



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO
PARA BISFENOL A CONTENDO GRAFENO E
NANOPARTÍCULAS DE OURO**

LUAN GABRIEL BAUMGARTEN

Florianópolis
Março/2022

Luan Gabriel Baumgarten

**DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO
PARA BISFENOL A CONTENDO GRAFENO E
NANOPARTÍCULAS DE OURO**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio II (QMC 5512)



Documento assinado digitalmente
Iolanda da Cruz Vieira
Data: 21/03/2022 10:31:32-0300
CPF: 327.917.633-68
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profª Dr. Iolanda da Cruz Vieira



Documento assinado digitalmente
Aline Alves Freitas
Data: 21/03/2022 10:37:31-0300
CPF: 063.338.309-09
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Me. Aline Alves Freitas

Florianópolis
Março/2022

Agradecimentos

A minha mãe Janaína que, mais que uma mãe, foi uma amiga e o exemplo que pretendo seguir e honrar sempre;

Pela parceria durante a vida: ao meu irmão, João;

Por tudo que fez por mim e pelo suporte durante a graduação: ao meu pai, Alexandre;

À Prof.^a Iolanda pela orientação, incentivo e dedicação durante todo o desenvolvimento deste trabalho;

A minha coorientadora Aline pelo auxílio e atenção em todos os momentos e por acreditar no meu potencial;

Agradeço imensamente a todos os amigos que fiz durante essa jornada, principalmente aos integrantes do Grupo com Luan e do Quimilokos que me ensinaram tanto e alegraram meus dias. Em especial, a minha amiga Lízia pelo apoio e companheirismo durante a graduação.

Agradeço ao meu cachorro Konan, que tanto soube me escutar, me dar carinho e estudar química durante todos esses anos;

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e aos professores que contribuíram para minha formação acadêmica;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1 Métodos Eletroanalíticos	12
2.1.1 Voltametria	12
2.1.1.1 Voltametria Cíclica e Voltametria de Varredura linear	13
2.2 Sensor Eletroquímico.....	15
2.2.1 Nanotecnologia e Nanopartículas Metálicas	16
2.2.1.2 Síntese verde	18
2.2.2 Grafeno	19
2.3 Desreguladores Endócrinos	21
2.3.1 Bisfenol A	21
3 OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo Geral	23
3.2 Objetivos específicos	23
4 MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Reagentes e soluções	24
4.2 Instrumentação	24
4.3.1 Obtenção do extrato e biossíntese de AuNP	25
4.3.2 Construção do sensor eletroquímico	26
4.4 Medidas eletroquímicas	26
4.5 Segurança no laboratório e tratamento dos resíduos	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
5.1 Síntese e desempenho de AuNP	28
5.1.1 Estudo da proporção do extrato	28
5.1.2 Estudo da concentração de HAuCl_4	29
5.1.3 Caracterização da AuNP	31
5.2 Construção e otimização do sensor eletroquímico	32
5.2.1 Estudo da proporção de grafeno	32
5.2.2 Contribuição dos modificadores	33
5.3 Comportamento eletroquímico do BPA	34
5.4 Estudo da natureza do eletrólito suporte e do pH.....	36

5.5 Seleção da técnica eletroanalítica	37
5.5.1 Otimização dos parâmetros de voltametria linear	38
5.6 Curva de calibração para o BPA.....	39
5.7 Perspectivas	40
 6 CONCLUSÃO	 41
7 REFERÊNCIAS	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ilustração de uma célula eletroquímica de três eletrodos; (A) representa o eletrodo de trabalho, (B) o eletrodo de referência e (C) o contra-eletrodo (eletrodo auxiliar).	13
Figura 2. Representação esquemática de um voltamograma cíclico. (A) O pico i_{pa} é referente a corrente anódica e i_{pc} , a corrente catódica. E_{pa} e E_{pc} correspondem aos potenciais anódicos e catódicos, respectivamente, e ΔE_p refere-se a distância dos picos de oxidação e redução. (B) Sinal de excitação utilizado na técnica CV.	14
Figura 3. (A) Representação esquemática de um voltamograma de varredura linear. (B) Sinal de excitação do potencial utilizado na técnica LSV.....	15
Figura 4. Escala de cores das nanopartículas de ouro em função dos tamanhos (18 a 250 nm).....	17
Figura 5. (A) Diferentes fontes de extratos vegetais e compostos fenólicos constituintes usados na síntese de nanopartículas metálicas. (B) Ilustração de formação e estabilização de AuNP promovida por compostos fenólicos presentes em extratos vegetais.	19
Figura 6. Estrutura hexagonal do grafeno.	20
Figura 7. Estrutura química do Bisfenol A	22
Figura 8. Representação das etapas da síntese verde de AuNP utilizando extrato do fruto da goiaba.	26
Figura 9. Estudo da proporção do extrato vegetal utilizado na síntese de AuNP. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução do par redox $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$, 5,0 mmol L ⁻¹ e KCl 0,1 mol L ⁻¹ aplicando GCE e AuNP/GCE empregando suspensões de nanopartículas sintetizadas com os seguintes volumes de extrato: I) 0,75 mL ; II) 1,00 mL e III) 1,50 mL. (B) Respostas relativas (%).	29
Figura 10. Estudo da concentração de H ₂ AuCl ₄ na síntese de AuNP. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução do par redox $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$, 5,0 mmol L ⁻¹ e KCl 0,1 mol L ⁻¹ aplicando GCE e AuNP/GCE empregando suspensões de nanopartículas sintetizadas com as seguintes concentrações de H ₂ AuCl ₄ : (I) 0,26 mmol L ⁻¹ , (II) 0,43 mmol L ⁻¹ e (III) 0,73 mmol L ⁻¹ . (B) Respostas Relativas (%).	30
Figura 11. (A) Solução de extrato de goiaba (I) e dispersão de AuNP (II) sintetizada a partir do extrato de goiaba. (B) Espectro UV-vis para a dispersão de AuNP	

sintetizadas com HAuCl_4 $0,43 \text{ mmol L}^{-1}$ nas proporções com: I) 0,75; II) 1,00 e III) 1,50 mL de extrato de goiaba.....	31
Figura 12. Estudo da concentração de grafeno aplicado à suspensão AuNP. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ aplicando GCE e AuNP-GR/GCE empregando as seguintes massas de grafeno: 0,5, 1,0 e 1,5 mg. (B) Respostas Relativas (%).	33
Figura 13. Estudo da contribuição dos modificadores. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando três eletrodos distintos: GCE, AuNP/GCE e AuNP-GR/GCE. (B) Respostas relativas (%).	34
Figura 14. Estudo do comportamento eletroquímico do BPA. (A) Representação esquemática do mecanismo de reação envolvendo BPA na superfície do sensor; (B) Voltamograma cíclico em solução tampão PBS $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2) na presença de BPA $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ aplicando AuNP-GR/GCE.....	35
Figura 15. Voltamogramas cíclicos sucessivos em solução tampão PBS $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2): (a) 1º ciclo, (b) 2º ciclo e (c) 3º ciclo na presença de BPA $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ empregando AuNP-GR/CGE.	36
Figura 16. (A) Voltamogramas cíclicos para AuNP-GR/GCE, empregando BPA $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ em soluções tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH = 3,0; 4,0 e 5,0) e fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH = 6,0; 7,0 e 8,0) ; $u = 100 \text{ mV s}^{-1}$. (B) Gráfico de variação da corrente em função do pH e relação linear entre potencial e pH.	36
Figura 17. (A) Voltamogramas para AuNP-GR/GCE, empregando BPA $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0) para diferentes técnicas eletroanalíticas (LSV, DPV e SWV). Ao lado, encontra-se a ampliação dos voltamogramas para as técnicas DPV e SWV. (B) Gráfico de barras das correntes de pico para as diferentes técnicas avaliadas	38
Figura 18. (A) Voltamogramas de varredura linear para BPA $0,06 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) para diferentes velocidades de variação de potencial. (B) Gráfico de i vs. v	38
Figura 19. (A) Voltamogramas de varredura linear para diferentes concentrações de BPA sobre o AuNP-GR/GCE: (a) 6,66; (b) 9,98; (c) 13,3; (d) 16,6; (e) 19,9; (f) 23,2; (g) 26,5; (h) 29,8; (i) $36,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0); $u = 100,0 \text{ mV s}^{-1}$ (B) Curva de calibração para BPA.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Proporção de extrato:água usada na síntese de AuNP.....	28
Tabela 2. Variação do volume e concentração de HAuCl_4 na otimização da síntese de AuNP.	30
Tabela 3. Proporções avaliadas para a dispersão AuNP-GR.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS

- AuNP (do inglês, *gold nanoparticles*) – Nanopartículas de ouro
- AuNP/GCE - Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro
- AuNP-GR – Dispersão de nanopartículas de ouro e grafeno
- AuNP-GR/GCE – Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro e grafeno
- BPA (do inglês, *bisphenol A*) – Bisfenol A
- CE (do inglês, *counter electrode*) – Contra-eletrodo
- CV (do inglês, *cyclic voltammetry*) – Voltametria cíclica
- DPV (do inglês, *differential pulse voltammetry*) – Voltametria de pulso diferencial
- E – Potencial
- E_{pa} – Potencial de pico anódico
- E_{pc} – Potencial de pico catódico
- ΔE_p – separação dos potenciais de pico de oxidação e redução
- ED (do inglês, *endocrine disruptors*) – desreguladores endócrinos
- GCE (do inglês, *glassy carbon electrode*) – Eletrodo de carbono vítreo
- GR (do inglês, *graphene*) – Grafeno
- i_{pa} - Corrente de pico anódica
- i_{pc} - Corrente de pico catódica
- IUPAC (do inglês, *International Union of Pure Applied Chemistry*) – União Internacional de Química Pura e Aplicada
- LOD (do inglês, *limit of detection*) – Limite de detecção
- LOQ (do inglês, *limit of quantification*) – Limite de quantificação
- LSV (do inglês, *linear sweep voltammetry*) – Voltametria de varredura linear
- NPMs – Nanopartículas metálicas
- RE (do inglês, *Reference electrode*) – Eletrodo de Referência
- SWV (do inglês, *square-wave voltammetry*) – Voltametria de onda quadrada
- UV-Vis – Ultravioleta-visível
- ν - Velocidade de varredura
- WE (do inglês, *Working electrode*) – Eletrodo de trabalho

RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido um sensor eletroquímico para determinação de bisfenol A, a partir da modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com grafeno e nanopartículas de ouro, sintetizadas em extrato de goiaba (*Psidium guajava*). Para otimizar a síntese das nanopartículas de ouro, fatores como a proporção água:extrato e concentração de ácido cloroáurico foram estudadas. Avaliou-se também a proporção de grafeno para a modificação do eletrodo e um melhor desempenho no sinal analítico. A proporção de 1,0 mL de extrato:2,25 de água: 0,25 de HAuCl_4 0,43 mmol L^{-1} foi fixada para a síntese de nanopartículas de ouro. Para a construção do sensor eletroquímico utilizou-se uma dispersão de 100 μL de nanopartículas de ouro e 1,5 mg de grafeno. Investigou-se a faixa de pH e natureza do eletrólito sobre o desempenho do sensor proposto sendo escolhido como eletrólito uma solução tampão acetato (0,1 mol L^{-1}) em pH 4,0. A técnica voltamétrica selecionada para a realização das análises foi a voltametria de varredura linear, cujo parâmetro a ser investigado foi a velocidade de varredura com uma melhor resposta em 100 mV s^{-1} . Sob as condições otimizadas, construiu-se uma curva de calibração a partir da corrente de pico resultante vs. concentração de bisfenol A, apresentando linearidade em um intervalo de 6,66 a 36,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r^2 = 0,993$), com limite de detecção de 2,02 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O sensor desenvolvido oferece vantagens como a facilidade na construção e rápido tempo de análise que, aliado a boa sensibilidade e detectabilidade apresentada, faz deste método uma excelente alternativa para determinação de bisfenol A.

Palavras-chave: sensor eletroquímico, nanopartículas de ouro, grafeno, síntese verde, bisfenol A.

1 INTRODUÇÃO

A presença de desreguladores endócrinos no meio ambiente e em alimentos têm gerado grande interesse científico, devido à capacidade destes em interferir nos sistemas hormonais, afetando a saúde dos seres humanos. A exposição e o consumo destas substâncias são alarmantes, pois, apesar de se encontrar em baixas concentrações nos organismos, são fisiologicamente ativos. Na literatura são listadas diversas classes destes compostos tais como, ftalatos, bifenilas policloradas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, dioxinas, e derivados de bisfenóis.

O Bisfenol A, por exemplo, é um composto desregulador que interrompe a função de vários receptores hormonais e promove diversos efeitos prejudiciais à saúde. Presente em embalagens de alimentos e utensílios é um monômero utilizado na produção de plásticos em geral, e mais particular de policarbonatos e resinas epóxi. Portanto, o desenvolvimento de metodologias para determinação deste composto tornou-se necessário para monitoramento da qualidade de alimentos e produtos comerciais.

