



Desenvolvimento de um sensor eletroquímico molecularmente impresso para a análise da hidroclorotiazida em águas ambientais

MARA ANDREIA FERNANDES PEREIRA

Setembro de 2025

Desenvolvimento de um sensor eletroquímico molecularmente impresso para análise da hidroclorotiazida em águas ambientais

Mara Andreia Fernandes Pereira

**Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Química, Área de Especialização em
Energia e Biorrefinaria**

Orientador: Hendrikus Nouws

Co-orientadores: Doutor João Pacheco e Doutora Patrícia Rebelo

Júri:

Presidente:

Anabela Maria Fonseca de Moura, Professor Adjunto, Instituto Superior de Engenharia do Porto

Vogais:

Estefanía Costa Rama, Associate Professor, Universidad de Oviedo

João Paulo Grosso Pacheco, investigador principal, REQUIMTE/LAQV

Resumo

A hidroclorotiazida (HCT) é um diurético amplamente utilizado no tratamento de hipertensão e retenção de líquidos. A sua presença tem sido detetada em amostras de águas ambientais, incluindo efluentes de Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETARs). As ETARs não são capazes de eliminar eficientemente os fármacos presentes nas águas residuais, pelo que estes são novamente libertados para as águas superficiais.

A União Europeia aprovou recentemente uma Diretiva que obriga a remoção da HCT pelas ETARs com uma eficiência mínima de 80 % em relação à sua carga afluente nas águas residuais municipais. Desta forma, novos métodos que permitam uma monitorização rápida, de baixo custo e portabilidade são fundamentais. Neste trabalho foi desenvolvido um sensor eletroquímico baseado num Polímero Molecularmente Impresso (MIP) para a análise de HCT, onde se usou como célula eletroquímica um eléctrodo de papel impresso a jatos de tinta. Posteriormente, o eléctrodo de trabalho foi modificado com tinta condutora de carbono e óxido de grafeno (GO). O sensor MIP foi construído por eletropolimerização do monómero funcional ácido 4-aminobenzóico na presença da HCT. O GO mostrou ser um nanomaterial eficiente para o aumento do sinal eletroquímico de HCT. O sensor MIP exibiu uma boa relação linear entre a concentração de HCT e a intensidade de corrente do pico de oxidação, tendo sido obtidos limites de deteção (LOD) e de quantificação de $1,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $5,7 \mu\text{mol L}^{-1}$, respetivamente.

O sensor MIP desenvolvido apresenta potencial para a análise de HCT em águas. No entanto, o LOD obtido pode ainda não ser suficiente para uma aplicação direta em águas ambientais, sobretudo em situações de contaminação reduzida.

Palavras-chave: Sensores eletroquímicos; polímeros molecularmente impressos; eléctrodos de papel; eletropolimerização; grafeno; hidroclorotiazida.

Abstract

Hydrochlorothiazide (HCT) is a diuretic that is widely used to treat high blood pressure and fluid retention. Its presence has been detected in environmental water samples, including Wastewater Treatment Plants (WWTPs) effluents. WWTPs are not able to effectively eliminate the drugs present in the effluent, so they are discharged into surface waters. The European Union has recently adopted a directive that requires HCT to be removed by WWTP with a minimum efficiency of 80% relative to its influent load in municipal wastewater. Therefore, new methods for rapid, inexpensive, and portable monitoring are essential. In this work, an electrochemical sensor based on a molecularly printed polymer (MIP) was developed for the analysis of HCT, using an inkjet-printed paper electrode as the electrochemical cell. Subsequently, the working electrode was modified with carbon ink and graphene oxide (GO). The MIP sensor was fabricated by electropolymerization of the functional monomer 4-aminobenzoic acid in the presence of HCT. GO was found to be an efficient nanomaterial for enhancing the electrochemical signal of HCT.

The MIP sensor exhibited a good linear relationship between HCT concentration and the oxidation peak current intensity, with limits of detection (LOD) and quantitation of 1.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 5.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively.

The developed MIP sensor shows potential for analyzing HCT in water. However, the obtained LOD may still not be sufficient for direct application in environmental waters, particularly in situations of low-level contamination.

Keywords: Electrochemical sensors; molecularly imprinted polymers; paper electrodes; electropolymerisation; graphene; hydrochlorothiazide.

Índice

1	Introdução	14
1.1	Enquadramento.....	14
1.2	Tema e Objetivos	14
1.3	O GRAQ	14
2	Estado da Arte	17
2.1	Fármacos em águas ambientais	17
2.2	Hidroclorotiazida (HCT)	17
2.3	Sensores voltamétricos	19
2.4	Polímeros molecularmente impressos (MIPs)	19
2.5	Técnicas de deteção	21
2.5.1	Voltametria de impulso normal (NPV).....	21
2.5.2	Voltametria de impulso diferencial (DPV)	22
2.5.3	Voltametria cíclica (CV)	23
3	Parte Experimental	25
3.1	Reagentes	25
3.2	Soluções	25
3.3	Equipamento.....	26
3.3.1	Construção da célula eletroquímica	26
4	Resultados e discussão	29

Orientador: Hendrikus Nouws

Co-orientadores: Doutor João Pacheco e Doutora Patrícia Rebelo

Júri:

Presidente:

Anabela Maria Fonseca de Moura, Professor Adjunto, Instituto Superior de Engenharia do Porto

Vogais:

Estefanía Costa Rama, Associate Professor, Universidad de Oviedo

João Paulo Grosso Pacheco, investigador principal, REQUIMTE/LAQV

Porto, outubro 2025

4.1	Estudo do pH na resposta eletroquímica da HCT	29
4.2	Construção do sensor MIP	30
4.3	Otimização da síntese do MIP e condições experimentais	32
4.4	Resposta analítica do sensor MIP	34
5	Estudos de seletividade	37
6	Aplicações em amostras de água	39
7	Conclusões e sugestões para trabalho futuro	41
	Referências.....	43
	Anexo I	46

Lista de Figuras

Figura 1 - Estrutura química da HCT (Information, 2025).....	18
Figura 2 - Representação esquemática do processo de síntese de um MIP (Bitas & Samanidou, 2018).	20
Figura 3 - Voltametria de impulso normal. (a) Representação gráfica do potencial aplicado em função do tempo. (b) Representação de um voltamograma de impulso normal (Almeida, 2000).	21
Figura 4 - Voltametria de impulso diferencial. (a) Representação gráfica do potencial aplicado em função do tempo. (b) Representação de um voltamograma de impulso diferencial (W. F. Pacheco, 2013).....	22
Figura 5 - Voltametria cíclica. (a) Representação gráfica do potencial aplicado em função do tempo. (b) Representação de um voltamograma cíclico característico (W. F. Pacheco, 2013). 23	
Figura 6 - Imagens dos (a) elétrodo de papel impresso pela impressora científica com jatos de tinta de prata e ouro, (b) elétrodo de papel modificado com tinta de carbono no WE, (c) elétrodo de papel modificado com óxido de grafeno; (d) conexão entre a interface.....	27
Figura 7 - Resposta eletroquímica de 1 mmol L ⁻¹ de HCT através de corrente e potencial do pico de oxidação em função do pH.....	29
Figura 8 - Voltamogramas cíclicos obtidos durante a eletropolimerização dos sensores MIP (presença de HCT) e NIP (ausência de HCT).....	30
Figura 9 - Voltamogramas obtidos por DPV em tampão Britton-Robinson (pH 4) após a eletropolimerização.	31
Figura 10 - Voltamogramas obtidos por DPV em tampão Britton-Robinson (pH 4) após a extração de HCT e incubação com 50 umol L ⁻¹ de HCT.....	32
Figura 11 - Otimização das condições de construção do sensor para determinação de 50 μmol L ⁻¹ de HCT : variação da concentração de ABA (A); variação da concentração de HCT (B); variação do número de ciclos (C); variação do tempo de incubação (D).	33
Figura 12 - Voltamogramas obtidos por DPV do sensor MIP após incubação com diferentes concentrações de HCT.....	34
Figura 13 - Relação linear entre a intensidade de corrente do pico de oxidação de HCT e a concentração.....	35
Figura 14 - Resposta eletroquímica obtida para os sensores MIP e correspondente NIP após incubação de HCT na presença de outros fármacos.....	37

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Resultados dos ensaios de recuperação do sensor MIP para HCT em amostras de água fortificadas.....	39
---	----

Acrónimos e Símbolos

Lista de Acrónimos

HCT	Hidroclorotiazida
ETAR	Estação de tratamento de Águas Residuais
SE	Sensor Eletroquímico
MIP	Polímero Molecularmente Impresso, do inglês <i>Molecularly Imprinted Polymer</i>
NIP	Polímero não Impresso, do inglês <i>Non Imprinted Polymer</i>
NPV	Voltametria de impulso normal, do inglês <i>Normal Pulse Voltammetry</i>
DPV	Voltametria de impulso diferencial, do inglês <i>Differential Pulse Voltammetry</i>
CV	Voltametria cíclica, do inglês <i>Cyclic Voltammetry</i>
DMF	N-N-dimetilformamida
PBS	Tampão fosfato, do inglês <i>Phosphate Buffer</i>
SPCE	Elétrodos serigrafados de carbono, do inglês <i>Screen Printed Carbon Electrodes</i>
WE	Elétrodo de trabalho, do inglês <i>Working Electrode</i>
CE	Elétrodo auxiliar, do inglês <i>Counter Electrode</i>
RE	Elétrodo de referência, do inglês <i>Reference Electrode</i>
LOD	Limite de detecção, do inglês <i>Limit of Detection</i>
LOQ	Limite de quantificação, do inglês <i>Limit of Quantification</i>

Lista de Símbolos

µm	Unidade de medida correspondente ao milésimo de metro
-----------	---

1 Introdução

Neste capítulo serão apresentados o enquadramento, o tema e os objetivos da dissertação, assim como uma pequena descrição do Grupo de Reação e Análises Químicas (GRAQ).

