



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Aline Alves Freitas

**DETERMINAÇÃO DE CARBENDAZIM E 2,4,6 –TRICLOROFENOL
EM MATRIZ AQUOSA USANDO ELETRODOS QUIMICAMENTE
MODIFICADOS COM MATERIAIS NANOESTRUTURADOS**

Florianópolis - SC
2022

Aline Alves Freitas

**DETERMINAÇÃO DE CARBENDAZIM E 2,4,6 –TRICLOROFENOL
EM MATRIZ AQUOSA USANDO ELETRODOS QUIMICAMENTE
MODIFICADOS COM MATERIAIS NANOESTRUTURADOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Química da Universidade Federal de Santa
Catarina como um requisito para obtenção do
Título de Doutora em Química.
Área de concentração: Química Analítica

Orientadora: Prof^a Dr^a. Iolanda Cruz Vieira

Florianópolis - SC
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Freitas, Aline Alves

Determinação de carbendazim e 2,4,6 -triclorofenol em matriz aquosa usando eletrodos quimicamente modificados com materiais nanoestruturados / Aline Alves Freitas ; orientador, Iolanda Cruz Vieira, 2022.

126 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, , Programa de Pós-Graduação em , Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. . 2. Eletrodo quimicamente modificado. 3. Materiais nanoestruturados. 4. Carbendazim. 5. 2,4,6 Triclorofenol. I. Vieira, Iolanda Cruz. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em . III. Título.

Aline Alves Freitas

Determinação de carbendazim e 2,4,6 –triclorofenol em matriz aquosa usando eletrodos quimicamente modificados com materiais nanoestruturados

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, em 03 de outubro de 2022, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Luiz Henrique Dall’Antonia, Dr.
Universidade Estadual de Londrina

Profa. Daniela Brondani, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina – Campus Blumenau

Prof. Luiz Augusto dos Santos Madureira, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutora em Química.

Prof. Giovanni Finoto Caramori, Dr.
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Química

Profa. Iolanda Cruz Vieira, Dra.
Orientadora

Florianópolis, 2022

A minha mãe Céris, e minhas
irmãs Graça, Elisianne, Tereza
e irmão Evandro

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, ao meu pai Oélio, que no curto espaço de tempo em que convivemos me ensinou o respeito, a ética e principalmente, que o conhecimento é o nosso bem mais precioso;

A minha mãe Cêris, que através do seu amor incondicional me deu a força e a coragem de enfrentar a vida e ir atrás dos meus sonhos e ideais;

A minhas irmãs: Elisianne, Graça e Tereza pelo apoio, carinho e suporte, e por estarem sempre ao meu lado compartilhando os bons e maus momentos;

Ao meu namorado Ismael, pelo apoio, companheirismo, incentivo e amor durante esta longa jornada;

À Prof.^a Dr.^a Iolanda Cruz Vieira pela orientação, inspiração, dedicação e resiliência durante todo o trabalho;

Aos meus colegas do Laboratório de Biossensores (LaBios) – Edinho, Emanuela, Guinther, Luan, Milena, Nathalia, João, Rávila, Vinícius – pelo apoio, companheirismo, momentos de descontração e pela amizade que espero levar comigo sempre;

Aos meus colegas (antigos e atuais) de trabalho no Laboratório Integrado de Meio Ambiente – Ana, Eduarda, Elaine, Gabriel, Giovanna, João, Karen, Lidyana, Lucas, Rafaela, Rafaella, Sofia, Taisa, vocês tornaram os meus dias mais leves e alegres. Obrigada por me permitir ensinar e aprender tanto. Obrigada também aos meus supervisores Rodrigo e Maria Eliza que sempre me apoiaram e incentivaram a trilhar o meu caminho na busca pelo conhecimento;

As minhas amigas Elaine, Gabriela, Serena, Tainá, e Vanessa que me deram o apoio necessário para superar cada obstáculo, iluminando os meus dias mais escuros;

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), instituição pública e de qualidade a qual tenho muito orgulho de ter em minha formação acadêmica e profissional, e a todos os professores do Departamento de Química, especialmente àqueles que contribuíram para minha formação;

A secretaria do PPGQ pela disposição e ajuda sempre que requisitado;

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina (LCME/UFSC) e a pesquisadora Juliana Dreyer pelas análises de microscopia;

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

“Nothing in life is to be feared, it is
only to be understood. Now is the
time to understand more, so that we
may fear less”

(Marie Skłodowska Curie)

Resumo

Este trabalho descreve o desenvolvimento e otimização de dois eletrodos quimicamente modificados com materiais nanoestruturados aplicados na determinação de carbendazim e 2,4,6-triclorofenol em amostras de água natural e de uso doméstico. O primeiro eletrodo foi construído a partir da modificação de um eletrodo de carbono vítreo (GCE) com β -ciclodextrina (β CD) e nanopartículas de magnetita ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$) estabilizadas em ácido ascórbico. As nanopartículas foram caracterizadas a partir das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão e espectrofotometria UV-Vis, nas quais foi possível constatar a formação de partículas esféricas bem dispersas indicando que o ácido ascórbico promoveu uma excelente estabilização do nanomaterial. O eletrodo quimicamente modificado (CME) foi caracterizado eletroquimicamente através das técnicas de voltametria de varredura linear e espectroscopia de impedância eletroquímica, ambas as técnicas demonstraram que a inclusão dos modificadores aumentou significativamente o desempenho do eletrodo devido as propriedades condutoras da magnetita e a capacidade supramolecular de reconhecimento da β -ciclodextrina. Após a avaliação de desempenho, a construção do eletrodo proposto ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$) e as condições experimentais foram otimizadas (17,5 mg de β CD /1 mL de suspensão $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ (m/v); tampão acetato (0,1 mol L⁻¹; pH 5,0); voltametria de onda quadrada: $f=100$ Hz, $\Delta E_p=100$ mV e $\Delta E_s=6,0$ mV) sendo o CME aplicado na determinação do pesticida carbendazim (+0,88 V). A curva de calibração externa para o analito de interesse apresentou duas faixas lineares (I: 3,33 – 13,29 $\mu\text{mol L}^{-1}$, $r=0,999$; II: 16,61 – 29,82 $\mu\text{mol L}^{-1}$, $r=0,997$) com limites de detecção e quantificação de 0,43 e 1,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$ também foi avaliado em termos de figuras de mérito, obtendo valores adequados de repetibilidade intra e inter-dia (RSD: 5,37% e 5,58%), bem como estabilidade (RSD: 5,32%) e seletividade (interferência $\leq 10\%$) frente a íons e outros pesticidas. A determinação do carbendazim foi realizada em amostras fortificadas de águas de lagoas usando o eletrodo proposto, que apresentou bons valores de recuperação (96,30% a 100,70%), e detecção com relação ao método espectrofotométrico UV-Vis (284 nm) utilizado como método comparativo. O segundo eletrodo foi desenvolvido a partir da modificação de GCE com uma dispersão contendo grafeno e nanopartículas de ouro (AuNPs) obtidas a partir de uma síntese verde utilizando extrato de araquá (*Psidium cattleianum*) como agente redutor e estabilizante. As AuNPs foram caracterizadas com microscopia eletrônica de transmissão e espectrofotometria UV-Vis, e os resultados demonstraram que o extrato (Ext) foi eficaz na formação e estabilização das partículas, além de atuar como dispersante para o grafeno (GR). O eletrodo modificado foi caracterizado eletroquimicamente através da voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica, e ambas as técnicas confirmaram o bom desempenho da modificação devido à alta taxa de transferência de cargas das AuNPs e grande área superficial do GR. A construção do eletrodo proposto (AuNPs-Ext-GR/GCE) e as condições experimentais foram otimizadas (0,5 mg de GR /100 μL de suspensão AuNPs (m/v); tampão fosfato (0,1 mol L⁻¹; pH 6,0); voltametria de onda quadrada: $f=30$ Hz, $\Delta E_p=30$ mV e $\Delta E_s=3,0$ mV) sendo o CME aplicado na determinação do pesticida 2,4,6-triclorofenol (+0,72 V). A curva de calibração externa para o analito de interesse apresentou duas faixas lineares (I: 3,32 – 19,60 $\mu\text{mol L}^{-1}$, $r=0,999$; II: 22,80 – 35,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$, $r=0,999$) com limites de detecção e quantificação de 0,28 e 0,95 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O AuNPs-Ext-GR/GCE também apresentou bons valores de repetibilidade intra e inter-dia (RSD: 5,85% e 3,89%), bem como estabilidade (RSD: 4,65%) e seletividade (interferência $\leq 10\%$) frente a íons, porém pouca especificidade na presença de clorofenóis. A detecção do 2,4,6-TCF foi realizada em amostras fortificadas de água de uso doméstico, resultando em valores apropriados de recuperação (102,03 a 105,61%), e determinação com relação ao método espectrofotométrico (200 nm). As metodologias desenvolvidas se mostraram adequadas e os eletrodos modificados obtiveram um bom desempenho na determinação de ambos os pesticidas, configurando-se como excelentes ferramentas analíticas aplicadas à análise da qualidade da água.

Palavras-chave: Eletrodo quimicamente modificado. Materiais nanoestruturados. Carbendazim. 2,4,6 Triclorofenol.

Abstract

This work describes the development and optimization of two chemically modified electrodes with nanostructured materials applied in the determination of carbendazim and 2,4,6-trichlorophenol in natural and domestic water samples. The first electrode was constructed from the modification of a glassy carbon electrode (GCE) with β -cyclodextrin (β CD) and magnetite nanoparticles ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$) stabilized in ascorbic acid. The nanoparticles were characterized using transmission electron microscopy and UV-Vis spectrophotometry techniques, in which it was possible to observe the formation of well-dispersed spherical particles, indicating that ascorbic acid promoted an excellent stabilization of the nanomaterial. The chemically modified electrode (CME) was electrochemically characterized by linear sweep voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy techniques, both techniques has shown that the inclusion of modifiers significantly increased the performance of the electrode due to the conductive properties of magnetite and supramolecular recognition ability of β -cyclodextrin. The construction of proposed electrode ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$) and experimental conditions were optimized (17.5 mg of β CD /1 mL of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ suspension (w/v); acetate buffer solution (0.1 mol L^{-1} ; pH 5.0); square wave voltammetry: $f=100 \text{ Hz}$, $\Delta E_p=100 \text{ mV}$ and $\Delta E_s=6.0 \text{ mV}$) and the CME was applied in the detection of carbendazim pesticide (+0.88 V). The external calibration curve for the analyte showed two linear ranges (I: $3.33 - 13.29 \mu\text{mol L}^{-1}$, $r=0.999$; II: $16.61 - 29.82 \mu\text{mol L}^{-1}$, $r=0.997$) with detection and quantification limits of 0.43 and $1.44 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. The CME ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$) was also evaluated in terms of figures of merit, obtaining adequate values of intra and inter-day repeatability (RSD: 5.37% and 5.58%), as well as stability (RSD: 5, 32%) and selectivity (interference $\leq 10\%$) against ions and other pesticides. The detection of carbendazim was carried out in fortified samples of pond waters, applying the proposed optimized electrode, which showed good recovery values (96.30% to 100.70%), and detection values in relation to the UV-Vis spectrophotometric method (284nm) used as a reference. The second electrode was developed from the modification of GCE with a dispersion containing graphene and gold nanoparticles (AuNPs) produced from a green synthesis using araca extract (Ext - *Psidium cattleianum*) as reducing agent and stabilizer. The AuNPs were characterized with transmission electron microscopy and UV-Vis spectrophotometry, and the results showed that the extract was effective in the formation and stabilization of particles, in addition to acting as a dispersant for graphene (GR). The CME was electrochemically characterized by cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy, both techniques confirmed the good performance of the modifications, due to the high charge transfer rate of the AuNPs and the large surface area of the GR. The construction of proposed electrode (AuNPs-Ext-GR/GCE) and experimental conditions were optimized (0.5 mg of GR /100 μL of AuNPs suspension (w/v); phosphate buffer (0.1 mol L^{-1} ; pH 6, 0); square wave voltammetry: $f=30 \text{ Hz}$, $\Delta E_p=30 \text{ mV}$ and $\Delta E_s=3.0 \text{ mV}$) and the CME was applied in the determination of the pesticide 2,4,6-trichlorophenol (+0.72 V). The external calibration curve for the analyte showed two linear ranges (I: $3.32 - 19.60 \mu\text{mol L}^{-1}$, $r=0.999$; II: $22.80 - 35.36 \mu\text{mol L}^{-1}$, $r=0.999$) with detection and quantification limits of 0.28 and $0.95 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. The CME (AuNPs-Ext-GR/GCE) also showed good intra and inter-day repeatability values (RSD: 5.85% and 3.89%), as well as stability (RSD: 4.65%) and selectivity (interference $\leq 10\%$) against ions, but little specificity in the presence of chlorophenols compounds. The detection of 2,4,6-TCF was performed in fortified domestic water samples, resulting in appropriate recovery values (102.03 to 105.61%), and detection values compared to the reference spectrophotometric method (200 nm). Both developed methods proved to be adequate, and both modified electrodes achieved excellent performance in detecting both pesticides, configuring them as excellent analytical tools for water quality control analysis.

Keywords: Chemically modified electrode. Nanostructured materials. Carbendazim. 2,4,6 Trichlorophenol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de classificação de nanomateriais conforme a dimensão.	22
Figura 2. Esquema de duas abordagens empregadas na síntese de nanomateriais: top-down e bottom-up.....	24
Figura 3. Esquema da síntese de nanopartículas metálicas utilizando extrato vegetal.	25
Figura 4. Imagens representativas das variedades de araçá amarelo e vermelho.....	26
Figura 5. Exemplos de formatos de partículas obtidas na síntese de AuNPs.....	28
Figura 6. A estrutura cristalina do espinélio inverso (esquerda) e pós-espinélio ortorrômbico (direita) da magnetita. Sítios de ferro com coordenação tetraédrica (sítio A) e coordenação octaédrica (sítio B) de oxigênio.....	30
Figura 7. Curvas de distribuição das espécies conforme o pH para o ácido l-ascórbico.	32
Figura 8. Representação da estrutura química de uma folha de grafeno.....	33
Figura 9. Estruturas e diâmetros médios das cavidades para α -CD, β -CD e γ -CD.....	35
Figura 10. Representação da estrutura química do carbendazim.....	38
Figura 11. Representação da estrutura química do 2,4,6-triclofenol.....	40
Figura 12. Esquema ilustrativo da síntese das Fe ₃ O ₄ NPs-AA e do preparo da dispersão Fe ₃ O ₄ NPs-AA- β CD.....	47
Figura 13. Voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos modificados com dispersões contendo Fe ₃ O ₄ NPs-AA e diferentes concentrações de β CD (a) 10,0, (b) 15,0 e (c) 17,5 mg/L, em solução [Fe(CN) ₆] ³⁻ /[Fe(CN) ₆] ⁴⁻ (5,0 mmol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹). Inserido: Respostas relativas (%).	55
Figura 14. Espectro de absorção UV-Vis para a suspensão de Fe ₃ O ₄ NPs-AA.	56
Figura 15. Imagens de TEM para: (A) Fe ₃ O ₄ NPs, (B) Fe ₃ O ₄ NPs-AA, e (C) Fe ₃ O ₄ NPs-AA- β CD.	56
Figura 16. Comportamento das Fe ₃ O ₄ NPs em contato com um ímã de neodímio, na ausência (A) e presença (B) do estabilizante ácido ascórbico.....	57
Figura 17. (A) Voltamogramas de varredura linear. Inserido: Respostas relativas (%). (B) Espectros de EIS obtidos para os seguintes eletrodos: (a) GCE; (b) Fe ₃ O ₄ NPs/GCE; (c) Fe ₃ O ₄ NPs-AA/GCE e (d) Fe ₃ O ₄ NPs-AA- β CD/GCE em solução de [Fe(CN) ₆] ³⁻ /[Fe(CN) ₆] ⁴⁻ (5,0 mmol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹) em modo de circuito aberto com amplitude de 10 mV e faixa de frequência de 0,1–100.000 Hz.....	58
Figura 18. Representação esquemática da composição do Fe ₃ O ₄ NPs-AA- β CD/GCE, voltamograma cíclico e esquema proposto da reação redox do CBZ em solução tampão B-R (0,1 mol L ⁻¹ , pH 5,0)..	60
Figura 19. Voltamogramas de SWV usando diferentes eletrodos: (a) GCE; (b) Fe ₃ O ₄ NPs/GCE; (c) Fe ₃ O ₄ NPs-AA/GCE e (d) Fe ₃ O ₄ NPs-AA- β CD/GCE, em solução tampão acetato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 5,0), contendo CBZ 25,0 μ mol L ⁻¹ . Inserido: Respostas relativas (%).	61
Figura 20. Voltamogramas de onda quadrada em solução tampão B-R (0,1 mol L ⁻¹) em diferentes valores de pH: (a) 3,0, (b) 4,0, (c) 5,0, (d) 6,0, (e) 7,0, (f) 8,0, e (g) 9,0 contendo CBZ 5,0 mmol L ⁻¹ utilizando o Fe ₃ O ₄ NPs-AA- β CD/GCE. (B) Gráficos da relação entre I _{sw} vs. pH e E (V) vs. pH (n = 3). (C) Curva de distribuição das espécies (%) de CBZ em função do pH.	63
Figura 21. Esquema proposto da reação de oxidação do CBZ na superfície do eletrodo	64
Figura 22. (A) Voltamogramas de onda quadrada para CBZ (25,0 μ mol L ⁻¹) utilizando diferentes soluções de eletrólito de suporte (0,1 mol L ⁻¹ , pH 5,0): (a) solução tampão B-R, (b) solução tampão McIlvaine e (c) solução tampão acetato. (B) Respostas relativas (%).	64
Figura 23. (A) Voltamogramas cíclicos em solução tampão acetato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 5,0) em diferentes velocidades de varredura de potencial: (a) 10, (b) 20, (c) 30, (d) 40, (e) 50, (f) 60, (g) 70, (h) 80 (i) 90 e (j) 100 mV s ⁻¹ para CBZ 25,0 μ mol L ⁻¹ utilizando Fe ₃ O ₄ NPs-AA- β CD/GCE. (B) Relação entre I _{pa} vs. v ^{1/2} (n = 3). (C) Relação entre log I _{pa} vs. log v (n = 3).	65
Figura 24. (A) Voltamogramas de CBZ (25 μ mol L ⁻¹) em solução tampão acetato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 5,0) em Fe ₃ O ₄ NPs-AA- β CD/GCE aplicando as seguintes técnicas voltamétricas: (a) LSV; (b) DPV e (c) SWV. Inserido: Respostas relativas (%). (B) Curvas de calibração para a CBZ (25 μ mol L ⁻¹) empregando SWV, DPV e LSV com velocidades de varredura de 50 mV s ⁻¹	67

Figura 25. Gráficos referentes a otimização dos parâmetros da SWV: (A) incremento de potencial (mV), (B) amplitude de pulso (mV), e (C) frequência (Hz), empregando o CME proposto em solução tampão acetato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 5,0) contendo CBZ 25,0 μmol L ⁻¹ (n = 3).	68
Figura 26. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com Fe ₃ O ₄ NPs-AA-βCD/GCE em solução tampão de acetato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 5,0) contendo diferentes concentrações de CBZ (μmol L ⁻¹): (a) branco, (b) 3,33, (c) 6,65, (d) 9,98, (e) 13,29, (f) 16,61, (g) 19,92, (h) 23,22, (i) 26,52 e (j) 29,82. (B) Curva de calibração externa para CBZ (média ± desvio padrão; n=3).	69
Figura 27. Curvas de calibração externa para CBZ (média ± desvio padrão; n=3) usando CME e GCE em solução tampão acetato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 5,0).	70
Figura 28. Estudo de interferentes utilizando o Fe ₃ O ₄ NPs-AA-βCD/GCE em solução tampão acetato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 5,0). Medidas de SWV expressas em resposta relativa (%), avaliando a corrente de pico de CBZ registrada na ausência (100 %) e na presença de outras espécies iônicas e pesticidas em concentração 10 vezes maior que o analito de interesse.	72
Figura 29. (A) Voltamogramas de SWV obtidos usando o sensor Fe ₃ O ₄ NPs-AA-βCD/GCE, em solução tampão de acetato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 5,0), para (a) amostra LP fortificada e adições sucessivas de alíquotas de solução padrão CBZ nas seguintes concentrações de (b) 1,56, (c) 3,12, (d) 4,68 e (e) 6,24 μmol L ⁻¹ . (B) Curva de calibração por adição de padrão para LP. (C) Voltamogramas SWV obtidos para (a) amostra de LC fortificada e adições sucessivas de alíquotas de solução padrão CBZ nas seguintes concentrações: (b) 1,56, (c) 3,12, (d) 4,68 e (e) 6,24 μmol L ⁻¹ . (D) Curva de calibração por adição de padrão para LC.	73
Figura 30. (A) Espectros de absorvância obtidos para CBZ, nas seguintes concentrações: (a) 1,66; (b) 3,32; (c) 4,97; (d) 6,62; (e) 8,26; e 9,90 μmol L ⁻¹ por espectrofotometria UV-Vis, em comprimento de onda 284 nm. (B) Curva de calibração externa para CBZ.	74
Figura 31. Esquema ilustrativo do preparo do extrato de araçá, síntese das AuNPs-Ext e do preparo da dispersão AuNPs-Ext-GR.	78
Figura 32. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) GCE e eletrodos modificados com nanopartículas de ouro sintetizadas com diferentes extratos de frutas: (b) acerola, (c) ameixa, (d) araçá, e (e) maçã, em solução tampão B-R (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0) contendo 2,4,6-TCF 16,5 μmol L ⁻¹ . (B) Respostas de corrente de pico (I _{pa}) para 2,4,6 TCF utilizando GCE e GCE modificado com AuNPs sintetizadas nos extratos de frutas mencionados acima. (C) Imagens das suspensões obtidas a partir dos diferentes extratos testados: (1) araçá, (2) acerola, (3) ameixa e (4) maçã.	82
Figura 33. Estudo da proporção do extrato de araçá utilizado na síntese de AuNPs. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução do par redox [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} (5,0 mmol L ⁻¹ , KCl 0,1 mol L ⁻¹) aplicando o GCE sem modificação (A) e modificado com suspensões de AuNPs sintetizadas com os seguintes volumes de extrato: (B) 1,25, (C) 2,25, (D) 2,75 e (E) 3,25 mL. (B) Respostas relativas (%).	84
Figura 34. Estudo da massa de grafeno utilizada no preparo da dispersão AuNPs-Ext-GR. Voltamogramas cíclicos obtidos com solução padrão 2,4,6-TCF 5,00 mmol L ⁻¹ em solução tampão B-R (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0) aplicando GCE e eletrodos modificados com dispersões contendo grafeno nas seguintes proporções: (a) 0,5, (b) 0,75, (c) 1,0 mg/100 μL AuNPs-Ext (Inserido) e (d) 0,5 mg/100 μL Ext (Inserido).	85
Figura 35. Espectro UV-Vis para a suspensão de AuNPs-Ext.	86
Figura 36. Imagens de TEM para: (A) AuNPs-Ext, (B) GR, e (C) AuNPs-Ext-GR. (D) Histograma de distribuição do tamanho médio das AuNPs-Ext (contagem de ± 100 partículas).	87
Figura 37. (A) Voltamogramas cíclicos e (B) Espectros de EIS obtidos para os seguintes eletrodos: (a) GCE; (b) Ext/GCE; (c) AuNPs-Ext/GCE e (d) AuNPs-Ext-GR/GCE em solução de [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} (5,0 mmol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹) em modo de circuito aberto com amplitude de 10 mV e faixa de frequência de 0,1–100.000 Hz.	88
Figura 38. Representação esquemática da composição do AuNPs-Ext-GR/GCE, voltamograma cíclico e esquema proposto da reação redox do 2,4,6-TCF em solução tampão B-R (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0).	90
Figura 39. Voltamogramas cíclicos usando diferentes eletrodos: (a) GCE; (b) Ext/GCE; (c) AuNPs-Ext/GCE e (d) AuNPs-Ext-GR/GCE, em solução tampão B-R (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0), contendo 2,4,6-TCF 16,5 μmol L ⁻¹ . Inserido: Respostas relativas (%).	91