A utilização de métodos eletroanalíticos é uma alternativa para a investigação de compostos desreguladores, devido à possibilidade de análise rápida e direta das amostras dentre outras vantagens como sensibilidade, baixo custo e seletividade. As técnicas voltamétricas destacam-se principalmente com relação ao uso de sensores eletroquímicos que permitem uma resposta analítica aprimorada e com baixa interferência. Nanotubos de carbonos, pontos quânticos, grafeno e nanopartículas metálicas são exemplos de materiais utilizados para modificar a superfície do eletrodo e melhorar o seu desempenho.

Nanopartículas metálicas de ouro são amplamente utilizadas em virtude da sua biocompatibilidade e baixa toxicidade, além de propriedades condutoras e ópticas específicas. Devido à sua grande área superficial são empregadas na funcionalização e modificação de eletrodos, favorecendo a interação do analito na sua superfície. A síntese de nanopartículas de ouro geralmente é realizada com reagentes tóxicos e de alto custo, além das possíveis condições extremas de reação. Busca-se então, metodologias que minimizam o impacto ambiental através do uso de rotas alternativas e utilização de materiais ecologicamente sustentáveis. Neste contexto, o uso de extratos vegetais tem sido explorado em função da sua

capacidade de agir como agente redutor do íon metálico e estabilizante para a síntese de nanopartículas, garantindo uma menor toxicidade e baixo custo, além de condições moderadas de reação.

Deste modo, o presente trabalho propõe a construção de um sensor eletroquímico para determinação de bisfenol A, a partir da modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo (GCE) com grafeno e nanopartículas de ouro, sintetizadas em extrato de goiaba (*Psidium guajava*).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Métodos Eletroanalíticos

Segundo a IUPAC¹, métodos eletroanalíticos são métodos em que propriedades elétricas, como corrente ou potencial, são medidas durante uma reação eletroquímica, onde o analito é conduzido até uma célula eletroquímica para formação de um sinal proporcional a concentração. Este tipo de análise tem suas vantagens como a análise direta de amostras sem necessidade de separação, bem como a possibilidade de uso de amostras coloridas².

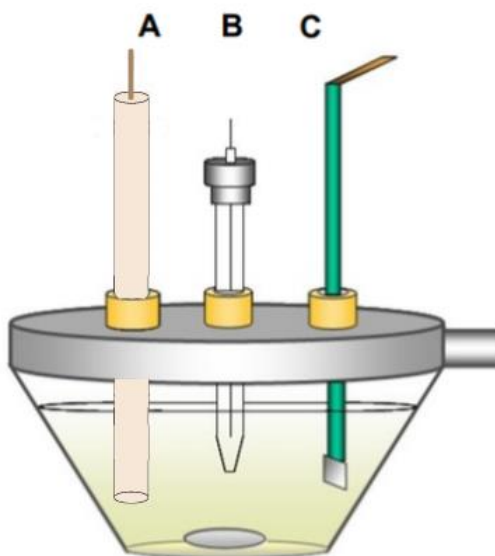
Os métodos eletroanalíticos possuem elevada sensibilidade, custo moderado além de seletividade, considerando-se ainda a possibilidade de portabilidade do instrumento e o monitoramento de reações eletródicas a partir de modificações na interface eletrodo-solução³. Dentre os métodos eletroanalíticos, a voltametria tornou-se a mais importante e difundida para a análise de compostos orgânicos eletroativos.

2.1.1 Voltametria

A voltametria é um método eletroanalítico onde o sinal provém de fenômenos na superfície do eletrodo de trabalho e a camada fina de solução adjacente a essa superfície. Em comparação a outros métodos eletroanalíticos, a voltametria utiliza três eletrodos: eletrodo de referência (RE), eletrodo de trabalho (WE) e contra eletrodo (CE)⁴. As informações sobre o analito são obtidas por meio da medição da corrente ao se aplicar uma faixa de potencial entre o eletrodo de trabalho e de referência⁵. O sinal de excitação de potencial é escolhido e aplicado ao eletrodo, obtendo-se então curvas corrente-potencial que são denominadas de voltamogramas.

O potencial é aplicado entre o RE e o WE, sendo que o fluxo de elétrons flui entre o WE e o CE. O eletrodo de referência tem um potencial que permanece constante durante o experimento e então monitora-se o potencial do eletrodo de trabalho⁶. O esquema de uma célula eletroquímica é mostrado na Figura 1.

Figura 1. Ilustração de uma célula eletroquímica de três eletrodos; (A) representa o eletrodo de trabalho, (B) o eletrodo de referência e (C) o contra-eletrodo (eletrodo auxiliar).



Fonte: Modificado de Zapp (2012)⁷.

A corrente total é constituída de duas componentes; a corrente faradaica relativa à reação de oxirredução e a corrente capacitiva referente à camada de cargas existente na interface eletrodo/solução⁵. Adiciona-se um eletrólito de suporte à solução com concentração 100x superior que a substância eletroativa e mantém-se a solução em repouso para minimizar os processos de transporte de massa por migração e convecção, respectivamente⁸. Estes ajustes são necessários para que o transporte de massa por difusão seja favorecido e possibilite a medição da corrente de interesse do analito.

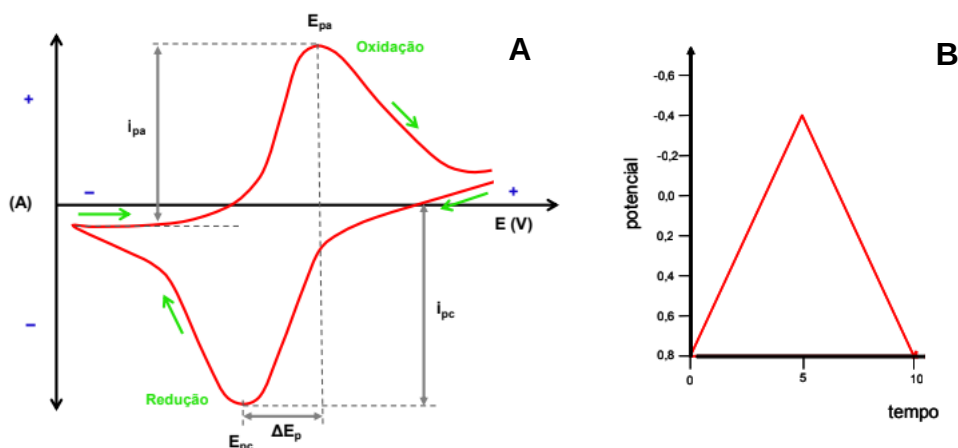
Se o solvente da solução for água, é possível empregar ácidos, bases ou mesmo sais como eletrólitos. Além disso, a solução pode, ou não, encontrar-se em meio tamponado⁹. No tópico seguinte, serão discutidas as técnicas voltamétricas abordadas neste trabalho.

2.1.1.1 Voltametria Cíclica e Voltametria de Varredura linear

A voltametria cíclica (CV) é uma técnica eletroanalítica empregada para investigar processos de redução e oxidação de espécies químicas, bem como cinéticas de reações e o acompanhamento de reações envolvendo produtos formados no eletrodo de trabalho¹⁰.

Nesta técnica, considerando a convenção IUPAC, a variação do potencial para regiões mais positivas promove a reação de oxidação do analito em solução, formando um pico de corrente (pico anódico) proporcional à concentração deste, como mostra a Figura 2A. Quando o potencial se desloca para potenciais mais negativos se observa a redução do analito, através da formação de um pico de corrente no sentido contrário (pico catódico)¹¹. A varredura de potencial nos dois sentidos é linear em relação ao tempo (Figura 2B).

Figura 2. Representação esquemática de um voltamograma cíclico. (A) O pico i_{pa} é referente a corrente anódica e i_{pc} , a corrente catódica. E_{pa} e E_{pc} correspondem aos potenciais anódicos e catódicos, respectivamente, e ΔE_p refere-se a distância dos picos de oxidação e redução. (B) Sinal de excitação utilizado na técnica CV.

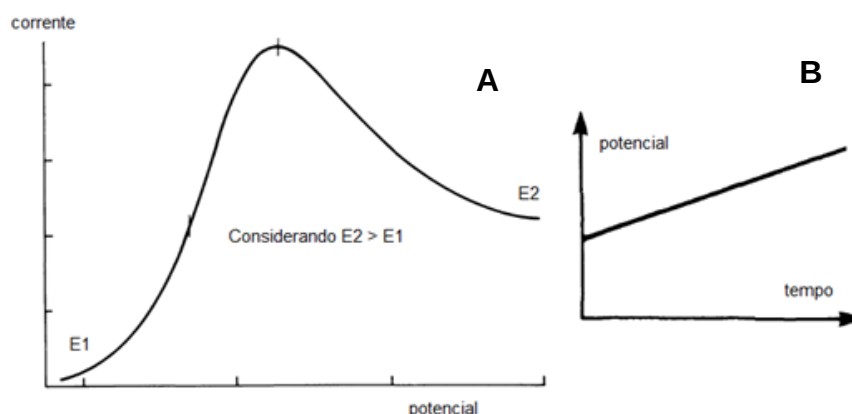


Fonte: FERNANDES (2012)¹².

Na voltametria de varredura linear (LSV) o voltamograma obtido é equivalente a um único segmento de um voltamograma cíclico (Figura 3A). Nesta técnica, aplica-se ao eletrodo de trabalho um potencial que varia linearmente com o tempo⁵ (Figura 3B).

A medida da corrente é feita de maneira direta, em função do potencial aplicado, conforme destacado na Figura 3. A LSV fornece informações qualitativas e quantitativas sobre sistemas eletroquímicos e se tornou bem estabelecida como uma ferramenta de caracterização rápida e confiável¹³.

Figura 3. (A) Representação esquemática de um voltamograma de varredura linear. (B) Sinal de excitação do potencial utilizado na técnica LSV.



Fonte: Pacheco et al. (2013)⁵.

2.2 Sensor Eletroquímico

Sensores eletroquímicos são aplicados nas análises de diversos analitos e geralmente são construídos a partir da incorporação de nanomateriais à superfície de eletrodos sólidos convencionais (ex: GCE) que tornam mais sensíveis e/ou seletivos. Ao modificar a superfície do eletrodo, atribui-se uma melhora em sua propriedade eletroquímica que facilita, entre outros, na transferência de elétrons¹⁴.

Ao escolher um eletrodo-base para modificação algumas propriedades devem ser consideradas, como a garantia de uma resposta estável e reprodutiva, não apresentar degradação e não sofrer reações de oxirredução que possam alterar a sua estrutura, bem como o resultado obtido na análise¹⁵. Dentre os substratos convencionais mais empregados para modificação utilizam-se os eletrodos metálicos de ouro, platina e cobre, e os materiais carbonáceos, como o carbono grafite e o carbono vítreo.

As superfícies dos eletrodos podem ser modificadas por substâncias inorgânicas, orgânicas e compostos eletroativos de metais orgânicos, biomateriais, filmes poliméricos e metais¹⁶. Além disso, uma série de nanomateriais pode ser utilizada na modificação de sensores como, por exemplo, nanotubos de carbonos, pontos quânticos, grafeno e nanopartículas metálicas¹⁷.

2.2.1 Nanotecnologia e Nanopartículas Metálicas

O uso de materiais em escala nanométrica (1 a 100 nm) vem trazendo inovações para as mais diversas áreas do conhecimento. Tais estruturas possuem propriedades físicas e químicas que diferem das propriedades presentes em materiais macroscópicos¹⁸. Conceitos relacionados à nanotecnologia estão sendo constantemente atualizados, devido ao desenvolvimento de novos nanomateriais que apresentam diversas possibilidades de criação, inovação e implementação aplicadas a novas tecnologias^{19, 20}.

Mesmo antes do termo “nanotecnologia”, nanomateriais já eram obtidos e utilizados pela sociedade, um exemplo é o uso de nanopartículas de prata e ouro em vitrais de várias igrejas da Europa Medieval, no qual é possível visualizar diferentes cores atribuídas ao vidro²¹. Fenômenos relacionados aos sistemas nanoparticulados foram reconhecidos por Faraday, no século XIX e aplicações com nanopartículas iniciaram-se na área da eletrônica na década de 1980, avançando para indústria química e de materiais, farmacêutica, biomédica bem como na área ambiental e de defesa²².

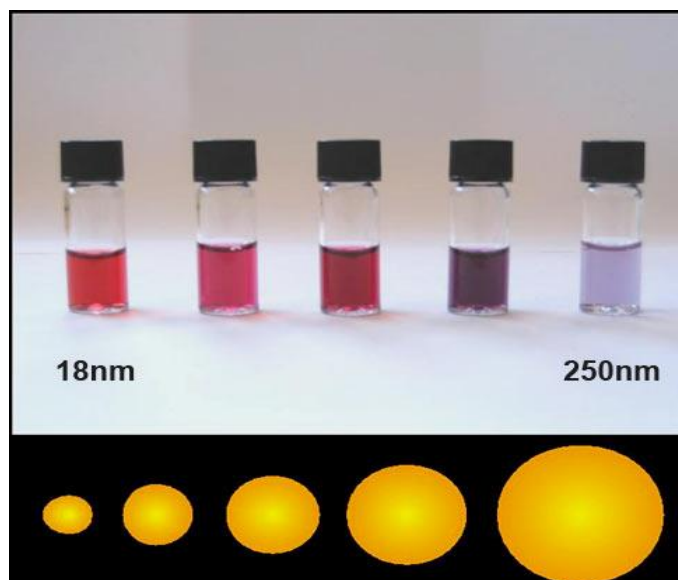
Nanopartículas metálicas (NPM) têm gerado interesse pelo fato de apresentarem propriedades físicas, químicas e/ou biológicas distintas em comparação às partículas macroestruturadas²³. Possuem características físico-químicas bem definidas, como propriedades magnéticas, catalíticas e antimicrobianas, além da acentuação na reatividade química e no comportamento catalítico²⁴.

