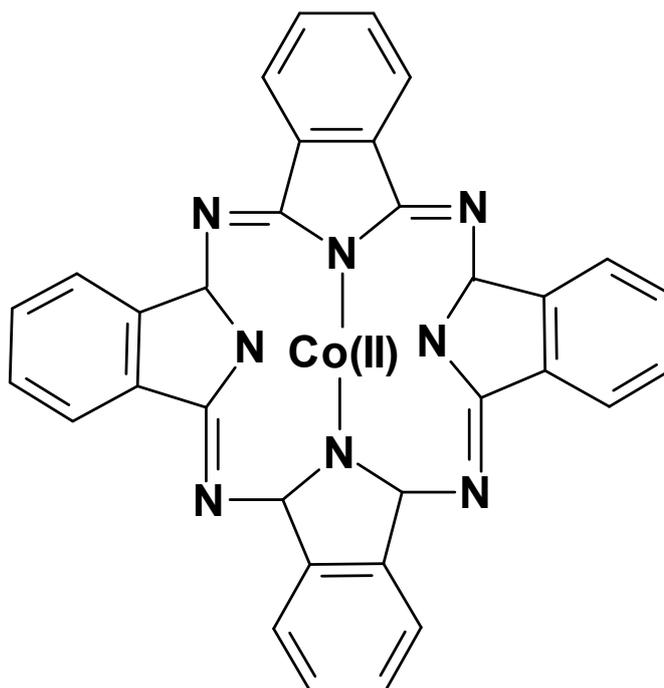
As metalofteralocianinas são compostos versáteis que se adsorvem muito fortemente sobre as superfícies de carbono e grafite em níveis de monocamadas (LEZNOFF; LEVER, 1996). Esses agentes modificadores possuem atividade eletrocatalítica para uma grande variedade de reações eletroquímicas de interesse prático (TASCA *et al.*, 2014; CARO; BEDIQUI; ZAGAL, 2002), incluindo a determinação eletroquímica de fármacos (GUARALDO *et al.*, 2019).

Zagal (1992) declara que a intensidade com que ocorrem as reações na presença desses agentes está relacionada com a natureza do metal posicionado na sua parte central, em que os orbitais moleculares externos da molécula reagente interagem com os orbitais externos situados no metal central, favorecendo a transferência de elétrons entre as moléculas (ZAGAL, 1992). Com isso, a atividade catalítica da ftalocianina adsorvida pode, então, ser associada com a quantidade de elétrons localizados no metal central e com o potencial formal dos pares redox correspondentes (SOTOMAYOR; TANAKA; TATSUO, 2002).

Uma das ftalocianinas metálicas mais usadas e promissora em eletrocatalise é a ftalocianina de cobalto (CoPc) e seus derivados, principalmente, em virtude da sua eficiência na transferência eletrônica, propriedades elétricas (semicondutividade) e ópticas

(fotocondutividade) (FUJIWARA, 1998; BRAIK *et al.*, 2015). A CoPc (Figura 4) é conhecida há muito tempo como catalisador homogêneo e heterogêneo para uma grande variedade de reações, visto que podem, ou não, estar presente na mesma fase das espécies reagentes. A atividade catalítica desse complexo é dependente do íon metálico envolvido (Co) e ainda do estado de oxidação total em que o complexo se encontra (XIA *et al.*, 2019).

Figura 4: Estrutura Química da Ftalocianina de Cobalto.



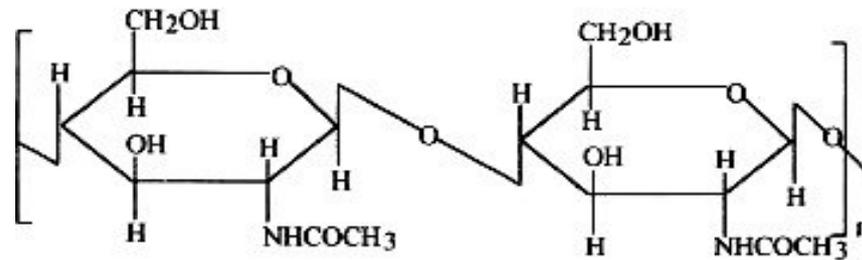
Fonte: Próprio autor (2019).

A ftalocianina de cobalto já foi utilizada na construção de EQMs para determinação de cisteína (HERNÁNDEZ-IBÁÑEZ *et al.*, 2017), ácido ascórbico (MOUNESH *et al.*, 2019), ácido linoleico (JERKOVIĆ *et al.*, 2018), ácido tartárico (LOURENÇO *et al.*, 2018), dopamina (DIAB *et al.*, 2019), entre outros. No entanto, até o momento, nenhum trabalho foi encontrado para a determinação de sulfanilamida.

3.2.2 QUITOSANA

A quitosana (QT), apresentada na Figura 5, é um biopolímero que pode ser obtido a partir da reação de desacetilação alcalina da quitina (KNIDRI *et al.*, 2018), presente nas cascas de crustáceos e fungos (JANEGITZ; JUNIOR; FATIBELLO-FILHO, 2007). Estruturalmente, é uma macromolécula catiônica constituída por um copolímero de unidades combinadas de glucosamina e Nacetil-glucosamina (HONARKAR; BARIKANI, 2009).

Figura 5: Estrutura química da Quitosana.



Fonte: Corrêa (2013).

Esse biopolímero do tipo polissacarídeo possui uma estrutura molecular quimicamente análoga à fibra vegetal chamada celulose, distinguindo-se somente nos grupos funcionais. Por exemplo, os grupos hidroxil (OH) estão presentes na estrutura geral do carboidrato para a celulose enquanto para a quitosana são os grupos amino (NH₂) (KRAJEWSKA, 2004).

A quitosana (QT) é solúvel em meio ácido diluído, constituindo um polímero catiônico, com a protonação (adição de prótons) do grupo amino (NH⁺), o qual concede propriedades especiais diferenciadas em relação às fibras vegetais (BERGER *et al.*, 2004).

A QT é um produto natural, de baixo custo, renovável e biodegradável, de grande interesse econômico e ambiental. As cascas de crustáceos são resíduos crescentes da indústria pesqueira, que em muitos casos as julgam poluentes. Para tanto, sua utilização reduz o impacto ambiental causado pelo acúmulo nos locais em que é produzido ou estocado (MENDES *et al.*, 2011).

Na área ambiental, a quitosana é conhecida como um bioadsorvente e aplicada para remoção de íons metálicos tóxicos e nos processos de tratamento e purificação de água (JANEGITZ *et al.*, 2007). Além disso, na saúde, atua no tratamento de lesões cutâneas e na redução das taxas de colesterol (SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006).

Uma característica vantajosa da QT é a sua versatilidade, em virtude de poder ser modificado fisicamente e assumir diferentes formas, tais como pós, flocos, microsferas, nano partículas, membranas, esponjas, colméias, fibras e fibras óticas (LARANJEIRA; FÁVERE, 2009). Outra utilidade que tem instigado o interesse dos pesquisadores é a capacidade de formar complexos com íons de metais de transição devido à presença de grupos amino em sua estrutura (JANEGITZ; JUNIOR; FATIBELLO-FILHO, 2007). Na literatura, normalmente, são encontrados trabalhos utilizando quitosana, como agente modificador de eletrodos, associados a uma enzima (biossensor) (CORRÊA, 2013).

3.3 Técnicas eletroanalíticas

As técnicas eletroanalíticas constituem um conjunto de métodos qualitativos e quantitativos utilizados na determinação de um analito por meio de sua eletrólise, processo em que uma determinada reação química é forçada a ocorrer na superfície de um eletrodo, devido à imposição de uma diferença de potencial elétrico (HARRIS, 2001).

Uma das mais importantes características é que tais técnicas possibilitam o estabelecimento de relações diretas entre a concentração do analito e alguma grandeza elétrica, tais como: corrente, potencial, condutividade, resistência ou carga. Como as medidas destas propriedades são facilmente acessíveis experimentalmente, as técnicas eletroanalíticas são adequadamente utilizadas na quantificação de espécies de interesse nas diferentes áreas de estudo (RUPP *et al.*, 1992).

Em geral, as respostas obtidas com a utilização de técnicas eletroanalíticas sofrem uma menor influência de interferentes presentes nas amostras, comparando-se com técnicas cromatográficas, o que tem possibilitado o uso destas técnicas na análise de várias substâncias. Nos últimos anos, a sensibilidade das técnicas eletroanalíticas passou a ser comparável às técnicas cromatográfica e espectroscópica. Esta comparação é possível devido ao desenvolvimento tecnológico que possibilitou um grande avanço da instrumentação eletroanalítica, contribuindo intensamente na melhoria da sensibilidade (GALLI *et al.*, 2006).

Dentre as técnicas eletroanalíticas conhecidas, a voltametria destaca-se, principalmente, por possibilitar análises de amostras com pouca ou nenhuma etapa de tratamento, diminuindo o risco de contaminação das amostras. Em voltametria as informações são obtidas a partir do registro de curva de corrente versus potencial feito durante a eletrólise. As técnicas voltamétricas mais utilizadas são a voltametria cíclica (VC), voltametria de pulso diferencial (VPD) e voltametria de onda quadrada (VOQ) (BARD; FAULKNER, 2000).

3.3.1 VOLTAMETRIA CÍCLICA

A voltametria cíclica (VC) é uma técnica propícia para fins qualitativos 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 (ALEIXO, 2003).

Essa técnica é considerada dinâmica e muito versátil, pois fornece informações sobre o comportamento redox de espécies eletroquimicamente ativa, reversibilidade do processo, mecanismos de reações redox, adsorção sobre eletrodos, além de possibilitar a identificação de intermediários ou de produtos de reação (BRETT; BRETT, 1996).

Assim, nessa técnica, as informações sobre o analito são obtidas por meio da medição

da magnitude da corrente elétrica que surge no eletrodo de trabalho, ao se aplicar um potencial entre um eletrodo de trabalho e um eletrodo auxiliar (PACHECO *et al.*, 2013).

3.3.2 VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL

Outra técnica voltamétrica bastante utilizada para estudar reações redox e derivações é a voltametria de pulso diferencial (LOURENÇO *et al.*, 2018). Neste sentido, esta técnica é normalmente empregada para complementar a voltametria cíclica nos estudos eletroquímicos.

As técnicas de pulso são baseadas na medida da corrente elétrica em função do tempo de aplicação de um determinado pulso de potencial. À medida que o potencial é aplicado no eletrodo de trabalho ocorre um carregamento/descarregamento da dupla camada elétrica, originando a corrente capacitiva. O outro tipo de corrente surge quando se trabalha com reagentes impuros ou quando se tem oxigênio dissolvido em solução é a chamada corrente faradáica residual (SKOOG *et al.*, 2014).

A voltametria de pulso diferencial (VPD) é uma das técnicas de pulso mais sensíveis e extremamente úteis para quantificar compostos orgânicos e inorgânicos em níveis de traços (HARRIS, 2001). A corrente medida é lida duas vezes, uma antes e outra no final da aplicação do pulso. Com isso, essas correntes são subtraídas, tendo em vista que a primeira possui contribuição apenas da corrente capacitiva e a segunda inclui a corrente faradáica e, então, são registradas versus o potencial aplicado (BRETT; BRETT, 1996). Vale ressaltar que a corrente de pico do voltamograma de pulso diferencial é proporcional à concentração da espécie eletroativa (SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

O sinal de intensidade da VPD corresponde à aplicação de pulsos de igual amplitude por um pequeno intervalo de tempo, sobre uma rampa linear de potencial, entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência; o sinal de resposta é a corrente elétrica resultante da eletrólise, cuja forma gráfica tem forma de pico (BRETT; BRETT, 1996).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes e soluções

As soluções padrão de SFD ($10,0 \text{ mmol L}^{-1}$) foram preparadas, diariamente, em água deionizada, pelo sistema Milli-Q (Millipore), e envolvidas com papel alumínio para evitar possíveis processos de degradação.

A amostra foi adquirida em um site de medicamentos veterinários e consistiu em um frasco de 10 mL de solução contendo 1,0 g de sulfanilamida em sua composição. Tal fármaco é indicado no tratamento infeccioso de otites comuns e de baixa complexidade. O preparo da solução foi realizado a partir da diluição da amostra em água deionizada e, em seguida, colocado sobre sistema de agitação (agitador de tubos vortex) por 3 minutos.

As soluções do modificante quitosana (QT), $5,0 \text{ mg mL}^{-1}$, foram preparadas em ácido acético 1%, enquanto a combinação quitosana/ftalocianina de cobalto (QT/CoPc) foram produzidas pela dissolução de 3,0 mg de ftalocianina de cobalto em 1,0 mL de solução de quitosana.

Todas as outras soluções foram preparadas pela dissolução dos reagentes sólidos em água deionizada. Os reagentes usados foram de grau analítico, conservados à temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C} - 28^\circ\text{C}$) e são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1: Lista dos reagentes utilizados com suas respectivas procedências.

REAGENTES	PROCEDÊNCIA
Sulfanilamida	Sigma-Aldrich
Ftalocianina de Cobalto	
Quitosana	
Cloreto de Potássio	
Ácido Clorídrico	Isofar
Ácido Fosfórico	
Ácido bórico	
Hidróxido de Sódio	Merck S. A
Ácido cítrico	
Fosfato monossódico	
Fosfato dissódico	
Ácido Acético	Quimex
Etanol	

Fonte: Próprio autor (2019).