Figura 40. Voltamogramas lineares em solução tampão B-R (0,1 mol L ⁻¹) em diferentes valores de pH: (a) 3,0, (b) 4,0, (c) 5,0, (d) 6,0, (e) 7,0, (f) 8,0, e (g) 9,0 para 2,4,6-TCF 5,0 mmol L ⁻¹ utilizando AuNPs-Ext-GR/GCE. (B) Gráfico da relação entre I _{pa} vs. pH e E (V) vs. pH (n = 3).	93
Figura 41. (A) Voltamogramas de onda quadrada para 2,4,6-TCF (25,0 μmol L ⁻¹) utilizando diferentes soluções de eletrólito de suporte (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0): (a) solução tampão B-R, (b) solução tampão fosfato e (c) solução tampão McIlvaine. (B) Respostas relativas (%).	93
Figura 42. (A) Voltamogramas cíclicos em solução tampão fosfato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0) em diferentes velocidades de varredura de potencial: (a) 10, (b) 20, (c) 30, (d) 40, (e) 50, (f) 60, (g) 70, (h) 80 e (i) 90 mV s ⁻¹ para 2,4,6-TCF 16,5 μmol L ⁻¹ utilizando AuNPs-Ext-GR/GCE. (B) Relação entre log I _{pa} vs. v ^{1/2} (n = 3). (C) Relação entre log I _{pa} vs. log v (n = 3). (D) Relação entre E _{po} vs. log v (n = 3).....	95
Figura 43. Esquema proposto da reação de oxidação do 2,4,6 triclorofenol na superfície do eletrodo.	95
Figura 44. (A) Voltamogramas de 2,4,6-TCF (16,5 μmol L ⁻¹) em solução tampão fosfato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0) obtidos com AuNPs-Ext-GR/GCE aplicando as seguintes técnicas voltamétricas: (a) LSV; (b) DPV e (c) SWV. Inserido: Respostas relativas (%). (B) Curvas de calibração externa para a 2,4,6-TCF (16,5 μmol L ⁻¹) empregando SWV, DPV e LSV com velocidades de varredura de 50 mV s ⁻¹	96
Figura 45. Gráficos referentes a otimização dos parâmetros da SWV: (A) incremento de potencial (mV), (B) amplitude de pulso (mV), e (C) frequência (Hz), empregando o CME proposto em solução tampão fosfato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0) contendo 2,4,6-TCF 16,5 μmol L ⁻¹ (n = 3).	97
Figura 46. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com AuNPs-Ext-GR/GCE em solução tampão de fosfato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0) contendo diferentes concentrações de 2,4,6-TCF (μmol L ⁻¹): (a) branco, (b) 3,32, (c) 6,62, (d) 9,90, (e) 13,15, (f) 16,39, (g) 19,60, (h) 22,80, (i) 25,97, (j) 29,12, (k) 32,25 e (l) 35,36. (B) Curva de calibração externa para 2,4,6-TCF (média ± desvio padrão; n=3).	98
Figura 47. Curvas de calibração externa para 2,4,6-TCF (média ± desvio padrão; n=3) usando GCE e CME em solução tampão fosfato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0).	99
Figura 48. Estudo de interferentes utilizando o AuNPs-Ext-GR/GCE em solução tampão fosfato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0). Medidas de SWV expressas em resposta relativa (%), avaliando a corrente de pico de 2,4,6-TCF registrada na ausência (100 %) e na presença de outras espécies iônicas em concentração 10 vezes maior que o analito.	101
Figura 49. (A) Voltamogramas cíclicos usando o CME em tampão fosfato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0) para os seguintes pesticidas: (a) 2-CF, (b) 2,4-DCF e (c) 2,4,6-TCF. (B) Medidas de SWV expressas em resposta relativa (%), avaliando a corrente de pico de 2,4,6-TCF registrada na ausência (100 %) e na presença de outros pesticidas clorofenóis em concentração 10 vezes maior que o analito.....	102
Figura 50. (A) Voltamogramas de SWV obtidos usando AuNPs-Ext-GR/GCE, em solução tampão de fosfato (0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0), para a amostra fortificada do bairro A (a) e adições sucessivas de alíquotas de solução padrão 2,4,6-TCF nas seguintes concentrações de (b) 7,63, (c) 8,89 e (d) 1,02 μmol L ⁻¹ . (B) Curva de calibração por adição de padrão para amostra A. (C) Voltamogramas SWV obtidos para amostra fortificada do bairro B (a) e adições sucessivas de alíquotas de solução padrão 2,4,6-TCF nas seguintes concentrações: (b) 7,63, (c) 8,89 e (d) 1,02 μmol L ⁻¹ . (D) Curva de calibração por adição de padrão para amostra B.....	103
Figura 51. (A) Espectros de absorvância obtidos para 2,4,6-TCF, nas seguintes concentrações: (a) 3,32; (b) 6,62; (c) 9,90; (d) 13,20; (e) 16,40; e 19,60 μmol L ⁻¹ por espectrofotometria UV-Vis, em comprimento de onda 200 nm. (B) Curva de calibração externa para 2,4,6-TCF.....	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resumo dos parâmetros das curvas de calibração externa para cada técnica voltamétrica..	67
Tabela 2. Resumo dos parâmetros experimentais da técnica de SWV, faixa de estudo e valores otimizados para CBZ.....	69
Tabela 3. Dados obtidos a partir da curva de calibração externa para CBZ utilizando Fe ₃ O ₄ NPs-AA-βCD/GCE.....	70
Tabela 4. Comparação entre o CME proposto e eletrodos reportados na literatura, utilizados na determinação eletroquímica de CBZ.....	71
Tabela 5. Estudo de recuperação para o CBZ em amostras de águas de lagoas usando Fe ₃ O ₄ NPs-AA-βCD/GCE.....	74
Tabela 6. Determinação de CBZ em amostras de águas naturais usando o CME proposto e o método comparativo UV-Vis.....	75
Tabela 7. Proporções de ouro:água:extrato usadas na síntese de AuNPs-Ext.....	83
Tabela 8. Resumo dos parâmetros das curvas de calibração externa para cada técnica voltamétrica..	96
Tabela 9. Resumo dos parâmetros experimentais da técnica de SWV, faixa de estudo e valores otimizados para 2,4,6-TCF.....	98
Tabela 10. Dados obtidos a partir da curva de calibração externa para 2,4,6-TCF utilizando AuNPs-Ext-GR/GCE.....	99
Tabela 11. Comparação entre o desempenho do CME proposto e outros eletrodos reportados na literatura, empregados na determinação eletroquímica de 2,4,6-TCF.....	100
Tabela 12. Estudo de recuperação para o 2,4,6-TCF em amostras de águas de torneira usando AuNPs-Ext-GR/GCE.....	104
Tabela 13. Determinação de 2,4,6-TCF em amostras de águas de uso doméstico aplicando o CME proposto e o método comparativo UV-Vis.....	105

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a – coeficiente angular

AA – ácido ascórbico

AuNPs – nanopartículas de ouro

AuNPs-Ext – nanopartículas de ouro estabilizadas em extrato de araçá

AuNPs-Ext-GR – grafeno e nanopartículas de ouro estabilizadas em extrato de araçá

AuNPs-Ext/GCE – eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro estabilizadas em extrato de araçá

AuNPs-Ext-GR/GCE – eletrodo de carbono vítreo modificado com grafeno e nanopartículas de ouro estabilizadas em extrato de araçá

β CD – β -ciclodextrina

B-R – solução tampão Britton-Robinson

CME (do inglês, *chemically modified electrode*) – eletrodo quimicamente modificado

CNTP – condições normais de temperatura e pressão

CV (do inglês, *cyclic voltammetry*) – voltametria cíclica

DBPs (do inglês, *Disinfection byproducts*) – sub-produtos de desinfecção

DPV (do inglês, *differential pulse voltammetry*) – voltametria de pulso diferencial

EIS (do inglês, *electrochemical impedance spectroscopy*) – espectroscopia de impedância eletroquímica

EPA (do inglês, *Environmental Protection Agency*) – Agência de Proteção do Meio Ambiente

E_{po} – potencial de pico de oxidação

ΔE_p – amplitude de pulso de potencial

ΔE_s – incremento de potencial

Ext – extrato de araçá (*Psidium cattleianum*)

Ext/GCE - eletrodo de carbono vítreo modificado com extrato de araçá

f – frequência

Fe₃O₄NPs – nanopartículas de magnetita

Fe₃O₄NPs-AA – nanopartículas de magnetita estabilizadas com ácido ascórbico

Fe₃O₄NPs-AA- β CD – nanopartículas de magnetita estabilizadas com ácido ascórbico e modificadas com β -ciclodextrina

Fe₃O₄NPs/GCE – eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de magnetita

Fe₃O₄NPs-AA/GCE – eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de magnetita estabilizadas com ácido ascórbico

Fe₃O₄NPs-AA-βCD/GCE – eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de magnetita estabilizadas com ácido ascórbico e modificadas com β-ciclodextrina

GCE (do inglês, *glassy carbon electrode*) – eletrodo de carbono vítreo

I_p – corrente de pico

I_{pa} – corrente de pico anódica

I_{pc} – corrente de pico catódica

LOD (do inglês, *limit of detection*) – limite de detecção

LOQ (do inglês, *limit of quantification*) – limite de quantificação

LSP (do inglês, *localized surface plasmon*), – plasmon de superfície localizados

LSV (do inglês, *linear sweep voltammetry*) – voltametria de varredura linear

R_{ct} (do inglês, *resistance to charge transfer*) – resistência a transferência de carga

RSD (do inglês, *relative standard deviation*) – desvio padrão relativo

SPR (do inglês, *surface plasmon resonance*) – ressonância plasmônica de superfície

SWV (do inglês, *square wave voltammetry*) – voltametria de onda quadrada

t_p – tempo de duração do pulso

TEM (do inglês, *transmission electron microscopy*) – microscopia eletrônica de transmissão

UV-Vis – região do espectro de absorção ultravioleta e visível

v – velocidade de varredura de potencial

WHO (do inglês, *World Health Organization*) – Organização Mundial da Saúde

Sumário

APRESENTAÇÃO	18
CAPÍTULO 1: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
1.1 ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS.....	19
1.2 NANOMATERIAIS	21
1.2.1 Nanopartículas metálicas	23
1.2.1.1 Síntese de nanopartículas.....	23
1.2.1.1.1 Extrato de araquá (<i>Psidium cattleianum</i> Sabine).....	26
1.2.1.2 Nanopartículas de ouro	27
1.2.1.3 Nanopartículas de magnetita	29
1.2.1.3.1 Ácido ascórbico	31
1.2.2 Grafeno	33
1.2.3 Ciclodextrina	34
1.3 PESTICIDAS	36
1.3.1 Carbendazim	38
1.3.2 2,4,6-Triclorofenol	40
1.3.3 Contextualização com o trabalho proposto	42
CAPÍTULO 2: OBJETIVOS	43
2.1 OBJETIVO GERAL.....	43
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
2.2.1 Detecção de carbendazim em águas naturais usando um eletrodo quimicamente modificado com β-ciclodextrina e nanopartículas de magnetita estabilizadas em ácido ascórbico	43
2.2.2 Desenvolvimento de um eletrodo quimicamente modificado com grafeno e nanopartículas de ouro sintetizadas em extrato de araquá (<i>Psidium cattleianum</i>), aplicado na determinação de 2,4,6-triclorofenol em águas de uso doméstico	44
CAPÍTULO 3: DETECÇÃO DE CARBENDAZIM EM ÁGUAS NATURAIS USANDO UM ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO COM β-CICLODEXTRINA E NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA ESTABILIZADAS EM ÁCIDO ASCÓRBICO	45
3.1 INTRODUÇÃO.....	45
3.2 PARTE EXPERIMENTAL.....	45
3.2.1 Regentes e soluções	45
3.2.2 Instrumentação	46
3.2.3 Síntese e caracterização das nanopartículas de magnetita	46
3.2.4 Preparo do eletrodo quimicamente modificado	47
3.2.5 Coleta e preparo das amostras	48

3.2.6 Medidas eletroquímicas	48
3.2.7 Método comparativo	49
3.2.8 Avaliação do método eletroanalítico	49
3.2.8.1 Limite de detecção e quantificação	49
3.2.8.2 Repetibilidade intra e inter-dia	50
3.2.8.3 Estudo de recuperação	50
3.2.8.4 Teste de interferentes.....	51
3.2.8.5 Comparação de métodos.....	52
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
3.3.1 Otimização da proporção de βCD.....	54
3.3.2 Caracterização do nanomaterial	55
3.3.3 Caracterização eletroquímica dos CME.....	57
3.3.4 Comportamento eletroquímico do CBZ na superfície do CME	59
3.3.5 Contribuição dos modificadores na resposta analítica de CBZ	60
3.3.6 Estudo do pH e otimização do eletrólito de suporte.....	61
3.3.7 Estudo da velocidade de varredura	64
3.3.8 Escolha e otimização da técnica voltamétrica.....	66
3.3.9 Curva de calibração para o CBZ	69
3.3.10 Parâmetros de avaliação do método: repetibilidade (intra e inter-dia), estabilidade e teste de interferentes	71
3.3.11 Determinação de CBZ em águas naturais.....	72
3.3.12 Método comparativo.....	74
CAPÍTULO 4: DESENVOLVIMENTO DE UM ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO COM GRAFENO E NANOPARTÍCULAS DE OURO SINTETIZADAS EM EXTRATO DE ARAÇÁ, APLICADO NA DETERMINAÇÃO DE 2,4,6-TRICLOROFENOL EM ÁGUAS DE USO DOMÉSTICO.	76
4.1 INTRODUÇÃO.....	76
4.2 PARTE EXPERIMENTAL.....	76
4.2.1 Regentes e soluções	76
4.2.2 Instrumentação	77
4.2.3 Síntese e caracterização das nanopartículas de ouro	77
4.2.4 Preparo do eletrodo quimicamente modificado.....	79
4.2.5 Coleta e preparo das amostras	79
4.2.6 Medidas eletroquímicas	79
4.2.7 Método comparativo	80
4.2.8 Avaliação do método eletroanalítico	80

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
4.3.1 Otimização da síntese de nanopartículas	81
4.3.2 Otimização da proporção de grafeno como modificador.....	84
4.3.3 Caracterização do nanomaterial	85
4.3.4 Caracterização eletroquímica dos CME.....	87
4.3.5 Comportamento eletroquímico do 2,4,6-TCF na superfície do CME	89
4.3.6 Contribuição dos modificadores na resposta analítica do 2,4,6-TCF	90
4.3.7 Estudo do pH e otimização do eletrólito de suporte	91
4.3.8 Estudo da velocidade de varredura	93
4.3.9 Escolha e otimização da técnica voltamétrica	95
4.3.10 Curva de calibração para o 2,4,6-TCF	98
4.3.11 Parâmetros de avaliação do método: repetibilidade (intra e inter-dia), estabilidade e possíveis interferentes	100
4.3.12 Determinação de 2,4,6-TCF em águas de uso doméstico	102
4.3.13 Método comparativo.....	104
CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	107
REFERÊNCIAS	109

APRESENTAÇÃO

Neste trabalho de Tese será apresentado o desenvolvimento de dois eletrodos quimicamente modificados construídos a partir da modificação de eletrodos de carbono vítreo (GCE) com materiais nanoestruturados a base de β -ciclodextrina, grafeno e nanopartículas metálicas (nanopartículas de magnetita estabilizadas em ácido ascórbico e nanopartículas de ouro estabilizadas em extrato vegetal). Estes eletrodos foram aplicados no desenvolvimento de duas novas metodologias analíticas para a determinação dos pesticidas carbendazim e 2,4,6-triclorofenol em amostras de águas naturais e de uso doméstico.

Para um melhor entendimento, esta Tese foi dividida em cinco capítulos. O **capítulo 1** detalha a fundamentação teórica sobre os temas trabalhados na Tese (eletrodos quimicamente modificados, nanomateriais, pesticidas, ente outros). O **capítulo 2** traz a apresentação do objetivo geral deste trabalho e dos objetivos específicos, sendo dividido em duas partes, as quais se referem aos dois eletrodos propostos. O **capítulo 3** descreve a metodologia analítica, instrumentação e construção do eletrodo quimicamente modificado com β -ciclodextrina e nanopartículas de magnetita estabilizadas com ácido ascórbico aplicado à detecção de carbendazim em águas naturais. Os resultados obtidos e as discussões referentes a este trabalho também se encontram nesta seção. O **capítulo 4** descreve a metodologia analítica, instrumentação e construção do eletrodo quimicamente modificado com grafeno e nanopartículas de ouro sintetizadas e estabilizadas em extrato de araquá aplicado à detecção de 2,4,6-triclorofenol em águas de uso doméstico. Os resultados obtidos e as discussões referentes a este trabalho também se encontram nesta seção. O **capítulo 5** apresenta as considerações finais referentes aos dois trabalhos desenvolvidos.

CAPÍTULO 1: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS

O conceito de controlar as propriedades da interface eletrodo/solução para desenvolver sensores tem sido uma área de pesquisa ativa por muitas décadas e vem crescendo rapidamente em muitas áreas da ciência. Hoje, praticamente todas as interfaces de detecção eletroquímica sofrem modificações de algum tipo como meio de induzir a seletividade, dentre estas podemos destacar a classe dos eletrodos quimicamente modificados (EDWARDS; BERGREN; PORTER, 2007; MORRIN, 2019). O termo “eletrodo quimicamente modificado” (do inglês, *chemically modified electrode* – CME) foi descrito pela primeira vez por Murray, sendo definido como a aplicação de um filme geralmente fino de um composto químico selecionado, ligado ou revestido na superfície do eletrodo, de modo a conferir características desejáveis como propriedades químicas, eletroquímicas, ópticas, e/ou elétricas através de um processo planejado (MURRAY, 1980). A modificação da superfície de um eletrodo pode trazer diversas vantagens como, por exemplo (REN, S. et al., 2021):

- Aumento da condutividade do transdutor incluindo o aumento da velocidade de transferência de elétrons, sendo favorável na melhora da sensibilidade gerando uma rápida resposta;
- Ampliação da relação área/volume do eletrodo, promovendo o aumento da probabilidade de colisões moleculares e contatos entre o analito e o transdutor, aumentando a velocidade da reação e a sensibilidade de detecção;
- Diminuição dos sobrepotenciais normalmente elevados observados e aumento da janela de potencial utilizável;
- Estabelecimento e aumento dos sítios ativos redox que conferem seletividade para o eletrodo.

O CME compreende duas partes principais, uma é o material do substrato (eletrodo) e a outra o composto modificador, sendo que a importância desses dois componentes depende da natureza da investigação analítica. O desempenho eletroanalítico do CME é amplamente influenciado pelo material da superfície do eletrodo de trabalho, que tem impacto em características como a reprodutibilidade do sinal analítico obtido e a resistência mecânica (CHAUHAN, 2021). Um amplo espectro de metais, incluindo platina, ouro, prata, cobre e níquel tem sido comumente utilizado na construção de CME. Eles são caracterizados por uma rápida cinética de transferência de elétrons e janela de potencial anódico relativamente ampla.

Outro material popular é o carbono que tem sido usado como material eletrodico com ou sem modificação adicional. Os eletrodos de carbono demonstram vantagens sobre outros eletrodos sólidos metálicos devido às suas propriedades mecânicas, ópticas e magnéticas, condutividade elétrica e térmica, baixa corrente de fundo, ampla faixa de potencial anódico (positivo), baixo custo e inércia química na maioria das soluções eletrolíticas (ABRAHAM et al., 2020; PORADA et al., 2020). As formas mais utilizadas de eletrodos a base de carbono são o eletrodo de pasta de carbono, eletrodo de diamante dopado com boro e eletrodo de carbono vítreo, sendo este último muito popular devido à sua baixa taxa de oxidação e alta inércia química, bem como tamanhos de poros extremamente baixos (BOUMYA et al., 2021).

Uma gama de abordagens tem sido relatada para a modificação da superfície de eletrodos, podendo ser agrupadas em quatro tipos: quimissorção, ligação covalente, filme polimérico e formação de compósito (KUMAR; ADARAKATTI, 2018). Estes procedimentos são descritos abaixo (DURST, 1997; SCHOLZ, 2009):

- **Quimissorção:** processo de adsorção que ocorre através de ligações covalentes, no qual o filme químico é fortemente adsorvido na superfície do eletrodo através da formação de uma monocamada. Um exemplo deste tipo de modificação são as monocamadas automontadas acopladas ao substrato, nas quais moléculas não correlacionadas adsorvem espontaneamente em locais específicos na superfície do eletrodo;
- **Ligação covalente:** agentes de ligação, como organossilanos ou cloreto cianúrico, são usados para ligar covalentemente uma ou mais camadas monomoleculares do modificador químico à superfície do eletrodo;
- **Filmes poliméricos:** são preparados através da aplicação da solução do polímero na superfície do eletrodo sólido (permitindo que o solvente evapore) ou por eletropolimerização de um monômero. O filme polimérico pode ser um isolante eletrônico, um condutor iônico, ou ambos. O primeiro tipo é utilizado para a preparação de revestimentos seletivos que servem para evitar que constituintes indesejados da matriz alcancem a superfície do eletrodo. Os filmes condutores auxiliam nas reações eletroquímicas e dependem de vários processos físico-químicos, como a partição de solvente e íons entre o polímero e o eletrólito, o transporte de íons dentro da fase polimérica, bem como a transferência de carga entre o eletrodo e o filme;
- **Compósito:** O modificador químico é simplesmente misturado com o material eletrodico, como no caso de um mediador de transferência de elétrons (eletrocatalisador) combinado com as partículas de carbono de um eletrodo de pasta de carbono. Alternativamente, matrizes de intercalação como certos filmes de Langmuir-

Blodgett, zeólitas, argilas e peneiras moleculares podem ser usadas para conter o modificador.

Eletrodos quimicamente modificados com nanomateriais tornaram-se uma poderosa ferramenta analítica visto que as propriedades intrínsecas destes modificadores como alta área superficial e propriedades elétricas e condutoras resultam na criação de dispositivos com respostas mais rápidas, sobrepotencial reduzido e melhor sensibilidade e seletividade, comparados aos sensores eletroquímicos convencionais. A próxima seção apresenta a definição e classificação dos materiais em nanoescala.

1.2 NANOMATERIAIS

Embora a história do uso de nanomateriais remonte aos tempos antigos, os principais conceitos, avanços e entendimentos evoluíram após meados do século XX. Nos últimos anos, a síntese de um grande número de nanomateriais foi alcançada com sucesso representando um grande progresso na construção e modificação de CME, devido à combinação das propriedades electrocatalíticas únicas destes materiais com as técnicas electroanalíticas modernas (JADON et al., 2016). Um nanomaterial pode ser definido como um material natural ou sintético contendo partículas em estado não ligado ou como um agregado, com ao menos uma dimensão externa de tamanho ≤ 100 nm. Os nanomateriais diferem da sua forma bruta em algumas características e propriedades físico-químicas como, por exemplo, tamanho, forma, área de superfície e reatividade (CURULLI, 2020).

O primeiro tipo de classificação proposta para os nanomateriais foi dado por Gleiter et al, este sistema levava em consideração a forma cristalina e composição química do material, no entanto, não era completo pois não incluía a dimensionalidade das partículas (GLEITER, 2000). Em 2007, Pokropivny e Skorokhod propuseram um novo esquema de classificação, com base na dimensão, que se divide em 4 grupos: 0D, 1D, 2D e 3D (Figura 1) (JEEVANANDAM et al., 2018; POKROPIVNY; SKOROKHOD, 2007). A descrição de cada grupo é detalhada a seguir (ABID et al., 2022):

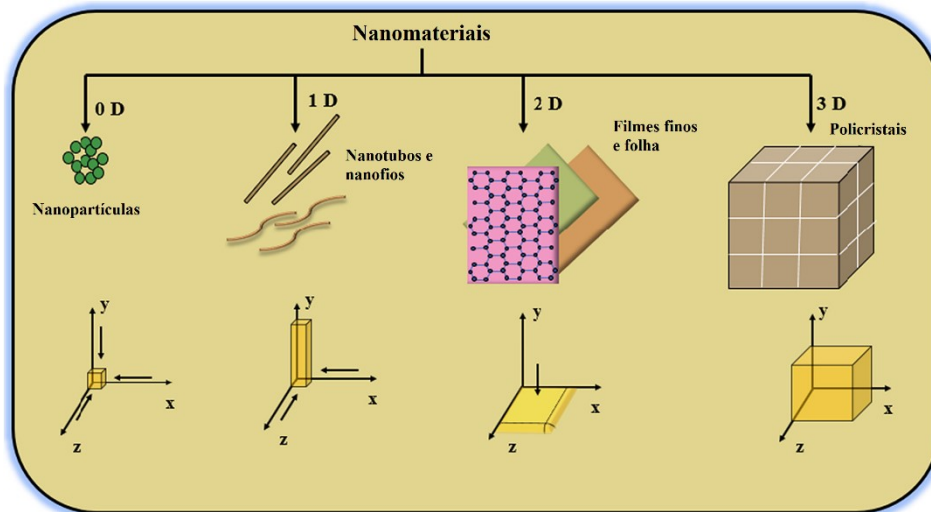
Zero dimensional (0D): Todas as três dimensões (x, y, z) estão na faixa da nanoescala, sendo principalmente estruturas esféricas. Esta categoria inclui NPs, pontos quânticos, nanoesferas, nanoclusters;

Unidimensional (1D): Duas dimensões estão nas proximidades da nanoescala, mas a última não, podendo ter estrutura cristalina, amorfa ou metálica. Esta classificação inclui nanobastões, nanotubos, nanofibras e nanofios;

Bidimensional (2D): Uma das dimensões se encontra em nanoescala e as duas dimensões restantes estão fora dela. Podem ser cristalinos, amorfos, metálicos, poliméricos e cerâmicos. Alguns exemplos são os nanofilmes, nanocamadas e nanofolhas;

Tridimensionais (3D): Não possuem dimensões na nanoescala, porém apresentam características de nanomateriais. Geralmente são nanocristalinos, tendo como exemplos os feixes de nanofios, feixes de nanotubos e multi-nanocamadas.

Figura 1. Esquema de classificação de nanomateriais conforme a dimensão.



Fonte: Traduzido de ABID *et al.*, (2022)

Os nanomateriais também podem ser classificados com base no tipo de material em que consistem. Dentre as variedades mais conhecidas e utilizadas podemos classificar em nanomateriais à base de carbono (grafeno, nanotubo de carbono, quantum dots) (SONI; THOMAS; KAR, 2020; TORKAMAN-ASADI; KOUCHAKZADEH, 2022), metais (nanopartículas metálicas) (SAWAN *et al.*, 2020), cerâmica (nanoargilas) (YANG; GAO; YANG, 2021), polímeros (nanopartículas poliméricas) (SAIYAD; SHAH, 2022), e derivados de biomoléculas (polissacarídeos, DNA, ciclodextrinas) (AHMAD, A. *et al.*, 2022; XIAO *et al.*, 2021).

As seções a seguir são destinadas à apresentação dos nanomateriais utilizados para construção dos CME desenvolvidos neste trabalho de tese, bem como detalhes acerca dos procedimentos de síntese e estabilização destes componentes.

1.2.1 Nanopartículas metálicas

As nanopartículas metálicas (NPs) são uma ampla classe de materiais que possuem ao menos uma dimensão menor que 100 nm, e podem ser classificadas com base em suas propriedades, formas ou tamanhos. As NPs geralmente exibem propriedades físico-químicas únicas, que se diferem significativamente da sua forma em macroescala. Essas características específicas se refletem em suas propriedades ópticas, mecânicas, elétricas e químicas além de atividades biológicas antimicrobianas e antivirais (como, por exemplo, no caso das nanopartículas de prata) (MAŽÁTKOVÁ et al., 2022), fazendo com que sejam excelentes candidatas a diversas aplicações comerciais, que incluem catálise (DOBRUCKA, 2019), combustíveis (SEKOAI et al., 2019), tratamentos clínicos (ASGARI; NIKKAM; SANIEE, 2022; LOPEZ-CAMPOS et al., 2019), remediação ambiental (ABBASI KAJANI; BORDBAR, 2019) e sensores eletroquímicos (AROUA et al., 2022).