Segundo Firdhouse e Lalitha²⁵, a síntese de nanopartículas possui desafios, pois geralmente depende do uso de reagentes tóxicos e de alto custo, além do alto consumo de reagentes e condições extremas de reação para promover a formação de partículas puras e bem definidas. Existem duas classificações para a síntese de nanopartículas^{26,27}:

- **Processo top-down**, no qual o material é quebrado subsequentemente até que a escala nanométrica seja alcançada (desconstrução).
- **Processo bottom-up**, onde átomos ou moléculas são montados em estruturas maiores até que a nanoescala seja obtida.

São empregados diversos métodos para a síntese de nanopartículas como: redução química, processo por sol-gel, redução assistida por ultrassom, pirólise por spray ou laser²⁵. Os tamanhos e as formas das nanopartículas podem causar alterações em sua coloração (Figura 4), como o ouro em esferas, que apresenta coloração desde o violeta até o vermelho.

Figura 4. Escala de cores das nanopartículas de ouro em função dos tamanhos (18 a 250 nm)



Fonte: Figueira e Santos (2017)²⁸.

Nanopartículas de ouro (AuNP) tem atraído a atenção por sua baixa toxicidade, biocompatibilidade e propriedades ópticas específicas; além disso, são utilizados para medir a presença e/ou atividade de certos analitos a partir da construção de sensores²⁹. As AuNP possuem uma área superficial maior em relação ao material de origem resultando em uma tendência de aglomeração. Sendo assim, faz-se necessário o uso de compostos (por exemplo, surfactantes, polímeros) que promovam a estabilização das partículas por ação eletrostática, estérica ou eletroestérica³⁰.

Apesar de o ouro ser pouco ativo como catalisador, possui ótima atividade catalítica na forma de nanopartículas, especialmente em reações redox, como na oxidação de CO em baixas temperaturas³¹. Alterando algumas variáveis, tais como os reagentes, a temperatura e a velocidade de reação, é possível controlar processos de nucleação e crescimento, alcançando as propriedades desejadas³². Segundo Almeida³³, existem diversos métodos químicos para síntese das AuNP,

sendo o método de Turkevitch (citrato como agente redutor do sal de HAuCl_4) um dos mais utilizados.

2.2.1.2 Síntese verde

Extratos de plantas vêm sendo utilizados para a biossíntese de NPMs; a redução do íon metálico neste caso ocorre por meio da ação de biomoléculas presentes no meio vegetal³⁴. Estes extratos e outras matérias-primas naturais são ótimos reagentes alternativos, devido ao baixo custo e baixa toxicidade, além de necessitar de condições moderadas (temperatura e pressão) durante a reação³⁵.

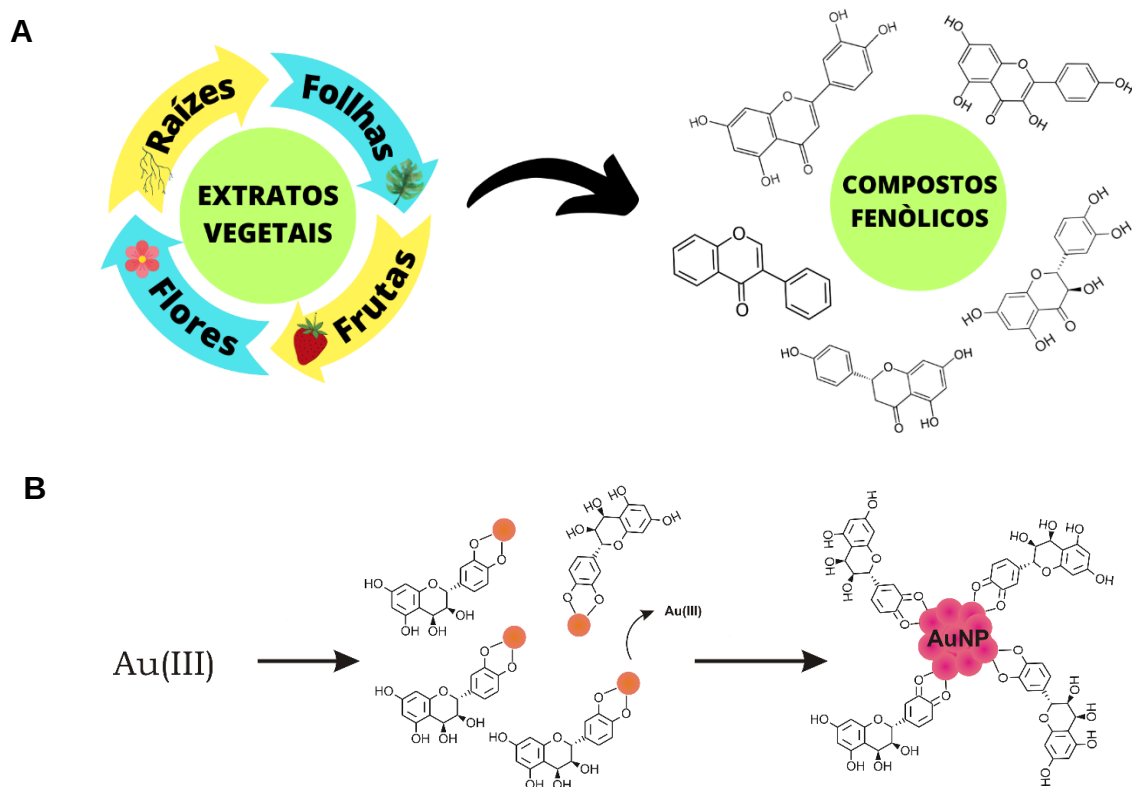
Compostos fenólicos, terpenóides, polissacarídeos e flavonóides presentes nos vegetais são exemplos de espécies que possibilitam a redução do metal. A natureza do extrato vegetal, sua concentração, o pH, a temperatura e o tempo de contato influenciam na forma e tamanho das nanopartículas formadas³⁶.

Há descrito na literatura por Kumar e Yadav³⁷ a síntese de nanopartículas de ouro e prata utilizando extratos de plantas; folhas de capim-limão e Aloe-vera, e também o uso de alguns extratos de frutas.

Nas proporções adequadas, o extrato vegetal obtido em conjunto com a solução do íon metálico permite a redução do metal e sua agregação até a formação das nanopartículas metálicas. As estruturas presentes no extrato também atuam como estabilizante das nanopartículas, formando uma camada na sua superfície, evitando assim, o processo de coalescência³⁸. A Figura 5A mostra as possibilidades de fontes vegetais utilizadas na síntese verde das nanopartículas metálicas e exemplos de compostos fenólicos presentes nestes extratos.

A Figura 5B mostra a formação de AuNP promovidas por compostos fenólicos presentes em extratos vegetais. Os compostos fenólicos atuam como biorredutor, formando um anel quelato com as hidroxilas adjacentes e o íon Au^{3+} . Devido ao alto potencial redox, o íon é reduzido a Au^0 e os grupos hidroxila são oxidados, formando quinonas. Os átomos de Au^0 colidem para formar AuNP sendo estabilizadas pelos polifenóis e pelas quinonas³⁹.

Figura 5. (A) Diferentes fontes de extratos vegetais contendo os compostos fenólicos usados na síntese de nanopartículas metálicas. (B) Ilustração de formação e estabilização de AuNP promovidas por compostos fenólicos presentes em extratos vegetais.



Fonte: Modificado de KUMAR et al. (2020)⁴⁰; RAKHI e GOPAL (2012)³⁹.

Neste trabalho, o extrato da goiaba (*Psidium guajava*) foi utilizada como agente redutor e estabilizante para a formação de AuNP. Este fruto está presente nos países das regiões tropicais e subtropicais, sendo amplamente utilizado como alimento na produção de geleias, sorvetes, sucos e vinhos, além de seu uso na medicina popular⁴¹.

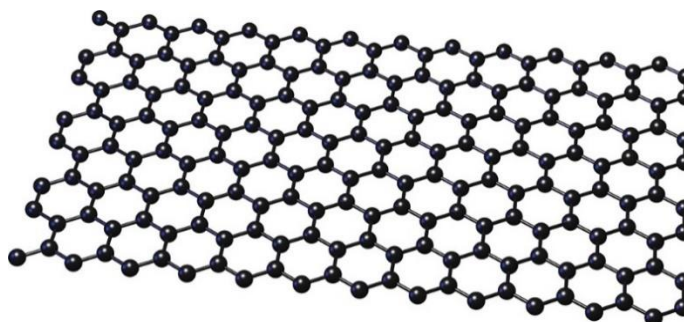
A goiaba possui alto teor de ácidos fenólicos, como o ácido ferúlico e o ácido gálico⁴² e constitui-se principalmente de taninos, flavonóides, óleos essenciais, álcoois sesquiterpenóides e ácidos triterpenóides⁴³.

2.2.2 Grafeno

O grafeno é uma folha plana de átomos de carbonos compactados em uma grade de duas dimensões com espessura de apenas um átomo, organizado em uma estrutura cristalina hexagonal⁴⁴. Pode ser considerada a unidade básica para

diferentes alótropos de carbono; os nanotubos de carbono, por exemplo, podem ser visualizados como uma folha de grafeno enrolada, enquanto o grafite é composto por camadas de grafeno⁴⁵. É caracterizado por ser um sólido com estrutura lamelar, onde cada átomo de carbono com hibridização sp^2 está ligado a outros três átomos, formando folhas bidimensionais com a aparência de uma colmeia⁴⁶.

Figura 6. Estrutura hexagonal do grafeno.



Fonte: Libisch (2017)⁴⁷.

Devido à conjugação π sobre toda a estrutura, o grafeno possui propriedades térmicas, mecânicas e elétricas, e vem ganhando interesse em processos experimentais⁴⁸. A interação do grafeno ocorre por adsorção física (π - π interações), de maneira que é possível introduzir grupos funcionais ou alterar a estrutura do material para uma maior reatividade na superfície⁴⁹.

O uso do grafeno vem atraindo a atenção na área da eletroquímica e na construção de sensores, isso se deve ao baixo ruído elétrico causado pela qualidade do cristal, sua robustez, alta flexibilidade e condutividade elétrica⁵⁰. Além disso, a estrutura tem alta mobilidade elétrica e possui uma maior área superficial, garantindo que o transporte de elétrons, através do grafeno, se torne mais sensível na presença de espécies adsorvidas na superfície⁵¹.

Nos últimos anos, o desenvolvimento de sensores vem sendo aprimorado com a incorporação de diversos nanomateriais que contribuem para a melhoria do desempenho analítico. O grafeno em conjunto com nanopartículas metálicas, tem sido utilizado para construção de sensores para detecção em amostras clínicas, alimentícias e na área ambiental⁵².

2.3 Desreguladores Endócrinos

Presentes no meio ambiente em concentrações da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} , os desreguladores endócrinos (ED) são uma categoria de poluentes que intervêm nas funções do sistema endócrino, causando efeitos adversos à saúde humana e animal⁵³. Esse mecanismo ocorre de forma a alterar os níveis hormonais, inibindo ou estimulando a produção e o metabolismo de hormônios, de forma a afetar as funções no organismo⁵⁴.

Várias substâncias químicas são suspeitas por alterar o sistema endócrino, e são associadas ao surgimento de doenças como câncer de testículo, de mama e de próstata, a queda da taxa de espermatozoides, deformidade dos órgãos reprodutivos, disfunção da tireoide e alterações relacionadas ao sistema neurológico⁵⁵.

Advindo principalmente de atividades industriais, os ED são usados, por exemplo, como pesticidas e aditivos para roupas, brinquedos, alimentos ou materiais de armazenamento e embalagem⁵⁴. Os seres humanos estão expostos a uma grande variedade de ED, que incluem: ftalatos, bifenilas policloradas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, dioxinas, produtos químicos perfluorados e derivados de bisfenóis⁵⁶.

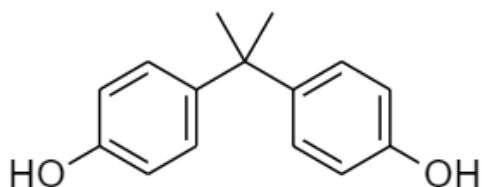
2.3.1 Bisfenol A

O Bisfenol A (BPA) é usado na polimerização para produção de plásticos de policarbonato. Os policarbonatos são utilizados em itens para armazenar e servir alimentos, como garrafas reutilizáveis de bebidas, talheres (pratos e canecas) e recipientes de armazenamento. O BPA também é usado para produzir resinas epóxi, utilizadas como componentes de revestimentos para embalagens de alimentos e latas de bebidas⁵⁷. Apesar de sua importância econômica, com uma produção estimada em 10 milhões de toneladas por ano, possui graves problemas devido ao seu caráter tóxico⁵⁸.