Na otimização dos parâmetros experimentais, tais como variação do tipo e concentração do eletrólito de suporte, foram empregados como eletrólito de suporte o tampão Britton-Robinson (BR), fosfato, Mcvainne e Sorensen. O tampão BR foi obtido a partir da mistura dos ácidos: acético, fosfórico e bórico, todos na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; tampão

Mcvainne com misturas do ácido cítrico e solução de fosfato dissódico, ambos em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e tampão Sorensen com misturas de sais, fosfato dissódico e monossódico nas concentrações de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Adições de alíquotas de solução de NaOH $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionadas aos tampões BR e fosfato até alcançar o pH desejado. Todas as soluções foram preparadas conforme procedimentos descritos na literatura.

4.2 Instrumentação

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em um Potenciostato Ivium-n-Stat controlado pelo software IviumSoft™ Electrochemistry, conectado a um microcomputador e utilizando um sistema de três eletrodos: eletrodo de trabalho (carbono vítreo), eletrodo de referência (Ag/AgCl/KCl_{sat}) e o eletrodo auxiliar (platina). O sistema está apresentado na Figura 6.

Figura 6: Sistema eletroquímico para estudo da sulfanilamida.



Fonte: Próprio autor (2019).

Para as soluções tamponantes foi utilizando um medidor de pH modelo 827 pH lab da Metrohm. Nas medidas eletroquímicas usou-se um agitador magnético modelo 751 da Fisatom Equipamentos Científicos Ltda na finalidade de homogeneizar o eletrólito de suporte ao analito e aumentar a condução das espécies ativas do seio da solução à superfície do eletrodo de trabalho. Um sistema de agitação do tipo vortex da Fisatom 772 (2800 rpm) foi empregado no preparo das soluções para melhor solubilização das substâncias.

4.3 Eletrodos

4.3.1 ELETRODO DE TRABALHO

O eletrodo de carbono vítreo (ECV) modificado com ftalocianina de cobalto (CoPc) e quitosana (QT), ECV/QT/CoPc, foi utilizado como eletrodo de trabalho na determinação da sulfanilamida. O ECV ($\phi = 3 \text{ mm}$) foi o eletrodo base para deposição da solução modificante.

4.3.2 ELETRODO DE REFERÊNCIA

O eletrodo de referência empregado nos experimentos foi o de Ag/AgCl saturado com KCl. Para sua construção, um fio de prata foi polido com lixa d'água de granulometria 1200 e lavado com água deionizada. Sequencialmente, o sal AgCl foi eletrodepositado sobre o fio de prata aplicando-se um potencial constante, por alguns segundos, entre um fio de Ag e um fio Pt, ambos imersos em solução de HCl.

Logo após, o fio anodizado foi introduzido em uma ponteira de pipeta contendo solução saturada de KCl. A extremidade da ponteira foi fechada com fragmentos de separador de baterias, favorecendo desta forma o contato eletrolítico. Ao fim de cada experimento, guardou-se o eletrodo de referência em um frasco completamente preenchido com solução de KCl saturado.

4.3.3 CONTRA-ELETRODO

Utilizou-se como contra-eletrodo uma placa de platina, soldada a um fio de platina e inserido em tubo de vidro. Antes de cada medida, o eletrodo de platina era aquecido em chama redutora e lavado abundantemente com água deionizada com a finalidade de garantir que nenhuma espécie eletroativa estava adsorvida.

4.4 Limpeza do eletrodo

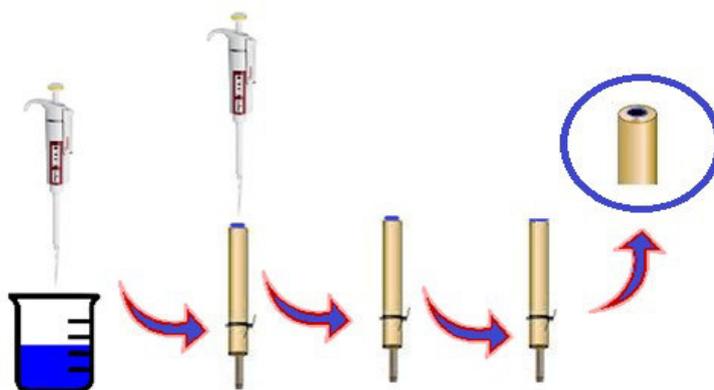
A limpeza do eletrodo de carbono vítreo (ECV) foi realizada mediante polimento com alumina de granulometria 0,05 e 0,30 μm e submetido a sucessivas lavagens com água purificada.

Ao fim dos experimentos, o eletrodo passava novamente pelo procedimento descrito acima e, então, era submerso em etanol puro para garantir a completa remoção das espécies adsorvidas.

4.5 Preparo do eletrodo quimicamente modificado

A modificação do ECV foi realizada pelo método de gotejamento, em que 5,0 μL da solução de QT/CoPc 3,0 mg mL^{-1} foi depositado sobre a superfície do eletrodo, e deixado secar à temperatura ambiente até a formação do filme. Em seguida, o eletrodo modificado (ECV/QT/CoPc) foi lavado com água purificada a fim de remover as partículas não adsorvidas, e imerso, imediatamente, na solução eletrolítica de trabalho. Vale ressaltar que o ECV já havia sido previamente limpo com alumina antes de passar pelo processo de modificação. A Figura 7 apresenta, resumidamente, o procedimento adotado para a modificação do ECV com QT/CoPc.

Figura 7: Metodologia para a modificação do eletrodo de carbono vítreo com ftalocianina de cobalto e quitosana.



Fonte: Próprio autor (2019).

4.6 Medidas Eletroquímicas

As medidas eletroquímicas para o estudo do comportamento da sulfanilamida, inicialmente, foram realizadas por voltametria cíclica (VC), em uma célula eletroquímica convencional composta por três eletrodos imersos em solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0).

Para a otimização dos parâmetros experimentais e desenvolvimento da metodologia analítica para determinação da sulfanilamida, empregou-se a técnica de pulso diferencial (VPD). Os testes de pH foram feitos em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L^{-1} .

4.7 Análise comparativa por Espectrofotometria UV-Vis

Os resultados obtidos no método proposto foram comparados àqueles obtidos por espectrofotometria UV-Vis, utilizando um espectrofotômetro da Varian modelo Cary 50 controlado pelo software Scan-Online. O comprimento de onda a ser usado foi escolhido a

partir da varredura de absorvância, na faixa entre 200 a 800 nm, em solução padrão de sulfanilamida.

Todas as soluções, padrão e amostra do medicamento, foram preparadas com água deionizada. A quantificação da sulfanilamida foi executada por meio da construção de uma curva de calibração, medida de absorvância *versus* concentração de soluções padrão de SFD, e posterior leitura de amostras do fármaco.

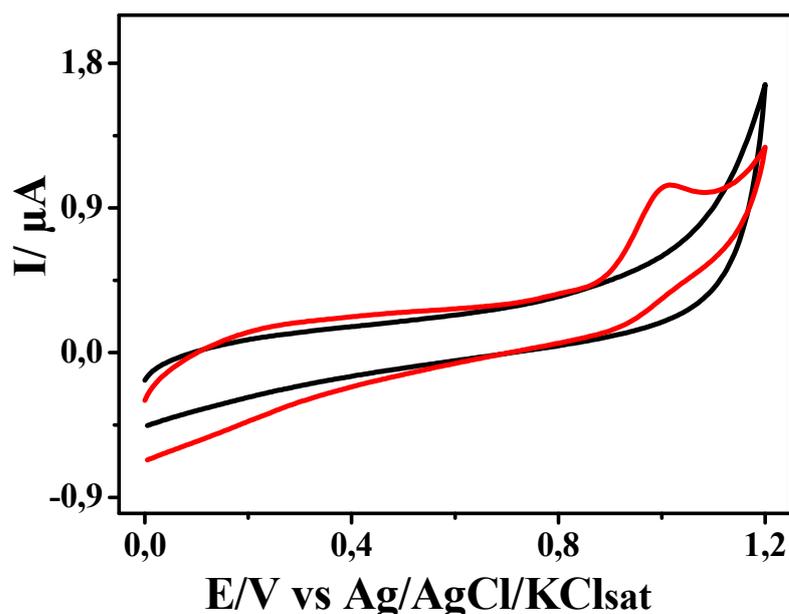
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Comportamento eletroquímico da Sulfanilamida (SFD) sobre eletrodo de carbono vítreo (ECV)

Inicialmente, estudou-se o comportamento eletroquímico da sulfanilamida (SFD) sobre eletrodo de carbono vítreo (EVC) por voltametria cíclica (VC) em uma ampla faixa de potencial a fim de verificar seus processos de oxirredução.

A Figura 8 apresenta os voltamogramas cíclicos registrados sobre ECV em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0), na ausência e na presença de $25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD. A varredura de potencial teve início em $0,0 \text{ V}$ e foi realizada no sentido positivo de potenciais até $1,2 \text{ V}$.

Figura 8: Voltamogramas cíclicos obtido com ECV em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) na ausência (—) e presença de $25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD (—), $0,05 \text{ Vs}^{-1}$.



Fonte: Próprio autor (2019).

Percebe-se, a partir da Figura 8, que na ausência da SFD não houve formação de picos voltamétricos, mostrando que as correntes observadas são de natureza puramente capacitiva (processos não-faradáicos). Os processos faradáicos seguem a lei de Faraday, os quais têm a quantidade total de elétrons de um produto de uma reação redox proporcional ao total de carga transferida da interface eletrodo-solução (PACHECO *et al.*, 2013).

Na presença da SFD e no sentido positivo de varredura houve a formação de um pico bem definido de oxidação, localizado em aproximadamente $0,99 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl/KClsat . Já no

sentido inverso (redução) nenhum pico foi encontrado, sugerindo a irreversibilidade do processo nas condições analisadas.

Alguns trabalhos reportam que a existência do grupo amino primário (-NH₂-) e do grupo sulfamila (-SO₂NH-R-) na estrutura química das sulfonamidas são os responsáveis pela eletroatividade dessas substâncias (BRAGA, 2009; URZÚA; PÉREZ-ORTIZ; ÁLVAREZ-LUEJE, 2018). Por exemplo, Msagati e Ngila (2002) apresentam em um de seus projetos que o processo de oxidação das sulfonamidas ocorre no grupo amino e a redução no grupo sulfonamida (-SO₂-), sendo a natureza do grupo funcional (-R-) o fator determinante do potencial de pico (MSAGATI; NGILA, 2002).

Dessa forma, o pico anódico da SFD, provavelmente, está relacionado com a oxidação irreversível do grupo amino primário (-NH₂-) presente em sua molécula. O comportamento eletroquímico da SFD sobre o ECV mostrou-se similar ao descrito na literatura, uma vez que foi constatado os mesmos potenciais de oxidação (FERRAZ *et al.*, 2018; WEI *et al.*, 2017).

5.2 Determinação voltamétrica da Sulfanilamida sobre ECV, ECV/QT e ECV/QT/CoPc

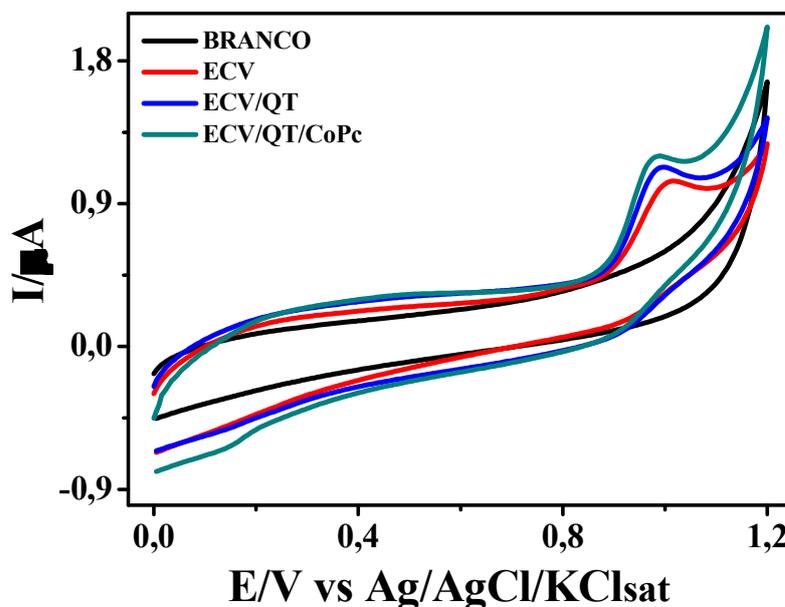
A ftalocianina de cobalto (CoPc) é um composto com comportamento eletroquímico bastante conhecido na literatura e que tem sido utilizado como mediadores para processos eletroquímicos (KOZUB; COMPTON, 2010; JERKOVIĆ *et al.*, 2018). Além disso, também se tem utilizado como agentes modificantes o biopolímero quitosana (QT) devido, principalmente, a sua grande capacidade de formar complexos com íons metálicos (CORRÊA, 2013).