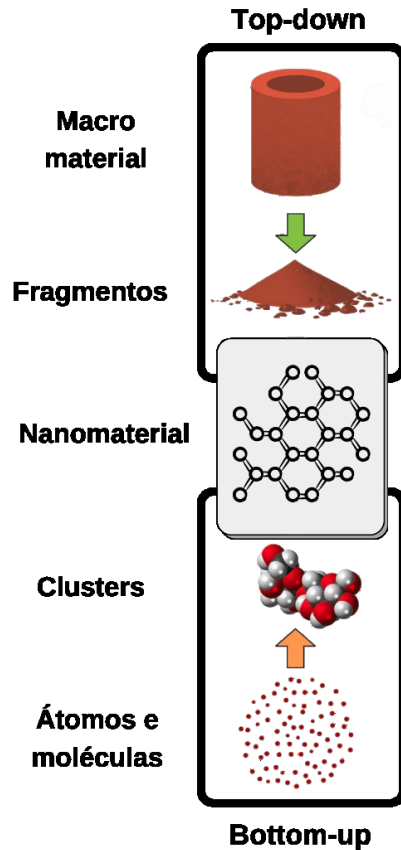
1.2.1.1 Síntese de nanopartículas

O tamanho das nanopartículas é fundamental para determinar suas propriedades e aplicações, sendo altamente dependente do método de síntese e das condições de reação. Várias abordagens podem ser usadas para a produção de nanomateriais, sendo divididas em duas classes principais: top-down e bottom-up. Ambos os procedimentos são descritos abaixo (SAJID, 2022; WANI et al., 2022) e ilustrados na Figura 2:

- **Top-down:** Esta abordagem envolve a divisão de materiais a granel ou a miniaturização dos procedimentos de síntese para gerar as partículas nanométricas. Os exemplos típicos desta abordagem incluem moagem mecânica de esferas, evaporação térmica e ablação a laser. As vantagens dos métodos top-down incluem a disponibilidade de equipamentos e procedimentos simples tendo como grande desafio a dificuldade em obter o tamanho e a forma adequados sendo ineficaz na fabricação de partículas extremamente pequenas.
- **Bottom-up:** Nesta abordagem, blocos de construção como, por exemplo, átomos, moléculas ou unidades ainda menores são usados para criar nanoestruturas. O processo de síntese geralmente começa a partir de uma reação homogênea ou fase gasosa e geralmente é auxiliado por uma reação química que dá origem ao nanomaterial. Os exemplos deste tipo de procedimento incluem redução química, síntese fotoquímica, sol-gel hidrotérmica ou solvotérmica, deposição química de vapor, co-precipitação, métodos biológicos e etc. As principais vantagens de tais abordagens são o melhor controle de tamanhos das NP, menor

defeito estrutural, composição química homogênea, baixo custo e fácil escalabilidade. A principal desvantagem está relacionada à necessidade de superfícies e moléculas compatíveis.

Figura 2. Esquema de duas abordagens empregadas na síntese de nanomateriais: top-down e bottom-up



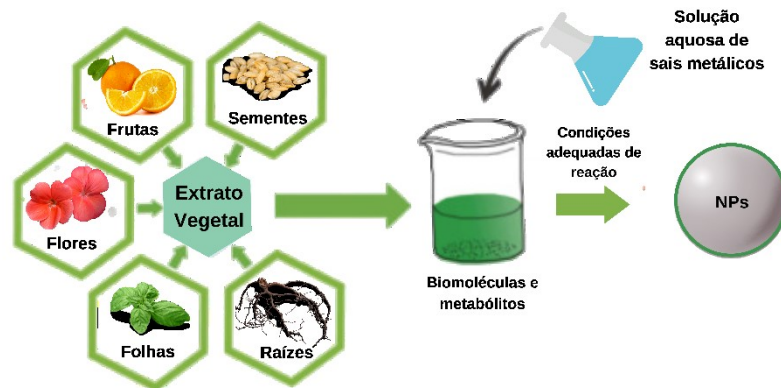
Fonte: Adaptado de SARAVANAN *et al.*, (2022)

Atualmente o ramo da nanotecnologia tem se dedicado ao desenvolvimento de metodologias e materiais ecologicamente sustentáveis que visam reduzir os impactos ambientais e econômicos. A maior parte dos métodos aplicados à síntese de nanomateriais utiliza solventes tóxicos, gerando resíduos indesejáveis e prejudiciais à saúde e ao meio ambiente, além de demandar um alto consumo de energia, uma vez que as rotas sintéticas geralmente são complexas e podem conter várias etapas. (HEINEMANN *et al.*, 2021). Diante deste contexto, um tema que vem ganhando grande destaque é a síntese verde de nanopartículas metálicas.

A síntese verde de NPs é uma abordagem bottom-up, onde as partículas são sintetizadas através do processo de oxidação/redução de íons metálicos pelas porções orgânicas de materiais biológicos. Esses sistemas biológicos podem incluir microrganismos como bactérias, fungos e leveduras, além de algas e extratos vegetais de diferentes plantas (GAUTAM *et al.*, 2022; HUSSAIN *et al.*, 2016). O uso de extratos de plantas para a biossíntese de nanopartículas é

uma técnica vantajosa que permanece relativamente sub-explorada. Embora a capacidade do extrato vegetal de reduzir os íons metálicos seja conhecida desde o início de 1900, apenas nos últimos 30 anos este recurso tem sido utilizado na síntese de NPs (KALIMUTHU et al., 2020; SANTHOSHKUMAR; RAJESHKUMAR; VENKAT KUMAR, 2017). A abordagem mediada por plantas está ganhando popularidade por ser simples, ecologicamente correta, estável, rápida e econômica. Geralmente, a síntese envolve a adição de uma solução aquosa de sais metálicos ao extrato aquoso de plantas sob condições experimentais específicas como, por exemplo, agitação contínua e/ou aquecimento, conforme mostrado na Figura 3. (AHMAD, W. et al., 2022). Os extratos podem ser derivados das diversas partes de uma planta (casca, folhas, frutos, caules, raízes, sementes e biomassa) e contêm uma gama de biomoléculas como proteínas, enzimas, polissacarídeos, açúcares, amidas, cetonas, aldeídos e ácidos carboxílicos, além de fitoquímicos como alcalóides, flavonas, flavonóides, polifenóis, terpenóides, saponinas, polióis, esteróides, taninos, entre outros que atuam como agentes redutores e estabilizantes na síntese de NPs (JANNATHUL FIRDHOUSE; LALITHA, 2022; TAHA, 2022). Os polifenóis foram relatados como tendo o efeito mais proeminente como agente redutor e estabilizante para precursores metálicos, uma vez que protegem as plantas contra as espécies reativas de oxigênio produzidas durante a fotossíntese e o contato com impurezas antropogênicas (NOAH; NDANGILI, 2022).

Figura 3. Esquema da síntese de nanopartículas metálicas utilizando extrato vegetal.



Fonte: Adaptado de BAO *et al.*, (2021)

O mecanismo da síntese de nanomateriais mediado por plantas ocorre em três fases: a redução, o crescimento e as fases de terminação. A fase de redução envolve a redução dos íons metálicos a átomos de metal de valência zero, oxidando moléculas fitoativas via transferência de elétrons. Posteriormente, na fase de crescimento os átomos de metal de valência zero agregam-se em partículas nano-metálicas com diferentes formas (esférica, linear, triangular, hexagonal ou cúbica, entre outros) e, por último, na fase de terminação os constituintes

fitoativos com propriedades antioxidantes são aderidos em torno do nanomaterial para manter sua estabilidade (NOAH; NDANGILI, 2022).

Recentemente, inúmeros trabalhos na literatura relatam o uso de extratos vegetais na síntese de nanopartículas metálicas aplicadas as mais diversas finalidades. O trabalho de Divakaran *et al.* (DIVAKARAN *et al.*, 2019) utilizou extrato de pitáia como uma alternativa ecologicamente correta na síntese de nanopartículas de ouro aplicadas ao estudo da inibição do crescimento de células de câncer de mama (MCF-7) e Shabaani *et al.* (SHABAANI *et al.*, 2020) investigaram a fotodegradação de azul de metileno usando ZnONPs sintetizadas usando extrato de semente de nêspera. Karimi e Samimi (KARIMI; SAMIMI, 2019) desenvolveram com sucesso um sensor colorimétrico a base de AgNPs, obtidos com extrato de alga verde (*Chaetomorpha sp*), para detecção de mercúrio em uma faixa de concentração de 0,01 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com limite de detecção de 4,19 nmol L^{-1} .

1.2.1.1.1 Extrato de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine)

Psidium cattleianum Sabine, pertence à família Myrtaceae e é uma planta nativa do Brasil, que ocorre em diferentes regiões do país, como nordeste e sul, além de outros países como Uruguai, Havaí e algumas ilhas do Caribe, devido à sua fácil adaptação a condições extremas de humidade e temperatura. Dada a adaptabilidade da espécie a condições de estresse, seus frutos são potencialmente ricos em metabólitos secundários e, conseqüentemente, possuem propriedades funcionais de interesse. Seu fruto é popularmente conhecido no Brasil como “araçá” e seu tamanho varia de 2,2 cm a 5 cm, apresentando formato oval e pesando menos de 20 g. As populações locais apreciam sua polpa que costuma ser consumida “in natura” ou processadas para produção de sucos, geleias, doces e sorvetes (LAZAROTTO *et al.*, 2022; MEDINA *et al.*, 2011). A Figura 4 mostra as variedades mais comuns de frutos de *P. cattleianum* apresentando epicarpo amarelo e vermelho e endocarpo creme ou branco.

Figura 4. Imagens representativas das variedades de araçá amarelo e vermelho.



Fonte: DOS SANTOS PEREIRA *et al.*; (2018)

Além de seu sabor agradável e único, o extrato do fruto do araçá possui diversas propriedades farmacológicas, como efeitos antimicrobiano, antioxidante, analgésico, anti-hiperglicêmico e antidiabético (DA COSTA AMARAL et al., 2021). Estas atividades biológicas relatadas para o araçá estão relacionadas à sua composição química, principalmente a presença de macro e micronutrientes, que incluem aminoácidos essenciais e não essenciais, proteínas, sais minerais, carboidratos, açúcares e carotenóides. Além disso, a bioatividade do extrato da fruta também está relacionada ao alto teor de vitamina C (em torno de 200 mg/g fruta) e a presença de metabólitos secundários como os compostos fenólicos, que possuem alta capacidade antioxidante protegendo os sistemas biológicos contra o excesso de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (PEREIRA et al., 2020). Diferentes compostos fenólicos têm sido relatados no araçá, como os ácidos elágico, p-cumárico, clorogênico e gálico, flavonóides como quercetina, miricetina e epicatequina, e antocianinas como a cianidina. Maiores concentrações de compostos fenólicos foram encontradas na polpa de araçá amarelo quando comparadas com a concentração encontrada na casca (DE ALMEIDA LOPES; DE OLIVEIRA SILVA, 2018; DOS SANTOS PEREIRA et al., 2018).

O extrato de araçá se mostra um excelente material a ser empregado na síntese verde de NPs devido sua composição química rica em compostos antioxidantes que podem atuar como agentes redutores e estabilizantes. No entanto, não há registro na literatura da utilização do extrato da polpa de araçá amarelo para esta finalidade, fazendo deste material inexplorado uma opção inédita aplicada neste trabalho.

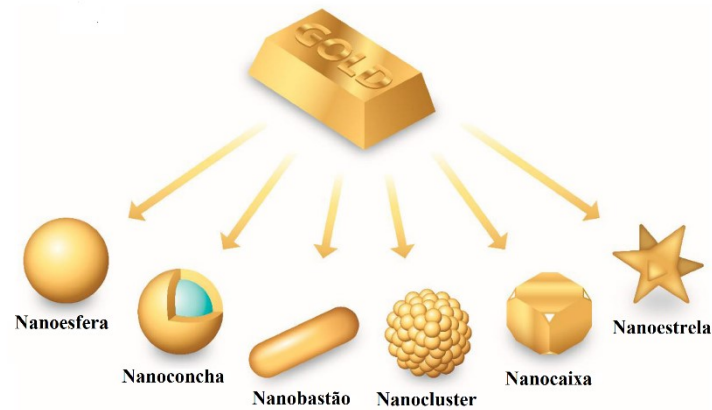
1.2.1.2 Nanopartículas de ouro

As nanopartículas de ouro (AuNPs) têm uma rica história na química, que remonta à época romana antiga, onde eram usadas para tingir vidros para fins decorativos (GILJOHANN et al., 2010). A primeira síntese de AuNPs foi publicada por Michel Faraday em 1857, e foi realizada a partir da redução da solução de ácido cloroáurico (HAuCl_4) por fósforo em dissulfeto de carbono, dando origem a uma solução de ouro de “cor rubi”. Em 1951, Turkevich et al. propuseram um método sintético para ouro coloidal usando citrato trissódico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) para reduzir uma solução de ácido cloroáurico, sendo atualmente um dos métodos mais conhecidos e utilizados para síntese de AuNPs (THIPE et al., 2022; TURKEVICH; STEVENSON; HILLIER, 1951).

As AuNPs apresentam vários formatos como, por exemplo, esferas, bastões, clusters, tetraedros, entre outros (Figura 5), possuindo aplicações promissoras devido às suas

propriedades mecânicas, elétricas, térmicas, químicas e ópticas que variam do ouro bruto (KUMARI et al., 2019).

Figura 5. Exemplos de formatos de partículas obtidas na síntese de AuNPs



Fonte: Traduzido de FREITAS DE FREITAS *et al.*; (2018)

As propriedades específicas do ouro em nanoescala são atribuídas a um fenômeno peculiar chamado de ressonância plasmônica de superfície (SPR, do inglês *surface plasmon resonance*) (SANI; CAO; CUI, 2021). Os plasmons são explicados como uma nuvem de elétrons carregada negativamente deslocada de sua posição de equilíbrio em torno de uma rede feita de íons carregados positivamente. Quando uma nanopartícula esférica de ouro é exposta à luz, o campo elétrico faz com que os elétrons de condução oscilem gerando uma força restauradora da nuvem de elétrons polarizados em relação à rede. Esta oscilação coletiva de elétrons excitados pelos fótons incidentes na frequência ressonante é chamada de plasmon de superfície localizado (LSP, do inglês *localized surface plasmon*). Quando o comprimento de onda da luz incidente é maior que a dimensão nanométrica das NPs, a oscilação de elétrons em fase leva a uma absorção dos comprimentos de onda em torno do verde conferindo à suspensão de AuNPs uma coloração avermelhada. A agregação das nanopartículas resulta em um desvio da frequência SPR, resultando em uma mudança da cor da suspensão de vermelho para roxo (DARUICH DE SOUZA; RIBEIRO NOGUEIRA; ROSTELATO, 2019; SENGANI; GRUMEZESCU; RAJESWARI, 2017).

Devido às suas características elétricas e catalíticas superiores, as AuNPs têm recebido considerável atenção em diversas áreas como produção de fármacos (AHATI et al., 2022), catálise (SONG et al., 2022), aplicações terapêuticas (KARMAKAR; SANKHLA; KATIYAR, 2022) e sensores (CHEN, MENGYING et al., 2022; SUN et al., 2022; WANG, N. et al., 2022). A aplicação de AuNPs na construção de CME tem se tornado uma alternativa eficiente e possui

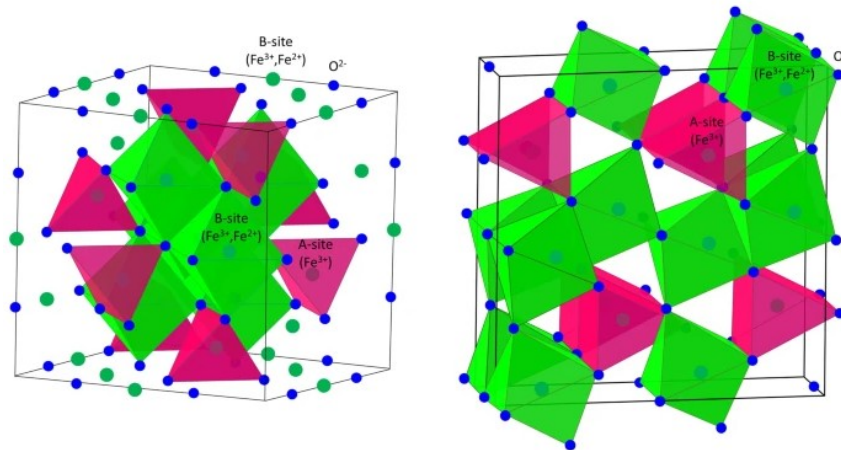
diversas vantagens tais como, acelerar a taxa de transferência de elétrons entre o analito e a superfície do eletrodo, reduzir o sobrepotencial necessário para a reação redox, promover uma melhora na relação sinal-ruído e diminuição do limite de detecção (HAN et al., 2019; LIU, X. et al., 2022; RASTOGI et al., 2022).

Recentemente, visando evitar ou limitar o uso de solventes e produtos químicos tóxicos e, conseqüentemente o impacto ambiental a síntese verde de AuNPs têm sido aplicada utilizando materiais como bactérias, fungos e extratos vegetais (PETRUCCI et al., 2022), sendo uma abordagem particularmente vantajosa quando aplicada ao desenvolvimento de eletrodos modificados. Khan *et al.* promoveram a síntese verde de AuNPs utilizando extrato de *Sueda fruciotosa*. As partículas obtidas apresentaram formato esférico e tamanho reduzido (6 a 8 nm) sendo aplicadas como modificador em um eletrodo de pasta de carbono para degradação eletroquímica de corantes azo-fenólicos (KHAN et al., 2017). Lopes e colaboradores desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado à base de AuNPs sintetizadas com extrato de abacaxi. O eletrodo foi otimizado e aplicado na determinação voltamétrica do fármaco cloridrato de prometazina, apresentando valores de LOD e LOQ de 1,33 e 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente (LOPES et al., 2021). O extrato vegetal de *Rhanterium suaveolens* foi utilizado por Chelly *et al.* na síntese de AuNPs aplicadas em um eletrodo impresso de carbono para determinação simultânea de dopamina e riboflavina, obtendo excelentes valores de LOD (0,2 e 0,07 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e sensibilidade (550,4 e 2.399 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$), respectivamente (CHELLY et al., 2021).

1.2.1.3 Nanopartículas de magnetita

A magnetita é um tipo de óxido ferroso (Fe_3O_4) encontrado na natureza na forma de cristais cúbico pretos e se comporta como material ferrimagnético em escala macroscópica, mas como material superparamagnético em escala nanométrica (GAETE et al., 2019). É um óxido de ferro magnético comum e, em condições ambientais, cristaliza como uma estrutura cúbica espinélica inversa contendo íons Fe^{3+} nos locais com coordenação tetraédrica de oxigênio (A) e mistura dos íons Fe^{3+} e Fe^{2+} em igual proporção nos locais com coordenação octaédrica de oxigênio (B) (DAOUSH, 2017), conforme mostrado na Figura 6. Como os íons Fe^{3+} são divididos igualmente entre as posições tetraédricas e octaédricas, não existe momento magnético resultante da presença destes íons. Entretanto, todos os íons Fe^{2+} residem nos interstícios octaédricos, sendo estes íons responsáveis pela magnetização de saturação ou, ainda, pelo comportamento magnético do material (OLIVEIRA; FABRIS; PEREIRA, 2013).

Figura 6. A estrutura cristalina do espinélio inverso (esquerda) e pós-espinélio ortorrômbico (direita) da magnetita. Sítios de ferro com coordenação tetraédrica (sítio A) e coordenação octaédrica (sítio B) de oxigênio.



Fonte: KOZLENKO *et. al.*; (2019)

Outras características vantajosas dessas nanopartículas incluem estabilidade química, biocompatibilidade, biodegradabilidade, dispersidade, baixa toxicidade comparada a metais ou outras nanopartículas de óxido metálico e facilidade e baixo custo dos procedimentos disponíveis para o seu preparo (FURLAN *et al.*, 2019; NOVOSELOVA, 2021). Devido estas propriedades, as $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ são largamente empregadas na construção de eletrodos modificados para determinação de uma gama de analitos e amostras. Ladmakhi *et al.* desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado com $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ e um material compósito de grafeno e carbono mesoporoso para determinação do fármaco allopurinol em amostras clínicas (LADMAKHI *et al.*, 2020). Um eletrodo de grafite modificado com $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ e nanotubos de haloisita foi aplicado por Urçuk *et al.* na determinação simultânea de ácido cafeico e ácido úrico em amostras de urina humana, obtendo excelentes valores de LOD ($0,008$ e $0,003 \mu\text{mol L}^{-1}$) (URÇUK *et al.*, 2022). Outra aplicação das nanopartículas magnéticas é voltada à análise de poluente emergentes como, por exemplo, no trabalho desenvolvido por Santos *et al.* que utilizou um eletrodo impresso a base de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$, grafeno e quantum dots para determinação do hormônio etinilestradiol em amostras de água de rio. O sensor obteve uma adequada faixa linear ($0,01$ a $2,50 \mu\text{mol L}^{-1}$) e baixo limite de detecção ($2,60 \text{nmol L}^{-1}$), demonstrando-se como uma ferramenta analítica eficiente para monitoramento ambiental (SANTOS *et al.*, 2021).

Diversos métodos foram desenvolvidos para a síntese de nanopartículas de magnetita como o processo sol-gel, micro emulsão, ablação a laser, decomposição térmica, entre outros, resultando na obtenção de partículas com morfologias distintas, como esferas, hastes, fios e tubos (COBOS CRUZ *et al.*, 2008). Contudo, o método de co-precipitação ainda está entre os mais populares por sua simplicidade e facilidade de manipulação do tamanho e morfologia das partículas. Este método é uma maneira conveniente de sintetizar nanopartículas magnéticas a

partir de soluções salinas aquosas pela adição de uma base (NaOH ou NH₄OH) como agente precipitante em temperatura ambiente ou em temperatura elevada. A principal vantagem do processo de co-precipitação é que uma grande quantidade de nanopartículas pode ser sintetizada, além disso o curto tempo de reação, alto rendimento e o uso de um solvente ecológico (ou seja, água) também podem ser considerados como benefícios desta rota sintética (AHMADI et al., 2021; TIZRO et al., 2019).

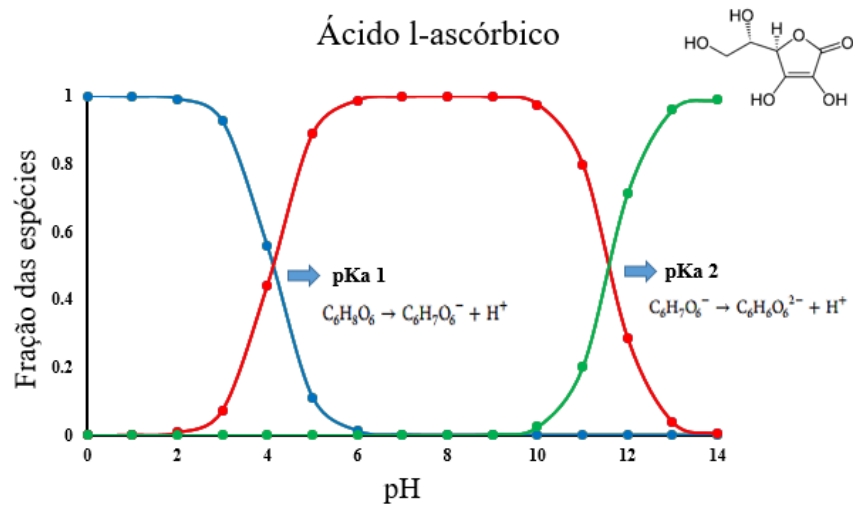
No entanto, as Fe₃O₄NPs não são estáveis no ar atmosférico pois tendem a oxidar transformando-se em maguemita. Por este motivo, as partículas geralmente requerem proteção e são funcionalizadas ou revestidas em sua superfície por polímeros, metais ou agentes estabilizantes orgânicos e/ou inorgânicos. Várias biomoléculas (por exemplo, proteínas, polipeptídeos, anticorpos) podem ser ligadas à superfície das Fe₃O₄NPs através de um acoplamento químico de grupos terminais funcionais específicos. Além disso, podem também ser protegidas por invólucros de diferentes materiais biocompatíveis, como polissacarídeos naturais (dextrano, látex, quitosana, alginato, celulose), materiais sintéticos inertes (polietilenoglicol, polivinilpirrolidona) e ácidos orgânicos com diferentes estruturas (ácido oleico, poli(ácido aspártico), ácido cítrico e ácido ascórbico) (NICULESCU; CHIRCOV; GRUMEZESCU, 2022).

1.2.1.3.1 Ácido ascórbico

O ácido l-ascórbico (AA), comumente denominado vitamina C, é uma cetolactona hidrossolúvel e desempenha um papel integral no funcionamento fisiológico geral do corpo, possuindo efeito antioxidante periférico e também atuando como neuromodulador. É um nutriente que não pode ser sintetizado e deve ser retirado dos alimentos, sendo necessária uma dose diária de 100 mg para uma boa saúde (MALIK; NARWAL; PUNDIR, 2022; WANG, Q.-B. et al., 2020).

O AA geralmente é empregado no processamento de alimentos, fármacos e cosméticos. É um ácido diprótico com um potencial redox de -0,06 V que se dissocia em duas etapas, primeiro um íon hidrogênio é liberado para formar o ânion ascorbato (C₆H₇O₆⁻) com um valor de pK_{a1} de 4,25, e segundo um íon de hidrogênio adicional é liberado para formar o ácido dehidroascórbico (C₆H₆O₆²⁻) com um valor de pK_{a2} de 11,79, conforme mostrado na Figura 7 (LIN; LIANG, 2013).

Figura 7. Curvas de distribuição das espécies conforme o pH para o ácido l-ascórbico.



Fonte: Autora

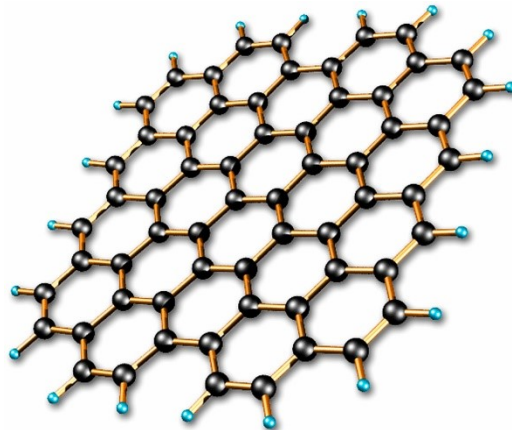
O ácido l-ascórbico é um poderoso agente redutor devido a presença de grupos hidroxila que controlam a redução de íons metálicos, óxidos metálicos e complexos, atuando como local de conjugação para posterior funcionalização das nanopartículas sintetizadas (HASSAN, 2022; OLUWAFEMI; SONGCA, 2012). Além disso, sua forma oxidada (ácido dehidroascórbico) pode atuar também como estabilizante devido a presença dos grupamentos carbonilas que podem interagir com os grupos hidroxilas geralmente presentes na superfície das NPs (SOOD et al., 2016; UMER et al., 2014). Por exemplo, Tyagi *et al.* estudaram a aplicação de AA como agente estabilizante na síntese de AuNPs e a influência do pH do meio reacional no tamanho e dispersão das partículas. Os resultados obtidos demonstraram que em valores de pH mais básicos a estabilização é mais efetiva produzindo partículas com diâmetro médio em torno de 30 a 40 nm (TYAGI et al., 2011). Chaudhry e coautores utilizaram o AA como estabilizante na síntese de nanopartículas bimetálicas de Fe/Cu aplicadas a ensaios de adsorção e remoção de oxigênio dissolvido e fenóis em efluentes industriais (CHAUDHRY et al., 2022). No trabalho de Laban *et al.* foram sintetizadas nanopartículas de Ag e Cu estabilizadas com AA. Através da análise de microscopia de força atômica constatou-se que as partículas produzidas apresentaram tamanho reduzido (≈ 10 nm) e através de testes bacteriológicos (gram-positivo e gram-negativo) foi comprovado que as NPs apresentaram atividade anti-bacteriana (LABAN et al., 2017).