A exposição ao BPA ocorre predominantemente pela alimentação, devido a lixiviação do composto nas embalagens e em recipientes de alimentos e bebidas, porém fontes não-alimentares podem contribuir na toxicidade por BPA, seja pela

pele ou por inalação⁵⁹. Por ser um composto difenil com dois grupos hidroxila em posição “para”, o BPA torna-se semelhante ao estrogênio sintético. Essa estrutura fenólica (Figura 7) facilita a associação do BPA aos receptores de estrogênios⁶⁰, caracterizando-o como um ED.

Figura 7. Estrutura química do Bisfenol A



As técnicas mais usuais para determinar o teor de BPA, em diferentes matrizes, incluem cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS)⁶¹. Apesar disso, tais métodos de separação envolvem longo tempo de execução, alto custo instrumental, além da necessidade de etapas de pré-concentração.

Porém, o desenvolvimento de sensores eletroquímicos para detecção de BPA tem gerado grande interesse, devido a uma maior sensibilidade e seletividade. Diversos sensores eletroquímicos foram desenvolvidos utilizando diferentes nanomateriais e bioreceptores, para detecção deste composto em amostras de interesse ambiental⁶².

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver um sensor eletroquímico para determinação de bisfenol A (BPA) a partir da modificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo com grafeno e nanopartículas de ouro, sintetizadas em extrato de goiaba (*Psidium guajava*).

3.2 Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de ouro (AuNP) usando extrato de goiaba (*Psidium guajava*) e otimizar os parâmetros da síntese (relação da proporção de água:extrato:ácido cloroáurico);
- Estudar o efeito da suspensão de AuNP e AuNP:grafeno na construção do sensor e otimizar a proporção;
- Caracterizar os nanomateriais por espectroscopia UV-vis;
- Construir um sensor a partir da modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com filme de AuNP-Grafeno;
- Avaliar a contribuição de cada modificador, separadamente, na resposta analítica do sensor comparativamente ao GCE;
- Investigar a reação de oxirredução do BPA sobre a superfície do sensor eletroquímico;
- Otimizar os parâmetros experimentais do método (natureza e o pH do eletrólito suporte, escolha da técnica voltamétrica e otimização dos parâmetros da técnica escolhida);
- Obter a curva de calibração para o BPA e determinar os parâmetros analíticos como faixa linear, limite de detecção e limite de quantificação;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes e soluções

As soluções foram preparadas com água ultrapura, obtida a partir de um sistema Milli-Q (Millipore, USA) e todos os reagentes utilizados nos procedimentos experimentais possuem grau analítico. HAuCl_4 (Sigma-Aldrich) e grafeno (2DM) foram utilizados para modificação do eletrodo. Para preparo do tampão PBS $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, foram utilizados cloreto de sódio, cloreto de potássio, monohidrogenofosfato de sódio e monohidrogenofosfato de potássio, adquiridos da Synth.

Soluções tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH = 3,0; 4,0 e 5,0) foram preparadas usando-se uma mistura de 8,20 g acetato de sódio (Sigma-Aldrich) e 5,72 mL de ácido acético (Vetec) sendo os reagentes solubilizados com água ultrapura e avolumada para 1,00 L. O ajuste do pH destas soluções foi realizado através da adição de hidróxido de sódio 40% (Lafan) ou ácido acético (Vetec), conforme necessário.

Soluções tampão fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH = 6,0; 7,0 e 8,0) foram preparadas utilizando-se uma mistura de 11,9 g de monohidrogenofosfato de potássio (Synth) e 14,2 g de dihidrogenofosfato de potássio (Synth) sendo os reagentes solubilizados com água ultrapura e avolumada para 1,0 L. O ajuste do pH destas soluções foi realizado através da adição de hidróxido de sódio 40% (Lafan) ou ácido fosfórico (Vetec), conforme necessário.

Solução aquosa de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ foi preparada a partir de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de ferricianeto de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) e ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$), (Sigma-Aldrich) em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de cloreto de potássio.

A solução estoque de bisfenol A (Sigma-Aldrich) foi preparada na concentração de $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e avolumada para 10,0 mL em etanol:água. As soluções de menores concentrações foram preparadas mediante diluição.

4.2 Instrumentação

Para pesagem dos reagentes foi utilizado a balança analítica Shimadzu AUW220D. Análises espectrofotométricas foram realizadas em espectrofotômetro

Cary 60 UV-vis (Agilent Technologies, USA) com uma cubeta de quartzo (caminho óptico de 1 cm). As medidas de pH foram realizadas empregando um pHmetro da Micronal modelo B-475 contendo um eletrodo de vidro combinado. Um banho de ultrassom, Unique 1400A, foi utilizado no preparo e homogeneização das soluções e amostras. O extrato de goiaba foi centrifugado em uma centrífuga marca Eppendorf modelo 5424R.

As medidas obtidas por voltametria cíclica (CV) e voltametria de varredura linear (LSV) foram realizadas num potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT101 (Eco Chemie, The Netherlands), conectado ao software de processamento de dados NOVA versão 1.10. As análises voltamétricas foram realizadas em um sistema contendo três eletrodos, acoplado a uma célula de vidro com capacidade para 15,0 mL. Foi utilizado o AuNP-GR/GCE como eletrodo de trabalho, uma placa de platina ($0,5 \text{ cm}^2$) como contra-eletrodo e um eletrodo de Ag/AgCl (KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$) como referência.

4.3 Parte Experimental

4.3.1 Obtenção do extrato e biossíntese de AuNP

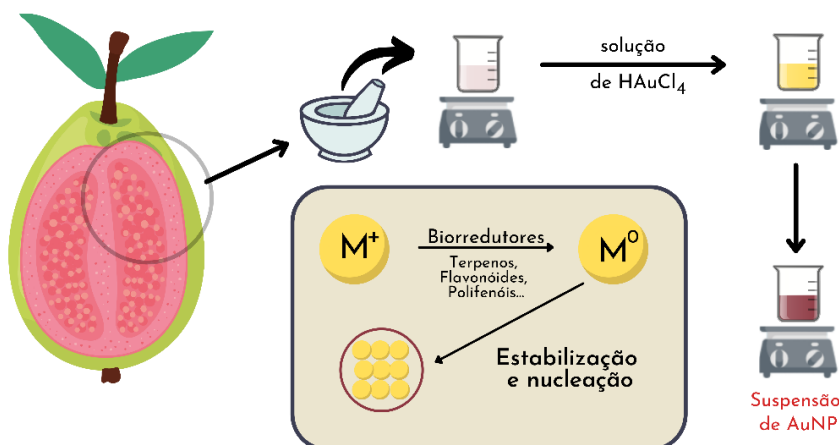
As nanopartículas de ouro (AuNP) foram sintetizadas a partir de uma solução de HAuCl_4 6 mmol L^{-1} e extrato de goiaba (*Psidium guajava*). A goiaba foi obtida no comércio local de Florianópolis - SC.

Inicialmente, o fruto da goiaba foi lavado com água ultrapura e cortado em pequenos pedaços. Uma massa de 5 g de goiaba foi macerada, com auxílio de almofariz e pistilo, e diluída com a adição de 20 mL de água ultrapura. O extrato foi centrifugado a 10.000 rpm por 3 min a 25°C , de forma a retirar o sobrenadante resultante. Uma solução límpida foi obtida, sendo esta utilizada na síntese de AuNP como agente redutor e estabilizante.

Para a síntese o volume de 1,0 mL do extrato de goiaba foi diluído em 2,25 mL de água ultrapura em um béquer. Então, 0,25 mL de solução de HAuCl_4 (6 mmol L^{-1}) foi adicionado rapidamente à mistura. O sistema foi mantido por agitação magnética constante durante dez minutos até o aparecimento da coloração roxo

avermelhada, característico de AuNP (Figura 8). A caracterização do nanomaterial formado foi realizado por espectrofotometria UV-VIS.

Figura 8. Representação das etapas da síntese verde de AuNP utilizando extrato do fruto da goiaba.



Fonte: Elaborado pelo autor

4.3.2 Construção do sensor eletroquímico

Primeiramente, pesou-se 1,5 mg de grafeno (GR) em um eppendorf. Após, foram adicionados 100 μ L de AuNP e a mistura foi agitada por 1 min em vórtex e colocada no banho de ultrassom até a homogeneização do sistema. Esta dispersão, denominada AuNP-GR, foi utilizada para modificação do GCE.

A superfície do GCE foi limpa através de polimento em suspensão de alumina (granulometria 0,05 μ m) sobre tecido feltro. A modificação do eletrodo foi feita pelo método "drop coating" através do gotejamento de uma alíquota de 2 μ L da dispersão AuNP-GR, com o auxílio de uma micropipeta, sobre a superfície do GCE limpo. A superfície do eletrodo foi seca em dessecador sob vácuo, durante 15 min, resultando no eletrodo de trabalho (AuNP-GR/GCE). Para fins comparativos foram avaliados um eletrodo sem modificação (GCE) e um eletrodo modificado apenas com AuNP (AuNP/GCE) construído através do mesmo procedimento descrito acima.

4.4 Medidas eletroquímicas

Os experimentos voltamétricos foram realizados à temperatura ambiente (25 °C) em uma célula eletroquímica contendo 15,0 mL do eletrólito de suporte

(tampão acetato 0,1 mol L⁻¹; pH 4,0) e o volume requerido da substância analisada (solução padrão ou amostra). Os voltamogramas foram registrados após agitação magnética durante 60 segundos, tempo necessário para a homogeneização da solução na célula. Todas as medidas de potencial foram obtidas vs. Ag/AgCl (KCl, 3,0 mol L⁻¹). As análises empregando LSV foram realizadas em intervalo de potencial de + 0,2 a + 1,2 V, com velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹, após sucessivas adições de analito com auxílio de uma micropipeta. Os voltamogramas cíclicos foram obtidos em intervalo de potencial de - 0,5 a + 1,2 V com velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹.

4.5 Segurança no laboratório e tratamento dos resíduos

A utilização de jaleco, calças e luvas foi considerada a vestimenta adequada para realização dos experimentos. Quando necessário, a manipulação de reagentes e o preparo de soluções foram realizados na capela equipada com exaustor.

Os resíduos gerados compreendem à classe de resíduos aquosos (em sua maioria, soluções tampão e compostos fenólicos), sendo pouco frequente o uso de solventes orgânicos. As nanopartículas de ouro foram preparadas visando a química verde, evitando assim produtos tóxicos ao final do processo. Porém, devido ao seu tamanho, as nanopartículas e o grafeno possuem facilidade de difusão em recursos hídricos e solos, além da difícil remoção por técnicas de filtração convencionais.

Por isso, tanto os resíduos aquosos quanto os resíduos de nanopartículas e grafeno foram armazenados no laboratório, sendo depois coletados e devidamente tratados pela empresa PROACTIVA, contratada pela Coordenadoria de Gestão de Resíduos da UFSC. Os resíduos sólidos, como luvas e ponteiros, também foram armazenados no laboratório, sendo depois coletadas e descartados pela mesma empresa.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Síntese e desempenho de AuNP

Inicialmente, a formação das nanopartículas de ouro (AuNP) empregando uma solução de HAuCl_4 6 mmol L^{-1} e diferentes volumes (mL) de extrato de goiaba foi avaliada. O resultado dessa síntese foi caracterizado por UV-Vis.

Após otimização, as AuNP foram empregadas na modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo (GCE) e a resposta eletroquímica foi avaliada por voltametria cíclica usando uma solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ em solução de cloreto de potássio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, que foi utilizada como uma sonda eletroquímica padrão.

5.1.1 Estudo da proporção do extrato

Com o objetivo de analisar e otimizar a formação das AuNP, realizou-se três sínteses com diferentes proporções de extrato:água: (I) 0,75:2,50; (II) 1,00:2,25; (III) 1,5:1,75 (v/v) como mostra a Tabela 1. Em seguida, uma solução de HAuCl_4 (6 mmol L^{-1} , $0,25 \text{ mL}$) foi adicionada à esses extratos e após um tempo médio de 10 min houve a formação das AuNP.