1.1 Enquadramento

Este projeto de investigação foi realizado no âmbito da unidade curricular Dissertação/Estágio (DISEST) do Mestrado em Engenharia Química, pertencente ao Departamento de Engenharia Química do Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP).

Este projeto teve uma duração aproximada de 5 meses, e foi realizada no laboratório de eletroquímica do (GRAQ), envolvendo uma parte de investigação e uma parte de pesquisa sobre o respetivo tema.

No Anexo I encontra-se a Declaração de Integridade relativamente ao trabalho realizado.

1.2 Tema e Objetivos

A presente dissertação teve como objetivo o desenvolvimento e otimização de um sensor eletroquímico baseado num polímero molecularmente impresso (MIP) para a análise da hidroclorotiazida (HCT) em águas ambientais.

1.3 O GRAQ

O GRAQ é formado por uma equipa diversificada de investigadores dedicados à exploração na área de Engenharia Química e da Química Verde. Tem como missão impulsionar a

investigação, aplicação e divulgação dos conhecimentos nestas áreas, visando a inovação, contribuindo também para o avanço científico e tecnológico. O GRAQ integra o Laboratório Associado para a Química Verde (LAQV) da Rede de Química e Tecnologia (REQUIMTE) (GRAQ, 2024). A REQUIMTE é uma organização científica sem fins lucrativos constituída pelas Universidade do Porto e NOVA de Lisboa, sendo considerada um Centro de Investigação de Excelência em Química Verde (REQUIMTE, 2024).

2 Estado da Arte

2.1 Fármacos em águas ambientais

A presença de fármacos em águas ambientais é uma preocupação crescente devido a potenciais impactos no ecossistema aquático e na saúde humana (Pereira, Silva, Laranjeiro, Lino, & Pena, 2020) (P. Chaturvedi et al., 2021). Os fármacos podem entrar no ambiente aquático através de diversas fontes, tais como excreções humanas e animal, descarte não adequado de fármacos, assim como através de efluentes de Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETARs) (Paíga, 2019). De facto, as ETARs têm sido identificadas como uma das principais fontes de disseminação de compostos farmacêuticos no ambiente aquático (P. Rebelo, 2022). Tal deve-se à ineficiência dos processos convencionais de tratamento, uma vez que as ETARs não foram originalmente concebidas para a remoção destes contaminantes emergentes. Consequentemente, a presença de fármacos em efluentes de ETARs tem sido reportada de uma forma crescente ao longo dos últimos anos.

A presença de fármacos no meio ambiente constitui uma preocupação emergente devido às potenciais repercussões ecológicas e sanitárias. Estes compostos podem contaminar corpos hídricos destinados ao consumo humano e ao uso industrial, acumular-se em organismos humanos e animais, e contribuir significativamente para o aumento da resistência microbiana. Neste contexto, a deteção, quantificação e monitorização de fármacos em águas ambientais revelam-se essenciais, sobretudo num cenário global marcado pelo crescimento populacional e pelo intensificar das atividades industriais e farmacêuticas.

A hidroclorotiazida (HCT) é um dos fármacos encontrados em águas ambientais (L. Molnarova, 2024).

2.2 Hidroclorotiazida (HCT)

A HCT é um fármaco pertencente à classe dos diuréticos, amplamente utilizado para tratar a hipertensão arterial e outras condições onde haja retenção de líquidos (Pinheiro, 2024). Os diuréticos ajudam o sistema renal a eliminar água e eletrólitos através da urina, reduzindo assim a acumulação de líquidos e, consequentemente, diminuindo a pressão arterial (Pinheiro, 2024). A estrutura química da HCT é constituída por um anel de benzotiadizina, que inclui um átomo de enxofre ligado a um grupo de sulfamida e a um átomo de cloro (Figura 1). Esta estrutura é responsável pela sua atividade diurética.

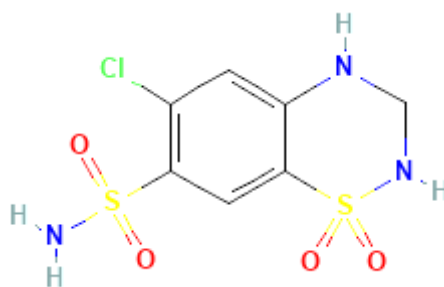


Figura 1 - Estrutura química da HCT (Information, 2025).

Dado ser um fármaco amplamente prescrito, a sua presença em efluentes de ETARs, assim como em águas superficiais tem vindo a ser descrita. Recentemente, uma nova Diretiva do Tratamento das Águas Residuais foi aprovada pela Comissão Europeia. Nesta, consta que até 2045 as ETARs têm de garantir a remoção de até pelo menos 80% da HCT, entre outros fármacos, dos seus efluentes (European Commission, 2022).

Desta forma o desenvolvimento de dispositivos analíticos que permitam uma monitorização rápida da presença ou ausência deste fármaco tornam-se essenciais (European Commission, 2022).

A metodologia amplamente usada para a análise de HCT é a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Apesar desta técnica ser muito eficiente, ela apresenta desvantagens como a necessidade de equipamentos e procedimentos caros, que envolvem o uso de grandes volumes de solventes orgânicos e exigem um tempo de análise longo. Desta forma, os sensores eletroquímicos destacam-se pela sua construção de baixo custo, pela necessidade de quantidades menores de solventes e pela rapidez na aquisição de resultados (Lahcen & Amine, 2019). Ao mesmo tempo, existe a necessidade de desenvolver métodos portáteis e facilmente descartáveis, para os quais estes sensores surgem como uma solução promissora.

Um sensor é um dispositivo analítico que converte fenómenos físicos num sinal digital mensurável que pode posteriormente ser visualizado e processado (Hulanicki, Glab, & Ingman, 1991). De uma forma geral, os sensores podem ser classificados em duas categorias principais: ativos e passivos. Os sensores ativos necessitam de um estímulo externo para funcionar, enquanto os sensores passivos não requerem uma força externa para produzir um sinal. Além disso, os sensores diferenciam-se também pelos seus mecanismos de deteção que podem ser elétricos, químicos, biológicos, radioativos, entre outros, bem como pelos fenómenos de transdução de sinal, podendo ser classificados como termoelétricos, fotoelétricos ou eletroquímicos (Javaid, Haleem, Rab, Singh, & Suman, 2021). Este trabalho incide sobre sensores eletroquímicos (SE), que de acordo com a técnica utilizada podem ser voltamétricos, amperométricos, impedimétricos, condutimétricos e potenciométricos.

Neste trabalho a técnica utilizada foi a voltamétrica, pelo que será abordada de uma forma mais detalhada.

2.3 Sensores voltamétricos

A voltametria é abordada quando uma reação química tem lugar na interface entre um material condutor de eletrões e outro condutor iónico, onde existe transporte de cargas entre a espécie química e o eléctrodo, sendo que o eléctrodo é um metal ou um material semiconductor e o condutor iónico é o eletrólito que pode assumir um estado físico aquoso ou sólido (O'Mullane, 2013).

O sistema de medição voltamétrico é constituído por três componentes principais: o potencióstato, o circuito de medição de intensidade de corrente, a célula voltamétrica e um sistema de registo de resultados. A célula voltamétrica, por sua vez, é geralmente composta por três eléctrodos: o eléctrodo de trabalho (WE), no qual é aplicado um potencial eléctrico que varia ao longo do tempo; o eléctrodo de referência (RE), que mantém um potencial constante durante toda a experiência; e o eléctrodo auxiliar (CE), responsável por conduzir a corrente eléctrica da fonte de energia através da solução até ao WE (O'Mullane, 2013). A técnica de voltametria permite obter informações qualitativas e quantitativas sobre substâncias presentes em solução, com base na aplicação de um potencial entre os eléctrodos de trabalho e de referência. A variação controlada desse potencial ao longo do tempo permite o registo simultâneo da corrente eléctrica gerada, originando uma curva característica — o voltamograma — que representa a relação entre a corrente e o potencial aplicado (Aleixo, 2018).

Uma das áreas mais relevantes e onde as técnicas eletroanalíticas são aplicadas são os SE.

Os SE são, tipicamente, constituídos por dois componentes: o recetor e um transdutor. O recetor pode ter origem biológica, como ADN, anticorpos ou enzimas (biossensores) ou ser artificial, como no caso dos polímeros molecularmente impressos (MIP). Este recetor interage seletivamente com o analito, convertendo essa interação num sinal de saída pré-determinado. Já o transdutor é responsável por converter esse sinal num valor que possa ser medido e/ou registado (Baranwal, Barse, Gatto, Broncova, & Kumar, 2022). Este tipo de tecnologia pode ser aplicado na medicina para identificação de infeções virais, para identificação de biomoléculas e de compostos nocivos ao ambiente de uma forma rápida e de fácil manuseamento (Baranwal, Barse, Gatto, Broncova, & Kumar, 2022), (N. P. Shetti, 2018), (I. Seguro, 2022).

2.4 Polímeros molecularmente impressos (MIPs)

Os MIPs são materiais sintéticos produzidos com cavidades de ligação seletivas que atuam como pontos de reconhecimento para uma molécula-alvo, imitando recetores naturais. Desta forma, são específicos e capazes de reconhecer e seleccionar compostos para os quais foram seletivamente impressos (D. Rapacz, 2024). São sintetizados através da mistura entre uma molécula modelo (o alvo) e um monómero funcional num solvente porogénico inerte, resultando num complexo de pré-polimerização (P. Rebelo et al, 2021). O polímero sintético deve ser complementar à substância a analisar em termos de forma, tamanho e grupos

funcionais, pelo que, teoricamente, será possível contruir um MIP para qualquer molécula. Desta forma, a seleção do monómero funcional é crucial para o sucesso da construção (I. Seguro, 2022). A preparação dos MIPs envolve três etapas principais: polimerização, extração e incubação (Figura 2).