No entanto, existem poucos relatos na literatura acerca do uso do ácido l-ascórbico como estabilizador na síntese de NPs aplicadas na modificação de eletrodos, destacando-se como uma alternativa promissora, porém pouco explorada.

1.2.2 Grafeno

O grafeno é caracterizado como uma monocamada de carbono com estruturas bidimensionais semelhantes a favos de mel (Figura 8). Os quatro elétrons de valência dos átomos de carbono na rede ocupam três orbitais híbridos sp^2 no plano, que são responsáveis pela ligação covalente. A terminologia “grafeno” foi recomendada após a descoberta de Boehm et al., para as relações estruturais e outras propriedades de camadas de carbonos individuais. No entanto, pouco progresso foi feito na preparação e compreensão do grafeno até recentemente. Em 2004, Andre Geim e Konstantin Novoselov isolaram a monocamada de grafeno de grafite pirolítico altamente orientado por meio de sua hábil técnica de fita adesiva sintética denominada “clivagem micromecânica”, que rendeu a ambos o Prêmio Nobel de Física em 2010 (MBAYACHI et al., 2021; NOVOSELOV et al., 2004). As amostras preparadas por esfoliação mecânica são geralmente isentas de defeitos e, portanto, preferíveis para o estudo de suas propriedades eletrônicas (XU, 2018).

Figura 8. Representação da estrutura química de uma folha de grafeno



Fonte: GOSWAMI *et al.*; (2021)

Algumas das características particulares deste material incluem grande área de superfície específica ($2630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) que é maior que a do grafite ($10 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) e nanotubos de carbono ($1315 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), alta mobilidade eletrônica, alta resistência mecânica (200 vezes maior que o aço), boa condutividade térmica, alta condutividade elétrica (60 vezes maior que nanotubos de carbono simples e 6 ordens de magnitude maior que o cobre), flexibilidade, transmitância óptica, impermeabilidade a gases e biocompatibilidade (JUSTINO et al., 2017; NAG et al., 2022; PATTNAIK; KUMAR SUTAR, 2019; SURESH, R. et al., 2022).

A crescente popularidade do grafeno se deve ao avanço das suas aplicações eletrônicas (SAFIAN; UMAR; MOHAMAD IBRAHIM, 2021). O grafeno tem sido empregado para diversas finalidades e áreas de interesse, como em materiais de armazenamento de energia

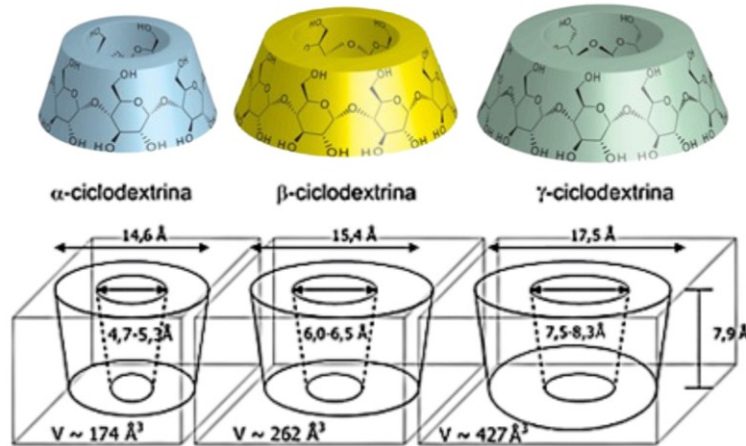
(OLABI et al., 2021), supercapacitores (COSSUTTA et al., 2020), baterias (ZHAO, X. et al., 2020) e como material modificador em CME. Em sensores eletroquímicos, sua grande área superficial auxilia no carregamento das biomoléculas desejadas, resultando em uma maior interação entre a molécula do analito e a superfície do eletrodo. Outras vantagens do grafeno são o baixo impacto ambiental, ampla faixa de potencial eletroquímico, ausência de impurezas no material (evitando interferências na detecção do analito) e alta taxa de transferência de elétrons (NAG; MITRA; MUKHOPADHYAY, 2018). Recentemente, Meng e colaboradores utilizaram óxido de grafeno como modificador na superfície de um eletrodo de carbono vítreo para determinação de fenacetina. O sensor apresentou baixo valor de LOD ($0,91 \mu\text{mol L}^{-1}$) além de desempenho superior em termos de corrente e baixo potencial de oxidação do analito, quando comparado com eletrodos modificados com grafeno dopado com nitrogênio (MENG et al., 2022). O desempenho de eletrodos modificados também pode ser aprimorado ao unir as propriedades condutoras e estabilidade mecânica do grafeno com a alta área superficial e propriedades elétricas características das nanopartículas metálicas. Nourbakhsh *et al.* desenvolveram um eletrodo de grafite modificado com nanopartículas de prata e grafeno para determinação eletroquímica de metais em amostras de água. Estudos aplicando as técnicas de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica revelaram que o efeito sinérgico entre as nanopartículas e o grafeno aumentou a condutividade elétrica (aumento do sinal de corrente e diminuição da resistência) e a atividade catalítica (separação e deslocamento dos potenciais de pico) do eletrodo modificado, levando a um aumento na taxa de transferência de elétrons na superfície do eletrodo. O sensor também obteve boa sensibilidade e seletividade, além de excelentes valores de LOD (5,0; 4,1 e $1,0 \text{ ng L}^{-1}$) para Cd(II), Cu(II) e Pb(II), respectivamente (NOURBAKHSN et al., 2022).

1.2.3 Ciclodextrina

As ciclodextrinas (CD) são oligômeros macrocíclicos de α -D-glicose, em forma de cones truncados contendo grupos hidroxila primários e secundários coroando a borda mais estreita e a borda mais larga, respectivamente (Figura 9). Esta forma particular torna a parte externa da cavidade da CD bastante polar (tornando-a solúvel em água), enquanto os átomos de oxigênio da ligação glicosídica conferem ao interior da cavidade um caráter hidrofóbico. Diferentes tamanhos de nanocavidades são obtidos dependendo do número de unidades de glucopiranosose que formam o macrociclo (6, 7 ou 8), sendo que os diâmetros das cavidades de

CD (α -, β - ou γ -) podem variar de 5 a 8 Å, permitindo um peneiramento do tamanho de moléculas que podem ser hospedadas no seu interior (MORENO, 2006; TROTTA et al., 2022).

Figura 9. Estruturas e diâmetros médios das cavidades para α -CD, β -CD e γ -CD.



Fonte: Adaptado de (GÓMEZ-GRAÑA; PÉREZ-JUSTE; HERVÉS, 2021; VENTURINI et al., 2008)

A estrutura de cavidade única da CD permite identificar uma variedade de moléculas hóspedes e formar complexos de inclusão hospedeiro-hóspede específicos. As moléculas encapsuladas são orientadas para maximizar o contato entre suas partes hidrofóbicas e a cavidade apolar, que dependendo do tamanho pode encapsular moléculas hóspedes de tamanhos variados com diferentes estequiometrias. Quanto mais hidrofóbica for a molécula hóspede, mais estável será o complexo. Além das interações hidrofóbicas, as interações de Van der Waals predominam na formação de complexos com relação aos efeitos estéricos e ligações de hidrogênio (CID-SAMAMED et al., 2022; REKHARSKY; INOUE, 1998).

Os fenômenos de inclusão dentro da CD podem ocorrer na fase sólida, líquida ou gasosa. No entanto, a maioria dos estudos é voltada para soluções aquosas, principalmente devido ao papel central que a água desempenha neste processo de complexação. Como resultado, compostos que apresentem uma complementaridade estérica com a cavidade CD podem ser incluídos. Dessa forma, estabelece-se um equilíbrio entre espécies complexadas e livres, sendo a inclusão um processo dinâmico (LANDY et al., 2012).

As CD apresentam como vantagens boa biocompatibilidade, estabilidade química, baixa toxicidade, baixo custo e fácil disponibilidade. Essas características também podem ser potencializadas através da combinação sinérgica com nanopartículas inorgânicas mesclando as propriedades hospedeiras de CDs com as propriedades inerentes das NPs. Por exemplo, tal combinação pode ser utilizada como receptores moleculares sendo amplamente utilizados como modificadores em sensores para determinação de metais, fármacos e poluentes orgânicos como,

por exemplo, os pesticidas (ALSBAIEE et al., 2016; GÓMEZ-GRAÑA et al., 2021; SHI et al., 2019). Luo e colaboradores desenvolveram um eletrodo modificado a base de β CD, AuNPs e grafeno aplicado na determinação do inseticida imidacloprido em alimentos (banana, manga e repolho). O estudo do comportamento eletroquímico do analito na superfície do CME revelou que a presença dos modificadores β CD e AuNPs promoveu a catálise e amplificação da corrente de redução do imidacloprido. Isso se deve à excelente condutividade eletrônica e grande área superficial das nanopartículas e o fato de que os grupos hidrofóbicos do analito (como Cl) podem ser reconhecidos pela cavidade hidrofóbica da ciclodextrina sendo concentrados na superfície do eletrodo através de mecanismos de reconhecimento supramolecular. O sensor apresentou adequada sensibilidade e seletividade frente a outros pesticidas carbamatos, além de um excelente limite de detecção ($0,13 \text{ nmol L}^{-1}$) (LUO et al., 2022). Outro sensor à base de β CD e AuNPs foi desenvolvido por Li *et al.* e aplicado na determinação do composto benzilbutil ftalato através da técnica de espectroscopia Raman amplificada (LI et al., 2019) A interação específica entre o analito e a cavidade da ciclodextrina promoveu uma melhora significativa na sensibilidade resultando em uma baixo valor de LOD ($0,01 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$).

1.3 PESTICIDAS

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO – do inglês, *World Health Organization*), os pesticidas são considerados uma classe especial de compostos químicos usados para combater parasitas, incluindo insetos, roedores, fungos e plantas indesejáveis (ervas daninhas). Esses produtos são usados na saúde pública para matar vetores de doenças, como mosquitos e, na agricultura, para destruir pragas que danificam as plantações (CAMPANALE et al., 2021).

O método mais comum de classificação dos pesticidas é baseado em sua composição química e natureza dos ingredientes ativos. Esse tipo de classificação nos dá informações sobre a eficácia e as propriedades físico-químicas deste compostos, e é muito útil para determinar as precauções a serem tomadas durante a aplicação e a periodicidade (KAUR et al., 2019). Deste modo, os pesticidas são divididos em inseticidas, fungicidas, herbicidas, produtos químicos de jardim, desinfetantes domésticos e rodenticidas (AKASHE; PAWADE; NIKAM, 2018). Os pesticidas também podem ser sub-classificados em 4 grupos (HASSAAN; EL NEMR, 2020; JATOI et al., 2021):

- **Organoclorados:** podem ser separados em diclorobifenil etano, compostos de ciclodieno e outros derivados. Operam interrompendo o equilíbrio sódio/potássio da fibra nervosa, forçando o nervo a transmitir continuamente;
- **Organofosforados e Carbamatos:** operam inibindo a enzima acetilcolinesterase permitindo que a acetilcolina transfira os impulsos nervosos indefinidamente e causando uma variedade de sintomas, como fraqueza ou paralisia. Os organofosforados são bastante tóxicos para os vertebrados e, em alguns casos, são substituídos por carbamatos menos tóxicos;
- **Piretróides:** são inseticidas naturais derivados dos extratos de flores de crisântemo, e atuam no sistema nervoso central, o que causa flutuações na dinâmica dos canais de cátions de sódio na membrana da célula nervosa, levando a um aumento no tempo de abertura dos canais.

O Brasil consome cerca de 20% de todos os agrotóxicos comercializados no mundo, cerca de 500 mil toneladas/ano, consumo este que vem aumentando significativamente nos últimos anos (BOMBARDI, 2019; GONÇALVES; DELABONA, 2022). No ano de 2020, foram liberados 493 compostos químicos, 19 a mais do que em 2019. Destes produtos, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) 25 foram considerados de moderado a extremamente tóxicos para a saúde humana e 251 como compostos muito ou altamente perigosos ao meio ambiente (MATIAS et al., 2021).

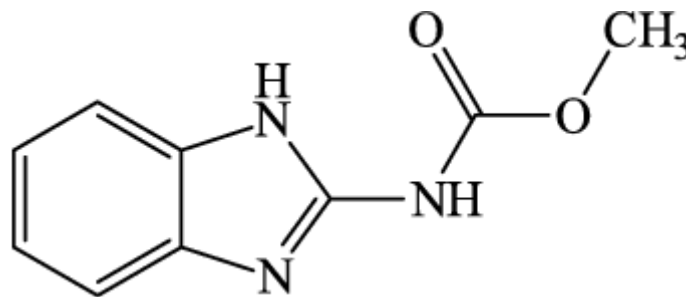
A contaminação por pesticidas em larga escala pode afetar a qualidade da água, solo, ar, plantas, animais, produtos alimentícios e os seres humanos. Essas substâncias podem atingir os sistemas aquáticos através do escoamento de culturas pulverizadas, reduzindo a potabilidade da água para consumo, além disso, a matriz do solo pode atuar como armazenamento de agrotóxicos devido à sua alta capacidade de interagir com tais substâncias (PANIS et al., 2022). Estudos têm demonstrado que a exposição persistente desses poluentes pode levar ao seu acúmulo nos tecidos e induzir efeitos prejudiciais ao crescimento, desenvolvimento e metabolismo do corpo. Os agrotóxicos têm sido associados a diversos distúrbios ao sistema cardiovascular, nervoso central e pulmonar (CHIU et al., 2019; KALRA et al., 2016; POURHASSAN et al., 2019). A exposição à agrotóxicos pode ser aguda ou crônica: a exposição aguda é considerada quando os indivíduos são expostos a grandes quantidades por um curto período. Este tipo de exposição provoca queimaduras na pele, bolhas ou erupções cutâneas, cegueira, dor abdominal, diarreia e vômitos, enquanto a exposição crônica tem efeitos que aparecem meses ou anos após a exposição aos pesticidas e incluem câncer, anormalidades,

toxicidades em diversos níveis e até a morte (PALANIYAPPAN et al., 2022; SHARMA et al., 2020; THUNDIYIL et al., 2008).

1.3.1 Carbendazim

O fungicida benzimidazólico metil-2-benzimidazole-carbamato (CBZ), conhecido popularmente como carbendazim (Figura 10) é um éster-amina de carbamato utilizado em várias culturas, como por exemplo, grãos, frutas, viticultura, vegetais, plantas ornamentais e algodão, para controlar uma grande variedade de doenças fúngicas, como mofo, mancha, míldio e ferrugem. Este fungicida é introduzido através de raízes, folhas ou sementes e depois se espalha em todas as partes da planta. Além de sua presença no meio ambiente pelo uso frequente no setor agrícola, também é formado pela rápida degradação de outros agrotóxicos comumente usados como o tifanato-metil e o benomil (ILAGER et al., 2021; SEBASTIAN et al., 2022; SILVA; BARROS; PAVÃO, 2014).

Figura 10. Representação da estrutura química do carbendazim



Fonte: SILVA *et al.*; (2014)

O CBZ é um composto tóxico e teratogênico e produz efeitos adversos como infertilidade, disfunção hormonal e perturbação do sistema endócrino, também afetando as atividades de fosfatase e desidrogenase das plantas. O efeito adverso do CBZ em mamíferos ocorre através da ligação com tubulinas que interrompem a formação de microtúbulos além da diminuição da produção de espermatozoides testiculares em camundongos e ratos (ILAGER; MALODE; SHETTI, 2022; SURESH, I. et al., 2021).

De acordo com o último relatório da ANVISA, relativo ao Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos – PARA/2017/2018, que avaliou 270 tipos de pesticidas em 14 variedades de alimentos de origem vegetal, o CBZ se destacou como o terceiro ingrediente ativo mais detectado (em cerca de 11 % das amostras) estando em concentração aguda/tóxica em uma das culturas. Através dos dados obtidos, o órgão em questão incluiu o CBZ em primeiro lugar na listagem de agrotóxicos a passarem pelo processo de reavaliação toxicológica, que visa

discutir mudanças necessárias nas condições de venda, uso e legislações pertinentes (ANVISA, 2019).

O tempo de meia vida do CBZ no meio ambiente é relativamente alto, em torno de dois meses em condições aeróbias e vinte e cinco meses sob condições anaeróbias. Por conta de sua baixa solubilidade (8 mg/L a 25 °C) e de sua estrutura difícil de ser quebrada (contém um anel benzimidazol altamente estável que é fracamente ácido, com pKa de 4,48) sua degradação é considerada lenta, o que torna o CBZ um composto quimicamente estável resultando em sua presença substancial como resíduo principalmente no ambiente aquático. Portanto, o desenvolvimento de métodos analíticos simples, confiáveis e econômicos para determinação sensível e rápida do carbendazim e seus subprodutos de degradação torna-se de extrema importância para a segurança ambiental e proteção da saúde pública. (ESCALADA et al., 2006; SEBASTIAN et al., 2022). Atualmente, as tecnologias para determinação de CBZ incluem, principalmente, métodos analíticos tradicionais como espectrofotometria (POURREZA; RASTEGARZADEH; LARKI, 2015), cromatografia (SHEN et al., 2021) e espectroscopia de fluorescência (CHEN, MENGLAN et al., 2015). No entanto, apesar de apresentarem boa sensibilidade possuem algumas desvantagens como, por exemplo, o alto custo e tempo de análise, operação experimental complexa e necessidade de pré-processamento de amostras que limitam o monitoramento em tempo real. Por outro lado, as técnicas voltamétricas são consideradas uma excelente alternativa devido à detecção rápida, ampla faixa linear de concentração e custo do instrumento relativamente baixo. Além disso, tanto a seletividade quanto a sensibilidade dos sensores eletroquímicos podem ser melhoradas com a modificação do eletrodo, especialmente com materiais nanoestruturados (LIU, R.; CHANG, Y.; et al., 2022; LIU, R.; LI, B.; et al., 2022).

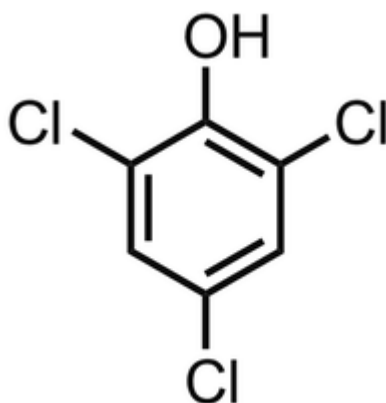
Dentre alguns trabalhos na literatura empregando sensores, Prya *et al.* modificaram um GCE com um material nanocompósito a base de óxido de samário e óxido de grafeno reduzido para a detecção de CBZ em suco de fruta, vegetais e águas naturais por DPV apresentando um LOD = 0,003 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (SAKTHI PRIYA et al., 2022). Um sensor foi construído por Liu *et al.* a partir da modificação com ciclodextrina funcionalizada com nanofolhas e nanotubos de carbono para detecção de CBZ em suco de maçã. O eletrodo apresentou uma ampla faixa linear de 0,03–30 $\mu\text{mol L}^{-1}$, alta sensibilidade (30,86 $\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$) e baixo LOD (9,4 nmol L^{-1}) (LIU, R.; CHANG, Y.; et al., 2022). Beigmoradi e coautores sintetizaram um polímero molecularmente impresso modificado com um complexo organometálico de cobre aplicado a um eletrodo de grafite-epóxi. Em condições ótimas, o eletrodo proposto forneceu uma faixa de

concentração linear de 0,01–50,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um limite de detecção para CBZ de 2 nmol L^{-1} (BEIGMORADI et al., 2022).

1.3.2 2,4,6-Triclorofenol

Os clorofenóis são uma classe de compostos amplamente utilizados como produtos farmacêuticos, inseticidas e fungicidas em muitas atividades industriais (REDDY; GELPKE; GOLD, 1998). Dentre eles, o 2,4,6-triclorofenol (Figura 11) é um composto organoclorado utilizado como antifúngico, e antimicrobiano. É utilizado também como conservante de madeira, couro e cola, limpador de barris em vinícolas, aditivo em corantes, além de amplamente utilizado como pesticida na agricultura. Devido a sua aplicação em larga escala, o 2,4,6-TCP pode estar amplamente presente no ecossistema proporcionando severos danos ao meio ambiente (GOPI et al., 2021; HWA et al., 2021).

Figura 11. Representação da estrutura química do 2,4,6-triclorofenol



Fonte: (ZAMBRANO et al., 2022)

O 2,4,6-TCP pode ser facilmente absorvido na pele humana por contato ou, se ingerido, é absorvido pelo trato intestinal, podendo interferir na função endócrina. Pode também causar irritação na pele e nos olhos, complicações respiratórias, danos renais, hepáticos e doenças cardiovasculares (ARUMUGAM et al., 2022; SANTHAN; HWA; GANGULY, 2022). Devido à sua alta toxicidade, potencial carcinogenicidade, alta estabilidade química e baixa biodegradabilidade, este composto foi classificado como poluente prioritário de classe B2 (alto grau de periculosidade) pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA – do inglês *Environmental Protection Agency*) (ZHENG et al., 2015; ZHU, X. et al., 2018).

A contaminação por 2,4,6-TCF pode ocorrer por diversas fontes como, por exemplo: a queima de madeiras que utilizam este tipo de conservante que pode levar a formação de

dioxinas e policlorofenóis de elevada toxicidade, representando um risco à saúde e ao meio ambiente (FABIAN; JANOSCHEK, 2006). O composto 2,4,6-TCF também está presente em água potável na forma de um subproduto de desinfecção (DBPs – do inglês, *Disinfection byproducts*), que se origina através da interação da matéria orgânica com o cloro adicionado durante o processo de tratamento da água. A formação de DBPs e seus efeitos colaterais tem causado grande preocupação na comunidade científica desde a primeira descoberta destes compostos em água clorada, relatada em dois estudos independentes na década de 1970 (BELLAR; LICHTENBERG; KRONER, 1974; ROOK; EXAMINATION, 1972). O 2,4,6-TCF pertencente à classe dos compostos denominados halofenólicos, estes resíduos apresentam maior toxicidade do que os resíduos de compostos halogenados alifáticos em água potável clorada. Dentre os DBPs halofenólicos, os 2,4,6-trihalofenóis foram relatados como sendo de dezenas a centenas de vezes mais citotóxicos e tóxicos para o desenvolvimento e inibidores do crescimento do que muitos DBPs halogenados alifáticos e alguns DBPs halofenólicos, como halohidroxibenzaldeídos e ácidos halohidroxibenzóicos (JIANG et al., 2022; ZHU, Z. et al., 2021). Pesquisas revelam que a exposição prolongada à água potável contaminada com 2,4,6-TCF contribuiu para o risco de infecções do trato digestivo, asma, depressão e morbidade (TANG et al., 2020).

Portanto, para fins de proteção ambiental e segurança humana torna-se significativo explorar novas metodologias e materiais para detecção deste poluente de forma sensível, rápida e precisa em amostras ambientais e águas de uso doméstico. Da mesma forma que o CBZ, as metodologias analíticas padrão para análise de 2,4,6-TCP incluem cromatografia, espectrometria de massa, e fluorescência (BAI et al., 2016; HUANG et al., 2012; REN, B. et al., 2018), entre outras, que necessitam de manipulação complexa, altos custos e tempos de análise e necessidade de preparo de amostras. Neste sentido, novamente as técnicas eletroquímicas se mostram como uma ferramenta simples que possui vários benefícios como conveniência, sensibilidade, seletividade e custo-benefício, sendo amplamente utilizadas para a análise de amostras de interesse ambiental (BULEDI et al., 2021; ZHANG et al., 2018).

Alguns exemplos de sensores aplicados a detecção de 2,4,6-TCF incluem o eletrodo de carbono vítreo modificado com poli(rodamina B)/óxido de grafeno/nanocompósito de nanotubos de carbono de paredes múltiplas desenvolvido por Zhu *et al.* para a determinação simultânea de 2,4,6-triclorofenol e pentaclorofenol em amostras de água, apresentando valores de LOD de 80,0 e 50,0 nmol L⁻¹, respectivamente (ZHU, X. et al., 2016). Santhan e colaboradores modificaram um eletrodo de carbono vítreo com um material nanohíbrido de óxido de cádmio-estanho integrado a óxido de grafeno reduzido. O sensor apresentou boa

sensibilidade ($14,01 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$) e baixo LOD ($3,05 \text{ nmol L}^{-1}$) sendo aplicado com sucesso na determinação de 2,4,6-TCF em amostras reais de peixe, maçã, vinho e água de rio (SANTHAN et al., 2022).

1.3.3 Contextualização com o trabalho proposto

Com base nas informações reportadas, em especial nas seções 1.3, 1.3.1 e 1.3.2, é possível observar uma crescente preocupação com relação ao uso excessivo e indiscriminado de pesticidas e os riscos de contaminação, que podem causar impactos nocivos à saúde humana e ao meio ambiente. Portanto, é de fundamental importância o desenvolvimento de técnicas modernas, simples, rápidas e de baixo custo que possibilitem uma análise precisa destas substâncias tóxicas em diferentes matrizes de amostras.

Desta forma, este trabalho visa unir as propriedades únicas dos nanomateriais com a simplicidade e eficiência das técnicas eletroanalíticas, através do desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados com materiais nanoestruturados aplicados na determinação dos pesticidas carbendazim e 2,4,6-triclorofenol em amostras de águas naturais e de uso doméstico.

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver eletrodos quimicamente modificados para determinação de carbendazim e 2,4,6-triclorofenol em águas naturais e de uso doméstico, utilizando materiais nanoestruturados (nanopartículas metálicas, grafeno e β -ciclodextrina).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Detecção de carbendazim em águas naturais usando um eletrodo quimicamente modificado com β -ciclodextrina e nanopartículas de magnetita estabilizadas em ácido ascórbico.