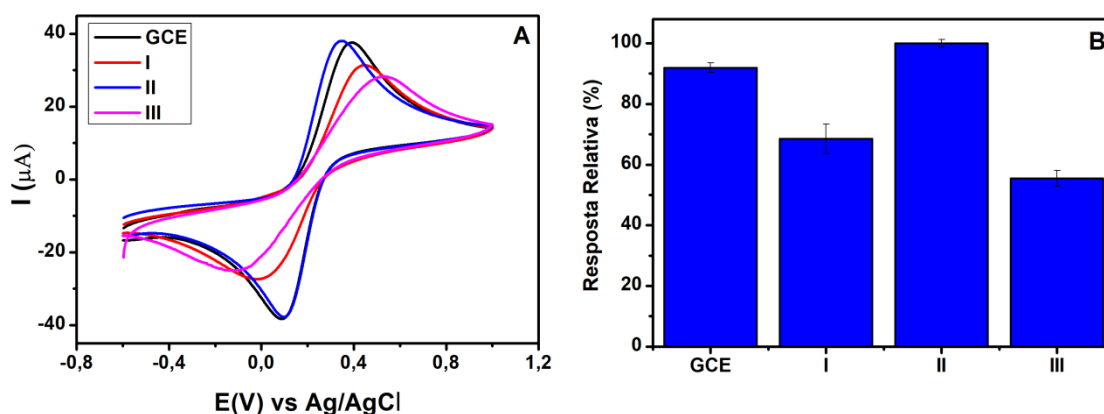
Tabela 1. Proporção de extrato:água usada na síntese de AuNP.

Dispersão coloidal	I	II	III
Volume extrato (mL)	0,75	1,00	1,50
Volume água (mL)	2,50	2,25	1,75
Volume HAuCl_4 (mL)	0,25	0,25	0,25
Volume total (mL)	3,50	3,50	3,50

O extrato vegetal utilizado nas três sínteses foi obtido da mesma fruta e o término da síntese foi indicado após aparecimento da coloração roxo avermelhada característica das AuNP. O tempo de síntese variou entre 7 e 10 min, dependendo da proporção de extrato: água utilizada na síntese das nanopartículas.

Após a síntese, 2,0 μL de cada dispersão foram gotejados sobre a superfície de um eletrodo de carbono vítreo (GCE). Após a secagem do filme de AuNP, sob vácuo (15 min), os voltamogramas cíclicos foram obtidos usando uma solução 5,0 mmol L^{-1} do sistema $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (considerada como uma sonda eletroquímica padrão) preparado em solução de cloreto de potássio 0,1 mol L^{-1} (Figura 9).

Figura 9. Estudo da proporção do extrato vegetal utilizado na síntese de AuNP. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, 5,0 mmol L^{-1} e KCl 0,1 mol L^{-1} aplicando GCE e AuNP/GCE empregando suspensões de nanopartículas sintetizadas com os seguintes volumes de extrato: I) 0,75 mL ; II) 1,00 mL e III) 1,50 mL. (B) Respostas relativas (%).



Baseado nos dados apresentados na Figura 9, a proporção II (extrato:água 1,00:2,50) obteve uma corrente de pico superior ao GCE, além de deslocar o potencial redox para valores mais negativos indicando que a reação do analito é favorecida por efeito eletrocatalítico. Sendo assim, essa proporção foi fixada para os demais testes. Supõe-se que o menor sinal obtido pela proporção III (extrato:água 1,50:1,75) é decorrente do maior volume da dispersão que dificulta a formação do filme sobre a superfície do eletrodo.

De forma a aprimorar a resposta obtido pelo sensor eletroquímico, fez-se estudos posteriores para a otimização da síntese alterando-se a concentração de HAuCl_4 na proporção II escolhida.

5.1.2 Estudo da concentração de HAuCl_4

Nesta etapa foi otimizada a concentração da solução de ouro usada na síntese das AuNP e na resposta do sensor. Sendo assim, uma solução HAuCl_4 6,0

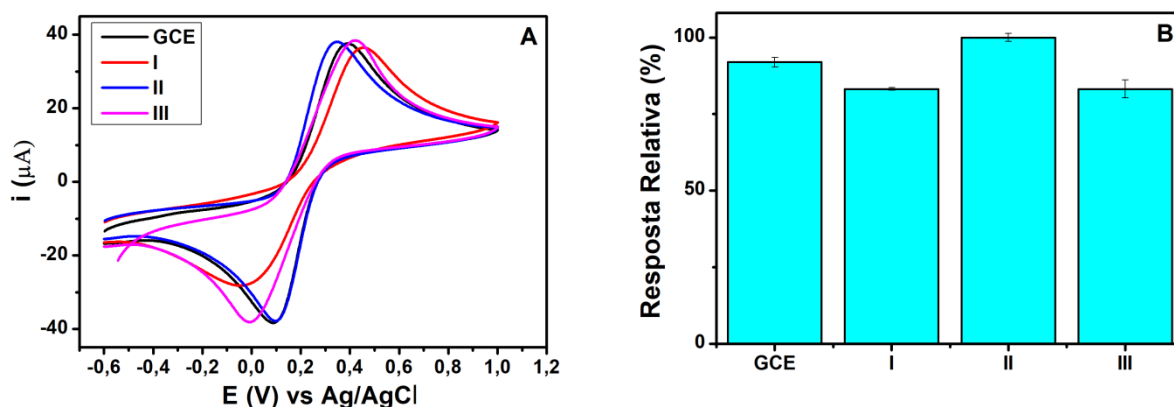
mmol L⁻¹ foi empregada em três sínteses distintas utilizando o volume do extrato fixado em 1,0 mL, conforme definido acima (item 5.1.1). A variação da concentração (0,26; 0,43 e 0,73 mmol L⁻¹) da solução de HAuCl₄ se encontra descrito na Tabela 2.

Tabela 2. Variação da concentração de HAuCl₄ na otimização da síntese de AuNP.

Dispersão Coloidal	I	II	III
Volume extrato (mL)	1,00	1,00	1,00
Volume água (mL)	2,25	2,25	2,25
Volume HAuCl ₄ (mL)	0,15	0,25	0,45
[HAuCl₄] (mmol L⁻¹)	0,26	0,43	0,73

O extrato vegetal utilizado nas três sínteses foi preparado a partir da mesma fruta. O término da síntese foi indicado pela coloração roxo avermelhada. Após a síntese, 2,0 µL de cada dispersão foi gotejada sobre a superfície do GCE e após secagem do filme contendo nanopartículas (AuNP/GCE), avaliou-se os voltamogramas cíclicos obtidos em solução [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, 5,0 mmol L⁻¹, como mostra a Figura 10.

Figura 10. Estudo da concentração de HAuCl₄ na síntese de AuNP. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução do par redox [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, 5,0 mmol L⁻¹ e KCl 0,1 mol L⁻¹ aplicando GCE e AuNP/GCE empregando suspensões de nanopartículas sintetizadas com as seguintes concentrações de HAuCl₄: (I) 0,26 mmol L⁻¹, (II) 0,43 mmol L⁻¹ e (III) 0,73 mmol L⁻¹. (B) Respostas Relativas (%).



A partir dos dados apresentados na Figura 10 é possível observar um bom perfil voltamétrico e a maior resposta do sensor obtida usando as AuNP sintetizadas em solução de HAuCl₄ 0,43 mmol L⁻¹, superior à resposta utilizando o GCE e as

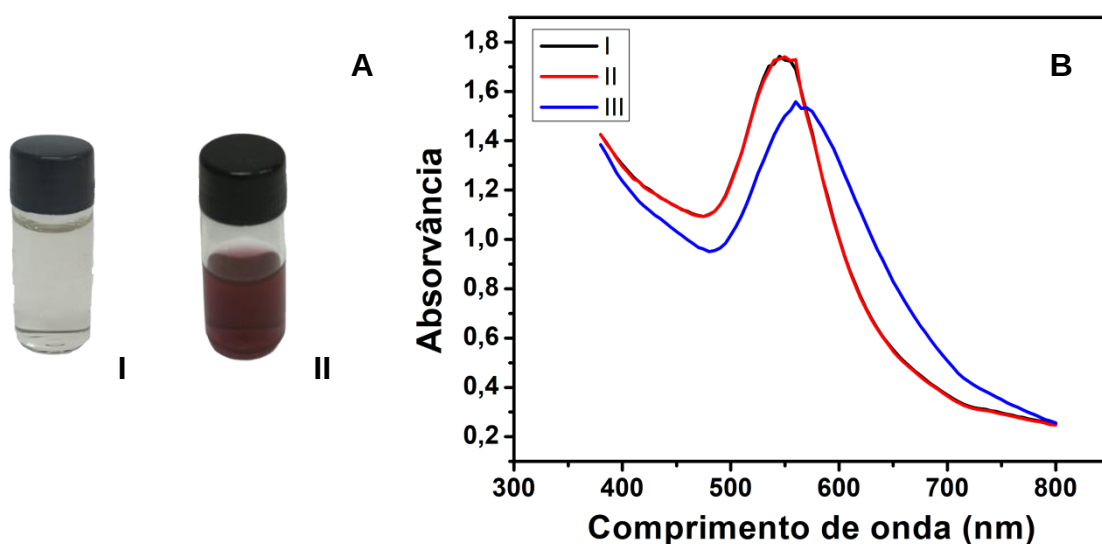
concentrações I e II. Portanto, a proporção de 1,0 mL de extrato:2,25 de água, 0,43 mmol L⁻¹ de HAuCl₄ foi fixada para a síntese de AuNP e a suspensão resultante foi aplicada como modificador da superfície do GCE nos estudos posteriores.

5.1.3 Caracterização da AuNP

Na síntese das AuNP ao empregar uma solução de HAuCl₄ 6 mmol L⁻¹ e o extrato de goiaba diluído, foi observado o aparecimento da coloração roxo avermelhada (Figura 11A, II), que difere da solução límpida do extrato de goiaba (Figura 11A, I).

As medidas espectrofotométricas foram utilizadas para monitorar a formação e estabilidade das nanopartículas nas diferentes proporções estudadas. Na Figura 11B, é possível observar os espectros UV-vis com banda em aproximadamente 550 nm (banda característica de AuNP) das dispersões obtidas nas proporções: I) 0,75; II) 1,00 e III) 1,50 mL de extrato de goiaba. A presença da banda plasmônica do ouro indica a formação de nanopartículas metálicas, resultado da interação da radiação eletromagnética incidente e os elétrons livres na banda de condução do metal⁶⁴.

Figura 11. (A) Solução de extrato de goiaba (I) e dispersão de AuNP (II) sintetizada a partir do extrato de goiaba. (B) Espectro UV-vis para a dispersão de AuNP sintetizadas com HAuCl₄ 0,43 mmol L⁻¹ nas proporções com: I) 0,75; II) 1,00 e III) 1,50 mL de extrato de goiaba.



Além disso, é possível observar que as dispersões I e II possuem valores de absorvância próximos entre si apresentando uma banda bem definida em 550 nm

característica de nanopartículas menores com diâmetro em torno de 50 nm. A banda referente a dispersão III, no entanto, apresenta um deslocamento para maiores comprimentos de onda indicando menor estabilidade da dispersão em maiores concentrações de extrato, bem como a formação de nanopartículas de maior diâmetro (em torno de 100 nm). Este dado está de acordo com o resultado obtido na Figura 9, que demonstra uma queda significativa do sinal de corrente empregando 1,5 mL de extrato na síntese.

5.2 Construção e otimização do sensor eletroquímico

Para otimização do eletrodo modificado utilizou-se a voltametria cíclica, empregando uma solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ preparada em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Estes estudos permitiram avaliar, separadamente, a contribuição de cada modificador utilizado na construção do sensor.

5.2.1 Estudo da proporção de grafeno

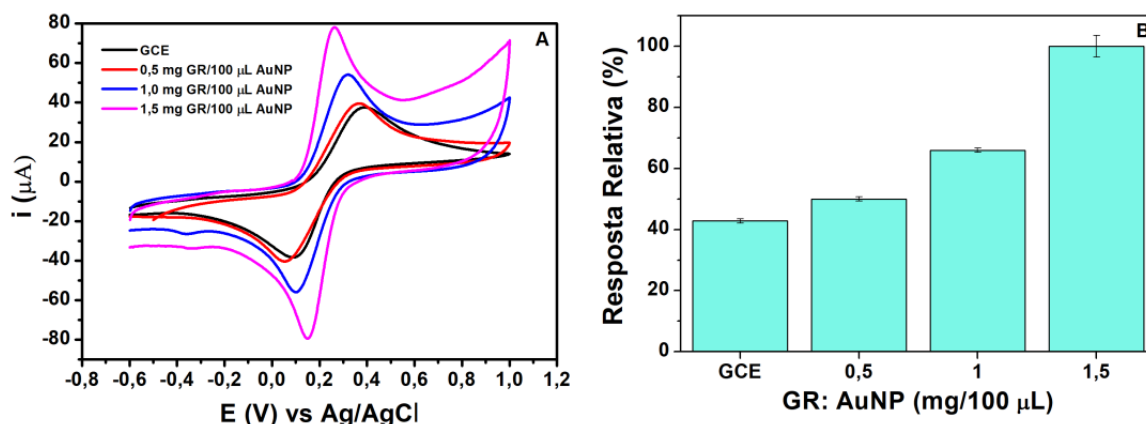
Alíquotas de 100 μL de AuNP, sintetizadas a partir de 1,00 mL do extrato vegetal, 2,25 mL de água e $0,43 \text{ mmol L}^{-1}$ de HAuCl_4 , foram adicionadas à diferentes quantidades de grafeno. As proporções estabelecidas para preparo da dispersão AuNP-GR se encontram na tabela 3 abaixo.