A fim de contrastar o processo de eletrooxidação da SFD em eletrodo de carbono vítreo (ECV), eletrodo de carbono vítreo modificado com quitosana (ECV/QT) e eletrodo de carbono vítreo modificado com quitosana e ftalocianina de cobalto (ECV/QT/CoPc) foram realizadas varredura de potenciais, utilizando a técnica de voltametria cíclica, em solução contendo SFD. Na Figura 9 são mostrados os voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão fosfato (pH 7,0) com 25 µmol L⁻¹ de SFD, no intervalo de potencial de 0,0 V (E_i) a 1,2V (E_{inv}).

A comparação do comportamento eletroquímico do ECV com os ECV/QT e ECV/QT/CoPc na região anódica mostra mudanças acentuadas na corrente de pico de oxidação da SFD. Isso pode ser justificado pelo aumento da área eletroativa do eletrodo, em virtude da modificação, o qual eleva a sensibilidade e seletividade do processo (BUKKITGAR *et al.*, 2016); e a cinética da reação, em que para o ECV modificado tem-se

uma cinética de transferência de elétrons rápida e menores energias de ativação para a eletrooxidação da SDF (BRAIK *et al.*, 2015).

Figura 9: Voltamogramas cíclicos obtido com ECV na ausência e presença de modificantes sobre a superfície do eletrodo, em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo $25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD, $0,05 \text{ Vs}^{-1}$.



Fonte: Próprio autor (2019).

Na Figura 9, observa-se que o ECV/QT/CoPc desloca o pico da SFD para valores mais próximos de zero, e apresenta maior corrente anódica para a SFD, com 23% de aumento em relação ao ECV. Este resultado pode estar relacionado com a interação eletrostática entre as moléculas de QT e CoPc, uma vez que se tem afinidade eletrônica entre os grupos negativos da QT com o íon metálico presente na CoPc.

Além disso, devido à modificação, nota-se o aparecimento de um pico catódico no sentido inverso de varredura, em aproximadamente 0,14 V, provavelmente, associado à redução do grupo sulfamila ($-\text{SO}_2\text{NH-R}-$) (MSAGATI; NGILA, 2002; BRAGA, 2009). Entretanto, este pico não caracteriza reversibilidade, uma vez que os picos encontram-se distanciados em torno de 0,83 V; e o valor mais frequentemente adotado nos trabalhos científicos para ΔE_p equivale a 0,059 V (SOUZA, 2011). Outro fator que corrobora para tal é que a corrente de pico de oxidação é superior a corrente de pico de redução, diferente do que ocorre nas reações reversíveis (FONSECA; PROENÇA; CAPELO, 2015), evidenciando a irreversibilidade do processo de oxidação/redução da SFD.

De fato, conforme mostra a literatura (MSAGATI; NGILA, 2002), a reação eletroquímica de oxirredução das sulfonamidas ocorre através de um mecanismo reacional

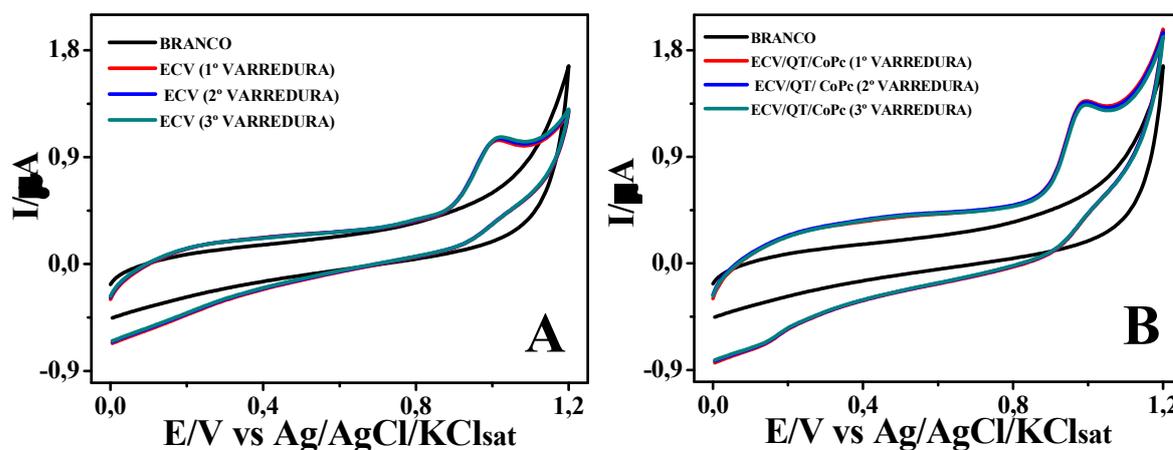
irreversível com a intensidade de corrente do pico característico fortemente dependente do meio.

Para o ECV/QT constatou-se um aumento de corrente inferior, com apenas 18% de acréscimo sobre o ECV. Diante disso, o ECV/QT/CoPc foi escolhido como eletrodo de trabalho, visto que apresentou resultados favoráveis para a determinação do analito.

5.2.1 VERIFICAÇÃO DA ESTABILIDADE DO ECV E ECV/QT/COPC

Geralmente, alguns processos redox realizados sobre os ECV levam ao envenenamento da sua superfície em detrimento da adsorção dos subprodutos gerados na reação (BUKKITGAR *et al.*, 2016). Para avaliar a estabilidade, ou seja, se ocorre ou não adsorção durante a oxidação da SFD sobre o ECV/QT/CoPc, foram realizadas sucessivas varreduras nas mesmas condições e parâmetros citados anteriormente, com exceção da agitação do sistema entre as medidas. Na Figura 10 são apresentadas essas alterações.

Figura 10: Voltamogramas cíclicos obtido com ECV (A) e ECV/QT/CoPc (B) em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹(pH 7,0) contendo 25 μmol L⁻¹ de SFD, 0,05 Vs⁻¹.



Fonte: Próprio autor (2019).

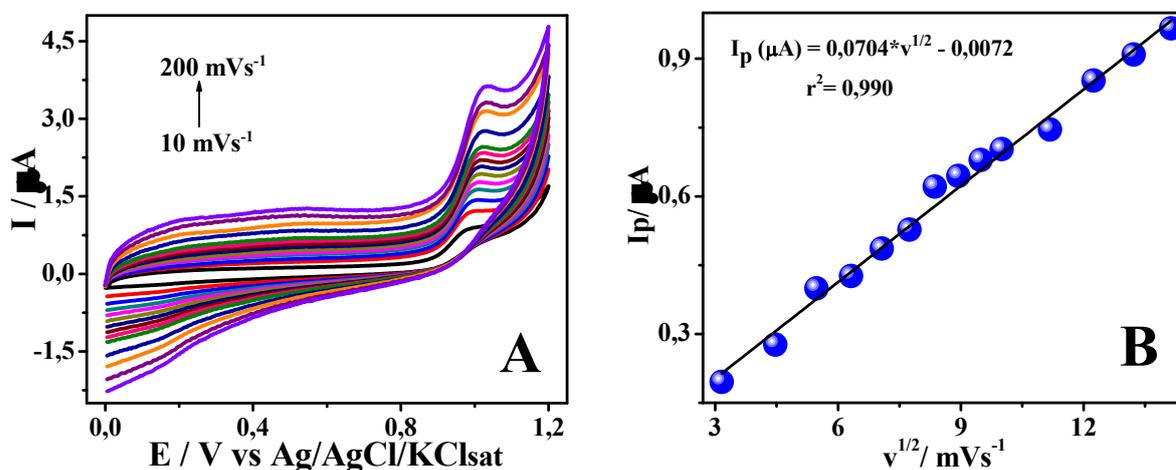
Nas Figura 10A e B é possível verificar que não ocorre diminuição na intensidade da corrente de pico ao final de cada varredura de potencial, nem perda da resolução do sinal analítico, indicando que não se tem adsorção da SFD sobre a superfície dos eletrodos ECV e ECV/QT/CoPc, nem a formação de produtos de oxidação. Os valores de desvio padrão relativo para os sinais anódicos medidos para o ECV e ECV/QT/CoPc foram iguais a 2,5 % e 1,9 %, respectivamente, demonstrando assim a boa estabilidade da deposição do filme de QT/CoPc para detecção da SFD.

Dessa forma, para estudos posteriores, será realizada apenas uma única varredura devido à estabilidade do sinal analítico do sistema.

5.3 Efeito da variação da velocidade de varredura na oxidação da SFD

O comportamento da velocidade de varredura frente à corrente de pico anódico da SFD foi estudado utilizando-se a técnica de voltametria cíclica, em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) contendo 25 μmol L⁻¹ de SFD. As leituras foram realizadas variando-se a velocidade de varredura de 10 a 200 mVs⁻¹, Figura 11. Esse estudo é importante para verificar se a reação de oxidação da SFD, que ocorre na superfície do eletrodo, acontece por processos difusionais ou adsortivos. Além disso, podem-se tirar informações acerca da reversibilidade do sistema.

Figura 11: (A) Voltamogramas cíclicos obtidos sobre ECV/QT/CoPc a partir de uma solução 25 μmol L⁻¹ de SFD em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0), registrados em diferentes valores de velocidade de varredura. (B) Dependência linear de I_{pa} vs. $v^{1/2}$.



Fonte: Próprio autor (2019).

Observando-se os voltamogramas cíclicos, apresentados na Figura 11A, nota-se que o aumento da velocidade de varredura foi acompanhado da elevação da intensidade da corrente de pico anódica e do deslocamento do potencial de oxidação para valores mais positivos, acima de 0,97 V. De acordo com Pacheco et al. (2013) quando o potencial de pico (E_p) varia com a velocidade de varredura têm-se sistemas considerados irreversíveis (PACHECO *et al.*, 2013).

De acordo com a literatura (LUZ *et al.*, 2004; ARAÚJO, 2017) quando há linearidade entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade o sistema eletroquímico é controlado puramente por difusão. Em contrapartida, quando a relação linear for com a velocidade de varredura o processo é predominantemente adsortivo.

Para tanto, construiu-se um gráfico I_{pa} vs. $v^{1/2}$, Figura 11B, e nele foi constatado a dependência linear da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura,

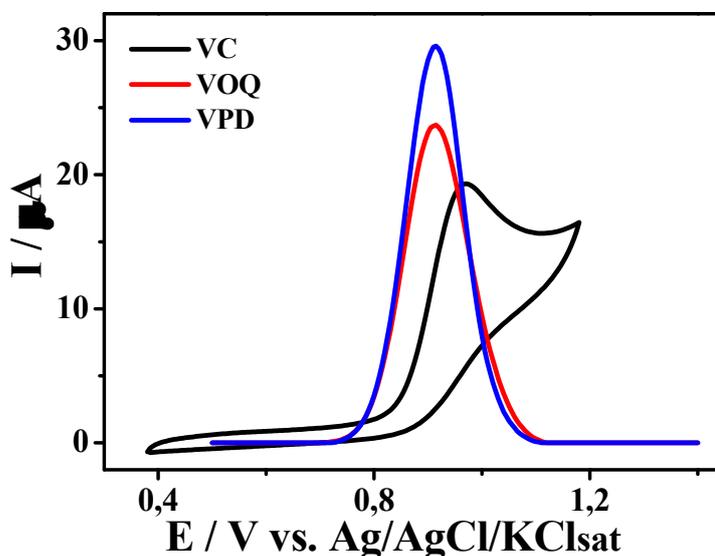
revelando que o processo de oxidação da SFD é controlado por difusão. Estudos conduzidos por Ferraz et al. (2018) apontam os efeitos da velocidade de varredura sobre o comportamento eletroquímico da SFD, em que os gráficos das correntes de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura mostraram relações lineares no intervalo de 10 a 250 mVs^{-1} , significando que as reações dessa molécula foram controladas por processos difusionais (FERRAZ *et al.*, 2018). Tal fato corrobora os resultados obtidos nesse trabalho.

5.4 Avaliação dos Parâmetros experimentais

5.4.1 ESCOLHA DA MELHOR TÉCNICA PARA O DESENVOLVIMENTO DO SENSOR

Com o intuito de avaliar a técnica mais sensível para a oxidação da SFD, foram estudadas as respostas de três técnicas: Voltametria cíclica (VC), voltametria de pulso diferencial (VPD) e a voltametria de onda quadrada (VOQ). Assim, os parâmetros das técnicas foram ajustados de forma a se obter a velocidade de varredura (v) de 50 mVs^{-1} em todas elas: frequência de pulso (f), amplitude de pulso (a) e incremento de varredura (ΔE_s), para a técnica de VOQ e, para a técnica VPD foram ajustados a amplitude de pulso (a), tempo de pulso (t) e incremento de varredura (ΔE_s). A Figura 12 ilustra a comparação entre as técnicas, utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com quitosana e ftalocianina de cobalto (ECV/QT/CoPc) para a determinação de $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD em uma solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0).

Figura 12: Voltamogramas obtidos com ECV/QT/CoPc contendo $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD em solução. (—) VC com $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$; (—) VOQ com $a = 50\text{mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s = 5\text{mV}$; (—) VPD com $a = 50\text{mV}$; $t = 5 \text{ ms}$, $\Delta E_s = 5\text{mV}$ e $v = 50\text{mVs}^{-1}$.



Fonte: Próprio autor (2019).