- Sintetizar as nanopartículas de magnetita ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$) estabilizadas em ácido ascórbico (AA);
- Preparar a dispersão modificadora a partir da mistura de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ e β -ciclodextrina;
- Caracterizar os nanomateriais através das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e espectroscopia UV-Vis;
- Construir eletrodos quimicamente modificados (CME) a partir da modificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo (GCE) com os seguintes nanomateriais: $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD}$ e comparar as respostas analíticas obtidas com o eletrodo sem modificação;
- Caracterizar eletroquimicamente o GCE modificado ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$) através das técnicas de voltametria cíclica, voltametria linear e espectroscopia de impedância eletroquímica;
- Estudar o comportamento eletroquímico do pesticida carbendazim (CBZ) usando o CME proposto;
- Otimizar os parâmetros experimentais do método: natureza e pH do eletrólito suporte, proporção dos modificadores, e os parâmetros da voltametria de onda quadrada;
- Obter a curva de calibração externa para CBZ;
- Avaliar o método proposto através dos seguintes parâmetros: sensibilidade (cálculo do limite de detecção e limite de quantificação), seletividade (estudo de possíveis interferentes), precisão (repetibilidade intra-dia e inter-dia) e exatidão (estudo de recuperação);

- Aplicar o Fe₃O₄NPs-AA-βCD/GCE na determinação de CBZ em amostras de águas de lagoa através de curvas de calibração por adição de padrão e comparar os resultados obtidos com um método comparativo (espectrofotometria UV-Vis) a partir dos testes estatísticos “*t-Student*” e “*F*”.

2.2.2 Desenvolvimento de um eletrodo quimicamente modificado com grafeno e nanopartículas de ouro sintetizadas em extrato de araquá (*Psidium cattleianum*), aplicado na determinação de 2,4,6-triclorofenol em águas de uso doméstico.

- Sintetizar as nanopartículas de ouro estabilizadas em extrato de *Psidium cattleianum* (AuNPs-Ext);
- Preparar a dispersão modificadora a partir da mistura de AuNPs-Ext e grafeno;
- Caracterizar os nanomateriais através das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão (TEM), e espectroscopia UV-Vis;
- Construir eletrodos quimicamente modificados a partir da modificação da superfície do GCE com os seguintes nanomateriais: Ext, AuNPs-Ext e AuNPs-Ext-GR e comparar as respostas analíticas obtidas com o eletrodo sem modificação;
- Caracterizar eletroquimicamente a superfície do GCE modificado (AuNPs-Ext-GR/GCE) através das técnicas de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica;
- Estudar o comportamento eletroquímico do pesticida 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCF) usando o CME proposto;
- Otimizar os parâmetros experimentais do método: natureza e pH do eletrólito suporte, proporção dos modificadores e os parâmetros da voltametria de onda quadrada;
- Obter uma curva de calibração externa para 2,4,6-TCF;
- Avaliar o método proposto através dos seguintes parâmetros: sensibilidade (cálculo do limite de detecção e limite de quantificação), seletividade (estudo de interferentes), precisão (repetibilidade intra-dia e inter-dia) e exatidão (estudo de recuperação);
- Aplicar o AuNPs-Ext-GR/GCE na determinação de 2,4,6-TCF em amostras de águas de uso doméstico a partir de curvas de calibração por adição de padrão e comparar os resultados obtidos com um método comparativo por espectrofotometria UV-Vis, através dos testes estatísticos “*t-Student*” e “*F*”.

CAPÍTULO 3: DETECÇÃO DE CARBENDAZIM EM ÁGUAS NATURAIS USANDO UM ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO COM β -CICLODEXTRINA E NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA ESTABILIZADAS EM ÁCIDO ASCÓRBICO.

Publicado em: Electroanalysis, 2022 (ALVES FREITAS; CRUZ VIEIRA).

3.1 INTRODUÇÃO

Esta seção relata a síntese de um novo nanomaterial a base de β -ciclodextrina e $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ estabilizadas em ácido ascórbico empregado na construção de um eletrodo quimicamente modificado. O CME proposto foi desenvolvido e aplicado na determinação do fungicida carbendazim em amostras de águas de lagoas. Este capítulo está dividido em duas partes: **parte experimental** referente aos reagentes, instrumentação, técnicas analíticas e demais condições de otimização e caracterização da metodologia proposta; e **resultados e discussão** dos dados experimentais obtidos neste trabalho.

3.2 PARTE EXPERIMENTAL

3.2.1 Regentes e soluções

Todos os reagentes de grau analítico foram utilizados sem purificação adicional e todas as soluções aquosas foram preparadas em água ultrapura obtida em sistema Milli - Q (Millipore, EUA), com resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$. As soluções padrão de carbendazim ($\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$) foram preparadas em dimetilformamida (DMF). Para os estudos da escolha do eletrólito suporte foram utilizadas as seguintes soluções tampão: acetato, Britton-Robinson (B-R) e McIlvaine. Para a obtenção destas soluções foram usados os seguintes reagentes: ácido acético (CH_3COOH), ácido cítrico ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_7$), acetato de sódio (CH_3COONa), ácido bórico (H_3BO_3), ácido fosfórico (H_3PO_4), hidrogenofosfato de sódio (Na_2HPO_4) e hidróxido de sódio (NaOH) obtidos da Sigma-Aldrich, VETEC e LAFAN. Todas as soluções tampão utilizadas foram preparadas na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sendo a solução tampão acetato (pH 5,0) utilizada como eletrólito de suporte na otimização do método. Soluções de ferricianeto de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) e ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foram preparadas com o objetivo de caracterizar o eletrodo proposto.

Para a síntese das nanopartículas de magnetita foram utilizados como precursores metálicos os sais cloreto de ferro (III) (FeCl_3) e sulfato de ferro (II) (FeSO_4). O composto hidróxido de amônio (NH_4OH) foi utilizado como agente redutor, o ácido L-ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) como estabilizante e a β -ciclodextrina ($\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{O}_{35}$) como material modificador no preparo da dispersão, todos os reagentes foram obtidos da Sigma-Aldrich. Soluções de cloreto de potássio (KCl), cloreto de sódio (NaCl), nitrato de sódio (NaNO_3), sulfato de sódio (Na_2SO_4), hidrogenofosfato de sódio (Na_2HPO_4), aldicarbe ($\text{C}_7\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$), e metomil ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) $66,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ foram utilizadas no estudo de interferentes.

3.2.2 Instrumentação

A morfologia das nanopartículas de magnetita foi caracterizada usando microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e a análise foi realizada com um microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM - 1011 operando a 100 keV. As micrografias foram obtidas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis, Brasil). As medições de pH foram realizadas usando um pHmetro Micronal (modelo B - 475) contendo um eletrodo de vidro combinado. Um banho ultrassônico (Unique 1400A) e um agitador magnético HI 190M (instrumentos HANNA) foram utilizados para auxiliar na preparação e homogeneização das soluções e amostras e na realização das análises.

Estudos eletroquímicos, empregando voltametria cíclica, linear, pulso diferencial e de onda quadrada foram realizados em um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT101 (Eco Chemie, Holanda) e a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) foi realizada em um potenciostato/galvanostato AUTOLAB128N (Eco Chemie, Holanda), ambos operando com um *software* de aquisição e processamento de dados (NOVA, versão 1.8). Os experimentos foram realizados usando um sistema convencional de três eletrodos: o sensor $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$ proposto como eletrodo de trabalho, uma placa de platina como eletrodo auxiliar e o eletrodo Ag/AgCl (KCl ; $3,0 \text{ mol L}^{-1}$) como eletrodo de referência.

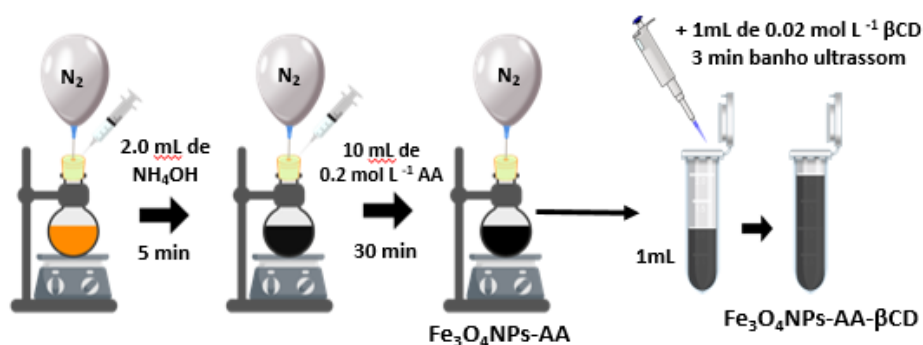
3.2.3 Síntese e caracterização das nanopartículas de magnetita

As nanopartículas foram sintetizadas de acordo com o seguinte procedimento: inicialmente, 0,21 g de FeCl_3 e 0,11 g de FeSO_4 foram dissolvidos com 40 mL de água em um balão de fundo redondo sob agitação magnética por 10 min em atmosfera de nitrogênio. Em seguida, 2 mL de hidróxido de amônio foram adicionados como agente redutor e a mistura foi

deixada sob agitação por 5 min. A síntese de nanopartículas de magnetita ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$) foi considerada completa após a coloração da suspensão passar de amarelo para preto. A estabilização das $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ foi realizada posteriormente pela adição de 10 mL de solução de ácido ascórbico (AA) ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$) ao balão, mantendo-se a agitação por mais 30 min. Finalmente, a suspensão foi transferida para um tubo Falcon de 50 mL e armazenada a 4°C em um refrigerador.

A dispersão modificadora do eletrodo foi preparada misturando-se 1 mL da suspensão $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}$ e 1 mL de solução aquosa contendo 17,5 mg de β -ciclodextrina em um tubo Eppendorf. A dispersão foi sonicada continuamente por 3 min em banho-maria a 25°C resultando na dispersão modificada ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD}$). O esquema de síntese das NPs e preparo da dispersão modificadora é descrito na Figura 12.

Figura 12. Esquema ilustrativo da síntese das $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}$ e do preparo da dispersão $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD}$.



A formação das $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ foi comprovada pelo monitoramento da banda de absorção característica destas nanopartículas ($\approx 255 \text{ nm}$), através de medidas obtidas em um espectrofotômetro UV-Vis Cary 60 (Agilent Technologies, EUA), utilizando uma cubeta de quartzo com 1,0 cm de caminho óptico. A morfologia das nanopartículas de magnetita foi observada por microscopia eletrônica de transmissão (TEM, 1011-JEM, JEOL) e as amostras foram preparadas depositando a dispersão em uma grade de cobre revestida com carbono disposta sobre um papel filtro para remover o excesso de material.

3.2.4 Preparo do eletrodo quimicamente modificado

Primeiramente, a superfície do eletrodo de carbono vítreo (diâmetro de 2 mm) foi polida com uma suspensão de alumina ($0,05 \mu\text{m}$), por meio de fricção em tecido feltro, e posteriormente lavada com água deionizada. A modificação do eletrodo foi feita pelo método “*drop coating*”, no qual uma alíquota ($2 \mu\text{L}$) da dispersão de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD}$ foi gotejada

na superfície de um GCE (do inglês, *glassy carbon electrode*). O eletrodo então foi deixado em dessecador sob vácuo por 15 min para evaporação do solvente. Após o período de secagem, o eletrodo de trabalho proposto ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$) estava pronto para uso. Um GCE não modificado e GCE modificados com $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}$ foram preparados e testados de forma semelhante para avaliar a contribuição de cada modificador separadamente. As proporções dos modificadores utilizados na construção dos eletrodos foram estudadas a fim de se obter a melhor resposta analítica para o analito de interesse.

3.2.5 Coleta e preparo das amostras

As amostras de águas naturais foram coletadas de duas lagoas localizadas na cidade de Florianópolis-SC: Lagoa da Conceição, localizada próxima à parte central da cidade e a Lagoa do Peri localizada o sul da ilha. A coleta foi realizada utilizando-se frascos previamente esterilizados em autoclave e a amostragem foi feita próxima à superfície do corpo d'água, sendo as amostras posteriormente acondicionadas a 4°C em refrigerador no laboratório. Alíquotas de 1 mL de cada amostra, sem tratamento prévio, foram fortificadas com uma concentração conhecida de CBZ e adicionadas a célula eletroquímica contendo 15 mL de eletrólito suporte. A concentração de CBZ em cada amostra foi quantificada a partir das correntes de pico obtidas com curvas de calibração por adição de padrão.

3.2.6 Medidas eletroquímicas

Os estudos voltamétricos foram realizados à temperatura ambiente ($\approx 25^\circ\text{C}$), sem a necessidade de controle de temperatura, em uma célula eletroquímica contendo 15,0 mL de eletrólito suporte (solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹, pH 5,0) e uma alíquota da solução padrão do analito (CBZ). Os voltamogramas foram registrados após agitação magnética da solução por 60 segundos para homogeneização e as correntes de pico obtidas para CBZ usando o sensor proposto foram utilizadas para quantificar este analito. Todas as medidas de potencial foram obtidas vs. Ag/AgCl (KCl, 3,0 mol L⁻¹). Os experimentos de SWV foram realizados através de uma varredura de potencial de +0,6 a +1,2 V, na frequência de 100 Hz, amplitude de pulso de 100 mV e incremento de varredura de 6 mV. Voltamogramas cíclicos foram obtidos através de uma varredura de potencial de -0,8 a +1,2 V, com uma taxa de velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. Os dados utilizados para otimizar as condições experimentais, obter a curva de calibração e determinar as concentrações em amostras reais foram obtidos através da média de

três medições sendo o desvio padrão dessa média representado pela barra de erro expressa nos gráficos correspondentes.

As medições de EIS, usadas para caracterização do sensor, foram realizadas em um sistema de três eletrodos (como descrito na seção 3.2.2), utilizando uma célula eletroquímica contendo 15,0 mL de solução $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (5,0 mmol L⁻¹ em KCl, 0,1 mol L⁻¹). Os gráficos de Nyquist foram obtidos no modo de circuito aberto, com amplitude de 10 mV e frequência na faixa de 0,1 a 100.000 Hz.

3.2.7 Método comparativo

A técnica de espectrometria UV-Vis foi aplicada para determinar o teor de CBZ em amostras fortificadas de águas de lagoas. As análises foram feitas na faixa de comprimento de onda de 250 a 325 nm. A absorvância máxima para o CBZ foi encontrada em torno de 284 nm. As medidas espectrofotométricas foram obtidas com um espectrofotômetro UV-Vis Cary 60 (Agilent Technologies, EUA), utilizando uma cubeta de quartzo com 1,0 cm de caminho óptico.

3.2.8 Avaliação do método eletroanalítico

A avaliação de um método eletroanalítico é o processo utilizado para confirmar que o procedimento de determinação empregado em um teste específico é adequado para o uso pretendido, comparativamente a outros métodos analíticos. Os resultados podem ser usados para julgar a qualidade, aplicabilidade, precisão, confiabilidade e consistência dos resultados analíticos. Os parâmetros de desempenho utilizados neste trabalho são descritos a seguir (GUMUSTAS; OZKAN, 2011; RIBANI et al., 2004):

3.2.8.1 Limite de detecção e quantificação

O limite de detecção (LOD, do inglês, *limit of detection*) é a menor quantidade do composto investigado em uma amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada com uma incerteza aceitável. O LOD de um método eletroanalítico é um parâmetro importante se medições quantitativas necessitam ser feitas em concentrações próximo a isso. O limite de quantificação (LOQ, do inglês, *limit of quantification*) é a concentração mais baixa de composto que pode ser medido na matriz de amostra em um nível aceitável de exatidão e precisão. É usado especialmente para a determinação de impurezas e/ou produtos de degradação

ou baixos níveis do composto ativo em um produto e é relevante apenas em métodos analíticos de rastreamento quando as medições são feitas em concentrações próximas a esse limite. Neste trabalho os valores de LOD e LOQ foram calculados a partir do método baseado nos parâmetros da curva analítica, através das Equações 1 e 2 descritas a seguir:

$$\text{LOD} = \frac{3,0s}{m} \quad (1) \qquad \text{LOQ} = \frac{10,0s}{m} \quad (2)$$

Nos quais s é o desvio padrão do intercepto (coeficiente linear) e m é o coeficiente angular da regressão linear correspondente a curva de calibração do analito.

3.2.8.2 Repetibilidade intra e inter-dia

A repetibilidade de um método está diretamente relacionada a sua precisão, sendo obtida através de medidas utilizando-se as mesmas condições, como o mesmo analista, mesmo equipamento, mesmo laboratório e no mesmo intervalo de tempo. Portanto, é essencial aplicar todo o procedimento eletroanalítico na mesma solução de amostra com grande número de dados (pelo menos 6 vezes). A repetibilidade é, algumas vezes, denominada precisão intra-dia ou inter-dia e pode ser expressa através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD) das medidas.

Neste trabalho, o estudo de repetibilidade intra-dia foi obtido através das medidas de corrente utilizando-se 6 eletrodos construídos com a mesma dispersão modificadora. Os testes foram realizados no mesmo dia em triplicata para cada eletrodo modificado em uma cela eletroquímica contendo 15 mL de solução tampão e alíquotas de solução padrão do analito. O valor de repetibilidade inter-dia foi obtido através de medidas de corrente (em dias distintos) usando-se 6 eletrodos modificados construídos com a mesma dispersão modificadora. Os testes foram realizados em triplicata em uma cela eletroquímica contendo 15 mL de solução tampão e alíquotas de solução padrão do analito.

3.2.8.3 Estudo de recuperação

A precisão é o principal requisito de uma análise eletroanalítica e pode ser descrito como a proximidade do acordo entre o valor real de concentração da amostra, seja como um valor convencional, de referência ou aceito e o valor encontrado. A precisão de um método é afetada por métodos sistemáticos e componentes de erro aleatório e normalmente é representada e determinada por ensaios de adição e recuperação. A medida do valor de adição e recuperação

(%) do método proposto foi obtida através da relação (Equação 3) entre o valor de concentração do analito medido com o eletrodo modificado (Equação 4), e o valor real de concentração adicionado, conforme descrito a seguir:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{[\text{analito}]_{CME}}{[\text{analito}]_{real}} \times 100 \quad (3) \quad [\text{analito}]_{CME} = \frac{b}{a} \quad (4)$$

No qual $[\text{analito}]_{real}$ é a concentração adicionada na amostra e $[\text{analito}]_{CME}$ é a concentração medida com o eletrodo modificado, calculada a partir do coeficiente linear (b) e angular (a) da equação de reta da curva de calibração por adição de padrão, através da extrapolação quando $y = 0$.

3.2.8.4 Teste de interferentes

A seletividade é geralmente aplicável a todas as análises técnicas, como os métodos eletroanalíticos, e refere-se à medida em que um método pode ser usado para determinar analitos em misturas ou matrizes livres de interferências e também distinguir um determinado analito de outras substâncias. A seletividade de um método eletroanalítico é normalmente avaliada demonstrando que a separação e determinação de analitos é livre de interferências. A fonte de interferências pode ser impurezas, compostos de degradação, excipientes, substâncias endógenas e componentes da própria matriz da amostra. Como regra geral, a seletividade do método deve ser suficientemente boa para que não tenha interferências significativas no resultado obtido. Procedimentos de teste variados e método de cálculo estatístico podem ser utilizados para estudar a seletividade, dependendo da disponibilidade do analito, amostras de referência adequadas, e a concentração de interesse. Neste trabalho, avaliou-se a possível interferência causada por íons comumente encontrados em amostras de água, além de outros pesticidas da mesma classe do composto de interesse. O teste foi realizado em uma cela eletroquímica contendo 15 mL de solução tampão utilizando-se o eletrodo modificado proposto para monitorar o sinal de corrente do analito na ausência e na presença dos interferentes em concentração 10 vezes maior. A interferência foi considerada pouco significativa quando o sinal de corrente mensurado após a adição dos compostos apresentou uma variação máxima de 10% para valores maiores ou menores do que a corrente inicialmente medida.

3.2.8.5 Comparação de métodos

Consiste na comparação entre os resultados obtidos empregando-se o método proposto e de um método de referência, avaliando o grau de proximidade entre os resultados, ou seja, o grau de exatidão do método testado em relação ao de referência. As análises são efetuadas em replicata, utilizando os dois métodos individualmente sobre as mesmas amostras, na faixa de concentração em que se pretende validar o método.

Se os dados obtidos utilizando o método proposto e o método de referência concordam, esta é uma evidência de que ambos são adequados para a determinação do analito de interesse. Neste trabalho, para avaliar a aplicabilidade e o desempenho da metodologia proposta foi empregada como comparativo a técnica de espectrometria UV-Vis. Para obter a exatidão e precisão, respectivamente, desses resultados os testes *t de Student* e *F* são geralmente usados para comparação estatística. A precisão deve ser relatada como porcentagem de recuperação pelo ensaio de adição de padrão na amostra ou como a diferença entre a média e o valor verdadeiro aceito juntamente com os intervalos de confiança e os resultados calculados (teste *t de Student* e *F*).

O teste *F* está baseado na hipótese nula de que as variâncias das duas populações consideradas sejam iguais sob a condição de que as populações sigam uma distribuição normal (gaussiana). Este teste é definido como a razão entre as duas variâncias (desvio padrão) das amostras (metodologias avaliadas) e é calculado comparando-se com o valor crítico em um determinado nível de confiança. Caso seja comprovado que ambas as variâncias avaliadas são iguais é possível então aplicar o teste *t de student* para verificar se há ou não uma diferença significativa entre os valores obtidos para ambos os métodos, em um nível de confiança de 95%. As equações referentes aos cálculos dos parâmetros *F* (Equação 5) e *t* (Equações 6a e 6b) são apresentadas abaixo:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (5)$$

$$t_{cal} = \frac{(x_1 - x_2)}{S_{agrupado}} \sqrt{(n_1 n_2 / n_1 + n_2)} \quad (6a)$$

$$S_{agrupado} = \sqrt{s_1^2(n_1 - 1) + s_2^2(n_2 - 1) / n_1 + n_2 - 2} \quad (6b)$$

No qual x_1 e n_1 representam a média dos valores e o número de replicatas obtidas com o método espectrofotométrico, e x_2 e n_2 representam a média dos valores e o número de replicatas obtidas com o método eletroanalítico proposto. Os símbolos s_1^1 e s_2^2 representam os valores de desvio padrão obtidos para ambas as metodologias, sendo o maior valor localizado no numerador e o menor valor no denominador.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

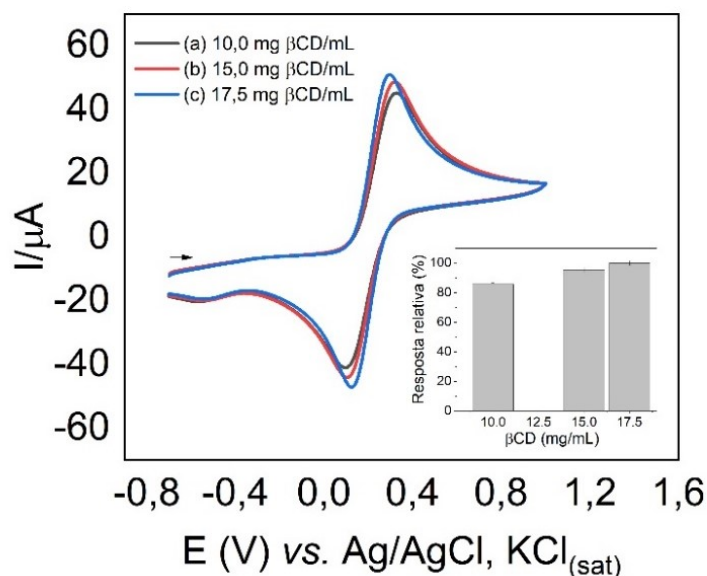
O CME proposto foi construído a partir da modificação de um eletrodo de carbono vítreo com uma dispersão a base de β -ciclodextrina (β CD) e nanopartículas de magnetita ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$). As $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ foram sintetizadas a partir de uma adaptação do método de co-precipitação proposto por Mallakpour *et al.* (MALLAKPOUR; JAVADPOUR, 2017), sendo a suspensão de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ posteriormente estabilizada a partir da adição de ácido ascórbico (AA), conforme o protocolo descrito na seção 3.2.3. As nanopartículas de magnetita foram aplicadas como material modificador neste trabalho devido suas propriedades elétricas que podem favorecer a transferência de carga na superfície do eletrodo, bem como fatores como o baixo custo de aquisição dos reagentes precursores e fácil metodologia de preparo. De modo a aprimorar ainda mais o desempenho do eletrodo modificado proposto avaliou-se a adição de β CD à suspensão das $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}$, com o intuito de unir as propriedades condutoras das NPs com a habilidade de reconhecimento supramolecular desta biomolécula. A otimização das proporções de preparo da dispersão modificadora e da construção do $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$ são descritos nessa seção.

3.3.1 Otimização da proporção de β CD

Primeiramente, avaliou-se a influência da concentração de β CD adicionada à suspensão de NPs na resposta analítica obtida com o CME. Para o preparo da dispersão $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD}$ adicionou-se em um tubo Eppendorf 1 mL de suspensão $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}$ e 1 mL de solução de β CD com as seguintes concentrações: (a) 10, 15 e 17,5 mg/mL. O teste foi feito em uma cela contendo 15 mL de solução $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹), utilizando a técnica de voltametria cíclica (CV – do inglês, *cyclic voltammetry*) e um sistema de três eletrodos, no qual o eletrodo de trabalho aplicado foi o GCE modificado com dispersões nas concentrações mencionadas acima. A Figura 13 mostra os voltamogramas registrados, nos quais é possível observar que a resposta de corrente obtida para o analito aumentou proporcionalmente ao aumento da concentração de β CD presente na dispersão. Quanto maior o número de moléculas de β CD presentes no material modificador, maior o número de sítios ativos disponíveis para reconhecimento e interação com o analito resultando em uma melhora do sinal analítico obtido. É possível observar também que o aumento da corrente obtida passa a ser menos pronunciado com a aproximação do limite de solubilidade do composto em meio aquoso (18,2 mg/mL). Isto indica que, ao atingir o ponto de saturação de concentração na superfície do eletrodo a adição de quantidades maiores de β CD não afeta significativamente o

desempenho do CME. Portanto, a concentração de β CD de 17,5 mg/mL (que apresentou o maior sinal de corrente na determinação do analito) foi fixada para o preparo da dispersão modificadora aplicada na construção do eletrodo proposto.

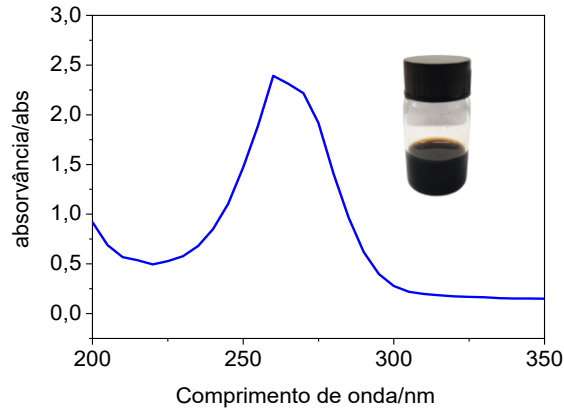
Figura 13. Voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos modificados com dispersões contendo $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}$ e diferentes concentrações de β CD (a) 10,0, (b) 15,0 e (c) 17,5 mg/L, em solução $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ($5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Inseto: Respostas relativas (%).