A primeira etapa, a polimerização, é iniciada por um processo químico, térmico ou por radiação (UV) que irá permitir que os componentes adicionados à mistura de pré-polimerização formem uma matriz polimérica robusta em torno do alvo (I. Seguro, 2022).

Segue-se a etapa de extração onde a molécula-alvo é removida com uma solução apropriada e por um período definido, de modo a deixar o polímero com as cavidades especificamente compatíveis com a molécula-alvo.

A última etapa, a incubação, envolve o contacto da molécula-alvo com as cavidades previamente construídas com o objetivo de verificar se foram criadas ligações específicas (D. Rapacz, 2024).

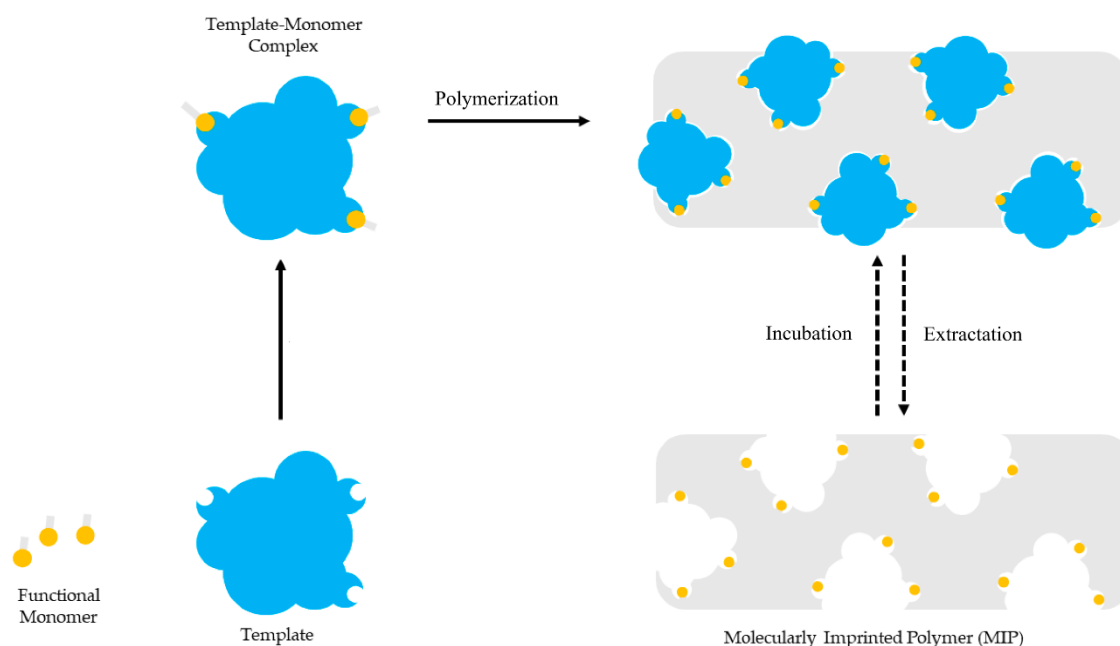


Figura 2 - Representação esquemática do processo de síntese de um MIP (Bitas & Samanidou, 2018).

A síntese de MIPs por eletropolimerização é a abordagem mais conveniente, uma vez que o polímero é criado na superfície do WE de uma forma controlada e sem necessidade de um passo adicional de imobilização (I. Seguro, 2022).

2.5 Técnicas de detecção

Utilizando SE baseados em MIPs registam-se alterações no sinal elétrico proporcionais à concentração da substância a analisar. Neste caso, a voltametria e a espectroscopia de impedância química são frequentemente utilizadas (P. Rebelo et al, 2021).

A voltametria relaciona a intensidade da corrente com o potencial numa célula eletroquímica, ou seja, quando o potencial é conservado ou impulsionado para um valor onde ocorre um processo faradaico envolvendo o WE e uma espécie química, verifica-se o aparecimento de corrente elétrica que pode ser usada para determinar uma concentração dessa espécie química em solução e, conseqüentemente, torna possível a obtenção de informação sobre a identidade dessa mesma espécie (Almeida, 2000).

Métodos voltamétricos incluem a voltametria de impulso normal (NPV), voltametria de impulso diferencial (DPV), voltametria cíclica (CV), entre outros. Nestes métodos, a eletroatividade do analito condiciona o mecanismo de detecção. Quando a substância é eletroativa o sinal de saída resulta de correntes faradaicas associadas a fenómenos de oxidação/ redução das substâncias usadas após a ligação com o MIP, sendo possível correlacionar a concentração da substância a analisar com a corrente medida. Por outro lado, para analitos não eletroativos, o sinal pode ser obtido utilizando sondas redox, em que a resposta da corrente é inversamente proporcional à concentração do analito, uma vez que concentrações mais elevadas reduzem os canais disponíveis para a difusão da sonda até à superfície do WE, diminuindo assim o sinal observado (P. Rebelo et al, 2021).

2.5.1 Voltametria de impulso normal (NPV)

A voltametria de impulso normal (NPV) consiste na aplicação de uma série de impulsos de potencial de amplitude crescente separados no tempo (Figura 3).

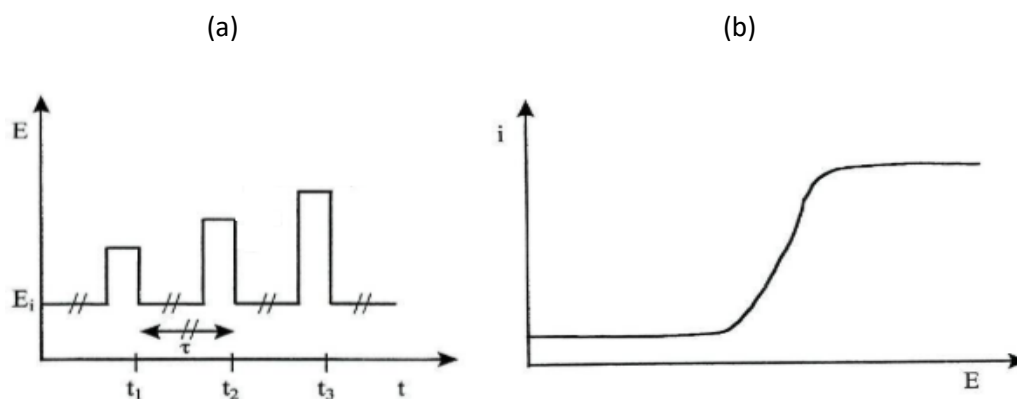


Figura 3 - Voltametria de impulso normal. (a) Representação gráfica do potencial aplicado em função do tempo. (b) Representação de um voltamograma de impulso normal (Almeida, 2000).

Os impulsos aplicados iniciam-se num certo valor de potencial E_i para o qual não ocorre reação no WE e vão aumentando progressivamente até ao ponto que ocorre a eletrólise. Uma vez chegando ao patamar da intensidade de corrente limite de difusão, a intensidade da corrente faradaica estabiliza, resultando no voltamograma típico, como está exemplificado na Figura 3 (b) (Almeida, 2000).

Neste tipo de voltametria, é possível aumentar a razão entre a intensidade de corrente faradaica e não-faradaica ao medir a intensidade de corrente no final de cada impulso, resultando em limites de deteção baixos (Almeida, 2000).

2.5.2 Voltametria de impulso diferencial (DPV)

A voltametria de impulso diferencial (DPV) baseia-se na aplicação de uma sequência de impulsos de potencial de amplitude constante separados no tempo, sendo a intensidade da corrente medida em dois momentos, t_1 , imediatamente antes do impulso iniciar e t_2 , imediatamente antes do impulso terminar, sendo registada a diferença entre t_1 e t_2 (Figura 2.4). A DPV pode ser usada na determinação de quantidades vestigiais (Almeida, 2000).

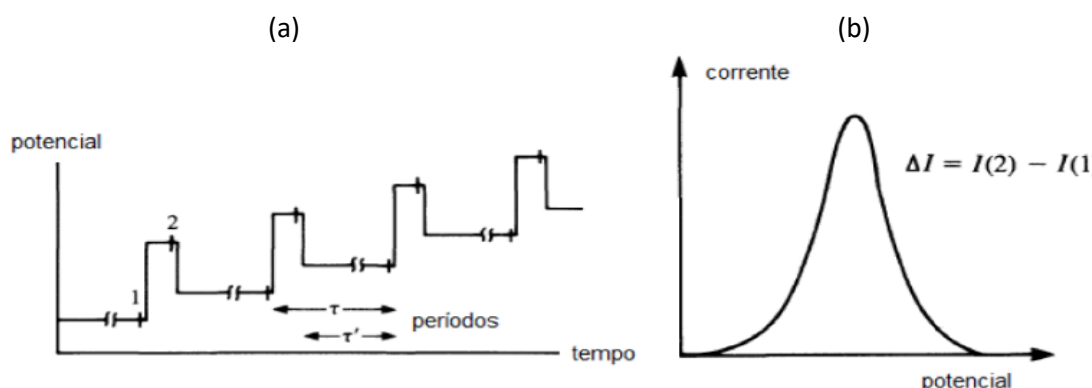


Figura 4 - Voltametria de impulso diferencial. (a) Representação gráfica do potencial aplicado em função do tempo. (b) Representação de um voltamograma de impulso diferencial (W. F. Pacheco, 2013).

As intensidades de corrente obtidas antes e depois de cada impulso são resultados obtidos após a integração durante dois períodos idênticos. Esses períodos são escolhidos de forma a permitir que a razão da intensidade de corrente faradaica sobre a não-faradaica aumente, possibilitando limites de deteção baixos (Almeida, 2000).