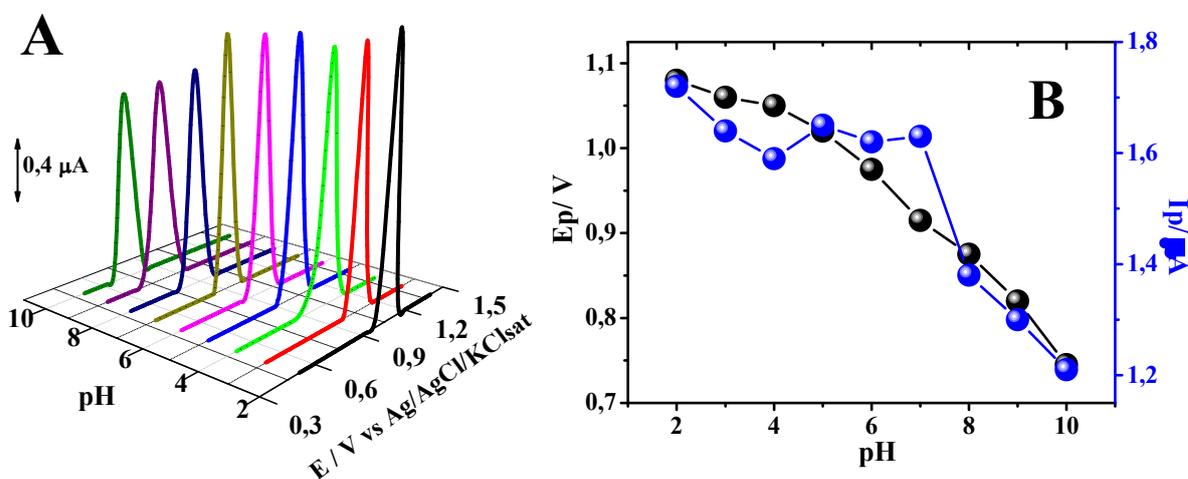
A partir dos voltamogramas, apresentados na Figura 12, a técnica de voltametria de pulso diferencial (VPD) se mostrou mais sensível que a VC e VOQ, visto que proporcionou maiores valores de corrente de pico para a oxidação da SFD; e apresentou antecipação do potencial de oxidação (0,92 V) quando comparada com a voltametria cíclica (0,97 V). A maior sensibilidade para esta técnica pode ser atribuída a dois fatores principais: o primeiro está relacionado ao aumento de corrente faradaica, e o segundo, a uma diminuição da contribuição da corrente não-faradaica (capacitiva) (OLIVEIRA, 2013). A VOQ é, geralmente, mais indicada para sistemas reversíveis, no qual se tem a contribuição das duas componentes da corrente (direta e inversa) (DANTAS, 2007). O processo de oxirredução da SDF é irreversível, desta forma, a VOQ forneceu menor sinal analítico que as demais. Assim, a VPD será a técnica utilizada para o desenvolvimento da metodologia de quantificação da sulfanilamida.

5.4.2 EFEITO DA CONCENTRAÇÃO HIDROGENIÔNICA

A voltametria de pulso diferencial (VPD) foi empregada com o intuito de investigar o efeito do pH no sinal analítico da SFD, tanto para a intensidade de corrente quanto para o potencial de oxidação, frente ao ECV/QT/CoPc. Para mais, se fez um estudo na varredura de potencial de 0,4 a 1,4 V utilizando uma ampla faixa de pH que variou de 2,0 a 10,0.

Os voltamogramas de pulso diferencial obtidos (Figura 13) apresentam a variação da corrente de pico anódica com a adição de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD à solução tampão Britton-Robinson (BR) 0,1 mol L^{-1} , em diferentes valores de pH.

Figura 13: (A) VPD obtidos com ECV/QT/CoPc em Tampão BR 0,1 mol L^{-1} contendo 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD, registrados em diferentes valores de pH. (B) Dependência de I_p e E_p em função do pH. Parâmetros: $t = 5\text{ms}$; $a = 50\text{ mV}$; $\Delta E_s = 5\text{mV}$, $v = 0,05\text{ Vs}^{-1}$.



Fonte: Próprio autor (2019).

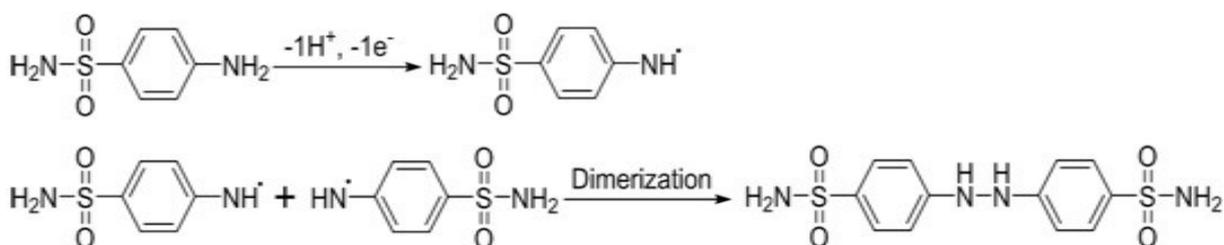
Ao avaliar a Figura 13A, verificou-se que o aumento do pH do meio levou ao deslocamento de potencial para valores mais negativos, comportamento típico de processos onde ocorre prévia protonação da espécie (CABRAL *et al.*, 2003); e que a reação de oxidação da SFD é favorecida no intervalo de pH de 2,0 a 7,0, visto que para valores de pH acima se tem uma diminuição na corrente de pico.

Além disso, nota-se um máximo de corrente de pico em pH 2,0, no entanto, levando-se em conta que o aumento foi pouco em relação ao pH 7,0 e que as amostras reais (fluidos biológicos e medicamentos) que se deseja analisar se encontram próximo a esse pH, optou-se pelo pH 7,0 para estudos posteriores.

A partir da dependência linear do potencial de pico com o pH da solução (Figura 13B) encontrou-se a equação da reta, $E_p = 1,294 - 0,054 \cdot \text{pH}$, $r = 0,994$. Com isso, verificou-se que a inclinação obtida para o processo de oxidação da SFD (0,054 V/pH) é próxima do número esperado da equação de Nernst (0,0592), indicando que o mecanismo da reação eletroquímica da SFD envolve a transferência de igual número de prótons e elétrons (VANONI *et al.*, 2019).

Ferraz *et al.* (2018) propuseram um mecanismo de oxidação da sulfanilamida, mostrando que no processo há o envolvimento de 1 próton e 1 elétron (Figura 14).

Figura 14: Mecanismo de oxidação da sulfanilamida.



Fonte: Ferraz *et al.* (2018).

De acordo com os autores, o processo de oxidação, no potencial próximo à unidade, ocorre por dimerização e em duas etapas: A primeira, etapa eletroquímica, acontece devido à formação de radicais livres (desprotonação) no grupo amino; que, rapidamente, se combinam entre si (dimerização) formando uma molécula de hidrazobenzeno sulfonamida (etapa química) (FERRAZ *et al.*, 2018).

5.4.3 ESTUDO DO ELETRÓLITO DE SUPORTE

O eletrólito utilizado na quantificação da SFD pode ser um interferente na resposta eletroquímica do sensor, podendo este aumentar ou diminuir o sinal da corrente de oxidação do analito em estudo. Esta alteração ocorre geralmente devido a passivação do eletrodo, que

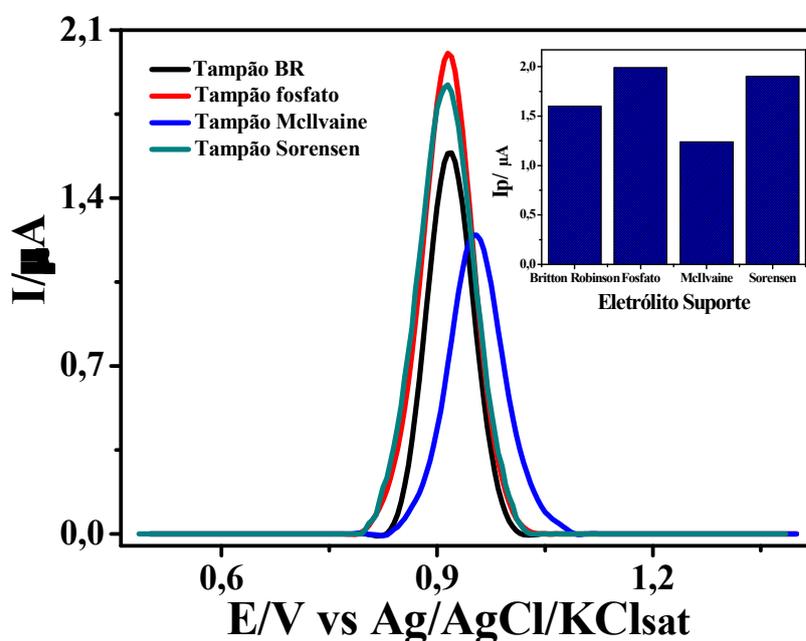
pode ser provocada por adsorção de interferentes à superfície do eletrodo; pouca solubilidade do eletrólito com o analito, ou competição do interferente com o composto.

De acordo com Santos, Bianchin e Spinelli (2011), o eletrólito é um parâmetro importante sobre a resposta eletroanalítica, uma vez que pode modificar a termodinâmica e a cinética do processo eletródico, bem como o transporte de massa na célula. Para tanto, a escolha do eletrólito de suporte deve levar em conta a natureza do substrato empregado como eletrodo e o processo redox das substâncias a serem investigadas (SANTOS; BIANCHIN; SPINELLI, 2011).

5.4.3.1 Tipo de eletrólito de suporte

Nesse estudo foram avaliados quatro eletrólitos de suporte: tampão Britton-Robinson, tampão fosfato, tampão Mcvaine e Sorensen, todos em pH 7,0 e na concentração de 0,1 mol L⁻¹. Os voltamogramas foram registrados sobre ECV/QT/CoPc utilizando a técnica VPD após adição de 20 μmol L⁻¹ SFD, Figura 15.

Figura 15: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com ECV/QT/CoPc em diferentes tipos de eletrólito de suporte: (—) tampão Britton-Robinson, (—) tampão fosfato, (—) tampão Mcvaine e (—) tampão Sorensen, todos em 0,1mol L⁻¹ e com 20 μmol L⁻¹ de SFD. Parâmetros: t = 5ms; a = 50mV; ΔE_s = 5mV, v = 0,05 Vs⁻¹.



Fonte: Próprio autor (2019).

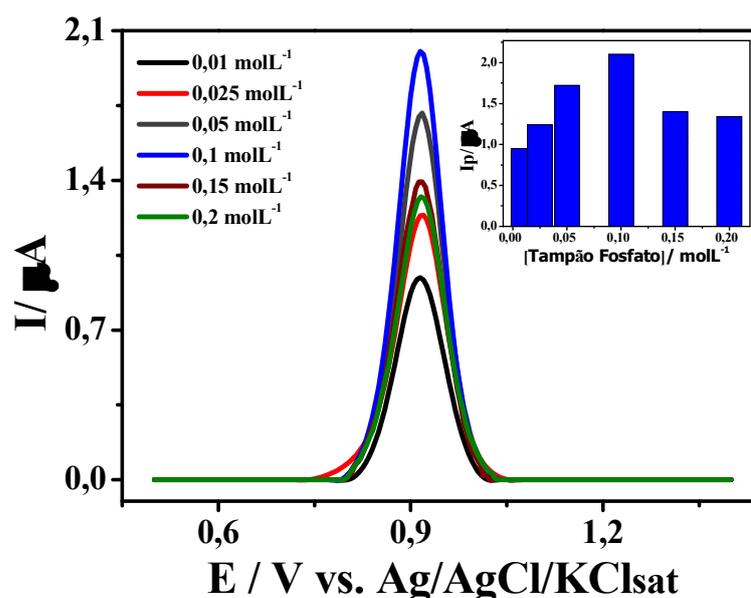
A partir dos dados, Figura 15, constata-se que o eletrólito de suporte que mostrou melhor resposta analítica considerando o aumento na I_{pa} para a SDF foi o tampão fosfato. Além disso, observa-se que essa solução não favoreceu o deslocamento do pico, nem a perda

da definição do sinal anódico. Em tampão Mellvaine notou-se redução significativa na intensidade da corrente de pico com deslocamento de potencial para valores mais positivos. Para o tampão Sorensen e BR teve-se apenas redução na intensidade de corrente. Diante disso, escolheu-se o tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito de suporte ideal para determinação de sulfanilamida utilizando ECV/QT/CoPc.

5.4.3.2 Variação da concentração do eletrólito de suporte

O efeito da concentração da solução tampão fosfato (pH 7,0) também foi avaliada sobre o ECV/QT/CoPc. Na Figura 16 são mostrados os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para uma solução de SFD $20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, no intervalo de potencial de 0,5 a 1,4 V, a uma velocidade de varredura de $0,05 \text{ Vs}^{-1}$.

Figura 16: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos sobre ECV/QT/CoPc em tampão fosfato contendo $20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD, em diferentes valores de concentração de eletrólito. Parâmetros: $t = 5 \text{ ms}$; $a = 50\text{mV}$; $\Delta E_s = 5\text{mV}$, $v = 0,05 \text{ Vs}^{-1}$.



Fonte: Próprio autor (2019).