3.3.2 Caracterização do nanomaterial

Com o intuito de avaliar o nanomaterial obtido a partir do processo de síntese descrito anteriormente, as nanopartículas estabilizadas ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}$) foram caracterizadas através da técnica de espectroscopia UV-Vis. A Figura 14 mostra o espectro de absorção, no qual é possível observar a presença de uma banda de transição ligante-metal no comprimento de onda de 255 nm na região do espectro característica de formação das $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ (AKPOMIE et al., 2021; BASAVEGOWDA et al., 2014). A faixa de absorção e a forma da banda plasmon das nanopartículas metálicas dependem em grande parte de características como tamanho, forma e polidispersidade das partículas (AGUILAR-MÉNDEZ et al., 2020). Nesse contexto, quanto menores e mais homogêneas forem as partículas, as bandas de plasmon de superfície serão mais estreitas e tenderão a estar localizadas em comprimentos de onda mais baixos. Sendo assim, a forma e localização da banda de absorção obtida para $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}$ indicam que as partículas possivelmente apresentam tamanho reduzido e encontram-se dispersas no meio devido a presença do estabilizante AA.

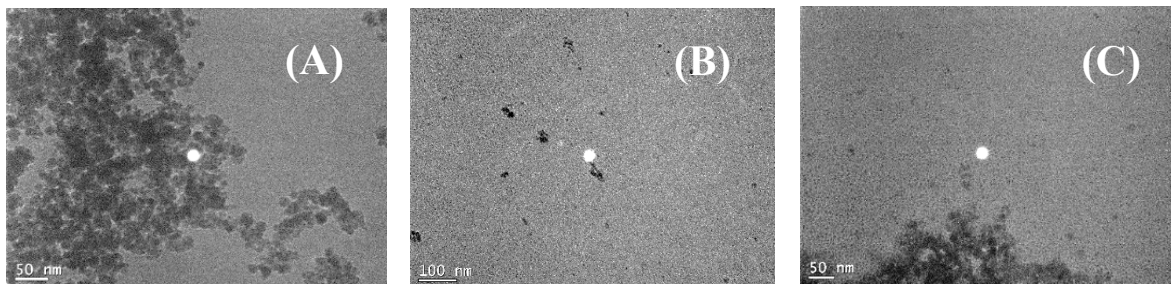
Figura 14. Espectro de absorção UV-Vis para a suspensão de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}$.



As morfologias das nanopartículas de magnetita (com e sem estabilizante) e da dispersão $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD}$ foram caracterizadas a partir da técnica de microscopia eletrônica de transmissão – TEM (do inglês, *transmission electron microscopy*). Na Figura 15 são mostradas três micrografias referentes aos seguintes nanomateriais: (A) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$, (B) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}$ e (C) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD}$. É possível observar na Figura 15A que as $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ possuem partículas pequenas de aspecto esférico, porém com baixa dispersão encontrando-se agrupadas em grandes aglomerados. Isto se deve à grande energia superficial que as nanopartículas apresentam, causada pela alta razão área/volume fazendo com que, na ausência de um agente estabilizante, ocorra o processo de coalescência orientada onde as partículas tendem a se aproximar formando estruturas maiores com o intuito de promover a estabilização das mesmas.

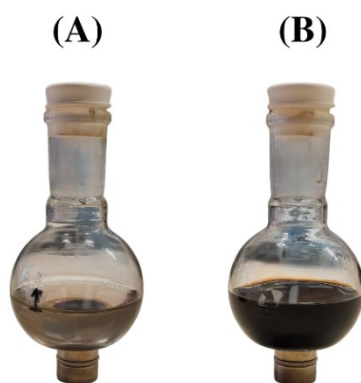
A Figura 15B mostra a existência de partículas de tamanho reduzido e bem dispersas no meio, esta configuração é causada pela presença do ácido ascórbico que é capaz de promover uma estabilização estérica através do volume de sua estrutura devido a presença do anel lactona. No caso das $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD}$ (Figura 15C), há a presença de alguns aglomerados que podem ser explicados devido a possível adsorção de nanopartículas no exterior da β -ciclodextrina. Podemos concluir que, de acordo com o espectro UV-Vis e as imagens de TEM obtidas as partículas sintetizadas possuem tamanho reduzido e boa dispersidade.

Figura 15. Imagens de TEM para: (A) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$, (B) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}$, e (C) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD}$.



A interação do ácido ascórbico com as nanopartículas de magnetita também foi evidenciada através de mudanças na propriedade magnética do material. As $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ na ausência de estabilizante apresentam magnetismo, sendo atraídas para a parede do balão ao ser expostas ao campo magnético de um ímã de neodímio (Figura 16A), por outro lado as nanopartículas estabilizadas com AA passaram a não sofrer mais atração pelo campo magnético do ímã (Figura 16B). Um comportamento similar foi observado por Sood e colaboradores para $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ estabilizadas em citrato (SOOD et al., 2016), indicando que o AA promove o recobrimento efetivo das partículas.

Figura 16. Comportamento das $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ em contato com um ímã de neodímio, na ausência (A) e presença (B) do estabilizante ácido ascórbico.

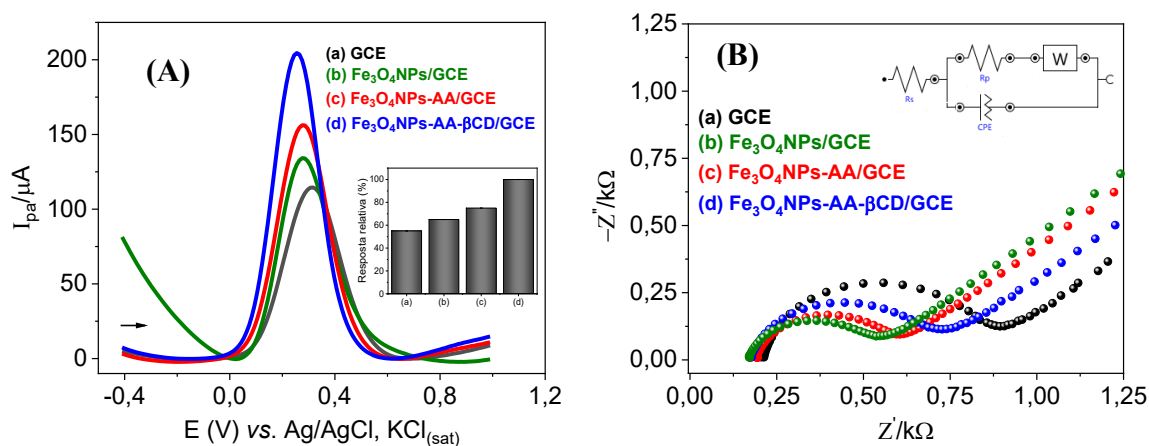


3.3.3 Caracterização eletroquímica dos CME

A caracterização eletroquímica do CME foi realizada através das técnicas de voltametria de varredura linear (LSV – do inglês, *linear sweep voltammetry*) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS– do inglês, *electrochemical impedance spectroscopy*), de modo a comprovar seu desempenho em medidas eletroquímicas. Os testes foram realizados através da análise do padrão analítico par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ($5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) utilizando o CME proposto para avaliar o seu desempenho e estudar a contribuição de cada modificador individualmente. A Figura 17A mostra os voltamogramas resultantes das medidas feitas com os seguintes eletrodos: (a) GCE, (b) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}/\text{GCE}$, (c) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}/\text{GCE}$, e (d) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD}/\text{GCE}$. Não foi possível analisar eletrodos modificados apenas com AA e apenas com βCD , pois ambos os compostos são solúveis em meio aquoso (nas concentrações utilizadas neste trabalho) e não formam filmes estáveis na superfície do GCE. A Figura 17A mostra que o eletrodo sem modificação ((a) $I_{\text{pa}} = 0,11 \text{ mA}$) obteve o menor valor de corrente para o analito, seguido do eletrodo (b) que apresentou um aumento da corrente de pico ($I_{\text{pa}} = 0,13 \text{ mA}$) devido a grande área superficial e propriedades elétricas das nanopartículas metálicas

que favorecem a interação entre o analito e a superfície do eletrodo, contribuindo para uma melhor transferência de carga. Com relação ao eletrodo (c), comparativamente ao demais, pode-se observar um pequeno aumento na corrente de pico ($I_{pa} = 0,15$ mA) obtido provavelmente devido a estabilização das nanopartículas. A presença de um estabilizante na suspensão impede a aglomeração das partículas (como mencionado na seção 3.2.2) fazendo com que a síntese resulte em nanopartículas dispersas e de tamanho mais reduzido e, conseqüentemente com grande área superficial que pode atuar como sítios ativos para a reação do analito de interesse. Por último, o eletrodo (d) apresentou o maior valor de corrente ($I_{pa} = 0,20$ mA) representando um sinal quase duas vezes maior que o GCE, este ganho expressivo de sinal está relacionado a presença do modificador β CD. A molécula de β CD possui vários grupos hidroxilas primárias e secundárias em sua superfície externa que podem fornecer sítios de coordenação para quelar íons metálicos, como por exemplo o ferro, e formar ligações covalentes em pH neutro a básico, no qual os grupos OH podem ser desprotonados e atuar como nucleófilos (PROCHOWICZ; KORNOWICZ; LEWIŃSKI, 2017).

Figura 17. (A) Voltamogramas de varredura linear. Inseto: Respostas relativas (%). (B) Espectros de EIS obtidos para os seguintes eletrodos: (a) GCE; (b) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}/\text{GCE}$; (c) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}/\text{GCE}$ e (d) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD}/\text{GCE}$ em solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ($5,0$ mmol L^{-1} em KCl $0,1$ mol L^{-1}) em modo de circuito aberto com amplitude de 10 mV e faixa de frequência de $0,1$ – 100.000 Hz.



Os CME também foram avaliados eletroquimicamente através da técnica de EIS. Os fenômenos localizados na interface eletrodo/solução são representados pelo circuito equivalente de Randles-Ershler, sendo este frequentemente usado para modelar os fenômenos interfaciais e para caracterizar, por exemplo, baterias de lítio, sistemas seletivos de íons, e sensores. Através desse circuito é possível obter valores para a resistência ôhmica do eletrólito suporte (R_s), impedância de Warburg resultante da difusão linear de íons da solução *bulk* para a interface do eletrodo (W), capacitância da dupla camada e resistência à transferência de carga (R_{ct} - do inglês, *resistance to charge transfer*), que existe se uma sonda redox estiver presente

em uma solução eletrolítica (DHILLON; KANT, 2017). Nos diagramas de Nyquist ($-Z''$ vs. Z'), a R_{ct} corresponde a parte semicircular e pode ser calculada a partir do diâmetro do semicírculo, enquanto a parte linear representa os processos de difusão.

A Figura 17B mostra as curvas para cada modificador aplicado na superfície do eletrodo. O GCE apresentou o maior valor de impedância (0,757 k Ω) pois é composto de um material pouco condutor. A presença de Fe₃O₄NPs diminuiu a resistência medida (0,604 k Ω) devido suas propriedades elétricas e condutoras que contribuem com a transferência de elétrons do analito e que são favorecidas com a presença do estabilizante AA na suspensão (0,435 k Ω). O eletrodo Fe₃O₄NPs-AA- β CD/GCE apresentou o menor valor de R_{ct} (0,391 k Ω), que pode ser explicado pela combinação das propriedades catalíticas das nanopartículas estabilizadas e a forte interação do analito com a β -ciclodextrina que favorece o acúmulo de cargas na superfície do CME.

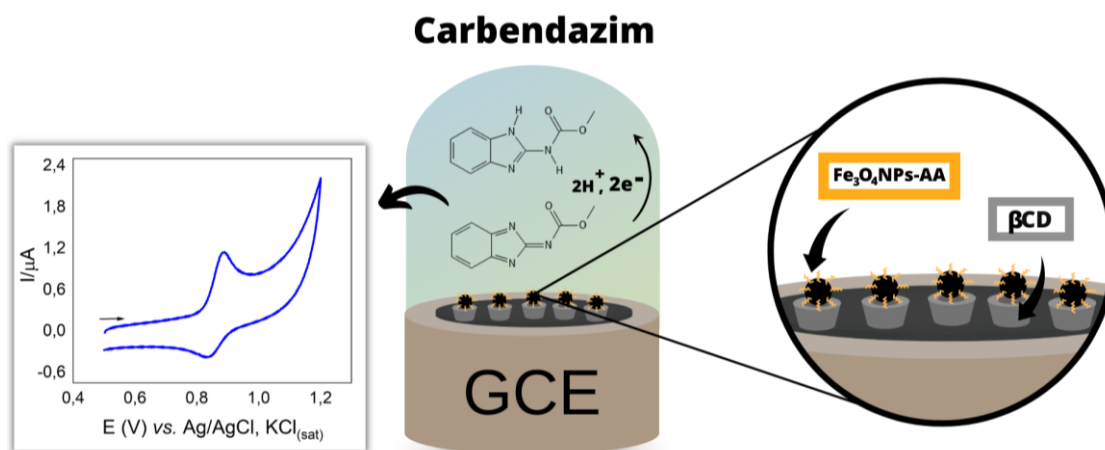
O desempenho superior do Fe₃O₄NPs-AA- β CD/GCE, comparativamente ao GCE, em termos de sinal de corrente obtido e menor resistência a passagem de corrente (transferência de carga) faz do CME proposto uma excelente ferramenta de reconhecimento para aplicação em metodologias eletroanalíticas. Sendo assim, o CME foi aplicado como eletrodo de trabalho no desenvolvimento e otimização de um método para a determinação do pesticida carbendazim (CBZ) em amostras de águas naturais. Os resultados desta aplicação serão mostrados nas seções a seguir.

3.3.4 Comportamento eletroquímico do CBZ na superfície do CME

A voltametria cíclica é uma técnica eletroanalítica comumente utilizada para avaliar qualitativamente um analito, pois através dela é possível obter informações sobre as reações eletródicas tais como a cinética de transferência eletrônica e a existência de reações acopladas ou processos de adsorção. Sendo assim, o comportamento eletroativo do pesticida foi avaliado utilizando-se o eletrodo proposto (Fe₃O₄NPs-AA- β CD/GCE) em uma célula eletroquímica contendo 15 mL de solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,0) e CBZ 25,0 μ mol L⁻¹ através de um voltamograma cíclico aplicando uma velocidade de varredura de $\nu = 50$ mV s⁻¹ e variando o potencial de aplicação na faixa de + 0,5 a +1,2 V. O voltamograma referente a reação de oxirredução do analito (Figura 18) apresentou dois picos: a varredura direta resultou em um pico de corrente anódica $I_{pa} = 0,68$ μ A em um potencial de oxidação $E_{po} = 0,88$ V, e a varredura inversa resultou em um pico de corrente catódica de menor intensidade ($I_{pc} = 0,33$ μ A) em potencial de redução $E_{pr} = 0,84$ V. A reação eletroquímica do CBZ ocorre através da

desprotonação dos átomos de nitrogênio do anel benzimidazol e do grupo carbamato, formando uma imina como produto redox. Evidências obtidas a partir do perfil voltamétrico (separação dos picos) juntamente com outros estudos da literatura (ÖZCAN; HAMID; ÖZCAN, 2021; WONG et al., 2021) sugerem que a reação de oxidação do CBZ (Figura 18) ocorre através de um mecanismo quase-reversível.

Figura 18. Representação esquemática da composição do $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$, voltamograma cíclico e esquema proposto da reação redox do CBZ em solução tampão B-R ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0).

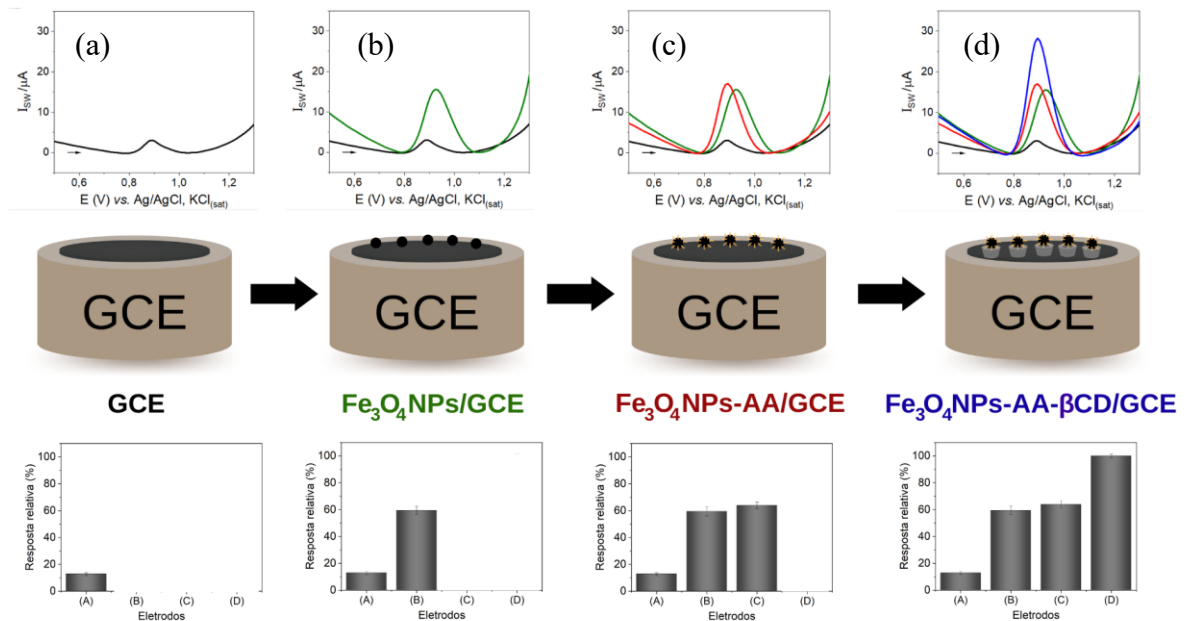


3.3.5 Contribuição dos modificadores na resposta analítica de CBZ

A contribuição de cada modificador na resposta analítica obtida com CME também foi avaliada para o pesticida carbendazim, de modo a verificar o desempenho do eletrodo proposto na determinação do analito de interesse deste trabalho. Os eletrodos investigados foram: (a) GCE, (b) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs/GCE}$, (c) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA/GCE}$ e (d) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$ e a resposta analítica foi monitorada por meio da voltametria de onda quadrada (SWV – do inglês, *square-wave voltammetry*) em solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0) contendo solução padrão de CBZ $25,0 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. A Figura 19 mostra os voltamogramas obtidos para cada eletrodo, o GCE novamente obteve o menor sinal de corrente ($I_{\text{pa}} = 3,57 \text{ }\mu\text{A}$), seguido do eletrodo modificado com as $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ que apresentou um sinal de corrente de pico $I_{\text{pa}} = 15,55 \text{ }\mu\text{A}$. Este aumento de aproximadamente 4,5 vezes o sinal obtido com o GCE está relacionado as propriedades específicas das nanopartículas como alta razão área/volume e boa condutividade elétrica que favorecem a transferência de carga na superfície do eletrodo. O eletrodo $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA/GCE}$ apresentou um pequeno aumento do sinal de corrente do CBZ ($I_{\text{pa}} = 17,16 \text{ }\mu\text{A}$) comparado ao sinal obtido com as $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$, relativo a estabilização das nanopartículas que garante uma melhor dispersão e tamanhos reduzidos de partículas, favorecendo o aumento da área eletroativa do CME. O eletrodo proposto neste trabalho ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$)

apresentou um corrente de pico (I_{pa}) = 27,92 μA , que representa um ganho de sinal cerca de 7,8 vezes maior que o sinal obtido com o GCE devido à interação do analito com a cavidade interna da ciclodextrina. A βCD é composta por 7 anéis D-glicose na forma de uma estrutura cônica, e possui uma cavidade com caráter hidrofóbico que interage fortemente com compostos lipofílicos, como o CBZ, formando um complexo de inclusão hospedeiro-hóspede. Esse tipo de associação favorece a interação do analito na superfície do eletrodo e, conseqüentemente, favorece a reação de oxirredução. É possível também observar a partir dos voltamogramas que a adição dos modificadores não resultou em um deslocamento do potencial de pico de oxidação (E_{poX}) do CBZ. Sendo assim a modificação proposta não promove um efeito catalítico, porém atua na pré-concentração do analito na superfície do eletrodo.

Figura 19. Voltamogramas de SWV usando diferentes eletrodos: (a) GCE; (b) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}/\text{GCE}$; (c) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}/\text{GCE}$ e (d) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD}/\text{GCE}$, em solução tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0), contendo CBZ $25,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. Inserido: Respostas relativas (%).



Como pode ser observado, a maior resposta voltamétrica para solução de CBZ foi obtida usando o eletrodo proposto ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA}/\text{GCE}$), indicando que o CME é uma ferramenta adequada para aplicação da determinação deste pesticida. Sendo assim, prosseguiu-se com a otimização dos parâmetros experimentais com o objetivo de aprimorar sua resposta analítica e sensibilidade.

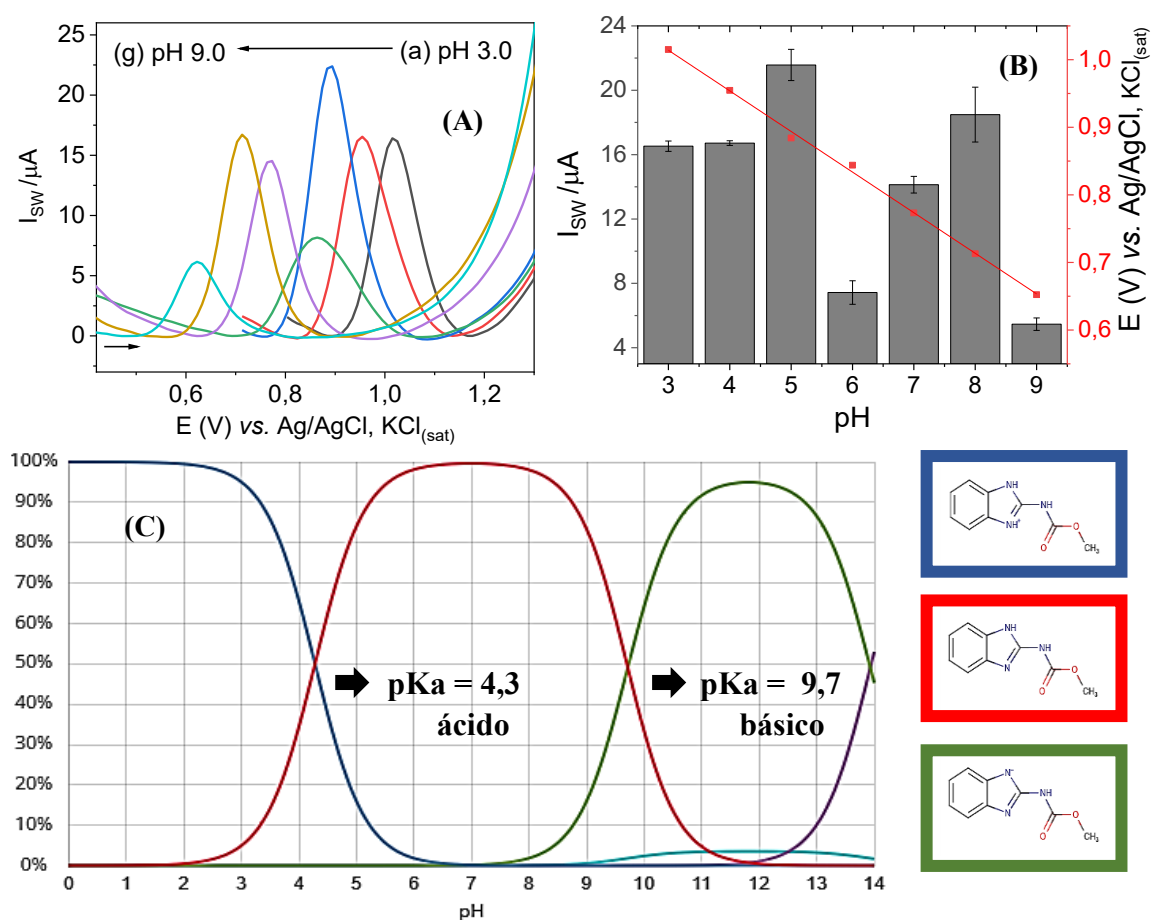
3.3.6 Estudo do pH e otimização do eletrólito de suporte

O pH do eletrólito suporte influencia de diversas formas o sinal analítico obtido com o CME, pois a mudança do pH do meio pode interferir na forma como o analito estará dissociado

em solução (protonado ou desprotonado), impactando diretamente a sua reação redox. O pH do meio reacional também pode interferir diretamente na modificação do eletrodo, pois qualquer mudança estrutural causada pela protonação ou desprotonação de possíveis sítios ativos na superfície do CME pode favorecer ou interferir negativamente na aproximação e interação do analito com a superfície do eletrodo.

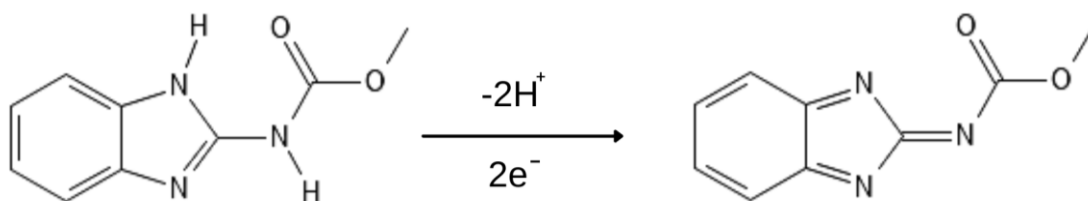
Para avaliar a influência do pH do eletrólito de suporte na reação de oxidação do CBZ o eletrodo Fe₃O₄NPs-AA-βCD/GCE foi aplicado em uma cela contendo 15 mL de solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ nos seguintes valores de pH: (a) 3,0, (b) 4,0, (c) 5,0, (d) 6,0, (e) 7,0, (f) 8,0, e (g) 9,0, contendo CBZ 25,0 μmol L⁻¹. O sinal eletroquímico do analito foi monitorado através das correntes de pico resultantes de voltamogramas utilizando a técnica de SWV. Os voltamogramas (Figura 20A) bem como o gráfico de barras (Figura 20B) indicam que há uma mudança da corrente de pico obtida para o analito conforme modificamos o pH do meio. O aumento do sinal de corrente que ocorre entre os valores de pH 3,0 a 5,0 está relacionado com a constante de dissociação do CBZ (pKa ≈ 4,3), que faz com que este analito se encontre majoritariamente em sua forma protonada em valores de pH mais ácidos, e portanto mais favorável a ser oxidada (Figura 20C). Para valores de pH acima do pKa, o equilíbrio da dissociação da molécula em solução passa a ser deslocado para a sua forma desprotonada, o que diminui o sítio de oxidação do composto e justifica a queda de sinal de corrente observada em pH 6,0. Contudo, nota-se um novo aumento da corrente mesmo em valores de pH mais básicos (entre 7 e 8), isto pode estar relacionado ao aumento da interação entre o analito e a β-ciclodextrina. Estudos indicam que algumas moléculas ligam-se melhor a βCD quando têm uma carga positiva mais baixa, pois a ocorrência da transferência de carga entre o hóspede e o hospedeiro ajuda na estabilização do complexo supramolecular (LIU, L. et al., 2001; POULSON et al., 2022). A corrente novamente decai em pH alcalino (9,0), valor este próximo a região de pKa básico da molécula (≈9,7) no qual o composto encontra-se majoritariamente em sua forma desprotonada e portanto menos propensa a sofrer reações de oxidação. O maior valor de corrente foi obtido em pH 5,0, indicando que neste valor a determinação do analito é mais efetiva e o CME apresenta maior sensibilidade de resposta. Sendo assim, conforme os dados obtidos de corrente, juntamente com bom perfil voltamétrico apresentado, o pH 5,0 foi escolhido e fixado para os demais testes de otimização.