2.5.3 Voltametria cíclica (CV)

A CV é uma técnica eletroquímica que consiste em aplicar ao WE um potencial que varia de forma linear e cíclica dentro de um intervalo definido, enquanto se registra a corrente resultante. Durante o varrimento, podem ocorrer processos de oxidação e redução de espécies eletroativas na superfície do eletrodo. O gráfico obtido, denominado voltamograma cíclico, apresenta picos característicos de oxidação e redução muitas vezes comparado a um “bico de pato” (Figura 5) (C. Bracher, 2024). A voltametria cíclica é uma técnica muito utilizada para estudar as propriedades eletroquímicas de sistemas redox e para investigar a dinâmica de reações de transferência de eletrões.

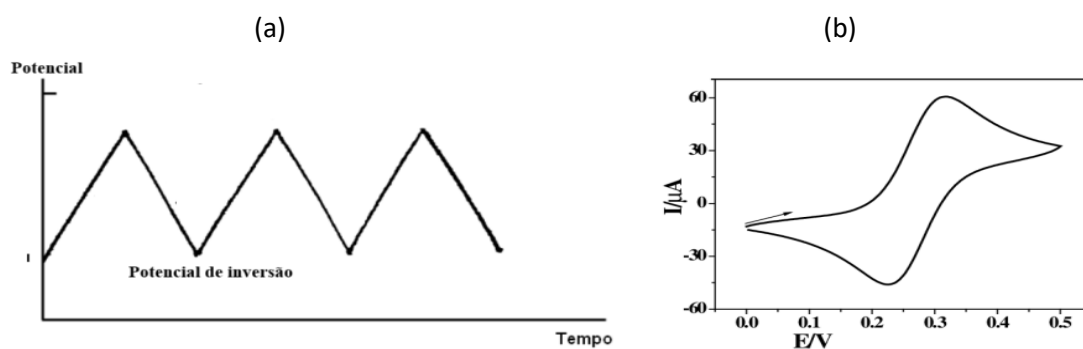


Figura 5 - Voltametria cíclica. (a) Representação gráfica do potencial aplicado em função do tempo. (b) Representação de um voltamograma cíclico característico (W. F. Pacheco, 2013).

3 Parte Experimental

3.1 Reagentes

Hidroclorotiazida (HCT), ácido 4-aminobenzoico (99% ABA), óxido de grafeno (4mg mL^{-1}), atenolol ($\geq 98\%$ ATN) e metoprolol (MET) foram adquiridos à Sigma-Aldrich. N-N-dimetilformamida ($\geq 98\%$ DMF), dihidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4) e hidrogenofosfato de potássio (K_2HPO_4) foram adquiridos à Merck. Ácido acético glacial ($\geq 99,8\%$) e ácido bórico (100,3%) foram obtidos na VWR Chemicals. Hidróxido de sódio NaOH), metanol ($\geq 99,9\%$ MeOH) e ácido orto-fosfórico (85%) foram adquiridos à LabChem, Honeywell e Panreac, respectivamente. As tintas de ouro e prata usadas para fabricar os elétrodos foram obtidas na Novacentrix (Silver Metalon® JS- A191-S and Gold Metalon® JG-125). A tinta de carbono usada para posteriormente modificar o WE foi obtida através da SunChemical (DIC group, UK).

3.2 Soluções

Foram preparadas soluções tampão fosfato (PBS) 0,1 M a pH 7, juntando quantidades adequadas de KH_2PO_4 e K_2HPO_4 e acertando o pH com NaOH. Soluções tampão Britton-Robinson foram preparadas utilizando ácido bórico (0,04 M), ácido acético glacial (0,04 M) e ácido orto-fosfórico (0,04 M), onde se ajustou o pH desejado com NaOH.

As medições eletroquímicas foram realizadas usando tampão Britton-Robinson pH4.

Foram preparadas soluções mãe de HCT de 80 mmol L^{-1} em MeOH. As soluções mãe de ABA foram preparadas em PBS 0,1 M.

As soluções de polimerização foram preparadas em PBS juntando quantidades adequadas das soluções mãe de HCT e ABA.

Para a extração da HCT do MIP foi utilizada uma solução de NaOH de 0,1 M.

Durante todo o trabalho foi utilizada água ultrapura com resistividade de $18,2\ \Omega\cdot\text{cm}$, obtida por um sistema de purificação de água Millipore (Synergy UV).

3.3 Equipamento

As medições voltamétricas foram realizadas com um potencióstato/galvanostato da marca *Metrohm Autolab*, modelo PGSTAT20 controlado pelo software NOVA da *Metrohm Autolab*, versão 1.10.

Ao longo do projeto foram utilizadas micropipetas de 10 μL , 20 μL , 200 μL e 1000 μL *Labnet Biopette plus*.

Como medidor de pH, foi utilizado um medidor da marca *Crison* modelo micropH 92002 com eletrodo combinado de vidro.

Em todas as pesagens efetuadas ao longo do trabalho, foi utilizada uma balança analítica com precisão de 0,01 mg da *Metler Toledo, NewClassic MS*.

3.3.1 Construção da célula eletroquímica

A célula eletroquímica utilizada consistiu num eletrodo de papel impresso a jato de tinta por uma impressora científica – DIMATIX DMP2850. O formato dos eletrodos teve como base a configuração utilizada nos eletrodos serigrafados de carbono (SPCE), a qual foi desenhada pelo software de desenho *Inkscape* (Figura 6).

Assim, a configuração consiste num arranjo de 3 eletrodos impressos em papel (papel comercial *Toughprint*), com um WE circular impresso com tinta de ouro (diâmetro 3 mm), CE impresso com tinta de prata e um eletrodo de pseudorreferência impresso com tinta de ouro (Figura 6 (a)). As conexões foram impressas com tinta de prata. Após a impressão, o papel foi deixado a secar numa estufa a 175 $^{\circ}\text{C}$ durante 10 min. Posteriormente, o WE foi modificado com 3 μL de tinta de carbono (23% de pasta de carbono em DMF colocada num banho de ultrassons H-D, *Selecta* durante 1 h), onde previamente se colocou um adesivo circular com 4 mm de diâmetro para uma circunferência reprodutível e uniforme (Figura 6 (b)). Os eletrodos foram deixados a secar durante 24 h à temperatura ambiente. De forma a aumentar o sinal eletroquímico da HCT no sensor produzido, o WE foi ainda modificado com 5 μL de GO (0,5 mg mL^{-1}), o qual foi seco durante 10 min com uso de uma lâmpada de aquecimento. Por fim, foi colocada uma fita adesiva isoladora entre as conexões e o WE de forma a evitar o contacto das soluções depositadas sobre o WE com as conexões (Figura 6(c)). Desta forma, os eletrodos estavam preparados para a conexão entre a interface comercial e o potencióstato, permitindo as futuras modificações de superfície necessárias à construção do MIP (Figura 6 (d)).

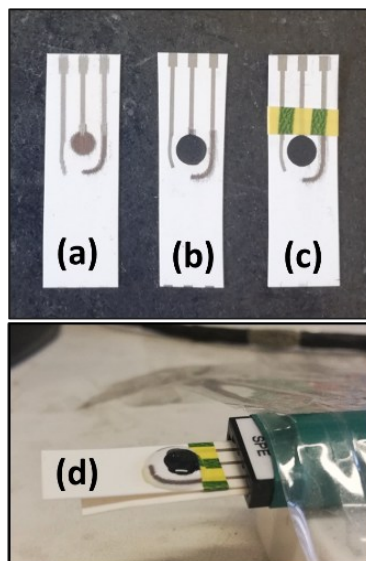


Figura 6 - Imagens dos (a) elétrodo de papel impresso pela impressora científica com jatos de tinta de prata e ouro, (b) elétrodo de papel modificado com tinta de carbono no WE, (c) elétrodo de papel modificado com óxido de grafeno; (d) conexão entre a interface.

O MIP foi preparado por eletropolimerização diretamente na superfície do elétrodo de papel, sobre o qual foram depositados 40 μL de uma solução de PBS contendo concentrações otimizadas de 25 mmol L^{-1} de ABA e 8 mmol L^{-1} de HCT. Para controlo, foi preparado de igual forma um polímero molecularmente não impresso (NIP), mas sem a presença de HCT na solução de polimerização. A eletropolimerização foi efetuada através de CV que consistiu na aplicação 5 ciclos consecutivos numa gama de potencial de 0,0 a +1,1 V com uma velocidade de varrimento de 100 mV s^{-1} .

Após a eletropolimerização, os elétrodos foram cuidadosamente lavados com água ultrapura e secos com a ajuda da lâmpada de aquecimento.

Para efetuar o processo de extração das moléculas de HCT, os elétrodos modificados foram sujeitos a 30 ciclos de CV entre +0,2 e +1,0 V com uma velocidade de varrimento de 100 mV s^{-1} em NaOH 0,1 M.

Por fim, a religação das moléculas do fármaco foi efetuada através da incubação com diferentes soluções de HCT. Para isso, foram depositados 20 μL da solução sobre o WE durante 60 s, ao fim do qual os elétrodos foram lavados com água ultrapura e secos. A medição direta do sinal da HCT foi obtida por DPV numa gama de potencial de +0,3 a +1,2 V, com amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varrimento de 50 mV s^{-1} , usando tampão Britton-Robinson a pH 4 como eletrólito.

4 Resultados e discussão

4.1 Estudo do pH na resposta eletroquímica da HCT

Inicialmente, a influência do pH da solução usada como eletrólito no comportamento oxidativo da HCT foi avaliada. Para tal, soluções do tampão Britton-Robinson foram preparadas com pH a variar entre 2 e 10 e a intensidade de corrente do pico de oxidação e o potencial foram registados por DPV (Figura 7).

Foi possível observar que a intensidade de corrente do pico de oxidação da HCT aumentou com o aumento de pH até ao máximo de pH 4. Após o pH 4 verificou-se uma descida gradual, sugerindo uma menor disponibilidade de prótons a pH mais elevado que pode dificultar a oxidação da HCT. O potencial de oxidação diminuiu com o aumento de pH.