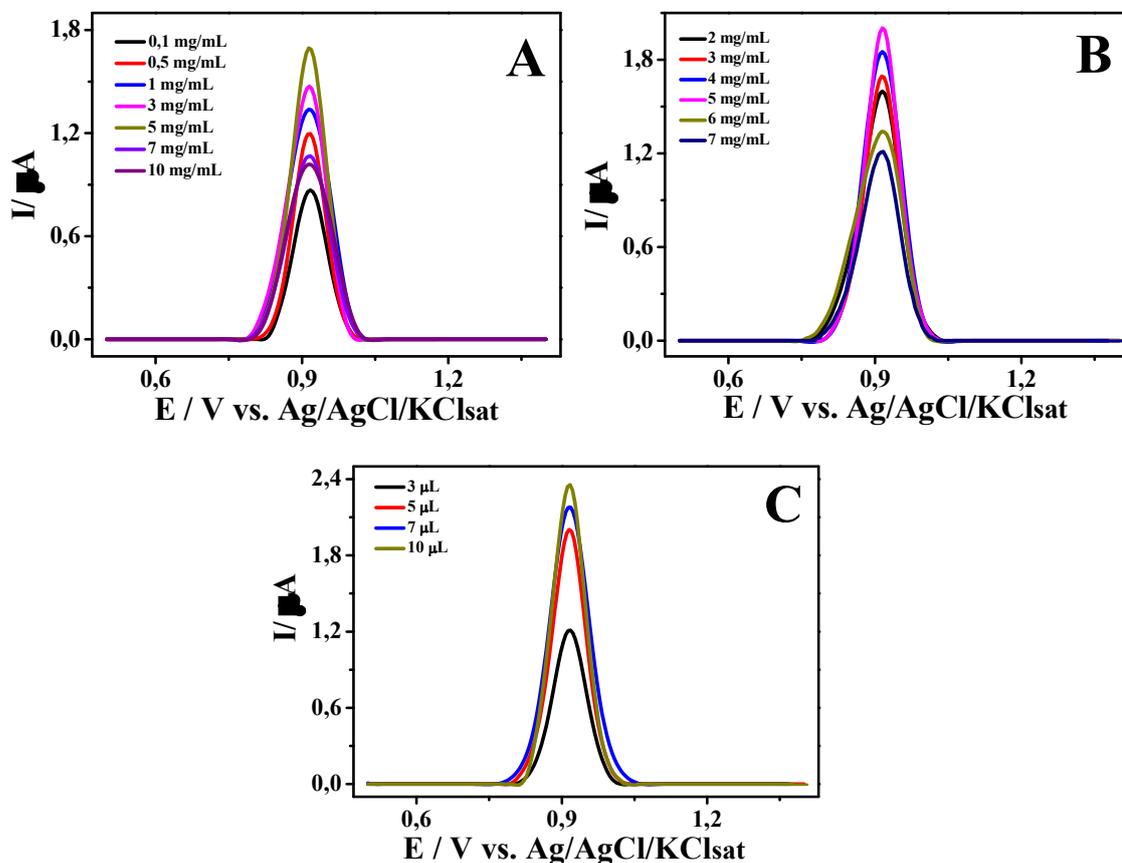
Com os resultados obtidos, Figura 16, observou-se que a intensidade de I_{pa} é mais expressiva para a concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e que para maiores valores de concentração ocorre alteração na eficiência do processo de oxidação da SDF. Essa redução na I_{pa} pode estar vinculada ao comprometimento da transferência eletrônica na interface eletrodo-solução, em que as muitas cargas disponíveis (PO_4^{3-}) no seio da solução acabam competindo com as espécies ativas da SFD, criando barreiras, inviabilizando, assim, o transporte de carga e/ou massa do analito (PAVLOV, 2017). Com isso, escolheu-se a concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para realizar as análises posteriores.

5.4.4 EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE QUITOSANA (QT) E FTALOCIANINA (COPC), E DO VOLUME DE QT/COPC DEPOSITADO SOBRE A SUPERFÍCIE DO ECV

A influência da concentração de QT e CoPc, e do volume da solução de QT/CoPc depositado sobre a superfície do ECV foram avaliados por VPD no intervalo de potencial de 0,5 V a 1,4 V em solução de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD.

Inicialmente, a concentração de CoPc foi fixada em $3,0 \text{ mg mL}^{-1}$ e volume de solução QT/CoPc em $5,0 \mu\text{L}$ para se avaliar a variação da concentração de QT. As concentrações estudadas foram 0,1, 0,5, 1,0, 3,0, 5,0, 7,0 e $10,0 \text{ mg mL}^{-1}$. Após a definição da melhor resposta para a QT, esta foi fixada, bem como o volume de deposição sobre a superfície eletródica ($5,0 \mu\text{L}$) e variou-se então a concentração de CoPc ($2,0$ a $7,0 \text{ mg mL}^{-1}$). E, por fim, fixou-se as concentrações ideais da solução de QT/CoPc e alternou-se o volume depositado sobre o ECV ($3,0$ a $10,0 \mu\text{L}$). Os dados obtidos são apresentados na Figura 17.

Figura 17: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD, variando-se a (A) concentração de QT, (B) concentração de CoPc e (C) volume de QT/CoPc sobre a superfície do ECV. Parâmetros: $t = 5\text{ms}$; $a = 50\text{mV}$; $\Delta E_s = 5\text{mV}$, $v = 0,05 \text{ Vs}^{-1}$.



Fonte: Próprio autor (2019).

Analisando a Figura 17A, pode-se observar que o ECV modificado com QT 5,0 mg mL⁻¹ obteve maior intensidade da I_{pa}. Além disso, notou-se que para concentrações maiores têm-se menores respostas analíticas, provavelmente, em virtude do biopolímero criar obstáculos na transferência de massa na interface eletrodo-solução. Já em concentrações menores as respostas também são inferiores, possivelmente, devido às concentrações serem insuficientes para completa imobilização da CoPc sobre o ECV.

Na Figura 17B a concentração ideal da CoPc para a oxidação eletroquímica da SFD é de 5,0 mg mL⁻¹. Assim, percebe-se que para valores inferiores se tem baixa intensidade de I_{pa}, e para concentrações superiores também há uma diminuição dos valores de corrente. Essa resposta, supostamente, está vinculada à carência e excesso da espécie mediadora da reação de oxidação, e a garantia de maiores quantidades de sítios catalíticos ativos na superfície do ECV (CORRÊA, 2013).

Os voltamogramas obtidos na Figura 17C exibem que o volume de 10,0 µL de QT/CoPc sobre a superfície do ECV possui intensidade de corrente mais acentuada que as demais. Essa informação sugere que houve melhor recobrimento da superfície eletródica e maior ativação dos sítios catalíticos sobre o ECV.

Diante disso, definiu-se que o ECV deve ser modificado com solução de QT 5,0 mg mL⁻¹ em 5,0 mg mL⁻¹ de CoPc com deposição de 10,0 µL de solução QT/CoPc sobre a sua superfície, uma vez que apresentaram maiores respostas no sinal analítico.

5.5 Desenvolvimento do método analítico para a quantificação da SFD por VPD

Mediante a avaliação dos parâmetros experimentais e das técnicas eletroquímicas, definiu-se que as melhores respostas do sinal analítico para a oxidação da SFD em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) é observada sobre ECV/QT/CoPc, com concentrações de QT e CoPc de 5,0 mg mL⁻¹ e volume de QT/CoPc de 10,0 µL. Além disso, notou-se que a VPD é a técnica mais apropriada para a detecção do analito, e por isso, foi necessário a otimização dos seus parâmetros específicos.

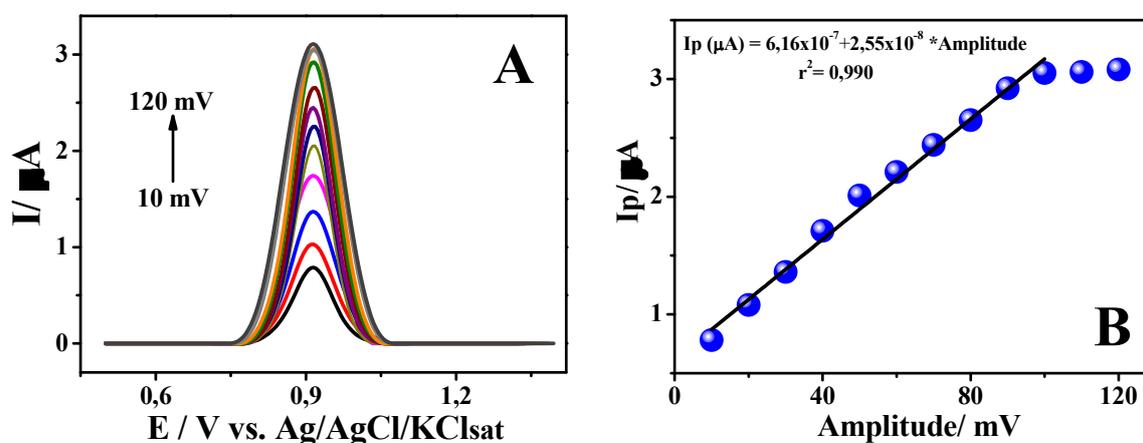
5.5.1 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA VPD

Os parâmetros da VPD (amplitude de pulso, tempo de pulso e incremento de varredura) foram investigados variando os seus valores em uma determinada faixa, com o intuito de aperfeiçoar o procedimento, obter sinais mais sensíveis, com melhor definição e adequados para o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica para a determinação da SFD.

5.5.1.1 Variação da amplitude de pulso (a)

Para o estudo de amplitude (a), os valores de velocidade (v), incremento de varredura (ΔE_s) e tempo de pulso (t) foram mantidos constantes, $0,05 \text{ Vs}^{-1}$, $5,0 \text{ mV}$ e $10,0 \text{ ms}$, respectivamente. A variação da amplitude foi realizada no intervalo de $10,0$ a 120 mV . Na Figura 18 estão apresentados os voltamogramas de pulso diferencial para o ECV/QT/CoPc em solução $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD.

Figura 18: VPD obtidos com ECV/QT/CoPc em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ de SFD, em diferentes amplitudes (A). Relação linear da I_{pa} com a variação da amplitude (B). Parâmetros: $t = 10 \text{ ms}$; $a = 5 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $v = 0,05 \text{ Vs}^{-1}$.



Fonte: Próprio autor (2019).

A partir da Figura 18A, pode-se observar que a variação da amplitude de pulso provocou um aumento considerável na corrente de pico (I_{pa}) com pequenas alterações na largura do mesmo. Além disso, percebe-se também que existe linearidade na faixa de $10,0$ a $90,0 \text{ mV}$ e para valores acima de $90,0$ a I_{pa} se mantém constante (Figura 18B). Em vista disso, definiu-se como parâmetro ideal a amplitude de $90,0 \text{ mV}$ em virtude de se ter maior valor de corrente e menor alargamento do pico.

5.5.1.2 Variação do tempo de Pulso (t)

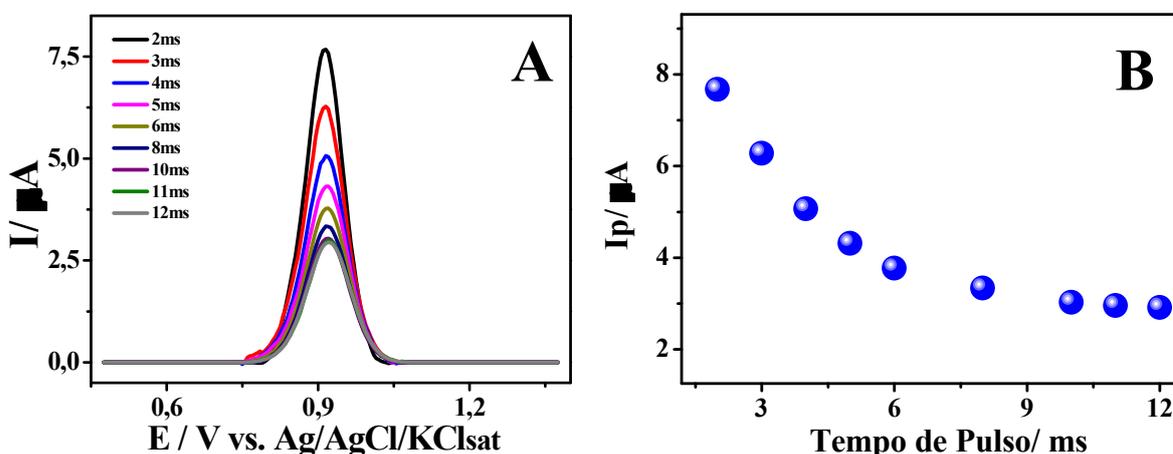
O efeito do tempo de pulso (t) sobre o ECV/QT/CoPc na oxidação de $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ da SDF foi avaliado na faixa de $2,0$ a $12,0 \text{ ms}$ com os demais parâmetros fixos ($a = 90 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$; $v = 0,05 \text{ Vs}^{-1}$). Os dados obtidos são mostrados na Figura 19.

Na Figura 19A e B, nota-se que o aumento do tempo de pulso provoca uma diminuição da I_{pa} . Isso, provavelmente, está relacionado com a maior contribuição da corrente faradáica e menor contribuição da corrente capacitiva. Henze (2003), mostra que os processos eletroquímicos sofrem influência na densidade de corrente com a mudança da variável tempo, e

que para maiores tempos de pulsos a corrente registrada é puramente faradáica (HENZE, 2003).