Figura 20. Voltamogramas de onda quadrada em solução tampão B-R ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em diferentes valores de pH: (a) 3,0, (b) 4,0, (c) 5,0, (d) 6,0, (e) 7,0, (f) 8,0, e (g) 9,0 contendo CBZ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ utilizando o $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$. (B) Gráficos da relação entre I_{sw} vs. pH e E (V) vs. pH ($n = 3$). (C) Curva de distribuição das espécies (%) de CBZ em função do pH.



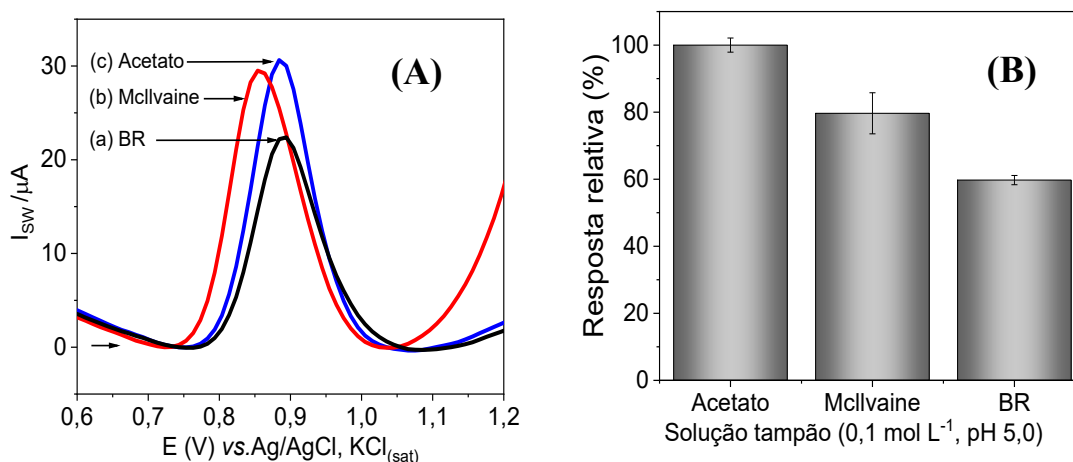
A Figura 20B mostra a relação linear ($E = -0,060 \text{ pH} + 1,19$; $r = 0,998$) entre o potencial de pico anódico do CBZ e os diferentes valores de pH, no qual o potencial é deslocado para valores mais negativos conforme aumentamos o pH do meio. Este deslocamento indica o envolvimento direto de prótons na reação de oxidação e o valor obtido para o coeficiente angular da reta ($-60,0 \text{ mV}$) é muito próximo do valor teórico previsto pela equação de Nernst ($-59,2 \text{ mV}$) indicando que a reação envolve o mesmo número de mols de prótons e elétrons. Ambos os dados obtidos estão em concordância com outros trabalhos encontrados na literatura (ÖZCAN et al., 2021; WEI et al., 2022). Sendo assim, de acordo com os dados apresentados neste estudo e na seção 3.3.4, e também dados da literatura (ILAGER et al., 2022; ÖZCAN et al., 2021), a Figura 21 abaixo propõe um esquema da reação de oxirredução quase-reversível do CBZ na superfície do eletrodo, envolvendo 2 prótons e 2 elétrons.

Figura 21. Esquema proposto da reação de oxidação do CBZ na superfície do eletrodo



Após a escolha do pH mais adequado para a análise de CBZ, foram feitos estudos para avaliar a composição do eletrólito suporte. Foram testados três soluções de eletrólitos (0,1 mol L⁻¹, pH 5,0): solução tampão B-R, solução tampão McIlvaine e solução tampão acetato. A Figura 22A apresenta os voltamogramas obtidos, nos quais observa-se que a solução tampão acetato obteve a melhor resposta em termos de perfil voltamétrico e corrente de pico (Figura 22B), sendo então escolhida para aplicação na otimização do método proposto, com o objetivo de aprimorar a sensibilidade na detecção do analito de interesse.

Figura 22. (A) Voltamogramas de onda quadrada para CBZ (25,0 μmol L⁻¹) utilizando diferentes soluções de eletrólito de suporte (0,1 mol L⁻¹, pH 5,0): (a) solução tampão B-R, (b) solução tampão McIlvaine e (c) solução tampão acetato. (B) Respostas relativas (%).



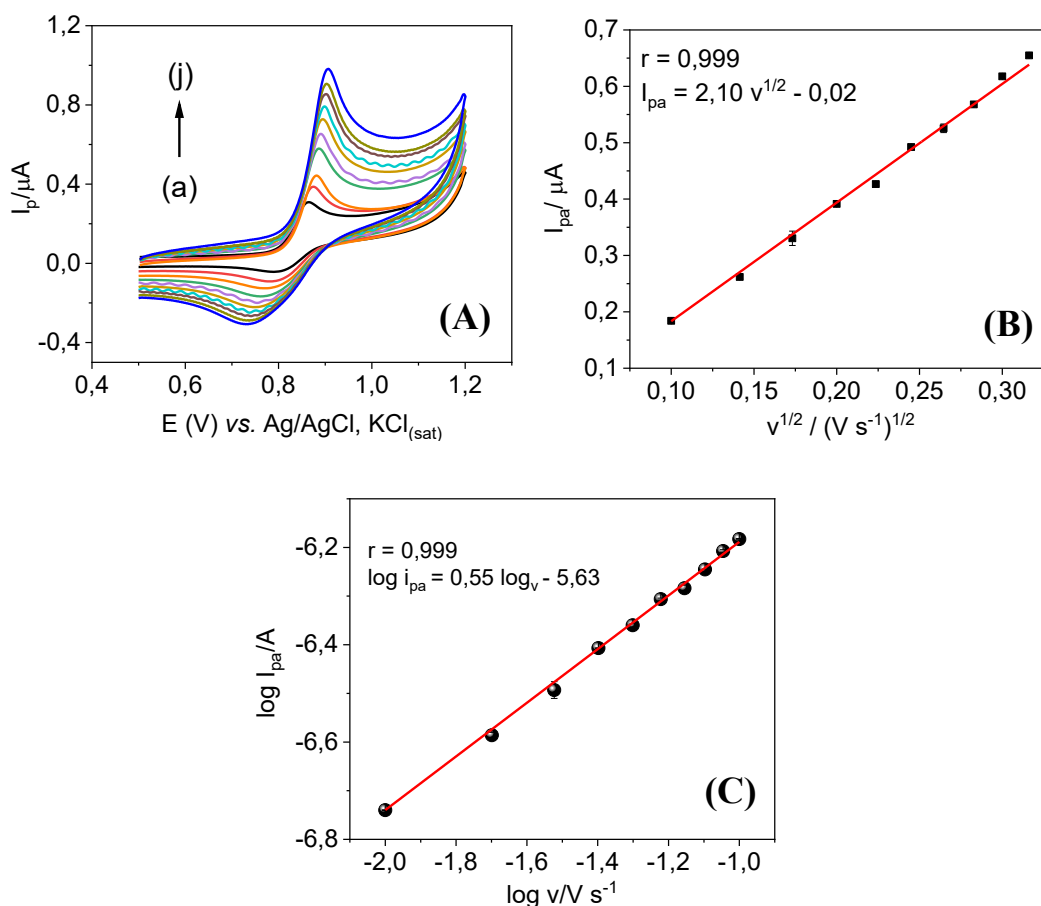
3.3.7 Estudo da velocidade de varredura

O estudo da velocidade de varredura de um sistema eletroquímico fornece informações fundamentais acerca do mecanismo de reação do analito como, por exemplo, o transporte de massa da etapa determinante da reação de oxirredução. É desejável que a corrente mensurada seja proveniente majoritariamente do processo de difusão do analito em solução, sem a influência de outros transportes de massa ou de correntes oriundas de processos redox de compostos interferentes. A avaliação do efeito da velocidade de varredura foi feita através da técnica de voltametria cíclica, utilizando uma cela com 15 mL de solução tampão acetato (0,1 mol L⁻¹, pH 5,0) contendo solução padrão CBZ 5 mmol L⁻¹, variando-se a velocidade aplicada

na faixa de 10 a 100 mV s^{-1} . Os voltamogramas resultantes do estudo são mostrados na Figura 23A.

O comportamento da corrente de pico obtida em função da raiz quadrada da velocidade está relacionado com o transporte de massa no sistema. A relação de linearidade entre estes parâmetros indica que a etapa determinante da reação é a difusão, e qualquer desvio dessa linearidade pode indicar alguma contribuição de adsorção ou que a reação ocorre em mais de uma etapa (BARD, 1980). Através do gráfico de I_{pa} vs. $v^{1/2}$ (Figura 23B) é possível observar que a equação de reta obtida foi linear, sendo assim podemos considerar que o transporte de massa predominante na reação de oxirredução do CBZ é a difusão. A Figura 23C mostra o gráfico da equação de reta entre o logaritmo da corrente de pico anódica ($\log I_{pa}$) e o logaritmo dos valores de velocidade de varredura ($\log v$). Segundo Gosser, valores de coeficiente angular próximos de 0,5 indicam que o mecanismo de reação redox é regido pelo transporte de massa de difusão, enquanto que valores próximos de 1,0 indicam que o sistema é regido pelo processo de adsorção (GOSSER, 1994). O valor experimental obtido foi de 0,55 e indica que a etapa determinante da reação redox do analito é regida pela difusão, estando em acordo com o dado obtido na Figura 23B.

Figura 23. (A) Voltamogramas cíclicos em solução tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0) em diferentes velocidades de varredura de potencial: (a) 10, (b) 20, (c) 30, (d) 40, (e) 50, (f) 60, (g) 70, (h) 80 (i) 90 e (j) 100 mV s^{-1} para CBZ $25,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$. (B) Relação entre I_{pa} vs. $v^{1/2}$ ($n = 3$). (C) Relação entre $\log I_{pa}$ vs. $\log v$ ($n = 3$).



3.3.8 Escolha e otimização da técnica voltamétrica

Seguindo com a otimização da metodologia proposta, foi avaliada qual técnica voltamétrica resulta em um melhor sinal analítico para o analito CBZ, em termos de corrente de pico e sensibilidade. Foram testadas três técnicas: LSV, DPV (do inglês, *differential pulse voltammetry*) e SWV. A corrente de pico foi avaliada através de medidas do sinal analítico obtido com cada técnica, individualmente, utilizando a mesma velocidade de varredura ($50,0 \text{ mV s}^{-1}$) e a sensibilidade foi avaliada através da construção de curvas de calibração para cada técnica. Ambos os testes foram realizados em triplicata utilizando o eletrodo $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$ em uma cela contendo 15 mL de solução tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0) e uma alíquota de CBZ $25 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$.

A Figura 24A mostra as correntes de pico obtidas na qual a técnica de LSV apresentou um valor de corrente de $I_{pa} = 0,20 \text{ }\mu\text{A}$, bem abaixo do valor obtido pelas técnicas de pulso. Isto se deve ao fato da técnica de LSV, assim como a CV, ser mais utilizada para análises qualitativas e não quantitativas de analitos, devido as suas limitações como, por exemplo, a baixa velocidade de varredura que podem gerar ruídos de fundo e apresentar interferência da corrente capacitiva, resultando em uma menor sensibilidade. As técnicas pulsadas obtiveram um melhor desempenho, a técnica de DPV apresentou valor de corrente de $I_{pa} = 3,59 \text{ }\mu\text{A}$ e a SWV um valor igual a $I_{pa} = 26,07 \text{ }\mu\text{A}$, que corresponde a uma corrente aproximadamente 7 e 129 vezes maior do que o valor obtido com as técnicas de LSV e DPV, respectivamente. Embora ambas as técnicas (DPV e SVW) possuam uma aplicação de potencial pulsada, este ganho expressivo em sinal pela SWV pode ser atribuído ao fato da medida do sinal eletroquímico nesta técnica ser uma função do tempo entre a aplicação do pulso e a medição da corrente, no qual a relação sinal-ruído aumenta com a raiz quadrada da velocidade de varredura. Mais especificamente, o tempo da medição da SWV é dependente da frequência, de modo que à medida que a frequência aumenta, a constante de tempo diminui e a corrente faradaica medida é maior, resultando em picos mais nítidos e claros no voltamograma. Além disso, a corrente é amostrada tanto no lado positivo quanto no negativo, obtendo picos correspondentes à oxidação ou redução das espécies eletroativas na superfície do eletrodo no mesmo experimento (BRETT; BRETT, 1993). Desta forma, o sinal de corrente é o resultado da diferença entre as correntes medidas experimentalmente, sendo que a primeira corrente é medida no final do pulso direto e a segunda corrente é medida no final do pulso inverso. A diferença resulta em um pico maior porque as duas correntes têm sinais opostos, favorecendo a medida de sistemas cujas reações são reversíveis ou quase-reversíveis (presença de dois picos de corrente), como é o caso da oxidação do CBZ.

Figura 24. (A) Voltamogramas de CBZ ($25 \mu\text{mol L}^{-1}$) em solução tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0) em $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$ aplicando as seguintes técnicas voltamétricas: (a) LSV; (b) DPV e (c) SWV. Inserido: Respostas relativas (%). (B) Curvas de calibração para a CBZ ($25 \mu\text{mol L}^{-1}$) empregando SWV, DPV e LSV com velocidades de varredura de 50 mV s^{-1} .

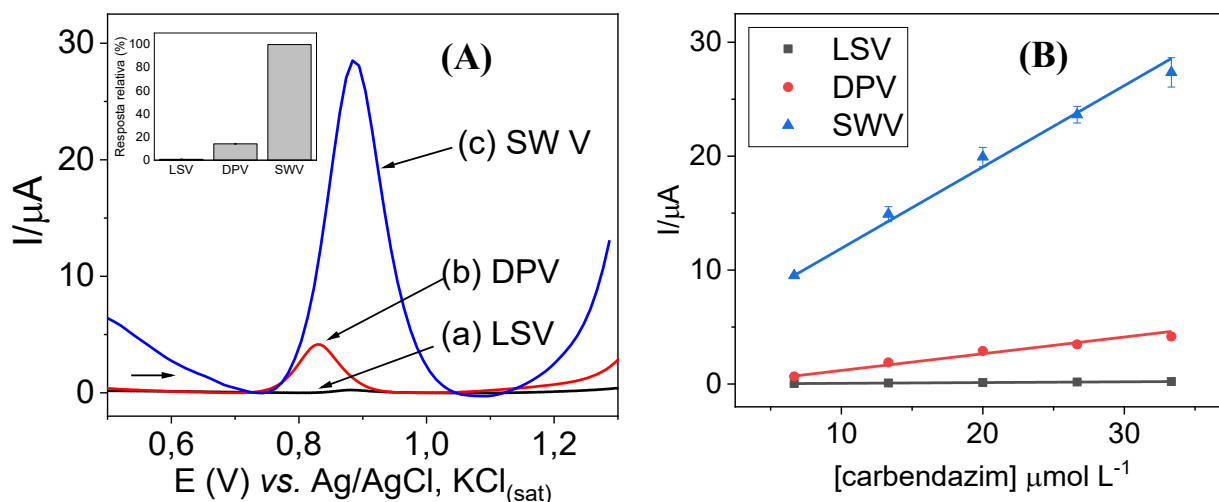


Tabela 1. Resumo dos parâmetros das curvas de calibração externa para cada técnica voltamétrica.

Técnica voltamétrica	Equação de reta	r^2	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
SWV	$I_p = 4,762 \times 10^{-6} \pm 1,839 \times 10^{-7} + 0,714 [\text{CBZ}]$	0,996	0,85
DPV	$I_p = -2,744 \times 10^{-7} \pm 1,371 \times 10^{-7} + 0,146 [\text{CBZ}]$	0,998	3,11
LSV	$I_p = -3,148 \times 10^{-9} \pm 1,094 \times 10^{-8} + 0,006 [\text{CBZ}]$	0,999	5,54

[CBZ] = concentração de carbendazim

Para avaliar as técnicas voltamétricas, em termos de sensibilidade, foram analisadas curvas de calibração externa para cada técnica separadamente, utilizando o CME proposto em solução tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0) adicionando à cela alíquotas de CBZ na faixa de concentração de $6,65$ a $33,11 \text{ mol L}^{-1}$. Como é possível observar na Figura 24B, a técnica de SWV obteve um resultado superior apresentando uma curva com valor de sensibilidade ($a =$ coeficiente angular da reta) igual a $0,714$, sendo este valor cerca de $119,0$ e $4,9$ vezes maior que as técnicas de LSV ($a = 0,006$) e DPV ($a = 0,146$), respectivamente. A SWV também apresentou valor de limite de detecção ($\text{LOD} = 0,85 \mu\text{mol L}^{-1}$) aproximadamente $6,5$ e $3,6$ vezes menor que as técnicas de LSV ($\text{LOD} = 5,54 \mu\text{mol L}^{-1}$) e DPV ($\text{LOD} = 3,11 \mu\text{mol L}^{-1}$), conforme mostra a Tabela 1. Desta forma, considerando a sensibilidade, perfil voltamétrico e sinal de corrente de pico obtido para o CBZ, a técnica de voltametria de onda quadrada demonstrou ter um melhor desempenho na determinação do analito sendo então foi escolhida para ser empregada na metodologia proposta. Após a escolha da técnica, os parâmetros da SWV foram otimizados com o intuito e obter as melhores condições de operação que favoreçam a determinação analítica do CBZ.

A técnica de onda quadrada apresenta três parâmetros principais: a altura de pulso (amplitude de pulso = ΔE_p) medida em relação ao degrau correspondente da escada de potencial, a largura de pulso τ_p que pode ser expressa em termos de frequência da onda quadrada ($f = 1/2\tau_p$) e o incremento de potencial (ΔE_s) que é acrescentado no início de cada ciclo (BARD, 1980). A otimização foi realizada fixando dois parâmetros em valores intermediários e variando um terceiro. Os estudos foram realizados em solução tampão acetato (0,1 mol L⁻¹, pH 5,0) contendo CBZ 25,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O valor de ΔE_s foi variado na faixa de 1 a 10 mV e o resultado é mostrado na Figura 25A. Para escolha do valor mais adequado, levou-se em consideração os seguintes critérios: apresentar o maior valor de sinal de corrente que mantivesse uma relação de linearidade com o parâmetro estudado de modo a garantir o transporte de massa por difusão, além de optar por valores que mantivessem um bom perfil voltamétrico. O valor de incremento de 6 mV atendeu aos critérios mencionados acima e então foi fixado para os demais testes. Geralmente valores baixos de incremento favorecem um melhor sinal analítico, pois valores altos podem gerar perda de resolução do pico. O valor de ΔE_p foi variado na faixa de 10 a 100 mV e o gráfico resultante (Figura 25B) mostra que o valor de 100 mV apresentou o maior sinal, mantendo a linearidade da resposta, sendo então fixado para os demais testes. Valores mais altos de amplitude não foram considerados devido ao alargamento do perfil do pico que influencia negativamente na determinação do analito. Por último, otimizou-se o parâmetro da f , variando os valores na faixa de 10 a 100 Hz. O valor de 100 Hz apresentou o melhor sinal de corrente (Figura 25C) indicando que nesta frequência a técnica consegue acompanhar a cinética de oxirredução do analito de forma eficiente, sendo este valor então fixado para realização dos testes posteriores. A técnica de SWV possui a vantagem de trabalhar em altas velocidades de varredura, diferentemente de outras técnicas pulsadas como a DPV. Sendo assim, considerando que a frequência é diretamente proporcional a velocidade de varredura o valor obtido está condizente com o fato desta técnica ter demonstrado um desempenho superior comparativamente a DPV, como mostrado no início desta seção (Figura 24A e 24B). Os parâmetros avaliados, a faixa estudada e os valores otimizados encontram-se resumidos na Tabela 2.

Figura 25. Gráficos referentes a otimização dos parâmetros da SWV: (A) incremento de potencial (mV), (B) amplitude de pulso (mV), e (C) frequência (Hz), empregando o CME proposto em solução tampão acetato (0,1 mol L⁻¹, pH 5,0) contendo CBZ 25,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (n = 3).

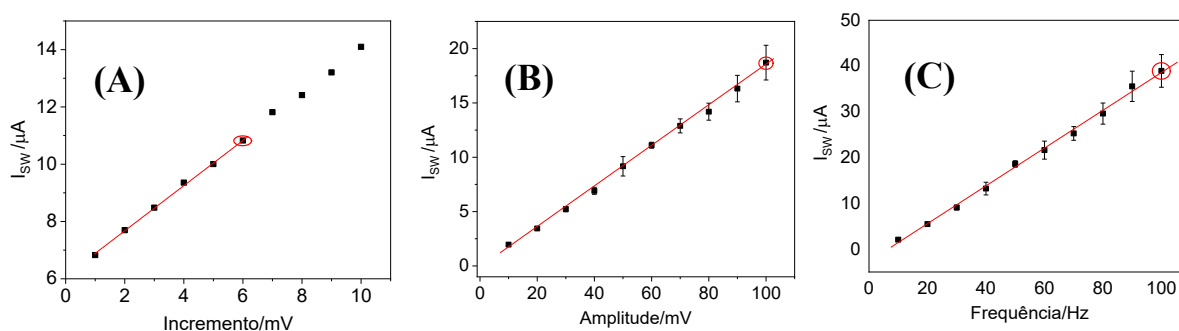


Tabela 2. Resumo dos parâmetros experimentais da técnica de SWV, faixa de estudo e valores otimizados para CBZ.

Parâmetro	Faixa estudada	Valor selecionado
Incremento (mV)	1 - 10	6
Amplitude (mV)	10 - 100	100
Frequência (Hz)	10 - 100	100

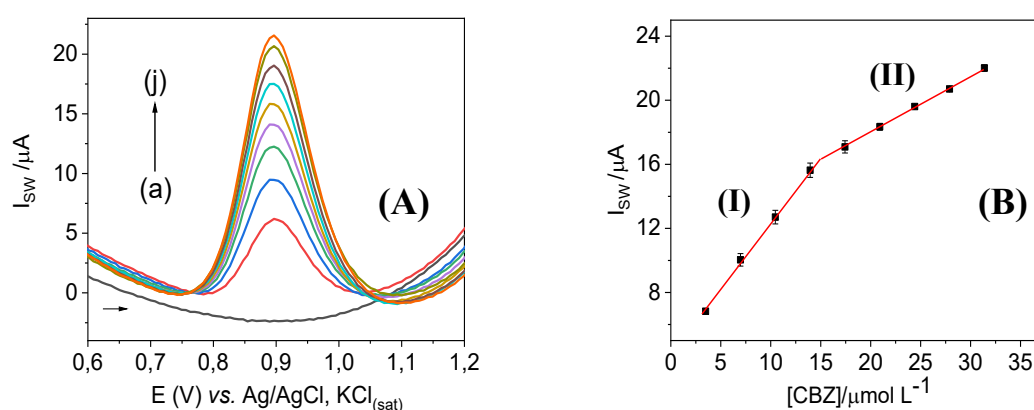
3.3.9 Curva de calibração para o CBZ

A fim de se avaliar o desempenho da metodologia proposta na determinação do analito, construiu-se uma curva de calibração externa utilizando o CME ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$), nas condições otimizadas anteriormente, aplicando SWV em uma faixa de potencial de +0,6 - 1,2 V vs. Ag/AgCl. As Figuras 26A e 26B mostram os voltamogramas de onda quadrada e a curva de calibração obtidos para CBZ em uma faixa de concentração de 3,33 a 29,82 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A curva de calibração apresentou duas faixas lineares:

(I) faixa linear de 3,33 – 13,29 $\mu\text{mol L}^{-1}$ expressa pela equação de reta igual a $I_{pa} = 0,84 \pm 0,01 [\text{CBZ}] + 3,90 \pm 0,12$ ($r = 0,999$), e valores de LOD e LOQ igual a 0,43 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 1,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 3$), respectivamente.

(II) faixa linear de 16,61 – 29,82 $\mu\text{mol L}^{-1}$, expressa pela equação de reta igual a $I_{pa} = 0,33 \pm 0,009[\text{CBZ}] + 1,12 \pm 0,26$ ($r = 0,997$).

Figura 26. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$ em solução tampão de acetato (0,1 mol L^{-1} , pH 5,0) contendo diferentes concentrações de CBZ ($\mu\text{mol L}^{-1}$): (a) branco, (b) 3,33, (c) 6,65, (d) 9,98, (e) 13,29, (f) 16,61, (g) 19,92, (h) 23,22, (i) 26,52 e (j) 29,82. (B) Curva de calibração externa para CBZ (média \pm desvio padrão; $n=3$).

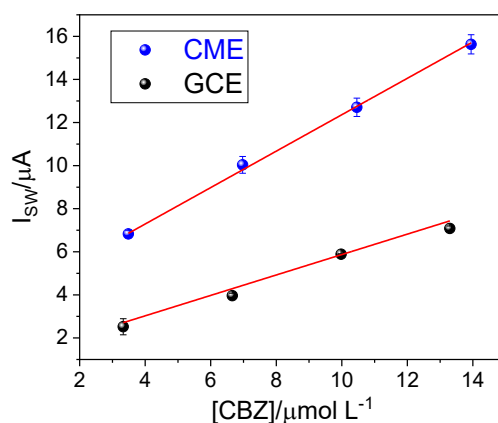


Os parâmetros analíticos da curva de calibração externa para CBZ estão resumidos na Tabela 3:

Tabela 3. Dados obtidos a partir da curva de calibração externa para CBZ utilizando Fe₃O₄NPs-AA-βCD/GCE.