Assim, a solução usada para efetuar as medições voltamétricas foi tampão Britton-Robinson pH 4, uma vez que se obteve a maior intensidade de corrente do pico de oxidação a +0,8 V.

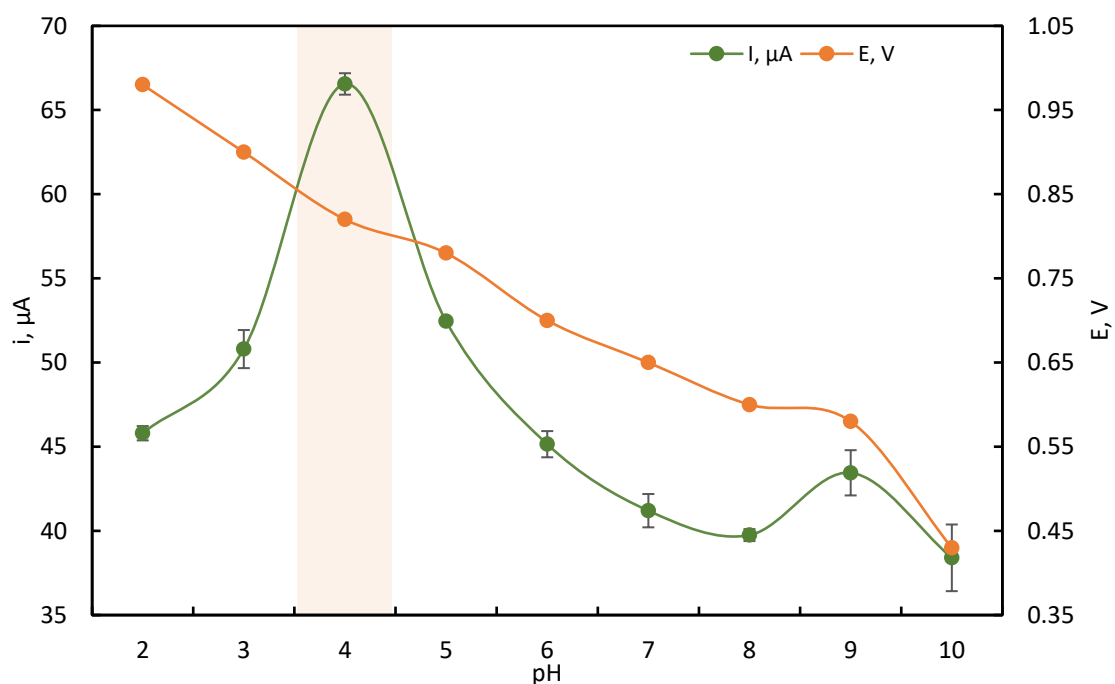


Figura 7 - Resposta eletroquímica de 1 mmol L⁻¹ de HCT através de corrente e potencial do pico de oxidação em função do pH.

4.2 Construção do sensor MIP

Para encontrar o monómero funcional mais adequado foram feitos vários ensaios, nomeadamente com o ABA, pirrole, 3,4-etilenodioxitiofeno e o ácido 3-aminofenilborónico. No entanto, o ABA foi o composto que apresentou uma melhor interação com a HCT, permitindo obter uma maior intensidade de pico de oxidação e posterior seletividade.

Após a seleção do ABA como o monómero funcional mais adequado, foi colocado sobre a célula eletroquímica de papel com GO reduzido (rGO), 40 μL de uma solução com 25 mmol L^{-1} de ABA e 8 mmol L^{-1} de HCT em PBS (pH 7) seguindo-se a eletropolimerização diretamente na superfície do eletrodo, onde foram aplicados 5 ciclos de CV entre 0,0 e +1,1 V a 100 mV s^{-1}

Na Figura 8 apresentam-se os ciclos de CV registados durante a preparação dos sensores MIP e NIP.

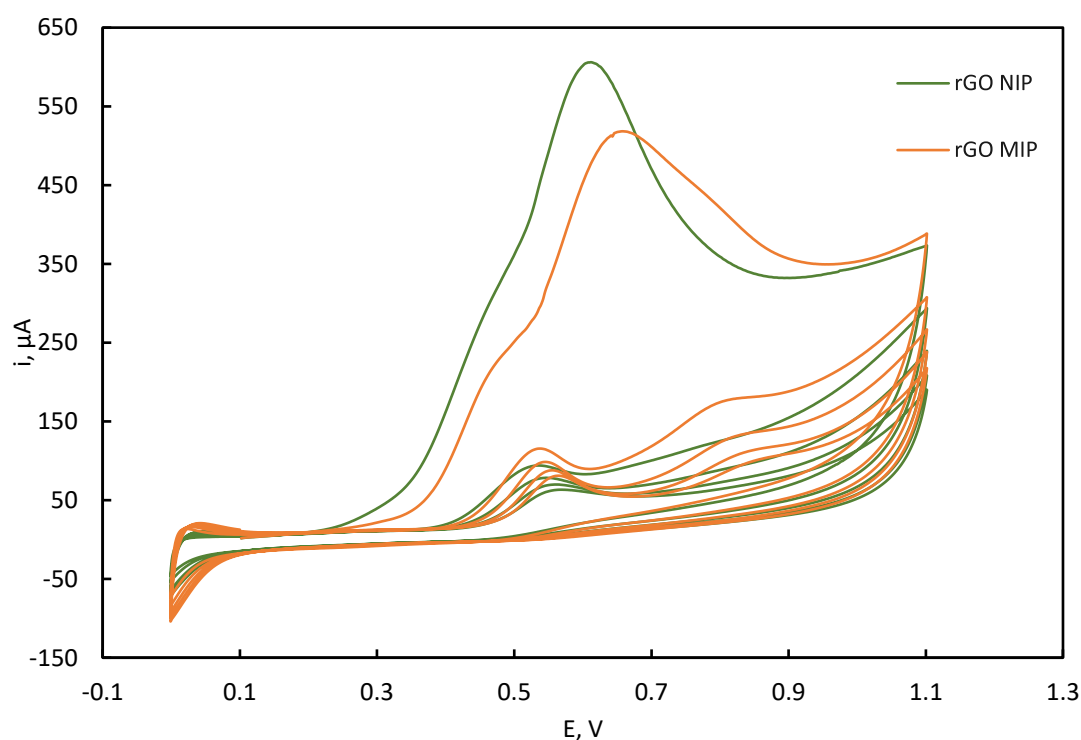


Figura 8 - Voltamogramas cíclicos obtidos durante a eletropolimerização dos sensores MIP (presença de HCT) e NIP (ausência de HCT).

Como se pode observar, a corrente diminuiu progressivamente com o aumento do número de ciclos, indicando o crescimento gradual de um filme polimérico compacto sobre a superfície do WE. O pico observado em torno de +0,5 – +0,6 V deve-se à oxidação do ABA, enquanto o pico em cerca de +0,8 V, observado exclusivamente durante a síntese do sensor MIP, está associado à oxidação da HCT.

Uma vez que a HCT é eletroativa nesta gama de potencial, estes resultados são consistentes com a sua incorporação no polímero sintetizado, que foi posteriormente confirmada por DPV (Figura 9). Como pode ser analisado através da **Erro! A origem da referência não foi encontrada.**, enquanto o MIP exibiu um pico de oxidação aproximadamente a +0,8 V, o mesmo não se verificou no NIP, confirmando a eficácia do processo de impressão molecular. Além disso, foi possível observar diferenças significativas entre os sensores MIP modificados com e sem rGO (Figura 9). Após a modificação com rGO, o pico de oxidação da HCT aumentou e deslocou-se para potenciais mais positivos, evidenciando um aumento da área superficial e condições que permitem um aumento da sensibilidade do sensor à presença de HCT.

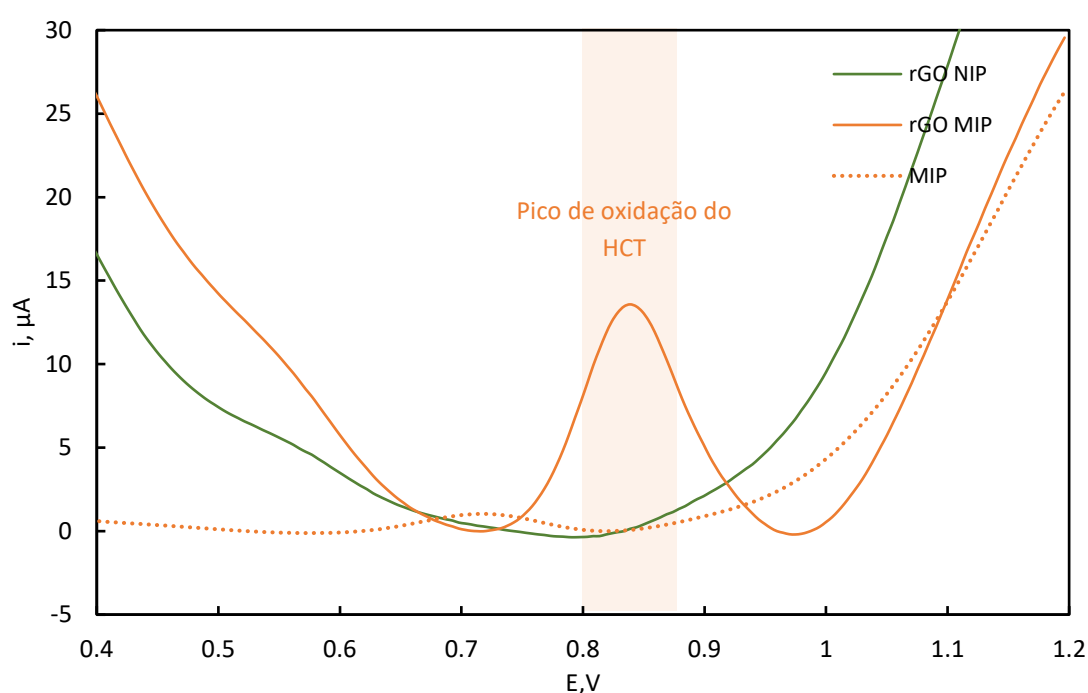


Figura 9 - Voltamogramas obtidos por DPV em tampão Britton-Robinson (pH 4) após a eletropolimerização.