Tabela 3. Proporções de grafeno avaliadas para a dispersão AuNP-GR

Dispersão AuNP-GR	I	II	III
Volume de AuNP (μL)	100	100	100
Massa de Grafeno (mg)	0,75	1,00	1,50

Após solubilização da suspensão AuNP:grafeno em banho de ultrassom, 2,0 μL de cada dispersão foi gotejada sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo (GCE). Após secagem do filme AuNP-GR, avaliou-se os sinais de corrente obtidos por meio dos voltamogramas resultantes, representados nas Figuras 12A e B.

Figura 12. Estudo da concentração de grafeno aplicado à suspensão AuNP. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹ aplicando GCE e AuNP-GR/GCE empregando as seguintes massas de grafeno: 0,5, 1,0 e 1,5 mg. (B) Respostas Relativas (%).



É possível observar na Figura 12B que a massa de 1,5 mg de grafeno (dispersão II) apresentou sinal de corrente aproximadamente 2,5 vezes maior que o GCE e 1,5 a 2,0 vezes maior que as correntes obtidas pelas massas 0,5 mg e 1,0 mg respectivamente. Uma hipótese que pode explicar este expressivo ganho de corrente é a ação do grafeno auxiliando na deposição do analito sobre a superfície e no aumento na condutividade do sistema⁶³.

Foram avaliadas dispersões com maiores proporções de grafeno, porém o filme formado sobre o GCE se desprendeu durante a análise impossibilitando a medida. Portanto, fixou-se a proporção de 1,5 mg de grafeno em 100 μL da suspensão AuNP para otimização do eletrodo em estudos posteriores.

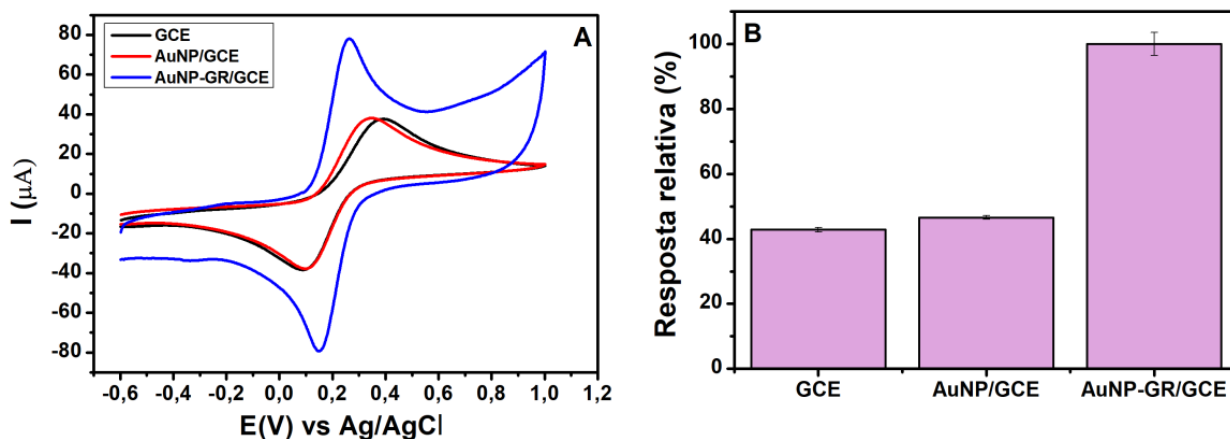
A construção do sensor foi então fixada nas seguintes proporções de modificadores: 100 μL de AuNP e 1,5 mg de grafeno, sendo o eletrodo denominado AuNP-GR/GCE.

5.2.2 Contribuição dos modificadores

A contribuição de cada modificador foi avaliada construindo três eletrodos distintos: um GCE sem modificação, um GCE modificado apenas com a dispersão de AuNP sintetizadas com o extrato de goiaba (AuNP/GCE) e um GCE modificado com suspensão das nanopartículas em extrato de goiaba e grafeno (AuNP-

GR/GCE). Abaixo, na Figura 13, encontram-se os sinais obtidos por meio dos voltamogramas resultantes para os três eletrodos analisados.

Figura 13. Estudo da contribuição dos modificadores. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹, utilizando três eletrodos distintos: GCE, AuNP/GCE e AuNP-GR/GCE. (B) Respostas relativas (%).

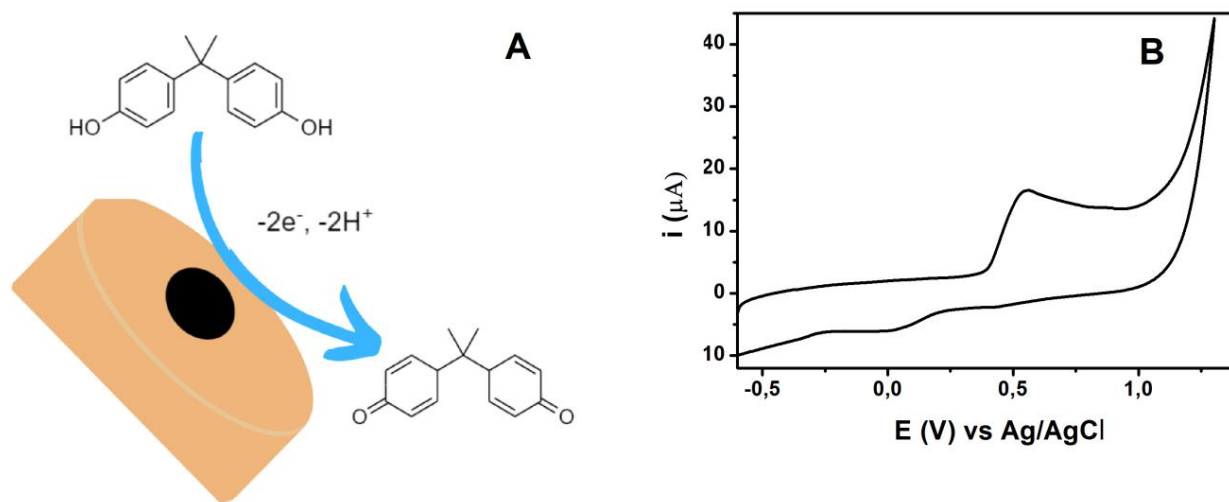


Por meio da Figura 13B é possível verificar que o AuNP-GR/GCE obteve um ganho na resposta relativa de aproximadamente 57% em relação ao eletrodo sem modificação. Este ganho expressivo de corrente demonstrando o potencial deste novo nanomaterial na construção do senso eletroquímico. O ganho de corrente está provavelmente relacionado ao fato de ambos os modificadores (AuNP e o grafeno) contribuírem na transferência de elétrons devido seu caráter condutor e grande área superficial.

5.3 Comportamento eletroquímico do BPA

O sensor proposto, após a otimização, foi aplicado no estudo e determinação do desregulador endócrino: bisfenol A. Neste intuito, o comportamento eletroquímico do BPA sobre o AuNP-GR/GCE foi avaliado por voltametria cíclica. O voltamograma cíclico para BPA 0,2 mmol L⁻¹ em solução tampão PBS 0,02 mol L⁻¹ (pH 7,2) foi obtido aplicando-se uma varredura de potencial na faixa de - 0,6 a 1,3 V com velocidade de 100 mV s⁻¹, como mostra a Figura 14.

Figura 14. Estudo do comportamento eletroquímico do BPA. (A) Representação esquemática do mecanismo de reação envolvendo BPA na superfície do sensor; (B) Voltamograma cíclico em solução tampão PBS $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2) na presença de BPA $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ usando AuNP-GR/GCE.

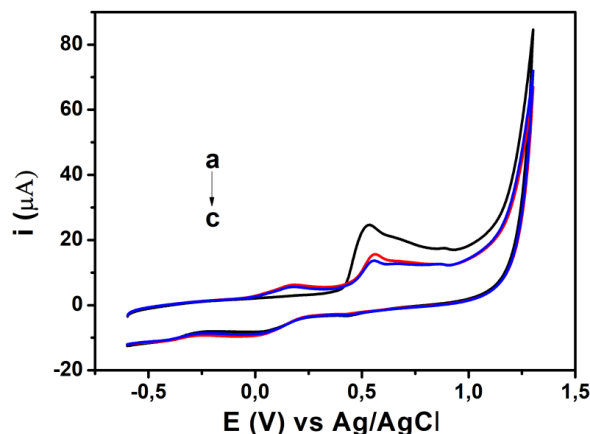


A Figura 14A mostra um esquema da reação de oxirredução do BPA. Durante a reação de oxidação, as hidroxilas ligadas ao anel aromático são transformadas em carbonilas, liberando dois prótons e levando a formação da espécie oxidada.

Observou-se através da voltametria cíclica (Figura 14B) um pico de oxidação em potencial 0,52 V com valor de corrente de pico de 16,1 μA . Verificou-se então que o sensor construído obteve um sinal analítico, de forma a detectar a presença do BPA. Além disso, também por meio da figura 14B é possível identificar um único pico indicando que a reação de oxirredução do BPA é um processo irreversível. Este mecanismo de reação está de acordo com outros trabalhos recentes reportados na literatura^{62,64}.

Apesar do sinal observado, os picos de corrente do BPA diminuíram significativamente com o número de ciclos sucessivos, de acordo com a Figura 15. Isso ocorre pois, durante a oxidação do BPA, podem ser formadas quinonas ou radicais fenoxi, que formam dímeros entre si e bloqueiam a superfície do eletrodo⁶⁵. Portanto, após cada medida, decidiu-se pela limpeza do GCE e uma nova modificação do eletrodo com o filme de AuNP-GR. Os resultados apresentados nos testes posteriores são referentes ao primeiro ciclo.

Figura 15. Voltamogramas cíclicos sucessivos em solução tampão PBS $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2): (a) 1º ciclo, (b) 2º ciclo e (c) 3º ciclo na presença de BPA $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ empregando AuNP-GR/CGE.

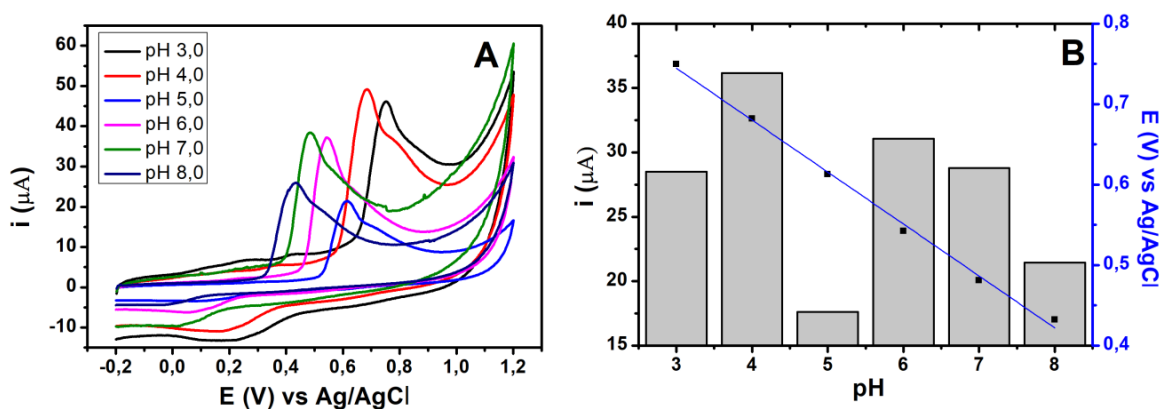


5.4 Estudo da natureza do eletrólito suporte e do pH

Para selecionar o melhor eletrólito de suporte e pH da solução analisou-se duas soluções tampão: acetato e fosfato, ambas em concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, as quais tiveram seu pH variado de 3,0 a 5,0 e de 6,0 a 8,0, respectivamente. O pH do meio pode afetar diretamente a forma como a espécie eletroativa se encontra em solução, alterando assim o modo como o analito irá interagir com a superfície do eletrodo.

Dessa forma, foi investigado o efeito do pH do eletrólito suporte para medidas empregando o AuNP-GR/GCE, por CV na faixa de pH (3,0-8,0), utilizando BPA $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$. Após a modificação do eletrodo, foram obtidos os voltamogramas resultantes, destacados na Figura 16A.

Figura 16. (A) Voltamogramas cíclicos para AuNP-GR/GCE, empregando BPA $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ em soluções tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH = 3,0; 4,0 e 5,0) e fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH = 6,0; 7,0 e 8,0); $u = 100 \text{ mV s}^{-1}$. (B) Gráfico de variação da corrente em função do pH e relação linear entre potencial e pH.



A intensidade da corrente resultante para o bisfenol A foi maior em solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 4,0, além de apresentar um bom perfil de pico voltamétrico. Assim, este valor de pH foi selecionado para estudos analíticos posteriores.

Seguindo a relação de equilíbrio redox ($\text{pK}_a=\text{pH}$) e considerando o pK_a da molécula BPA próximo a 9,6 temos que, a partir deste valor de pH o analito passa a estar presente no meio majoritariamente em sua forma oxidada, prejudicando a reação de oxirredução sob a superfície do eletrodo. Sendo assim não foram avaliadas soluções tampão com valores de pH mais básicos.