Embora a maior I_{pa} se apresente em 2,0 ms, nesse tempo verifica-se a cooperação dos dois tipos de corrente, faradáica e não-faradáica, com predominância da não-faradáica. No entanto, em processos eletroquímicos, quanto maior for a manifestação da corrente faradáica na corrente total medida melhor será a sensibilidade do sistema (PACHECO *et al.*, 2013). Com isso, o valor de 10,0 ms foi o escolhido para continuar o trabalho visto que é nesse tempo que se constata maior contribuição da corrente faradáica.

Figura 19: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com ECV/QT/CoPc em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) contendo 25 μmol L⁻¹ de SFD, em diferentes tempos de pulso (A). Relação linear da I_{pa} com a variação do tempo de pulso (B). Parâmetros: $a = 90$ mV; $\Delta E_s = 5$ mV; $v = 0,05$ Vs⁻¹.



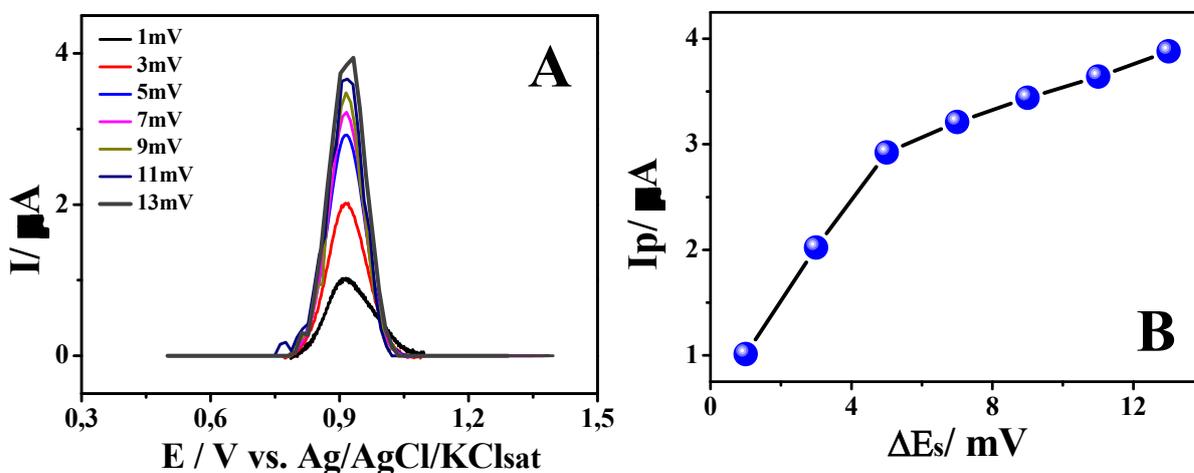
Fonte: Próprio autor (2019).

5.5.1.3 Variação do incremento de varredura (ΔE_s)

A medida do incremento de varredura (ΔE_s) foi estudada numa faixa que variou de 1,0 a 13,0 mV, mantendo-se constante a amplitude de 90 mV, tempo de pulso de 10,0 ms e velocidade varredura de 0,05 Vs⁻¹. Na Figura 20 são apresentados os impactos dessas alterações.

Os voltamogramas, Figura 20A e B, mostram que à medida que se aumenta o valor de incremento de varredura, há também um aumento na intensidade da corrente de pico (I_p). Além disso, é possível notar a perda da resolução do pico anódico com o uso de incrementos de varredura abaixo e acima de 5,0 mV; e alargamento para o valor de 1,0 mV. Dessa forma, foi escolhido o incremento de 5,0 mV para as análises subsequentes, uma vez que agregou elevado valor de corrente e melhor definição do pico.

Figura 20: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com ECV/QT/CoPc em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) contendo 25 μmol L⁻¹ de SFD, em diferentes valores de ΔE_s (A). Relação da I_{pa} com a variação do ΔE_s (B). Parâmetros: a = 90 mV; t = 10 ms; v = 0,05 Vs⁻¹.



Fonte: Próprio autor (2019).

A Tabela 2 mostra um resumo da otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial e os valores selecionados como ideal para a oxidação da SFD.

Tabela 2: Parâmetros da voltametria de pulso diferencial avaliados e os valores escolhidos.

Parâmetros	Intervalos estudados	Valores escolhidos
Amplitude	10 – 120 mV	90 mV
Tempo de Pulso	2 -12 ms	10 ms
Incremento de Varredura	1 – 13mV	5mV

Fonte: Próprio autor (2019).

5.6 Curva analítica

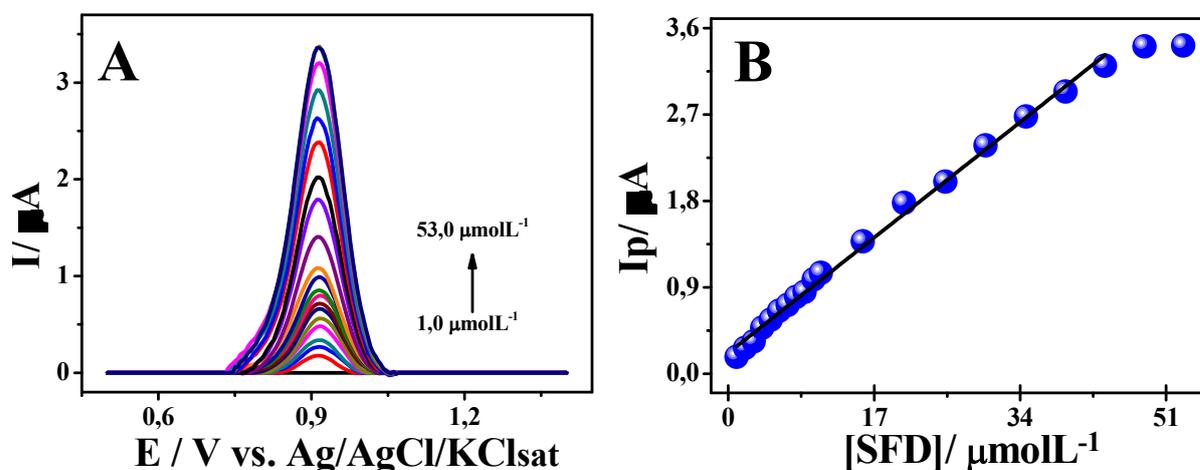
Após a otimização dos parâmetros experimentais, foi construída a curva de calibração (Figura 21) mediante adições sucessivas da solução estoque de SFD (1,0 mmol L⁻¹) à solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0).

Com as adições, observou-se aumento proporcional da intensidade da I_{pa} em virtude do aumento da sua concentração, no intervalo de trabalho estudado que foi de 1,0 a 53,0 μmol L⁻¹, e ainda um alargamento do pico da oxidação da SFD. A Figura 21A apresenta os voltamogramas obtidos a partir de consecutivas adições do analito.

A partir da dependência linear da corrente de pico com a concentração da SFD em solução (Figura 21B) encontrou-se a equação da reta (Equação 1) com coeficiente de correlação igual a 0,997.

$$I_p(\mu A) = 2,156 \times 10^{-7} + 0,071[SFD](\mu mol L^{-1}), r = 0,997 \quad \text{Equação 1}$$

Figura 21: Voltamogramas de pulso diferencial para diferentes concentrações da SFD sobre ECV/QT/CoPc em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0), com $a=90 \text{ mV}$, $t=10 \text{ ms}$, $\Delta E_s=5 \text{ mV}$ e $v=0,05 \text{ Vs}^{-1}$ (A). Dependência da I_{pa} de oxidação com a concentração de SFD (B).



Fonte: Próprio autor (2019).

Analisando a Figura 21B, é possível constatar que a faixa linear entre a intensidade do sinal de corrente e a concentração do analito foi observada entre $1,0$ e $43,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. A sensibilidade da metodologia é uma propriedade dependente da inclinação da curva de trabalho, em que delibera que quanto maior for à inclinação, maior será a sensibilidade (SKOOG *et al.*, 2014). Nesse caso, a sensibilidade encontrada foi de $0,071 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

5.6.1 LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

O limite de detecção (LD) corresponde à mínima concentração de um analito que dará um sinal três vezes superior ao nível de ruído da linha de base (SKOOG *et al.*, 2014). Para determiná-lo, foi necessária a utilização da relação matemática descrita na Equação 2:

$$LD = \frac{3S_b}{s} \quad \text{Equação 2}$$

Em que S_b é o desvio padrão da média de medidas do branco e s é a inclinação da reta obtida na curva analítica.

O desvio padrão da média das medidas do branco foi determinado a partir da média das correntes medidas em 10 voltamogramas na ausência do analito, apanhadas no potencial equivalente àquele do pico de oxidação da SFD. À vista disso, o valor do desvio encontrado foi de $S_b = 6,395 \times 10^{-9}$.

Outro parâmetro determinado foi o limite de quantificação (LQ), o qual é definido como a menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e

precisão aceitável, sob as condições experimentais adotadas. Pode ser estimado por meio do sinal/ruído, do desvio-padrão e por processos estatísticos (BRITO *et al.*, 2003). Para tal, empregou-se o método do desvio padrão que é apresentado na Equação 3.

$$LQ = \frac{10S_b}{s} \quad \text{Equação 3}$$

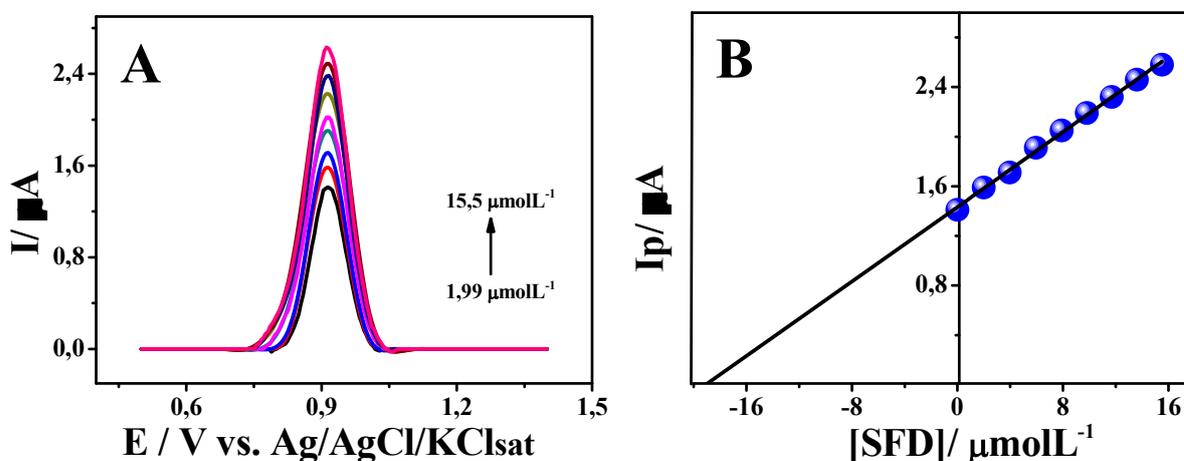
Assim, os valores de LD e LQ encontrados foram de $0,27 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,91 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Esses valores mostram-se inferiores ao proposto por Ferraz *et al.* (2018) na oxidação da sulfanilamida em ECV não modificado (FERRAZ *et al.*, 2018), expressando vantagens da modificação (QT/CoPc) na determinação do analito.

5.7 Aplicação analítica em amostra de fármaco veterinário

Com a finalidade de avaliar a exatidão do método proposto, isto é, o desempenho analítico do ECV/QT/CoPc na determinação da SFD, realizou-se a sua quantificação em formulações de fármacos veterinários pelo método de adição de padrão, o qual é um método muito utilizado em validação de processos analíticos.

O estudo consistiu na construção de uma curva analítica pelo método de adição padrão nas condições otimizadas (Figura 22). A amostra (solução otológica), previamente diluída em água deionizada e sem necessidade de pré-tratamento especial, apresentou o sinal característico da SFD, o qual aumentou quando submetido à subsequentes adições da solução padrão de SFD ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$), realizadas diretamente na célula eletroquímica.

Figura 22: Curva analítica de adição padrão obtida sobre ECV/QT/CoPc em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo adições sucessivas de SFD (A). Dependência da I_{pa} de oxidação com a concentração de SFD (B).



Fonte: Próprio autor (2019).

Por meio da equação da reta, $I_p(\mu A) = 1,432 \times 10^{-6} + 0,075[SFD](\mu mol L^{-1})$, obteve-se a concentração da SFD igual a $19,10 \mu mol L^{-1}$. Sabendo isso, realizou-se os cálculos e encontrou que a quantidade de SFD na amostra foi de $0,995 g$ (99,5%), apresentando um valor bem próximo do especificado na embalagem ($1,0 g$).

Segundo a farmacopeia brasileira, a sulfanilamida deve apresentar no mínimo 99% e, no máximo, 100% da quantidade declarada no rótulo (ANVISA, 2010). Sendo assim, o método proposto quantificou um valor dentro da faixa aceitável com desvio relativo de 0,32%, mostrando que a metodologia é viável para a determinação da sulfanilamida.

5.8 Estudo da recuperação da SFD

O ensaio de recuperação constitui o método mais utilizado para validação de processos analíticos, visto que está associada com a exatidão. A exatidão é definida como a quantidade de determinado analito, recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra, o qual é expresso como erro sistemático percentual, inerente ao processo. Esse erro sistemático, geralmente, ocorre pela perda da substância devido à baixa recuperação da extração, medidas volumétricas imprecisas ou substâncias interferentes na amostra etc. (BRITO *et al.*, 2003).