Posteriormente procedeu-se à extração da HCT por CV, onde se aplicaram 30 ciclos voltamétricos num intervalo de potencial entre +0,2 V e +1,0 V a 100 mV s^{-1} , usando uma solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH com subsequente incubação da HCT por 60 s. A resposta eletroquímica dos sensores após extração e incubação foi avaliada por DPV e os resultados estão registados na Figura 10. Através da Figura 10, foi possível observar que após a extração nenhum pico de oxidação foi registado, confirmando o sucesso do procedimento.

Após a incubação, e comparando a respostas dos sensores MIP e NIP, foi possível observar que o pico de oxidação do MIP foi significativamente superior ao do NIP, confirmando a maior capacidade de reconhecimento do sensor MIP e o sucesso na criação de cavidades poliméricas para a HCT.

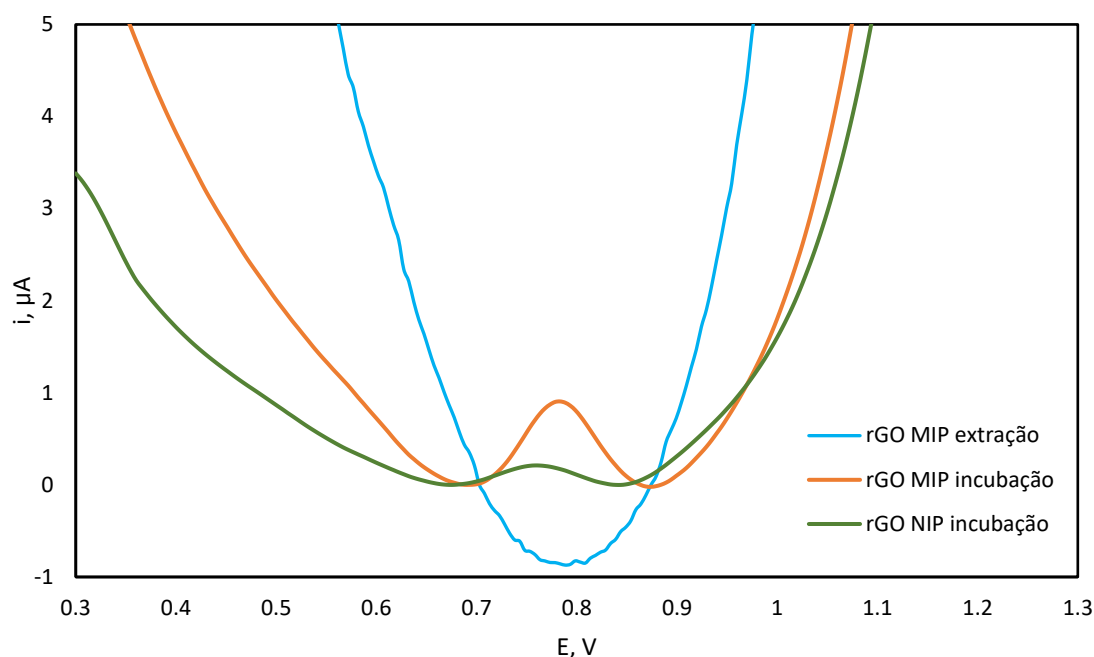


Figura 10 - Voltamogramas obtidos por DPV em tampão Britton-Robinson (pH 4) após a extração de HCT e incubação com 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HCT.

4.3 Otimização da síntese do MIP e condições experimentais

Ao construir um sensor eletroquímico baseado em MIPs é essencial otimizar as suas condições de preparação, incluindo a composição da solução de polimerização, isto é, as concentrações do monómero funcional e da molécula-alvo, número de ciclos de polimerização e o tempo de incubação. Para garantir a máxima resposta eletroquímica e seletividade do sensor, a influência destes parâmetros na performance do sensor foi avaliada após incubações com 20 μL de HCT a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ tanto no MIP como no NIP.

Na procura da combinação ideal entre o monómero funcional e a HCT na solução de polimerização, as concentrações do monómero ABA e do fármaco HCT foram otimizadas. Foram preparados sensores MIPs e NIPs com uma concentração fixa de HCT (6,0 mmol L^{-1}) e com 6 concentrações variáveis de ABA (2,0, 10, 20, 25, 30 e 40 mmol L^{-1}). Na Figura 11 (A) é possível observar um aumento gradual da intensidade de corrente do MIP até 25 mmol L^{-1} , seguido por uma descida acentuada em concentrações superiores. Este comportamento sugere a formação de uma camada polimérica espessa sobre o WE que pode favorecer interações entre moléculas de ABA e reduzir a disponibilidade de locais de ligação para as moléculas de HCT.

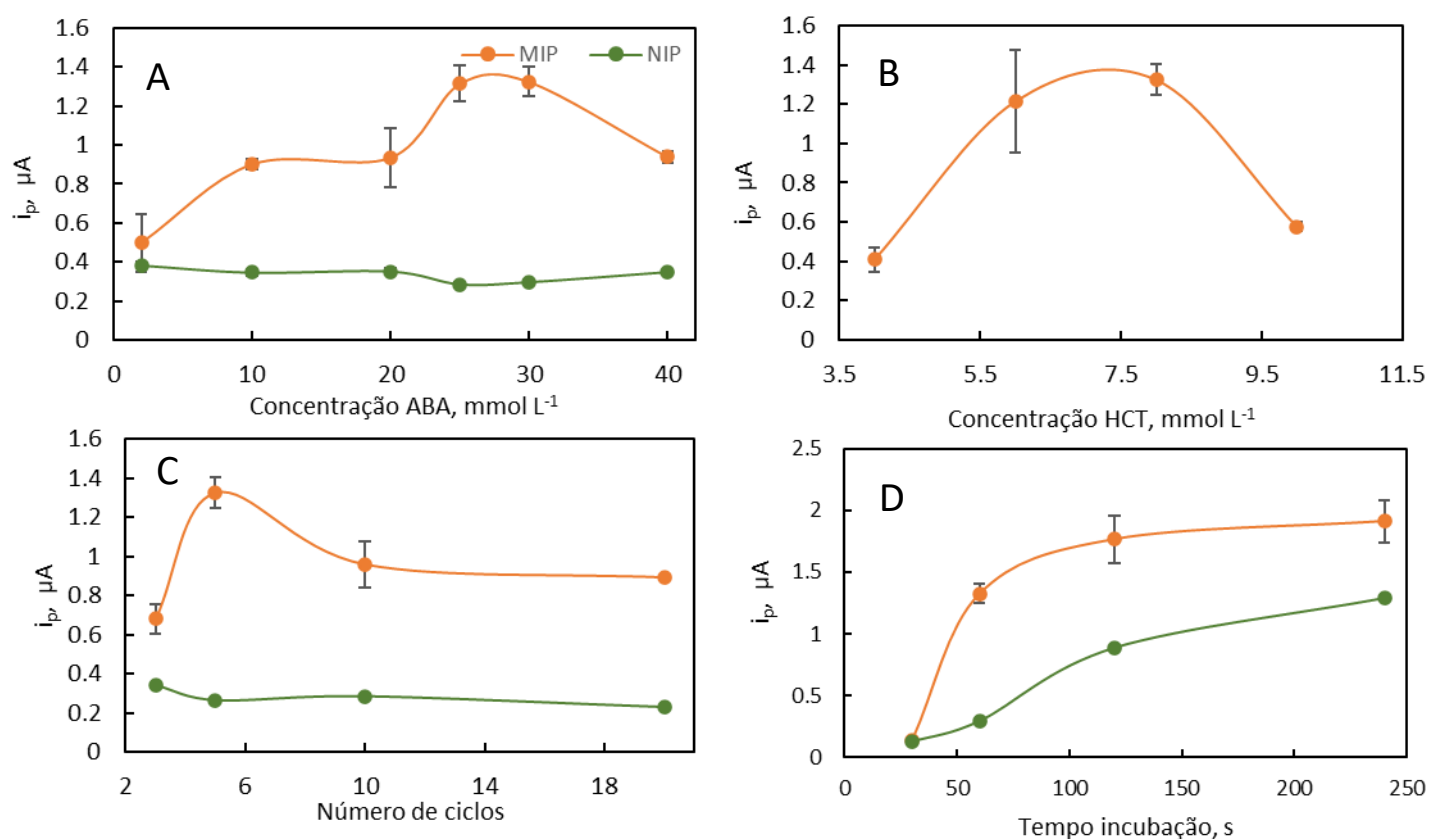


Figura 11 - Otimização das condições de construção do sensor para determinação de $50 \mu mol L^{-1}$ de HCT : variação da concentração de ABA (A); variação da concentração de HCT (B); variação do número de ciclos (C); variação do tempo de incubação (D).

De uma forma semelhante, para encontrar a melhor concentração de HCT, fixou-se a concentração de ABA ($25 mmol L^{-1}$) e polimerizaram-se 4 MIPs com concentrações variáveis de HCT ($4,0, 6,0, 8,0$ e $10 mmol L^{-1}$) (Figura 11 (B)). ~

Analisando a Figura 11(B) observa-se que existe um aumento da resposta do sensor MIP entre $4,0$ e $8,0 mmol L^{-1}$, seguindo-se uma diminuição da intensidade de pico com o aumento da concentração. Tal comportamento poderá ser justificado por possíveis aglomerações e moléculas de HCT não ligadas na superfície do papel que podem comprometer a condutividade.