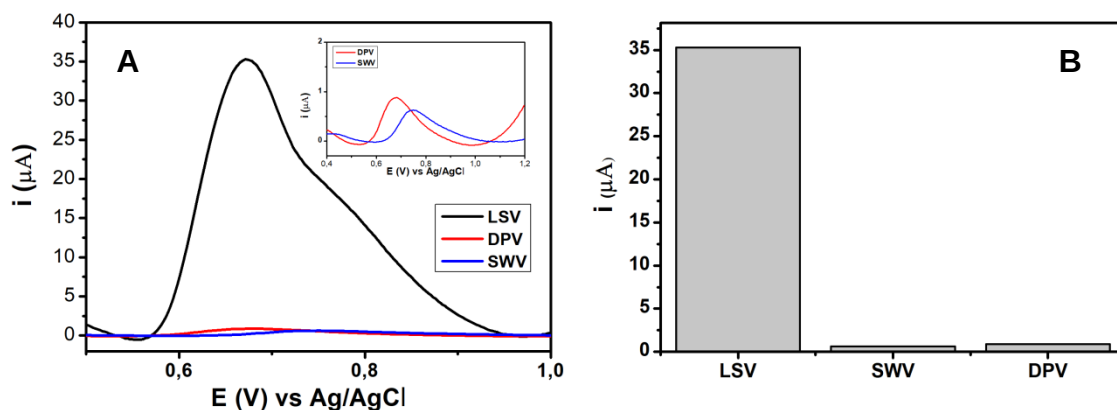
A Figura 16B, mostra a relação linear do potencial do pico em relação ao pH, apresentando uma equação de reta com coeficiente angular de $-64,6 \text{ mV/pH}$ ($r^2 = 0,998$). Este valor é próximo ao valor previsto pela equação de Nerst ($-59,2 \text{ mV/pH}$; $r^2 = 0,999$), indicando que há o mesmo número de mols de elétrons e prótons transferidos na reação de oxidação do BPA sobre a superfície do sensor eletroquímico e está de acordo com o mecanismo de reação proposto na Figura 14A.

5.5 Seleção da técnica eletroanalítica

Após a escolha da melhor faixa de pH, foram realizados estudos para a escolha da técnica voltamétrica mais adequada, ou seja, a técnica que apresenta a melhor resposta analítica em termos de corrente e resolução de pico. Avaliou-se as respostas das voltametrias linear (LSV), pulso diferencial (DPV) e onda quadrada (SWV), sendo os voltamogramas resultantes expressos na Figura 17A.

É possível observar na Figura 17B que a técnica de LSV apresentou um sinal de corrente de aproximadamente 40 e 55 vezes maior que a técnica de DPV e SWV, respectivamente. O fato da reação do BPA na superfície do sensor ser irreversível pode não ter favorecido a SWV, pois nesta técnica, a medida da corrente de pico é a resultante varredura feita nos dois sentidos (redução e oxidação). Além disso, supõe-se que a cinética de reação é lenta e por isso a técnica linear se sobressai as técnicas pulsadas que operam a velocidades mais altas. Assim, a técnica de LSV foi selecionada para estudos analíticos posteriores.

Figura 17. (A) Voltamogramas para AuNP-GR/GCE, empregando BPA $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0) para diferentes técnicas eletroanalíticas (LSV, DPV e SWV). Ao lado, encontra-se a ampliação dos voltamogramas para as técnicas DPV e SWV. (B) Gráfico de barras das correntes de pico para as diferentes técnicas avaliadas

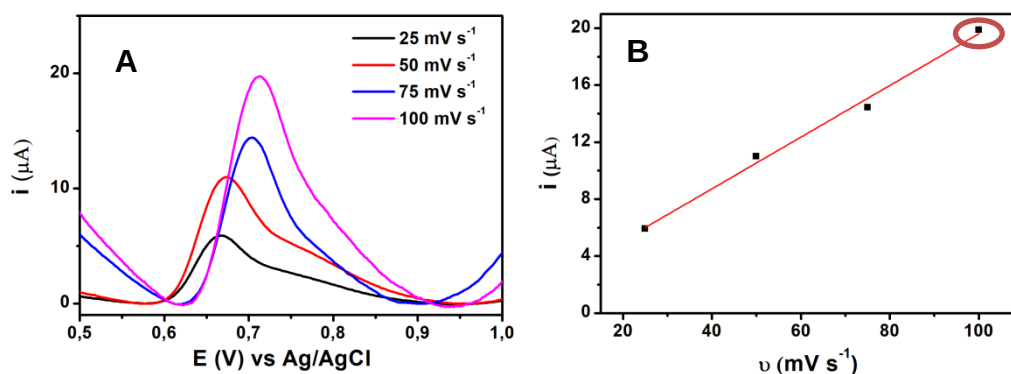


5.5.1 Otimização dos parâmetros de voltametria linear

A técnica LSV possui apenas a velocidade de varredura (v) como parâmetro experimental. A otimização deste parâmetro faz-se necessária de modo a obter uma melhor definição de pico e sensibilidade na determinação analítica, contribuindo para uma melhora na metodologia proposta. O efeito do parâmetro da velocidade de varredura foi investigado na faixa de $25\text{-}100 \text{ mV s}^{-1}$, empregando BPA na concentração de $0,06 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$; pH 4,0) para o AuNP-GR/GCE.

Os resultados são apresentados na Figura 18. O maior valor de corrente obtido sem perda na linearidade, foi na velocidade de $100,0 \text{ mV s}^{-1}$. Assim, esta velocidade de varredura foi selecionada para estudos analíticos posteriores.

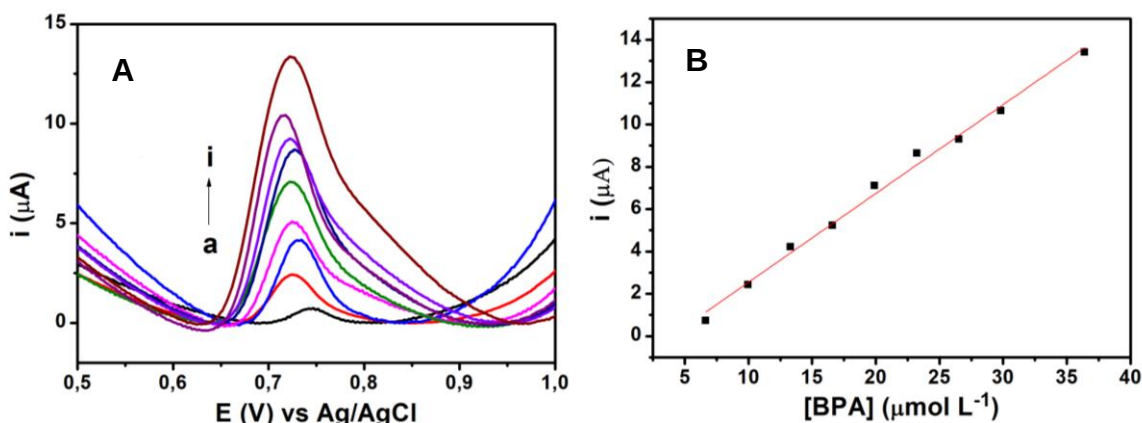
Figura 18. (A) Voltamogramas de varredura linear para BPA $0,06 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) para diferentes velocidades de variação de potencial. (B) Gráfico de i vs. v .



5.6 Curva de calibração para o BPA

Nas condições experimentais otimizadas, os voltamogramas de varredura linear e a curva de calibração para o BPA foram obtidos, utilizando o AuNP-GR/GCE. A curva de calibração foi construída através da adição de alíquotas da solução padrão de BPA. A Figura 19A mostra os voltamogramas de varredura linear para diferentes concentrações de BPA e a Figura 19B, a curva de calibração. São observados picos bem definidos no potencial de + 0,72 V cuja intensidade da corrente aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração de BPA no intervalo de 6,66 a 36,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Figura 19. (A) Voltamogramas de varredura linear para diferentes concentrações de BPA sobre o AuNP-GR/GCE: (a) 6,66; (b) 9,98; (c) 13,3; (d) 16,6; (e) 19,9; (f) 23,2; (g) 26,5; (h) 29,8; (i) 36,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0); $\nu = 100,0 \text{ mV s}^{-1}$ (B) Curva de calibração para BPA.



A regressão linear pode ser expressa de acordo com a função: $i = 0,420[\text{BPA}] - 1,165$ onde i é a corrente de pico em μA , e $[\text{BPA}]$ é a concentração de BPA em $\mu\text{mol L}^{-1}$. A curva de calibração apresentou boa linearidade, com um coeficiente de determinação (r^2) igual a 0,993, indicando uma boa relação entre os dados.

O limite de detecção (LOD), menor concentração do analito que pode ser detectada com razoável certeza para uma dada metodologia analítica⁶⁶, foi calculado através dos parâmetros da curva de calibração (Equação 1).

$$\text{LOD} = \frac{3\sigma}{s} \quad (1)$$

Onde, “ σ ” representa o desvio do intercepto e “ s ” o valor da inclinação da curva de calibração. O limite de quantificação (LOQ) foi calculado usando os parâmetros da curva de calibração, apenas substituindo o valor de 3 por 10 na equação do cálculo do LOD (Equação 2).

$$\text{LOQ} = \frac{10\sigma}{s} \quad (2)$$

O LOD e LOQ foram calculados, resultando em 2,02 e 6,74 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O limite de detecção é considerado baixo e indica que o método proposto apresenta uma boa sensibilidade.

5.7 Perspectivas

Um sensor eletroquímico para determinação de bisfenol A, a partir da modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com grafeno e nanopartículas de ouro, sintetizadas em extrato de goiaba (*Psidium guajava*), foi desenvolvido e otimizado. Entretanto, devido ao curto período de tempo devido à pandemia não foi possível concluir o trabalho.

Dando continuidade à sequência de experimentos pretende-se avaliar a repetibilidade, reprodutibilidade, estudo de possíveis interferentes e aplicação no sensor na determinação de BPA em amostra comercial. As amostras selecionadas também serão analisadas por um método comparativo, a fim de comparar os dados e desempenho do sensor proposto.

6 CONCLUSÃO

Um novo sensor eletroquímico foi desenvolvido através da modificação de um eletrodo de carbono vítreo com um filme de grafeno e nanopartículas de ouro, sintetizadas em extrato de goiaba (*Psidium guajava*). A síntese das nanopartículas de ouro foi otimizada assim como a proporção da suspensão de AuNP e grafeno na construção do eletrodo, contribuindo no aumento do sinal da corrente.

Após a otimização das condições experimentais, como eletrólito suporte, pH do meio reacional e parâmetros da técnica voltamétrica selecionada, a reação de oxidação do BPA no eletrodo foi investigada e se mostrou irreversível a um potencial bem definido e adequado para a detecção do BPA. A curva de calibração obtida usando o AuNP-GR/GCE, foi linear para BPA na faixa de concentração de 6,66 a 36,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r^2 = 0,993$), o limite de detecção 2,02 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e o limite de quantificação 6,74 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

O bom desempenho do sensor deve-se principalmente à presença de nanomateriais utilizados na modificação do GCE, que melhorou as propriedades (por exemplo, maior área de superfície e condutividade), facilitando a reação de transferência de elétrons. O sensor desenvolvido também oferece vantagens como a facilidade na construção e rápido tempo de análise que, aliado a boa sensibilidade e detectabilidade apresentada, faz deste método uma excelente alternativa para determinação de BPA.

7 REFERÊNCIAS

- ¹IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology**, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). Online version (2019-) created by S. J. Chalk. ISBN 0-9678550-9-8.
- ²GALLI, Andressa; SOUZA, Djenaine de; GARBELLINI, Gustavo S.; COUTINHO, Cláudia F. B.; MAZO, Luiz H.; AVACA, Luis A.; MACHADO, Sergio A. S.. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 105-112, fev. 2006.
- ³MARTOS, Lara Martholly Di. **Contaminantes metálicos em fertilizantes fosfatados e águas superficiais: determinação simultânea e sequencial de urânio, prata, tálio, chumbo e cádmio por voltametria de redissolução**. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2019.
- ⁴MATOS, Simone Pires de. **Técnicas de análise química: Métodos clássicos e instrumentais**. 1 ed. São Paulo: Érica, 2015.
- ⁵PACHECO, W. F.; SEMAAN, F. S.; DE ALMEIDA, V. G.; RITTA, A. G. S.; AUCÉLIO, R.Q. Voltametrias: Uma breve revisão sobre os conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516-537, 2013.
- ⁶SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN T. A. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª Ed. Porto Alegre: Bookman, 2006.
- ⁷ZAPP, Eduardo. **Sensor bioinspirado modificado com nanopartículas metálicas estabilizadas em surfactante aplicado à determinação de polifenóis**. 2012. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.
- ⁸ALEIXO, Luiz Manoel. Voltametria: conceitos e técnicas. **Revista Chemkeys**, n. 3, p. 1-21, 2003.
- ⁹AGOSTINHO, S. M.; VILLAMIL, R. F.; AGOSTINHO NETO, A.; ARANHA, H. O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo. **Química nova**, v. 27, p. 813-817, 2004.
- ¹⁰ELGRISHI, N.; ROUNTREE, K. J.; MCCARTHY, B. D.; ROUNTREE, E. S.; EISENHART, T. T.; DEMPSEY, J. L. A practical beginner's guide to cyclic voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 95, n. 2, p. 197-206, 2018.