O estudo da recuperação, nesse trabalho, deu-se através da leitura da amostra (solução otológica) seguido de adições do padrão da SFD. Todos os ensaios realizados, em triplicata, foram nas condições otimizadas e em uma faixa de varredura de 0,4 a 1,2 V.

Para o cálculo da taxa de recuperação utilizou-se a equação da reta obtida na curva analítica (Figura 21B). A partir disso, obteve-se as concentrações da SFD, tanto da amostra quanto do padrão, e fazendo uso da Equação 4 calculou-se a quantidade percentual recuperada pelo processo.

$$Rec \% = \frac{|Concentração_{fortificada} - Concentração_{amostra}|}{Concentração_{adicionada}} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

As concentrações e as taxas de recuperação são apresentadas na Tabela 3, estando os valores obtidos entre 99,0% a 100% com desvio relativo máximo de 0,0500%.

Tabela 3: Recuperação de SFD em solução otológica.

Amostra	Adicionado ($\mu mol L^{-1}$)	Encontrado ($\mu mol L^{-1}$)	Recuperação (%)
Solução otológica	10	$10,06 \pm 0,0250$	$99,10 \pm 0,0500$
	20	$19,92 \pm 0,0050$	$99,50 \pm 0,0250$

Fonte: Próprio autor (2019).

Existem valores críticos aceitáveis de acordo com a concentração do analito em estudo. Esses valores são estimados considerando-se que análises de elementos majoritários costumam apresentar erros sistemáticos relativos muito inferiores àqueles obtidos para analitos em concentrações muito pequenas (BRITO *et al.*, 2002). A Tabela 4 apresenta a concentração do analito com seus respectivos intervalos de recuperação.

Tabela 4: Intervalo de recuperação aceitável do analito.

Concentração do Analito	Intervalo de recuperação aceito (%)
≥ 10	98 – 102
≥ 1	97 – 103
$\geq 0,1$	95 – 105
$\geq 0,01$	90 – 107
$\geq 0,001 - \geq 0,00001$	80 – 110
$\geq 0,000001$	60 – 115
$\geq 0,0000001$	40 - 120

Fonte: Brito et al. (2002).

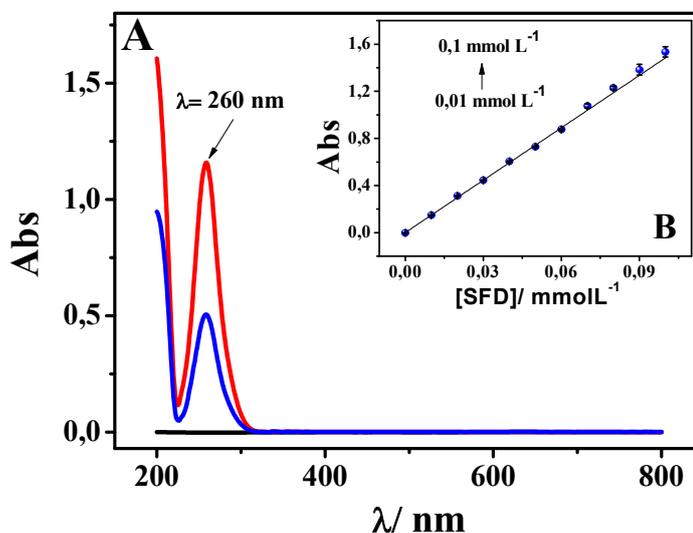
Nesse trabalho, a quantidade obtida está dentro do limite de erro aceitável, uma vez que se encontra dentro da faixa de recuperação tolerada para essa concentração do analito (60 - 115 %).

5.9 Validação do método

A validação do método analítico desenvolvido em VPD foi realizada por meio do método Espectrofotométrico UV-Vis utilizando a mesma amostra farmacológica (solução otológica). Para tanto, inicialmente, realizou-se uma varredura na faixa de 200 a 800 nm a fim de determinar o espectro de absorção da SFD. Os resultados obtidos por UV-Vis estão apresentados na Figura 23.

Baseado em estudos anteriores (PETROVIĆ *et al.*, 2017; SILVERSTEIN *et al.*, 2014), sabe-se que o espectro de absorção da SFD possui uma banda de absorção intensa a cerca de 260 nm. O cromóforo central da substância possui um anel aromático com uma absorvância máxima de cerca de 255 nm, entretanto, devido à presença de grupos amino e pares de elétrons livres derivados do nitrogênio; ocorre modificação batocrômico, isto é, um deslocamento na posição para um comprimento de onda (λ) mais elevado em virtude de um efeito de um substituto, da banda de absorção principal da SFD. Na Figura 23A o espectro de absorção da SFD em água, nas concentrações estudadas, apresenta-se em $\lambda = 260$ nm comprovando a validade dos resultados desse trabalho.

Figura 23: (A) Espectros de absorção obtidos na (—) ausência de SFD, (—) com solução padrão de SFD 0,07 mmol L⁻¹ e (—) solução otológica de SFD 0,03 mmol L⁻¹, $\lambda = 260$ nm. (B) Curva de calibração correspondente a sucessivas adições de solução padrão de SFD ($r = 0,999$).



Fonte: Fonte: Próprio autor (2019).

Para a quantificação de SFD na amostra, construiu-se uma curva de calibração (Figura 23B) em um intervalo de concentração de 0,01 a 0,1 mmol L⁻¹ de solução padrão de SFD. A partir dessa curva, quantificou-se a solução otológica de SFD em duas concentrações diferentes (0,03 e 0,06 mmol L⁻¹). A Tabela 5 apresenta os valores obtidos.

Tabela 5: Quantidades de sulfanilamida obtidas por VPD (proposto) e UV-Vis.

Solução otológica de sulfanilamida				
Especificação no rótulo	1,0 g/ 100 mL		Erro relativo (%)	
Técnica	VPD	0,995 ± 0,0032	E ₁	E ₂
	UV-Vis	1,039 ± 0,0014	3,40	1,39
		1,001 ± 0,0064		

$n = 3$; E₁ = erro relativo entre VPD e UV-Vis para solução otológica 0,03 mmol L⁻¹; E₂ = erro relativo entre VPD e UV-Vis para solução otológica 0,06 mmol L⁻¹. Fonte: Próprio autor (2019).

Os valores obtidos por meio da técnica UV-Vis, referentes à massa de sulfanilamida contida no rótulo do medicamento, estão próximos daqueles conseguidos pelo método proposto nesse trabalho, como mostrado na Tabela 5. Para o método UV-vis o desvio relativo foi de 0,13 e 0,63%, respectivamente, para as amostras na concentração de 0,03 e 0,06 mmol L⁻¹ de SFD.

Diante disso, fica evidente que a presença dos excipientes na formulação do medicamento não interferiu nas medidas eletroquímicas, e que não houve efeito significativo

de matriz, demonstrando a validade e aplicabilidade do método proposto com boa exatidão e precisão.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram que o ECV/QT/CoPc tiveram melhores respostas analítica que o ECV e ECV/QT para a determinação da SFD, sugerindo que as interações eletrostáticas entre a QT e a CoPc facilitaram a transferência eletrônica com a espécie eletroativa. Além disso, constatou-se um pico de oxidação irreversível em 0,97 V, e um de redução em 0,14 V, com comportamento eletroquímico fortemente dependente do meio da solução. O processo redox é controlado por difusão, envolve a transferência do número de elétrons igual ao de prótons e não provoca envenenamento do eletrodo base, na presença ou ausência do modificante, permanecendo o sinal de corrente constante em todas as varreduras.

A técnica escolhida para o desenvolvimento da metodologia de quantificação da SFD foi a VPD já que exibiu melhor comprometimento entre intensidade de corrente e qualidade do sinal analítico. Em condições otimizadas, foi definido a faixa de linearidade da curva analítica em 1,0 a 43,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limites de detecção e de quantificação de 0,27 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,91 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Esses valores se mostraram inferiores ao reportado na literatura para o ECV ausente de modificante, indicando melhoramento da sensibilidade do eletrodo base.

O método proposto foi aplicado com sucesso na quantificação de sulfanilamida em amostra farmacológica, e os resultados foram comparados com o método espectrofotométrico UV-Vis, os quais se mostraram estatisticamente iguais, sem interferência dos excipientes presentes na formulação, podendo então, ser utilizado em análises de rotina sem que haja a necessidade de pré-tratamento da amostra.

Para tanto, depreende-se que o objetivo principal foi atingindo de forma eficiente, uma vez que se obteve voltamogramas com valores de corrente de pico anódica elevada, estáveis e reprodutíveis. Além disso, embora tenha se apresentado pela primeira vez um método para determinação de SFD em fármacos utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com QT/CoPc, pôde-se notar que todos os valores encontrados estão de acordo com o reportado na literatura, com vantagens sobre algumas respostas analíticas; e que a SFD pode ser determinada por meio dessa metodologia simples, de baixo custo, com pouca geração de resíduos, boa exatidão e precisão e elevada sensibilidade.

REFERÊNCIAS

- ALEIXO, L. M. Voltametria: Conceitos e técnicas. **Universidade Estadual de Campinas**, São Paulo, 2003.
- ANVISA, A. N. D. V. S. **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: [s.n.], v. 2, 2010.
- ARAGÃO, J. S. et al. Electrochemical determination diethylstilbestrol by a multi-walled carbon nanotube/cobalt phthalocyanine film electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, p. 933-942, 2017.
- ARAÚJO, K. R. D. O. Estudo da determinação de ácido ascórbico em solução utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®. **Dissertação de Mestrado em Química**, Goiânia, 2017.
- BABAEI, A. et al. A sensitive determination of acetaminophen in pharmaceutical preparations and biological samples using multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 344-351, 2011.
- BARAN, W. et al. Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. **Journal of Hazardous Materials**, v. 196, p. 1-15, 2011.
- BARBOSA, C. G. R. D. N. Otimização e validação de um método espectrofotométrico para determinação da sulfanilamida na forma farmacêutica líquida. **Trabalho de Conclusão de Curso (Química licenciatura)- Universidade Federal da Paraíba**, Areia, Paraíba, 2017.
- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. Electrochemical methods: principles and applications. **New York: John Wiley**, p. 226, 2000.
- BERGER, J. et al. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, p. 19-34, 2004.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, p. 523-530, 2003.
- BRAGA, O. C. D. Comportamento eletroquímico e determinação eletroanalítica da sulfadiazina. **Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina**, p. 6-7, 2009.
- BRAIK, M. et al. Investigation of structural, optical and electrical properties of a new cobalt phthalocyanine thin films with potential applications in perchlorate sensor. **Synthetic Metals**, p. 135-142, 2015.
- BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. Electroquímica. Princípios, Métodos e Aplicações. **New York: Oxford University Press Inc.**, v. I, n. Almedina, 1996.
- BRITO, N. M. et al. Avaliação da exatidão e da precisão de métodos de análise de resíduos de pesticidas mediante ensaios de recuperação. **Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, p. 155-168, 2002.

BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, p. 129-146, 2003.

BRUNTON, L. L.; HILAL-DANDAN, R. **Manual de Farmacologia e Terapêutica de Goodman & Gilman**. 2^a. ed. [S.l.]: ARTMED , 2015.

BUKKITGAR, S. D. et al. Electro-oxidation of nimesulide at 5% barium-doped zinc oxide nanoparticle modified glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 762, p. 37-42, 2016.

CABRAL, M. F. et al. Estudo do comportamento eletroquímico do herbicida ametrina utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. **Eclética Química**, v. 28, 2003.

CANALES, C. et al. Electrochemical, theoretical and analytical studies of the electro-oxidation of sulfamerazine and norfloxacin on a glassy carbon electrode. **Electrochimica Acta**, v. 318, p. 847-856, 2019.

CARO, C. A.; BEDIQUI, F.; ZAGAL, J. H. Electrocatalytic oxidation of nitrite on a vitreous carbon electrode modified with cobalt phthalocyanine. **Electrochimica Acta**, p. 1489-1494, 2002.

CORRÊA, G. T. Determinação eletroanalítica do herbicida paraquat em soluções aquosas sobre eletrodos modificados com o sistema quitosana-NiTsPc. **Dissertação de Mestrado (Pós-graduação em Química)- Universidade Federal do Maranhão**, São Luís, 2013.

DANTAS, L. M. F. Determinação de hidrazina por voltametria de onda quadrada sobre eletrodo de grafite modificado com FeTPyPz. **Dissertação de mestrado (Química) - Universidade Federal do Maranhão**, São Luís (MA), p. 3 - 15, 2007.

DIAB, N. et al. A sensitive and selective graphene/cobalt tetrasulfonated phthalocyanine sensor for detection of dopamine. **Sensors and Actuators B: Chemical**, p. 17-23, 2019.

DÓREA, N. R. et al. Eletroquímica como ferramenta eficaz na remoção de fármacos em águas de abastecimento público. **Health and Environment World Congress**, p. 20-23, 2014.

DORETTO, K. M. Desenvolvimento de métodos visando a quantificação de sulfonamidas em medicamentos de uso veterinário e estudo de sorção/dessorção em solos. **Tese de Doutorado (Doutora em ciências)- Universidades Estadual de Campinas**, Campinas, 2012.

ENGIN, C. et al. Electroanalytical Investigation of Paracetamol on Glassy Carbon Electrode by Voltammetry. **International Journal of electrochemical science**, p. 1916-1925, 2015.