Tendo em conta que se pretende ter a máxima sensibilidade sem comprometer a seletividade, a eletropolimerização foi efetuada utilizando $25 mmol L^{-1}$ de ABA e $8 mmol L^{-1}$ de HCT.

Outro fator influenciador da sensibilidade do sensor varia com a permeabilidade e espessura do filme polimérico. Então, tendo as concentrações otimizadas de ABA e HCT, procedeu-se à otimização do número de ciclos a usar durante o processo de eletropolimerização ($3, 5, 10$ e 20 ciclos) (Figura 11 (C)). A partir da análise da Figura 11 (C) é

possível observar que as melhores respostas eletroquímicas foram obtidas com a aplicação de 5 ciclos durante a polimerização, sugerindo que um maior número de ciclos forma um filme polimérico mais denso que diminui a acessibilidade das moléculas do fármaco aos locais de ligação, diminuindo por sua vez a sensibilidade do sensor. Tendo em conta estes resultados, 5 ciclos foram usados para os posteriores ensaios.

Por último, foi avaliado o melhor tempo de incubação da HCT (30, 60, 120 e 240 s) (Figura 11 (D)). Os resultados ilustrados na Figura 11(D) mostram um aumento gradual da resposta eletroquímica da HCT com o aumento do tempo de incubação, no entanto, verificou-se que um maior tempo de incubação diminui a seletividade do sensor MIP, sugerindo um aumento de interações não específicas. Assim, foi selecionado um tempo de incubação ótimo de 60 s.

4.4 Resposta analítica do sensor MIP

Após otimização das condições experimentais, a resposta analítica do sensor MIP para diferentes concentrações de HCT (de 5 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) foi analisada por DPV para construir a curva de calibração (Figura 12 e Figura 13).

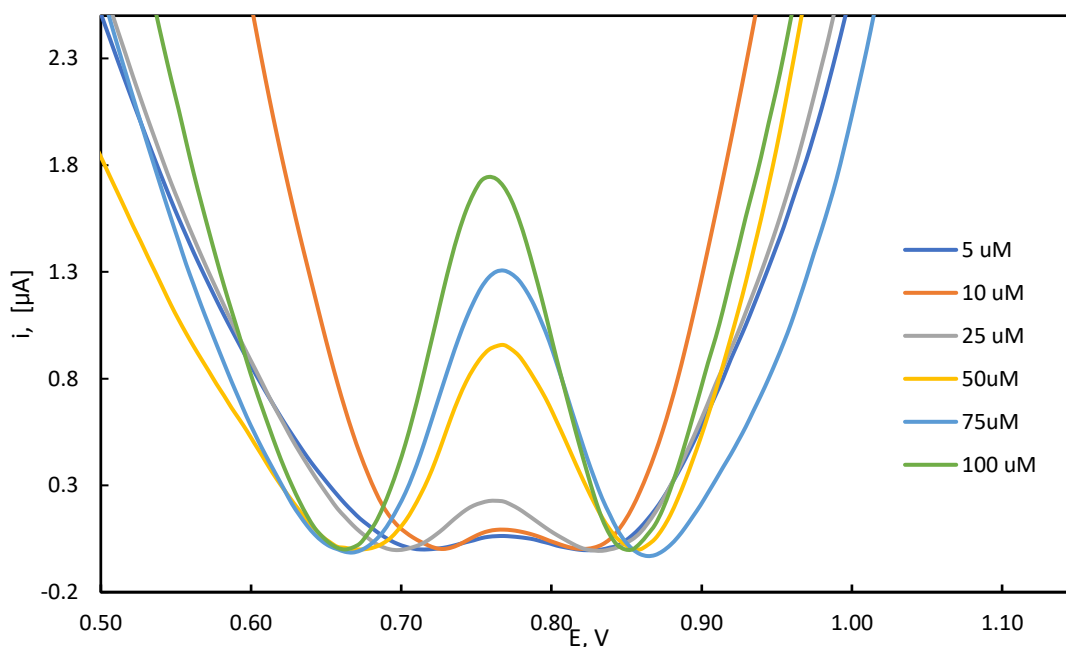


Figura 12 - Voltamogramas obtidos por DPV do sensor MIP após incubação com diferentes concentrações de HCT.

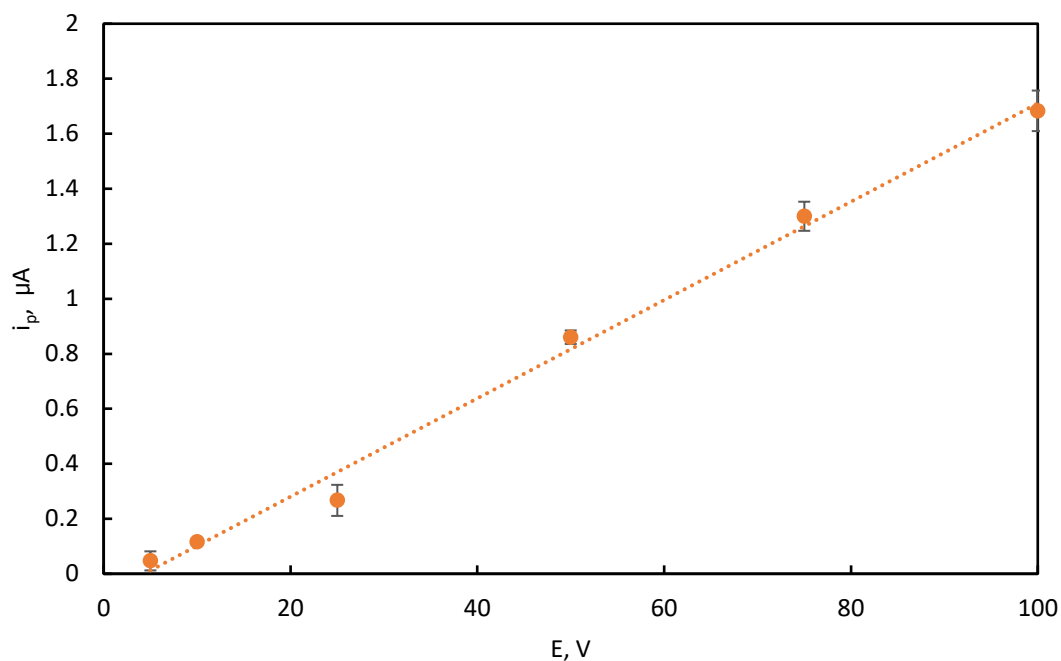


Figura 13 - Relação linear entre a intensidade de corrente do pico de oxidação de HCT e a concentração.

Como pode ser observado, o aumento da intensidade de corrente do pico de oxidação da HCT com o correspondente aumento da sua concentração exibe uma boa relação linear, apresentando uma equação de reta de $Y = 2,0 \times 10^{-8}x - 8,0 \times 10^{-8}$ e um R^2 de 0,993.

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados com base nas equações $LOD = 3s_b/m$ e $LOQ = 10s_b/m$, onde s_b corresponde ao desvio padrão do branco e m ao declive da reta de calibração. Os valores obtidos foram de 1,8 e 5,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o LOD e LOQ, respetivamente.

5 Estudos de seletividade

A seletividade é essencial para garantir a precisão e confiabilidade dos resultados, principalmente quando as amostras a testar incluem múltiplos componentes diferentes do analito em estudo. Neste contexto, foram realizados ensaios da HCT juntamente com outros fármacos usados para tratar patologias cardiovasculares frequentemente encontrados em águas superficiais, incluindo o atenolol (ATN), metoprolol (MET) e irbesartan (IBER).

Cada fármaco foi inicialmente analisado de uma forma isolada, e em seguida, procedeu-se à adição da HCT à solução de cada um dos fármacos a analisar. Cada um dos compostos apresentava uma concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. As respostas eletroquímicas obtidas por DPV para os sensores MIPs foram comparadas com os respectivos NIPs (Figura 14).

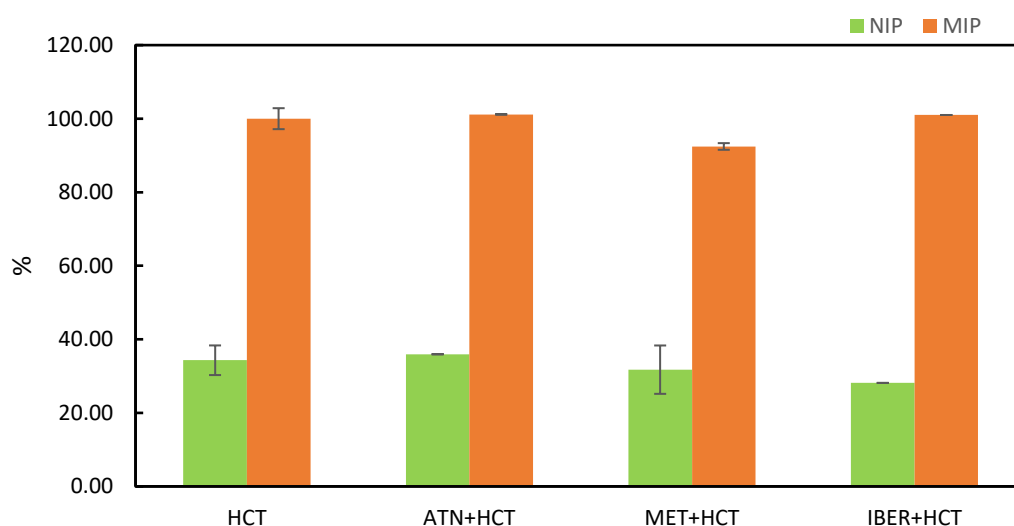


Figura 14 - Resposta eletroquímica obtida para os sensores MIP e correspondente NIP após incubação de HCT na presença de outros fármacos.