- ¹¹FONSECA, I.; PROENÇA, L.; CAPELO, Sofia. A voltametria cíclica e de varrimento linear unidirecional: suas potencialidades na caracterização de processos de corrosão. **Corrosão e Protecção de Materiais**, v. 34, n. 1, p. 12-21, 2015
- ¹²FERNANDES, Suellen Cadorin. **Biossensores eletroquímicos para compostos fenólicos usando novos materiais**. 2012. 114 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.
- ¹³BRETT, Christopher M.A.; BRETT, Ana M. O. **Electrochemistry: Principles, methods and applications**. 1ª Ed. New York: Oxford University Press, 2006.
- ¹⁴SILVA, Luciane Dias da. **Síntese verde, caracterização e atividade biológica de nanopartículas de prata obtidas utilizando extratos de Hancornia speciosa Gomes - Apocynaceae (mangabeira)**. 2014. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.
- ¹⁵PEREIRA, Arnaldo César; SANTOS, Antonio de Santana; KUBOTA, Lauro Tatsuo. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v. 25, p. 1012-1021, 2002.
- ¹⁶TAJIK, S.; BEITOLLAHI, H.; NEJAD, F. G.; ZHANG, K.; LE, Q. V.; JANG, H. W.; KIM, S.Y.; SHOKOUHIMEHR, M. Recent advances in electrochemical sensors and biosensors for detecting bisphenol A. **Sensors**, v. 20, n. 12, p. 3364, 2020.
- ¹⁷BAIG, Nadeem; SAJID, Muhammad; SALEH, Tawfik A. Recent trends in nanomaterial-modified electrodes for electroanalytical applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 111, p. 47-61, 2019.
- ¹⁸MELO, Celso Pinto de; PIMENTA, Marcos. **Nanociências e nanotecnologia**. Parcerias Estratégicas, Brasília, v. 9, n. 18, p. 9-21, 2004.
- ¹⁹TOLOCHKO, N. K. History of nanotechnology. **Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)**, 2009.
- ²⁰CARVALHO, Éster de. **A revolução nanotecnológica e seus riscos (des)conhecidos: ponderações para a adequação do direito aos desafios lançados pela sociedade de risco**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Jurídicas, Programa de Pós-Graduação em Direito, Florianópolis, 2019.

²¹TONET, Michele Duarte. **Nanociência e Nanotecnologia: uma revisão bibliográfica acerca das contribuições e desafios para o ensino de Física**. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Florianópolis, 2018.

²²ALVES, Oswaldo Luiz. Nanotecnologia, nanociência e nanomateriais: quando a distância entre presente e futuro não é apenas questão de tempo. **Parcerias Estratégicas**, Brasília, v. 9, n. 18, p. 23-40, 2004.

²³ALBERNAZ, Vanessa Lima. **Síntese verde de nanopartículas de prata com extrato aquoso de folhas de Brosimum gaudichaudii, caracterização fisicoquímica, morfológica e suas aplicações no desenvolvimento de um nanobiossensor eletroquímico**. 2014. 122 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

²⁴BEYENE, Hayelom Dargo; WERKNEH, Adhena Ayaliew; BEZABH, Hailemariam Kassa; AMBAYE, Tekilt Gebregergs. Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. **Sustainable Materials And Technologies**, [S.L.], v. 13, p. 18-23, set. 2017. Elsevier BV.

²⁵FIRDHOUSE, M. Jannathul; LALITHA, P. Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Its Applications. **Journal Of Nanotechnology**, [S.L.], v. 2015, p. 1-18, 2015. Hindawi Limited.

²⁶HORNYAK, Gabor L.; H.F., Tibbals; DUTTA, Joydeep; MOORE, J.J. **Introduction to nanoscience and nanotechnology**. CRC press, 2008.

²⁷FREITAS, Aline Alves. **Desenvolvimento de eletrodo quimicamente modificado com nanopartículas de ouro para determinação de metildopa em fármaco** 2017. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

²⁸FIGUEIRA, Ciro Siqueira; SANTOS, Ricardo Pires. Biossíntese de nanopartículas de ouro utilizando vegetais. **Nanocellnews**, v. 4, n. 14, 2017.

²⁹VIDOTTI, Marcio; CARVALHAL, Rafaela F.; MENDES, Renata K.; FERREIRA, Danielle C. M.; KUBOTA, Lauro T. Biosensors based on gold nanostructures. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 3-20, jan. 2011.

³⁰PARVEEN, Rashida. **Síntese de nanopartículas de ouro com forma e tamanho controlados utilizando glicerol como um agente de redução e estabilização**

ecológico e de baixo custo. 2017. 138 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

³¹SUCHOMEL, P.; KVITEK, L.; PRUCEK, R.; PANACEK, A.; HALDER, A.; VAJDA, S.; ZBORIL, R. Simple size-controlled synthesis of Au nanoparticles and their size-dependent catalytic activity. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2018.

³²VOLIANI, Valerio. **Update on gold nanoparticles**. Smithers Rapra, 2013.148 p.

³³ALMEIDA, Débora Aparecida de. **Síntese in situ de nanopartículas de ouro para obtenção de compósitos com polissacarídeos visando aplicações biomédicas**. 2019. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2019.

³⁴SILVA, Luciane Dias da. **Síntese verde, caracterização e atividade biológica de nanopartículas de prata obtidas utilizando extratos de Hancornia speciosa Gomes - Apocynaceae (mangabeira)**. 2014. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

³⁵MOHAMMADLOU, M.; MAGHSOUDI, H.; JAFARIZADEH-MALMIRI, HJIFRJ. A review on green silver nanoparticles based on plants: Synthesis, potential applications and eco-friendly approach. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 2, 2016.

³⁶MITTAL, Amit Kumar; CHISTI, Yusuf; BANERJEE, Uttam Chand. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 346-356, mar. 2013.

³⁷KUMAR, Vineet; YADAV, Sudesh Kumar. Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology**, v. 84, n. 2, p. 151-157, 2009.

³⁸IRAVANI, Siavash. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. **Green Chemistry**, v. 13, n. 10, p. 2638-2650, 2011.

³⁹KUMAR, H.; BHARDWAJ, K.; KUCA, K.; NEPOVIMOVA, E.; VERMA, R.; KUMAR, D. Flower-Based Green Synthesis of Metallic Nanoparticles: Applications beyond Fragrance. **Nanomaterials**, v. 10, n. 4, p. 766, 2020.

- ⁴⁰RAKHI, Majumdar; GOPAL, Bag Braja. Terminalia arjunabark extract mediated size controlled synthesis of polyshaped gold nanoparticles and its application in catalysis. **Int. J. Res. Chem. Environ**, v. 2, n. 4, p. 338-344, 2012.
- ⁴¹MELO, C.; CORNEJAL, N.; CRUZ, V.; ALSADI, S.; RODRIGUEZ, G. C.; RAMIREZ, A. G.; SOREL, V.; BONNAIRE, T.; ZYDOWSKY, T. M.; PRIANO, C.; ROMERO, J. F.; KOROCH, A. Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity of Commercial Samples of Guava Leaves (*Psidium guajava*). **Journal of Medicinally Active Plants**, v. 9, n. 1, p. 2, 2020.
- ⁴²CHEN, Hui-Yin; YEN, Gow-Chin. Antioxidan activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. **Food chemistry**, v. 101, n. 2, p. 686-694, 2007.
- ⁴³IHA, S.; MIGLIATO, K. F.; VELLOSA, J. C. R.; SACRAMENTO, L. V. S.; PIETRO, R. C. L. R. P.; ISAAC, V. L. B.; BRUNETTI, I. L.; CORREA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. **Food chemistry**, v. 101, n. 2, p. 686-694, 2007.
- ⁴⁴HASAN, Nasser Mahmoud; MARION, Bianca Dall Gallo. Grafeno: Inovações, aplicações e sua comercialização. **Interfaces Científicas-Exatas e Tecnológicas**, v. 2, n. 1, p. 29-40, 2016.
- ⁴⁵DE JESUS, Karla Acemano; FREIRE, Estevão; GUIMARÃES, M. J. O. C. Grafeno: aplicações e tendências tecnológicas. **Dep. Process. Orgânicos**, v. 737, p. 14-19, 2012.
- ⁴⁶ZARBIN, Aldo JG; OLIVEIRA, Marcela M. Nanoestruturas de carbono (nanotubos, grafeno): Quo Vadis?. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1533-1539, 2013.
- ⁴⁷LIBISCH, Florian. **The Wonder Material Graphene**. 2017. Disponível em: <https://analyticalscience.wiley.com/do/10.1002/gitlab.15487/full/>. Acesso em: 02 fev. 2022.
- ⁴⁸ALLEN, Matthew J.; TUNG, Vincent C.; KANER, Richard B. Honeycomb carbon: a review of graphene. **Chemical reviews**, v. 110, n. 1, p. 132-145, 2010.
- ⁴⁹VIEIRA SEGUNDO, J. E. D.; VILAR, Eudésio Oliveira. Grafeno: Uma revisão sobre propriedades, mecanismos de produção e potenciais aplicações em sistemas energéticos. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 11, n. 2, 2016.

- ⁵⁰NAG, Anindya; MITRA, Arkadeep; MUKHOPADHYAY, Subhas Chandra. Graphene and its sensor-based applications: A review. **Sensors and Actuators A: Physical**, v. 270, p. 177-194, 2018.
- ⁵¹YAVARI, Fazel; KORATKAR, Nikhil. Graphene-based chemical sensors. **The journal of physical chemistry letters**, v. 3, n. 13, p. 1746-1753, 2012.
- ⁵²JUSTINO, Celine IL et al. Graphene based sensors and biosensors. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 91, p. 53-66, 2017.
- ⁵³BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química nova**, v. 30, n. 3, p. 651-666, 2007.
- ⁵⁴CHUG, Thaddeus T. et al. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, v. 127, n. 3-5, p. 204-215, 2011.
- ⁵⁵GHISELLI, Gislaine; JARDIM, Wilson F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química nova**, v. 30, p. 695-706, 2007.
- ⁵⁶DICHIARANTE, Valentina; CAVALLO, Gabriella; METRANGOLO, Pierangelo. Endocrine disrupting pollutants properties affecting their bio-activity, remediation, and detection. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, 2021.
- ⁵⁷BIEMANN, Ronald; BLÜHER, Matthias; ISERMANN, Berend. Exposure to endocrine-disrupting compounds such as phthalates and bisphenol A is associated with an increased risk for obesity. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, 2021.
- ⁵⁸HUELSMANN, Ricardo Dagnoni; WILL, Camila; CARASEK, Eduardo. Determination of bisphenol A: Old problem, recent creative solutions based on novel materials. **Journal of Separation Science**, v. 44, n. 6, p. 1148-1173, 2021.
- ⁵⁹MUSTIELES, S. V.; D'CRUZ, C.; COURDEQ, S.; RODRIGUEZ-CARILO, A.; FINI, J.; HOFER, T.; STEFFENSEN, I.; DIRVEN, H.; BAROUK, R.; OLEA, N.; FERNÁNDES, M. F.; DAVID, A. Bisphenol A and its analogues: A comprehensive review to identify and prioritize effect biomarkers for human biomonitoring. **Environment international**, v. 144, 2020.
- ⁶⁰KAWA, I. A.; FATIMA, Q.; MIR, S. A.; JEELANI, H.; MANZOOR, S.; RASHID, F. Endocrine disrupting chemical Bisphenol A and its potential effects on female health. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, 2021.

- ⁶¹SANTANA, E. R.; DE LIMA, C. A.; PIOVESAN, J. V.; SPINELLI, A. An original ferroferric oxide and gold nanoparticles-modified glassy carbon electrode for the determination of bisphenol A. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 240, p. 487-496, 2017.
- ⁶²SINHA, A.; WU, L.; LU, X.; CHEN, J.; JAIN, R. Advances in sensing and biosensing of bisphenols: a review. **Analytica chimica acta**, v. 998, p. 1-27, 2018.
- ⁶³MUSZYNSKI, Ryan; SEGER, Brian; KAMAT, Prashant V. Decorating graphene sheets with gold nanoparticles. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, n. 14, p. 5263-5266, 2008.
- ⁶⁴SILVA, T. R.; MERIB, J.; SPUDEIT, D. A.; CARASEK, E.; VIEIRA, I. C. Electrode Modified with the Ionic Liquid $[P_{6,6,6,14}]^+ 2 [MnCl_4]^{2-}$ for the Determination of Bisphenol A in Plastic Samples. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 2076-2084, 2019.
- ⁶⁵YU, C.; GOU, L.; ZHOU, X. BAO, N.; Gu, H. Chitosan- Fe_3O_4 nanocomposite based electrochemical sensors for the determination of bisphenol A. **Electrochimica Acta**, v. 56, n. 25, p. 9056-9063, 2011.
- ⁶⁶RIBANI, M., BOTTOLI, C. B. G., COLLINS, C. H., JARDIM, I. C. S. F. & MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, v. 27, p. 771-780, 2004.