ERBETTA, G. M. Degradação fotocatalítica de sulfonamidas. **Dissertação de Mestrado**, Campinas, 2017.

ERRAYESS, S. A. et al. A sensitive method for the determination of Sulfonamides in seawater samples by Solid Phase Extraction and UV-Visible spectrophotometry. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 181, p. 276-285, 2017.

FERNANDES, B. C. F. Desenvolvimento de métodos limpos para screening e determinação de sulfonamidas em matrizes diversas. **Dissertação de Mestrado em Química**, Universidade Estadual Paulista de Araraquara, 2011.

FERRAZ, B. R. L. et al. Electrooxidation of sulfanilamide and its voltammetric determination in pharmaceutical formulation, human urine and serum on glassy carbon electrode. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, p. 55–59, 2018.

FERREIRA, A. P. M. Desenvolvimento de eletrodo de carbono vítreo modificado com CoTsPc/QT para determinação de sulfanilamida. **Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Licenciatura) - Universidade Federal do Maranhão**, São Luis, 2009.

FONSECA, I.; PROENÇA, L.; CAPELO, S. A voltametria cíclica e de varrimento linear unidirecional: suas potencialidades na caracterização de processos de corrosão. **Corrosão e Protecção de Materiais**, v. 34, 2015.

FUJIWARA, S. T. Ftalocianina de cobalto (II) coordenada a 3-n-propilimidazol sílica gel: preparação e propriedades. **Dissertação de Mestrado (Química) - Universidade Estadual de Campinas**, Campinas, 1998.

FULGÊNCIO, A. M. Fármacos residuais em alimentos. Controle, importância na saúde pública e sua política internacional. **Caderno de Farmácia**, v. 9, p. 23-26, 1993.

GALLI, A. et al. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, p. 105-112, 2006.

GARCÍA, M. C. M. et al. Determination of sulphathiazole and sulphanylamine by photochemically induced fluorescence and first-derivative fluorescence. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, p. 349-354, 2005.

GUARALDO, T. T. et al. Carbon black nanospheres modified with Cu (II)-phthalocyanine for electrochemical determination of Trimethoprim antibiotic. **Applied Surface Science**, p. 555-564, 2019.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. D. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, 2010.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 5ª. ed. [S.l.]: Rio de Janeiro: Livros Técnicos, 2001.

HE, B.-S.; YAN, X.-H. Modifications of Au Nanoparticle-Functionalized Graphene for Sensitive Detection of Sulfanilamide. **Sensors**, p. 13-18, 2018.

HENZE, G. **Introduction to Polarography and Voltammetry**. [S.l.]: Metrohm Ltd. 2003.

HERNÁNDEZ-IBÁÑEZ, N. et al. Reprint of: L-Cysteine determination in embryo cell culture media using Co (II)-phthalocyanine modified disposable screen-printed electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, p. 77-84, 2017.

HONARKAR, H.; BARIKANI, M. Applications of biopolymers I: chitosan. **Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly**, 2009.

JANEGITZ, B. C. et al. Desenvolvimento de um método empregando quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias. **Química Nova**, p. 879-884, 2007.

JANEGITZ, B. C.; JUNIOR, L. H. M.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação voltamétrica por redissolução anódica de Cu(ii) em águas residuárias empregando um eletrodo de pasta de carbono modificado com quitosana. **Química Nova**, v. 30, p. 1673-1676, 2007.

JERKOVIĆ, A. et al. Development of a cobalt(II) phthalocyanine- MWCNT modified carbon paste electrode for the detection of polyunsaturated fatty acids. **Analytica Chimica Acta**, p. 52-58, 2018.

KALACHE, A.; VERAS, R. P.; RAMOS, L. R. O envelhecimento da população mundial. Um desafio novo. **Revista de Saúde Pública**, v. 21, 1987.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia básica e clínica**. 12^a. ed. Porto Alegre: Mcgraw-hill Interamericana, 2014.

KIM, D.-W. et al. A novel sulfonamide resistance mechanism by two-component flavin-dependent monooxygenase system in sulfonamide-degrading actinobacteria. **Environment International**, p. 206-215, 2019.

KNIDRI, H. E. et al. Extraction, chemical modification and characterization of chitin. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 1181-1189, 2018.

KOZUB, B. R.; COMPTON, R. G. Voltammetric studies of the redox mediator, cobalt phthalocyanine, with regard to its claimed electrocatalytic properties. **Sensors and Actuators B**, p. 350 - 358, 2010.

KRAJEWSKA, B. Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. **Enzyme and Microbial Technology**, p. 126-139, 2004.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. D. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, p. 672-678, 2009.

LEZNOFF, C. C.; LEVER, A. B. P. **Phthalocyanines: Properties and Applications**. [S.l.]: Wiley-VCH, v. 4, 1996.

LIAO, X. et al. Antibiotic sulfanilamide biodegradation by acclimated microbial populations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 2439 - 2447, 2016.

LOURENÇO, A. S. et al. Voltammetric determination of tartaric acid in wines by electrocatalytic oxidation on a cobalt(II)-phthalocyanine-modified electrode associated with multiway calibration. **Analytica Chimica Acta**, p. 29-37, 2018.

LUZ, R. D. C. S. et al. Voltammetric determination of 4-nitrophenol at a lithium tetracyanoethylenide (LiTCNE) modified glassy carbon electrode. **Talanta**, p. 935-942, 2004.

MARQUES, L. D. L. Síntese, estrutura e avaliação da atividade antimicrobiana de complexos metálicos com sulfametoxazol. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

MAUDENS, K. E.; ZHANG, G.-F.; LAMBERT, W. E. Quantitative analysis of twelve sulfonamides in honey after acidic hydrolysis by high-performance liquid chromatography with post-column derivatization and fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1047, p. 85-92, 2004.

MENDES, A. A. et al. Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. **Química Nova**, 2011.

MOUNESH et al. Simultaneous and sensitive detection of ascorbic acid in presence of dopamine using MWCNTs-decorated cobalt (II) phthalocyanine modified GCE. **Microchemical Journal**, p. 755-763, 2019.

MSAGATI, T. A. M.; NGILA, J. C. Voltammetric detection of sulfonamides at a poly(3-methylthiophene) electrode. **Talanta**, p. 605-610, 2002.

NAHUZ, M. D. S. R. et al. Influências das orientações "basal" e "EDGE" e do pré-tratamento superficial nas propriedades eletroquímicas de eletrodos de grafite pirolítico modificados com ftalocianina de cobalto. **Cadernos de Pesquisas - UFMA**, p. 75-84, 2000.

OLIVEIRA, K. N. D. Síntese, Caracterização e Avaliação Biológica de Sulfonamidas e Sulfonilidrazonas. **Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, 2005.

OLIVEIRA, S. D. S. D. Aplicação das técnicas eletroanalíticas (voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial) usando o eletrodo de diamante dopado com boro para o estudo da isoniazida, etambutol, rifampicina e pirazinamida. **Dissertação de Mestrado**, Natal, RN, p. 73-130, Julho 2013.

ORGANIZATION, W. H. **Quality assurance of pharmaceuticals: A compendium of guidelines and related materials. Good manufacturing practices and inspection. 2. ed.** [S.l.]: Geneva, v. 2, 2007.

PACHECO, W. F. et al. Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Revista Virtual Química**, p. 516-537, 2013.

PARISOTTO, G. et al. Análise exploratória aplicada no estudo de medicamentos contendo piroxicam. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, p. 499-505, 2005.

PAVLOV, D. Lead-Acid Batteries: Science and Technology: A handbook of lead-acid battery technology and its influence on the product. **Electric Double Layer**, 2017.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. D. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, p. 1012-1021, 2002.

PETROVIĆ, S. et al. Sulfanilamide in solution and liposome vesicles; in vitro release and UV-stability studies. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, p. 1194-1200, 2017.

RAHMAN, M. et al. Prevalence and transmission of antimicrobial resistance among *Aeromonas* populations from a duckweed aquaculture based hospital sewage water recycling system in Bangladesh. **Antonie Van Leeuwenhoek**, p. 313-321, 2009.

RANG, H. P. et al. **Farmacologia**. 8^a. ed. [S.l.]: Elsevier, 2016.

RUPP, E. B. et al. Polarographic determination of some pesticides. Application to a study of their adsorption on lignin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, p. 2016-2021, 1992.

SANTOS, B. et al. Screening and analytical confirmation of sulfonamide residues in milk by capillary electrophoresis-mass spectrometry. **Electrophoresis**, p. 1567-1575, 2005.

SANTOS, J. R. M. P. D. Desenvolvimento de metodologias para a determinação de resíduos de sulfonamidas em leite UHT. **Programa de pós graduação em vigilância sanitária**, Rio de Janeiro, 2015.

SANTOS, M. S. D.; BIANCHIN, J. N.; SPINELLI, A. Desenvolvimento de metodologia analítica baseada em eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de bismuto: Aplicação em águas de chuva de regiões de Santa Catarina. **Eclética Química**, v. 36, 2011.

SANTOS, P. N. D. et al. Otimização e validação de métodos multirresíduo para determinação de sulfonamidas em camarão cultivado por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por UV. **Química Nova**, v. 34, p. 1265-1270, 2011.

SARMAH, A. K.; MEYER, M. T.; BOXALL, A. B. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. **Chemosphere**, p. 725-759, 2006.

SERESHTI, H.; KHOSRAVIANI, M.; AMINI-FAZL, M. S. Miniaturized salting-out liquid-liquid extraction in a coupled-syringe system combined with HPLC-UV for extraction and determination of sulfanilamide. **Talanta**, p. 199-204, 2014.

SHAABAN, H.; GÓRECKI, T. High-Efficiency Liquid Chromatography Using Sub-2 μm Columns at Elevated Temperature for the Analysis of Sulfonamides in Wastewater. **Chromatographia**, v. 74, p. 9-17, 2011.

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R. D.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, 2006.

SILVERSTEIN, R. M. et al. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 8^a. ed. [S.l.]: Wiley, 2014.

SKÖLD, O. Sulfonamide resistance: mechanisms and trends. **Drug Resistance Updates**, p. 155-160, 2000.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**: Tradução da 9^a edição norte-americana. 2. ed. [S.l.]: Cengage Learning Editores SA de CV, 2014.

SOTOMAYOR, M. D. P. T.; TANAKA, A. A.; TATSUO, L. T. K. L. Development of an enzymeless biosensor for the determination of phenolic compounds. **Analytica Chimica Acta**, p. 215-223, 2002.

SOUZA, D. D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, 2003.

SOUZA, P. H. M. D. Estudos eletroquímicos de complexos de Cu (II) de antibióticos da classe das fluorquinolonas. **Dissertação/ Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte, 2011.

STAFFIERI, P. Cross-reactivity of Sulfonamide Antibiotics With Common Sulfa Medications. **The Journal for Nurse Practitioners**, 2019.

TADI, K. K.; MOTGHARE, R. V.; GANESH, V. Electrochemical Detection of Sulfanilamide Using Pencil Graphite Electrode Based on Molecular Imprinting Technology. **Electroanalysis**, v. 26, p. 2328-2336, 2014.

TAMBOSI, J. L. Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento. **Tese de Doutorado (Pós-graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, 2008.

TASCA, F. et al. Linear versus volcano correlations for the electrocatalytic oxidation of hydrazine on graphite electrodes modified with MN4 macrocyclic complexes. **Electrochimica Acta**, p. 314-319, 2014.

TODD, W. J. et al. Electrochemically induced metalation of polymeric phthalocyanines. **Journal of the American Chemical Society**, p. 4887-4888, 1998.

URZÚA, L.; PÉREZ-ORTIZ, M.; ÁLVAREZ-LUEJE, A. Electrocatalytic oxidation and voltammetric determination of sulfamethazine. **Journal of the Chilean Chemical Society**, p. 63, 2018.

VANONI, C. R. et al. A Novel Electrochemical Sensor Based on Silsesquioxane/Nickel (II) Phthalocyanine for the Determination of Sulfanilamide in Clinical and Drug Samples. **Electroanalysis**, p. 867-875, 2019.

VASCONCELLOS, M. D. L. S. et al. Detecção amperométrica de sulfanilamida sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com complexo de cobalto. **Blucher Proceedings**, v. 1, 2017.

WANG, P. et al. Carbon-sensitized and nitrogen-doped TiO₂ for photocatalytic degradation of sulfanilamide under visible-light irradiation. **Water Research**, p. 5015-5026, 2011.

WEI, X. et al. Molecularly imprinted polymer/graphene oxide modified glassy carbon electrode for selective detection of sulfanilamide. **Progress in Natural Science: Materials International**, v. 27, p. 374-379, 2017.

WON, S.-Y. et al. Simultaneous detection of antibacterial sulfonamides in a microfluidic device with amperometry. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 39, p. 204-209, 2013.

XIA, Y. et al. Identification of dual-active sites in cobalt phthalocyanine for electrochemical carbon dioxide reduction. **Nano Energy**, 2019.

YARGEAU, V. et al. Impact of degradation products of sulfamethoxazole on mammalian cultured cells. **Environ Toxicol**, p. 492- 498, 2008.

ZAGAL, J. H. Metallophthalocyanines as catalysts in electrochemical reactions. **Coordination Chemistry Reviews**, p. 89-136, 1992.

ZHOU, L.-J. et al. Simultaneous determination of human and veterinary antibiotics in various environmental matrices by rapid resolution liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 12444, p. 123-138, 2012.