Quando os sensores foram incubados com soluções individuais de ATN, MET e IBER, não foi observada nenhuma resposta analítica, indicando a ausência de interação com os locais de reconhecimento do MIP e comprovando a seletividade do sensor. Além disso, quando estes interferentes foram combinados com a HCT, não foram observadas alterações relevantes no sinal eletroquímico da HCT, confirmando que as presenças destes compostos não comprometem a detecção do fármaco alvo.

6 Aplicações em amostras de água

Para determinar a real eficácia deste sensor eletroquímico MIP em contexto prático, foram feitos testes em amostras de água da torneira e de efluente de uma ETAR. Para tal foram feitos testes de recuperação em que as amostras foram fortificadas com concentrações de 10 e 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HCT (Tabela 1). As amostras foram analisadas sem pré-tratamento, exceto no caso do efluente da ETAR que foi previamente filtrado para remoção de partículas em suspensão.

Tabela 1 - Resultados dos ensaios de recuperação do sensor MIP para HCT em amostras de água fortificadas.

Amostra	HCT adicionada ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	HCT determinada ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Água da torneira	10	9,28	92,8
	25	21,0	84,0
Efluente ETAR	10	9,58	95,8
	25	23,5	94,0

Antes da fortificação das amostras com HCT, não foi detetado qualquer sinal eletroquímico correspondente ao pico de oxidação da HCT. Após a fortificação das amostras com concentrações conhecidas de HCT, os valores obtidos demonstraram uma boa concordância com os teores adicionados, tendo sido obtidas percentagens de recuperação entre 84,0 % e 95,8 %.

Estes resultados reforçam a aplicabilidade prática do sensor MIP em águas e destacam o seu potencial como uma ferramenta de triagem rápida e económica para a monitorização de HCT. No entanto, é importante sublinhar que o LOD obtido pode ainda não ser suficientemente baixo para uma análise direta da HCT em águas residuais, nomeadamente em locais onde a poluição seja reduzida.

7 Conclusões e sugestões para trabalho futuro

O desenvolvimento de sensores eletroquímicos para análise de fármacos em águas ambientais representa um avanço significativo na proteção dos recursos hídricos. A continuidade da investigação nesta área é crucial, pois permite não só a identificação de contaminantes como a implementação de estratégias eficazes para a preservação do meio ambiente.

A presente investigação culminou no desenvolvimento de um sensor eletroquímico inovador baseado em papel funcionalizado com MIP para a detecção seletiva da HCT em amostras de água. A integração da tecnologia de impressão por jato de tinta em papel com posterior modificação de rGO, assim como a eletropolimerização como técnica de impressão molecular revelaram-se uma abordagem eficaz, permitindo a produção de sensores de baixo custo, boa reprodutibilidade e capacidade de reconhecimento molecular.

Sob condições otimizadas, o sensor demonstrou uma resposta rápida, elevada seletividade e recuperações superiores a 84% em amostras de água fortificadas, sem necessidade de etapas de preparação complexas. Estes resultados destacam potencial futuro do dispositivo em contextos reais, como monitorização ambiental de águas residuais e processos industriais farmacêuticos. Tendo em conta que o LOD obtido pode não ser suficientemente baixo para a detecção da HCT em ambientes com uma poluição farmacêutica reduzida, técnicas como etapas de pré-concentração de amostras e a integração do sensor MIP em sistemas de fluxo podem constituir alternativas a investigar.

Este trabalho não só reforça o potencial dos sensores MIP baseados em papel como ferramentas analíticas sustentáveis e versáteis, como também abre caminho para futuras aplicações em sistemas de monitorização contínua, contribuindo para uma gestão mais eficiente e responsável dos contaminantes emergentes. Como perspetivas futuras destacam-se algumas otimizações, incluindo o estudo do tempo de secagem ideal da tinta de carbono e do GO depositados manualmente, bem como a exploração da viabilidade da sua deposição automática de forma a garantir uma maior reprodutibilidade.

Referências

- Aleixo, L. M. (2018). "Voltametria: conceitos e técnicas". *Chemkeys*, 1-21. doi:10.20396/chemkeys.v0i3.9609.
- Almeida, P. J. (2000). "Aplicações analíticas da voltametria com adsorção". *Dissertação de Doutoramento, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto*. Porto.
- Baranwal, J., Barse, B., Gatto, G., Broncova, G., & Kumar, e. A. (setembro de 2022). "Electrochemical Sensors and Their Applications: A Review". *Chemosensors*, 10(9), p. 363. doi:10.3390/chemosensors10090363.
- Bitas, D., & Samanidou, V. (fevereiro de 2018). Molecularly imprinted polymers as extracting media for the chromatographic determination of antibiotics in milk. *Molecules*, 23(2). doi:10.3390/molecules23020316.
- C. Bracher, H. R. (abril de 2024). "Cyclic Voltammetry Basic Principles and Theory". Obtido de Ossila enabling science: <https://www.ossila.com/pages/cyclic-voltammetry>
- D. Rapacz, K. S.-K. (1 de abril de 2024). "Molecularly imprinted polymers toward herbicides – Progress in development and the current state of the art depending on the polymerization environment – Short review". *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(2). doi:10.1016/j.jece.2024.112159
- European Commission. (26 de outubro de 2022). "European Green Deal: Commission proposes rules for cleaner air and water". Brussels. Obtido de European Commission: https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/ip_22_6278
- GRAQ. (23 de Abril de 2024). Obtido de GRAQ: Grupo de Reação e Análises Químicas: <https://www.graq.isep.ipp.pt/>
- Hulanicki, A., Glab, S., & Ingman, F. (1991). "Chemical sensors: definitions and classification". *Pure and Applied Chemistry*, 63(9), pp. 1247-1250. doi:10.1351/pac199163091247.

- I. Seguro, P. R.-M. (abril de 2022). "Electropolymerized, Molecularly Imprinted Polymer on a Screen-Printed Electrode—A Simple, Fast, and Disposable Voltammetric Sensor for Trazodone". *Sensors*, 22(7). doi:10.3390/s22072819
- Information, N. C. (2025). *PubChem Compound Summary for CID 3639*. Obtido de PubChem Compound Summary: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hydrochlorothiazide>
- Javaid, M., Haleem, A., Rab, S., Singh, R. P., & Suman, R. (1 de janeiro de 2021). Sensors for daily life: A review. *Sensors International*. doi:10.1016/j.sintl.2021.100121
- L. Molnarova, T. H. (2024). "Monitoring Pharmaceuticals and Personal Care Products in Healthcare Effluent Wastewater Samples and the Effectiveness of Drug Removal in Wastewater Treatment Plants Using the UHPLC-MS/MS Method". *Molecules*, 29(1480). doi:10.3390/molecules29071480
- Lahcen, A. A., & Amine, A. (2019). "Recent Advances in Electrochemical Sensors Based on Molecularly Imprinted Polymers and Nanomaterials". *Electroanalysis*, 2(31), pp. 188-201. doi:10.1002/elan.201800623
- N. P. Shetti, D. S. (2018). "Graphene-clay-based hybrid nanostructures for electrochemical sensors and biosensors". *Graphene-Based Electrochemical Sensors for Biomolecules: A Volume in Micro and Nano Technologies*, pp. 235-274. doi:10.1016/B978-0-12-815394-9.00010-8
- O'Mullane, A. P. (dezembro de 2013). "Electrochemistry". *Molecular Sciences and Chemical Engineering*. doi:10.1016/B978-0-12-409547-2.05344-0
- P. Chaturvedi et al. (março de 2021). "Prevalence and hazardous impact of pharmaceutical and personal care products and antibiotics in environment: A review on emerging contaminants". *Environmental Research*, 194. doi:10.1016/j.envres.2020.110664
- P. Rebelo et al. (15 de janeiro de 2021). Molecularly imprinted polymer-based electrochemical sensors for environmental analysis. *Biosensors and Bioelectronics*, 172. doi:10.1016/j.bios.2020.112719
- P. Rebelo, J. G.-M. (15 de fevereiro de 2022). "A simple electrochemical detection of atorvastatin based on disposable screen-printed carbon electrodes modified by molecularly imprinted polymer: Experiment and simulation". *Analytica Chimica Acta*. doi:10.1016/j.aca.2021.339410.
- Paíga, P. e. (2019). "Assessment of 83 pharmaceuticals in WWTP influent and effluent samples by UHPLC-MS/MS: Hourly variation". *Science of the Total Environment*, 582-600. doi:10.1016/J.SCITOTENV.2018.08.129

- Pereira, A., Silva, L., Laranjeiro, C., Lino, C., & Pena, e. A. (25 de fevereiro de 2020). "Selected Pharmaceuticals in Different Aquatic Compartments: Part I—Source, Fate and Occurrence". *Molecules*, 25(1026). doi:10.3390/molecules25051026
- Pinheiro, D. P. (29 de setembro de 2024). "*Hidroclorotiazida (diurético): para que serve e posologia*". Obtido de MD.SAÚDE:
<https://www.mdsaude.com/bulas/hidroclorotiazida/>
- REQUIMTE. (23 de abril de 2024). *REQUIMTE: Rede de Química e Tecnologia*. Obtido de
<https://www.requimte.pt/>
- W. F. Pacheco, F. S. (2013). *Voltametria*. Obtido de
https://qnint.s bq.org.br/qni/popup_visualizarConceito.php?idConceito=72&semFrame=1

Anexo I

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter conduzido este trabalho académico com integridade. Não plagiei ou apliquei qualquer forma de uso indevido de informações ou falsificação de resultados ao longo do processo que levou à sua elaboração.

Declaro que o trabalho apresentado neste documento é original e de minha autoria, não tendo sido utilizado anteriormente para nenhum outro fim.

Declaro ainda que tenho pleno conhecimento do Código de Conduta Ética do P.PORTO.

ISEP, Porto, 10 de outubro de 2025