Parâmetros Analíticos	1ª faixa linear	2ª faixa linear
Potencial de pico (V)		+ 0,88
Faixa linear (μmol L ⁻¹)	3,33 – 13,29	16,61 – 29,82
Coefficiente de correlação - r	0,999	0,997
Coefficiente angular (μA L μmol ⁻¹)	0,84	0,33
Desvio padrão do coeficiente angular (μA L μmol ⁻¹)	0,01	0,009
Coefficiente linear (μA)	3,90	11,2
Desvio padrão do coeficiente linear (μA)	0,12	0,26
LOD (μmol L ⁻¹)		0,43
LOQ (μmol L ⁻¹)		1,44

Para avaliar o desempenho da modificação do CME proposto, construiu-se uma curva de calibração externa (Figura 27) utilizando um eletrodo sem modificação (GCE) na faixa de menor concentração (3,33 – 13,29 μmol L⁻¹) obtida para o CBZ. A curva obteve a seguinte equação de reta: $I_{pa} = 0,44 \pm 0,13 [CBZ] + 0,94 \pm 0,9$ ($r = 0,998$), com valores de LOD e LOQ de 2,93 e 9,77 μmol L⁻¹, respectivamente ($n = 3$). Comparando com os valores expressos na Tabela 3 é possível observar que o Fe₃O₄NPs-AA-βCD/GCE obteve valores de LOD e LOQ 6,8 e 6,7 vezes menor, respectivamente, demonstrando que a modificação proposta melhora significativamente a resposta analítica do eletrodo na determinação de CBZ.

Figura 27. Curvas de calibração externa para CBZ (média ± desvio padrão; n=3) usando CME e GCE em solução tampão acetato (0,1 mol L⁻¹, pH 5,0).

Os resultados obtidos com o Fe₃O₄NPs-AA-βCD/GCE também foram comparados com dados reportados na literatura utilizando eletrodos na determinação eletroquímica de CBZ (Tabela 4). O CME proposto apresentou uma faixa linear similar a outros eletrodos modificados (GME e MBC@CTS/GCE) e um valor de limite de detecção menor do que eletrodos sem modificação, como no caso do BDDE. De modo geral, o Fe₃O₄NPs-AA-βCD/GCE apresentou

um bom desempenho devido a diversas vantagens como possuir um processo de modificação simples e em uma única etapa, utilização de materiais de baixo custo, baixa toxicidade e fácil aquisição como a magnetita e β -ciclodextrina, além de apresentar boa sensibilidade e rápida resposta de reconhecimento para o CBZ.

Tabela 4. Comparação entre o CME proposto e eletrodos reportados na literatura, utilizados na determinação eletroquímica de CBZ.

Eletrodo	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
BDDE ^a	4,9 – 69,0	1,60	(LIMA et al., 2016)
GME ^b	0,0026 – 52,3	0,57	(NOYROD et al., 2014)
MBC@CTS/GCE ^c	0,1 – 20,0	0,02	(LIU, R.; CHANG, Y.; et al., 2022)
NPG/GCE ^d	3,0 – 120,0	0,24	(GAO et al., 2019)
Fe ₃ O ₄ NPs-AA- β CD/GCE	3,3 – 13,3 16,6 – 29,8	0,43	Este trabalho

BDDE^a: eletrodo de diamante dopado com boro; GME^b: eletrodo modificado com grafeno; MBC@CTS/GCE^c: eletrodo de carbono vítreo modificado com compósito de carbono poroso e quitosana; NPG/GCE^d: eletrodo de carbono vítreo modificado com ouro nanoporoso.

3.3.10 Parâmetros de avaliação do método: repetibilidade (intra e inter-dia), estabilidade e teste de interferentes

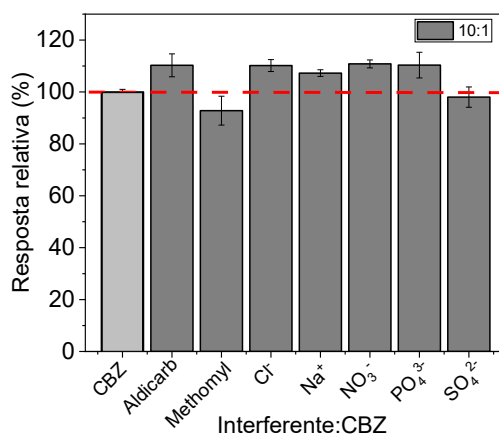
Foi realizado o estudo de repetibilidade do CME com o intuito de avaliar a precisão das medidas obtidas. O estudo foi realizado através da técnica de SWV, utilizando o eletrodo proposto em tampão acetato (0,1 mol L⁻¹; pH 5,0) contendo CBZ 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A repetibilidade intra-dia foi investigada realizando-se no mesmo dia 6 medidas, sendo a superfície do eletrodo renovada a cada nova medida. O desvio padrão relativo (RSD, do inglês, *relative standard deviation*) obtido para as correntes de pico foi de 5,37% e indica uma boa precisão do eletrodo proposto. A repetibilidade inter-dia foi testada a partir de medidas em triplicata feitas em 6 dias diferentes utilizando o Fe₃O₄NPs-AA- β CD/GC, sendo a superfície do eletrodo renovada a cada nova medida. O RSD obtido para as correntes de pico foi de 5,58% e indica uma boa reprodutibilidade do sensor.

Para avaliar a estabilidade do nanomaterial, a suspensão Fe₃O₄NPs-AA foi armazenada em um tubo falcon sob refrigeração (4°C) e utilizada no preparo de CMEs, avaliando os sinais de corrente obtidos para o CBZ durante aproximadamente 4 semanas. Os valores de corrente

do CBZ para 4 medidas (1 medida/semana, em triplicata) obtiveram um valor de RSD de 5,32%, o que indica uma boa repetibilidade do material e, conseqüentemente, um bom desempenho na determinação do analito de interesse. Após este período, o sinal de corrente apresentou uma queda o sinal obtido e a suspensão começou a adquirir uma coloração marrom, provavelmente associada a oxidação do material. Sendo assim, para garantir o bom funcionamento do CME foram realizadas novas sínteses após este tempo limite de utilização do nanomaterial.

Também foram avaliadas possíveis interferências a partir da medida de corrente do analito obtida com o CME devido a presença de alguns íons comuns encontrados em altas concentrações em águas naturais (Cl^- , Na^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-}), além de outros pesticidas da classe carbamato (aldicarbe e metomil) aplicados aos mesmos tipos de culturas que o CBZ. As medidas foram feitas em SWV, utilizando o $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$ em solução tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0) contendo CBZ ($6,65 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$) no qual foram adicionadas alíquotas das soluções dos íons e pesticidas estudados em concentração 10 vezes maior ($66,5 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$) que o analito. A Figura 28 indica que, na presença destes compostos o valor de corrente de pico para CBZ apresentou pouca alteração ($\leq 10\%$), comprovando que o CME possui boa seletividade para a detecção eletroquímica de CBZ em amostras de águas naturais.

Figura 28. Estudo de interferentes utilizando o $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$ em solução tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5,0). Medidas de SWV expressas em resposta relativa (%), avaliando a corrente de pico de CBZ registrada na ausência (100 %) e na presença de outras espécies iônicas e pesticidas em concentração 10 vezes maior que o analito de interesse.

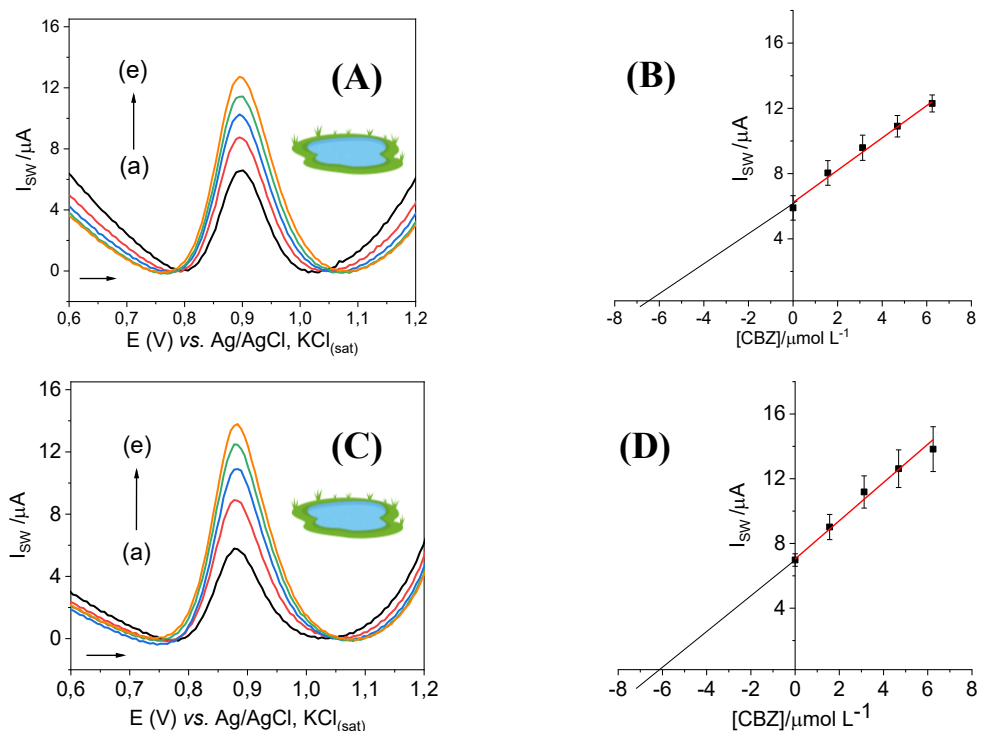


3.3.11 Determinação de CBZ em águas naturais

Sob as condições experimentais previamente otimizadas, foram analisadas amostras de águas de lagoas fortificadas com o intuito de avaliar o desempenho do $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$ na determinação de CBZ presente em matrizes naturais complexas. As amostras foram coletadas em duas lagoas localizadas da cidade de Florianópolis/SC: Lagoa do Peri (LP) e Lagoa da Conceição (LC). Para análise do pesticida, as amostras previamente sem

contaminantes foram fortificadas adicionando-se uma alíquota de solução padrão de CBZ 1,0 mmol L⁻¹ e 1 mL de cada amostra foi adicionado na celinha (obtendo uma concentração final na cela eletroquímica de 6,24 μmol L⁻¹), e quantificado através de curvas de calibração por adição padrão por SWV utilizando o CME em solução tampão de acetato (0,1 mol L⁻¹, pH 5,0). A Figura 29A mostra os voltamogramas de onda quadrada obtidos em triplicata a partir da análise da amostra de água fortificada coletada da Lagoa do Peri (a), e das adições sucessivas de alíquotas de solução padrão de CBZ nas concentrações: (b) 1,56, (c) 3,12, (d) 4,68, e (e) 6,24 μmol L⁻¹. A curva de calibração por adição padrão (Figura 29B) apresentou a seguinte equação linear: $I_{pa} = 0,99 \pm 0,05[CBZ] + 6,22 \pm 2,28 \times 10^{-7}$ ($r = 0,995$). A Figura 29C mostra os voltamogramas de onda quadrada obtidos em triplicata a partir da análise da amostra de água fortificada coletada da Lagoa da Conceição (a), e das adições sucessivas de alíquotas de solução padrão de CBZ nas concentrações: (b) 1,56, (c) 3,12, (d) 4,68, e (e) 6,24 μmol L⁻¹. A curva de calibração por adição padrão (Figura 29D) apresentou a seguinte equação linear: $I_{pa} = 1,17 \pm 0,06[CBZ] + 7,04 \pm 1,47 \times 10^{-7}$ ($r = 0,995$). A partir das equações de reta das curvas de calibração de ambas as amostras é possível observar que os coeficientes angulares (0,99 e 1,17) são diferentes daquele obtido com a curva de calibração externa (0,84) na mesma faixa de concentração, o que indica que a matriz da amostra gera uma pequena interferência, fazendo com que o método de adição de padrão seja o mais indicado para a análise de CBZ em matrizes aquosas reais.

Figura 29. (A) Voltamogramas de SWV obtidos usando o sensor Fe₃O₄NPs-AA-βCD/GCE, em solução tampão de acetato (0,1 mol L⁻¹, pH 5,0), para (a) amostra LP fortificada e adições sucessivas de alíquotas de solução padrão CBZ nas seguintes concentrações de (b) 1,56, (c) 3,12, (d) 4,68 e (e) 6,24 μmol L⁻¹. (B) Curva de calibração por adição de padrão para LP. (C) Voltamogramas SWV obtidos para (a) amostra de LC fortificada e adições sucessivas de alíquotas de solução padrão CBZ nas seguintes concentrações: (b) 1,56, (c) 3,12, (d) 4,68 e (e) 6,24 μmol L⁻¹. (D) Curva de calibração por adição de padrão para LC.



A Tabela 5 mostra as concentrações de CBZ medidas com o $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$ nas amostras fortificadas (LP e LC) de águas de lagoas. O parâmetro de recuperação foi avaliado para ambas as amostras, comparando a concentração adicionada ($6,24 \mu\text{mol L}^{-1}$) e recuperada da solução padrão de CBZ, calculada a partir da equação de reta. A concentração quantificada com o CME foi semelhante a concentração inicialmente adicionada à amostra, resultando em excelentes taxas de recuperação que variaram de 96,30 a 100,70% e baixos valores de RSD (0,35 e 1,88%) para as amostras LP e LC, respectivamente. Isso indica que a metodologia proposta fornece boa precisão, exatidão e eficácia na determinação de CBZ em amostras reais.

Tabela 5. Estudo de recuperação para o CBZ em amostras de águas de lagoas usando $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-}\beta\text{CD/GCE}$.

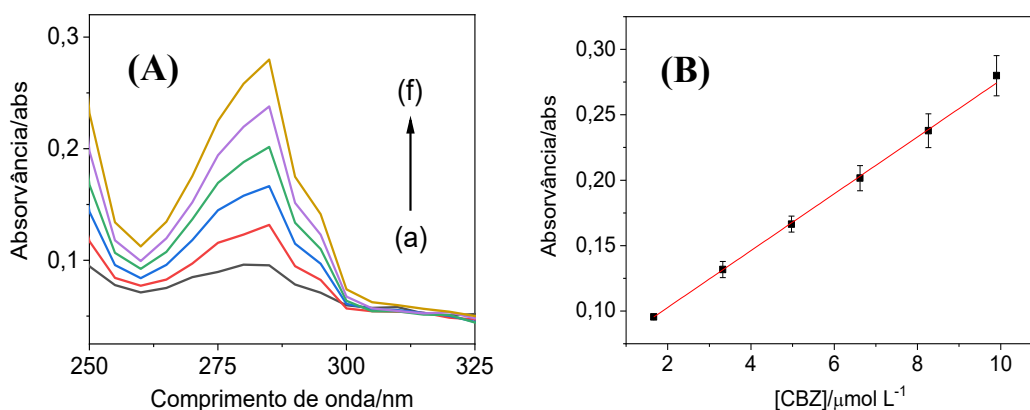
CBZ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)				
Amostra	Adicionado	Medido	Recuperação (%)	RSD (%)
LP	6,24	$6,28 \pm 0,02^a$	100,70	0,35
LC	6,24	$6,01 \pm 0,15^a$	96,30	1,88

^amédia \pm desvio padrão; n=3

3.3.12 Método comparativo

De modo a avaliar a exatidão do método eletroanalítico proposto, realizou-se a quantificação das amostras de águas de lagoas fortificadas também pelo método espectrofotométrico. Construiu-se uma curva de calibração externa a partir da medida de seis alíquotas de solução padrão CBZ em diferentes concentrações (1,66; 3,32; 4,97; 6,62; 8,26 e $9,90 \mu\text{mol L}^{-1}$) em espectrofotômetro na região UV-Vis, utilizando uma cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico. As bandas de absorção foram registradas no comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{máx}}$) 284 nm, como mostra a Figura 30A. O cálculo da concentração de CBZ foi feito substituindo-se na equação de reta da curva de calibração os valores de absorvância obtidos para as amostras fortificadas LP e LC (Figura 30B).

Figura 30. (A) Espectros de absorvância obtidos para CBZ, nas seguintes concentrações: (a) 1,66; (b) 3,32; (c) 4,97; (d) 6,62; (e) 8,26; e 9,90 $\mu\text{mol L}^{-1}$ por espectrofotometria UV-Vis, em comprimento de onda 284 nm. (B) Curva de calibração externa para CBZ.



A Tabela 6 apresenta a comparação dos resultados obtidos para o teor de CBZ (expresso em $\mu\text{mol L}^{-1}$) nas amostras de águas de lagoas fortificadas, usando o método espectrofotométrico e o método eletroanalítico proposto.

Tabela 6. Determinação de CBZ em amostras de águas naturais usando o CME proposto e o método comparativo UV-Vis.

Amostra ^a	Adição	Método UV-Vis ^b	CBZ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)				t_c	F_c
			Fe ₃ O ₄ NPs-AA- β CD/GCE	ER ₁ ^c (%)	ER ₂ ^c (%)			
LP	6,24	6,40 \pm 0,05	6,28 \pm 0.02	3,38	0,64	2,03	6,25	
LC	6,24	6,38 \pm 0,21	6,01 \pm 0.15	5,79	3,68	1,43	1,96	

^aAmostras de águas de lagoas coletadas em Florianópolis-SC e fortificadas com CBZ.

^bMédia \pm desvio padrão, n=3

t_c = valor de t calculado e t_T valor teórico (2,77), nível de confiança de 95%

F_c = valor de F calculado e F_T = valor teórico (19,00), nível de confiança de 95%.

^cErro Relativo (ER): ER₁ = CME vs. Método UV-Vis; ER₂ = CME vs. Adicionado.

Os resultados obtidos com o Fe₃O₄NPs-AA- β CD/GCE foram comparados aos valores medidos com o método comparativo aplicando-se os testes t e F (SKOOG et al., 2013), através dos cálculos descritos na seção 3.2.8. Os valores calculados para o parâmetro F (F_c) foram menores que o F teórico (F_T - 19,00) (Tabela 6) para a população amostrada, indicando que não há diferença significativa entre as variâncias de ambos os métodos. Deste modo, o CME proposto possui uma precisão similar ao método espectrofotométrico comparativo, com um nível de confiança de 95%. Os valores de t calculado (t_c) também foram inferiores ao valor teórico (t_T - 2,92), o que indica que as concentrações de CBZ, na mesma amostra de água fortificada, quantificada por ambos os métodos (Fe₃O₄NPs-AA- β CD/GCE e método espectrofotométrico) não possuem diferença significativa em um nível de confiança de 95%, comprovando também que não houve incidência de erros sistemáticos. O CME proposto também apresentou baixos erros relativos, quanto ao valor quantificado, comparado ao valor de concentração adicionado (<10%). Desta forma, pode-se concluir que o Fe₃O₄NPs-AA- β CD/GCE bem como o método eletroanalítico desenvolvido apresentam adequada precisão e exatidão na determinação de CBZ em amostras de águas naturais.

CAPÍTULO 4: DESENVOLVIMENTO DE UM ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO COM GRAFENO E NANOPARTÍCULAS DE OURO SINTETIZADAS EM EXTRATO DE ARAÇÁ, APLICADO NA DETERMINAÇÃO DE 2,4,6-TRICLOROFENOL EM ÁGUAS DE USO DOMÉSTICO.

4.1 INTRODUÇÃO

Esta seção relata o desenvolvimento de um eletrodo quimicamente modificado com material nanoestruturado a base de grafeno e AuNPs sintetizadas em extrato de araçá - *Psidium cattleianum* (utilizado como agente redutor e estabilizante). O CME proposto foi aplicado na quantificação do pesticida 2,4,6-triclorofenol em águas de uso doméstico. Este capítulo está dividido em duas partes: **parte experimental** referente aos reagentes, instrumentação, técnicas analíticas e demais condições de otimização e caracterização da metodologia proposta; e **resultados e discussão** dos dados experimentais obtidos neste trabalho.

4.2 PARTE EXPERIMENTAL

4.2.1 Regentes e soluções

Todos os reagentes de grau analítico foram utilizados sem purificação adicional e todas as soluções aquosas foram preparadas em água ultrapura obtida em sistema Milli - Q (Millipore, EUA), com resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$. As soluções padrão de 2,4,6-triclorofenol ($\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_3\text{OH}$) foram preparadas em água/etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) 1:1. Para os estudos da escolha do eletrólito suporte foram utilizadas as seguintes soluções tampão: fosfato, Britton-Robinson (B-R) e McIlvaine. Para a obtenção destas soluções foram usados os seguintes reagentes: ácido acético (CH_3COOH), ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), ácido bórico (H_3BO_3), ácido fosfórico (H_3PO_4), hidrogenofosfato de sódio (Na_2HPO_4), dihidrogenofosfato de sódio (NaH_2PO_4) e hidróxido de sódio (NaOH) obtidos da Sigma-Aldrich, VETEC e LAFAN. Todas as soluções tampão utilizadas foram preparadas na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sendo a solução tampão fosfato (pH 6,0) utilizada como eletrólito de suporte na otimização do método. Soluções de ferricianeto de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) e ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foram feitas com o propósito de caracterizar o eletrodo eletroquimicamente.

Para a síntese das nanopartículas de ouro foi utilizado como precursor metálico o ácido cloroáurico (HAuCl_4) da marca Sigma-Aldrich, e para o preparo da dispersão foi utilizado pó

de grafeno XP da marca 2DM. Soluções de cloreto de potássio (KCl), cloreto de cálcio (CaCl₂), nitrato de sódio (NaNO₃), sulfato de sódio (Na₂SO₄), 2-clorofenol (C₆H₅ClO), e 2,4-diclorofenol (C₆H₄Cl₂O) 66,5 μmol L⁻¹ foram utilizadas no estudo de interferentes.

4.2.2 Instrumentação

A morfologia das nanopartículas de ouro foi caracterizada usando microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e a análise foi realizada com um microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM - 1011 operando a 100 keV. As micrografias foram obtidas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis, Brasil). As medições de pH foram realizadas usando um pHmetro Micronal (modelo B - 475) contendo um eletrodo de vidro combinado. Um banho ultrassônico (Unique 1400A) e um agitador magnético HI 190M (instrumentos HANNA) foram utilizados para auxiliar no preparo e homogeneização das soluções e amostras e na realização das análises.

Estudos eletroquímicos, empregando voltametria cíclica, linear, pulso diferencial e de onda quadrada foram realizados em um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT101 (Eco Chemie, Holanda), e a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) foi realizada em um potenciostato/galvanostato AUTOLAB128N (Eco Chemie, Holanda) ambos operando com um *software* de aquisição e processamento de dados (NOVA, versão 1.8). Os experimentos foram realizados usando um sistema convencional de três eletrodos: o sensor proposto AuNPs-Ext-GR/GCE como eletrodo de trabalho, uma placa de platina como eletrodo auxiliar e o eletrodo Ag/AgCl (KCl, 3,0 mol L⁻¹) como eletrodo de referência.

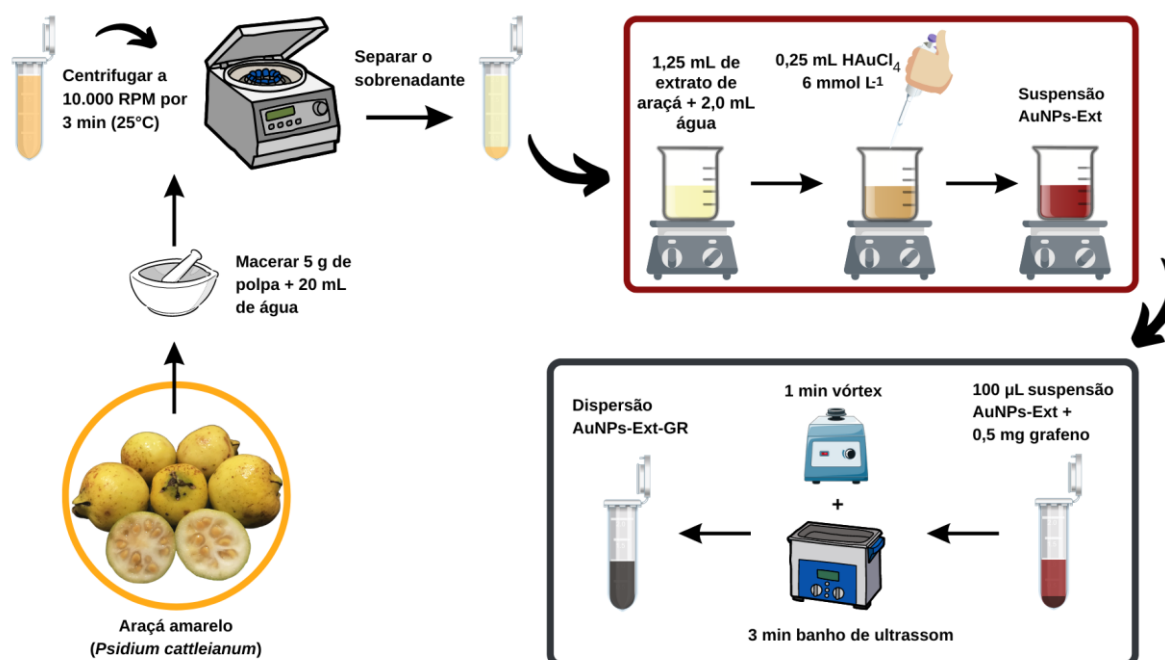
4.2.3 Síntese e caracterização das nanopartículas de ouro

Foram testados diferentes extratos vegetais para aplicação como agente redutor e estabilizante na síntese de NPs. Os extratos foram preparados a partir de soluções aquosas da polpa de frutas (acerola, ameixa, araçá e maçã), de acordo com o seguinte protocolo: inicialmente, a fruta foi lavada e descascada e sua polpa sem sementes foi então cortada e pesada (em balança de precisão) uma massa de 5,0 g. Essa massa foi então transferida para um almofariz e macerada com auxílio de um pistilo, após a formação de uma pasta adicionou-se 20,0 mL de água ultrapura sendo a mistura homogeneizada e transferida para tubos Eppendorf. Os tubos foram centrifugados em centrífuga a temperatura ambiente (25°C) com rotação de 10.000 RPM por 3 min, sendo o sobrenadante dos tubos separado e transferido para um tubo

falcon armazenado em refrigerador (4°C) ao abrigo da luz. Os extratos mencionados foram testados obtendo-se um melhor resultado com a polpa de araçá, sendo esta utilizada na síntese de nanopartículas de ouro (AuNPs) como descrito abaixo:

Para a síntese das AuNPs transferiu-se 1,25 mL do extrato de araçá e 2,0 mL de água ultrapura para um béquer de 15 mL deixando sob agitação magnética por cerca de 2 min. Após este tempo, foi adicionado 0,25 mL de uma solução de HAuCl_4 6 mmol L^{-1} deixando sob agitação magnética por cerca de 5 min. A síntese das nanopartículas de ouro em extrato de araçá (AuNPs-Ext) foi considerada completa após a coloração da suspensão passar de amarelo escuro para vermelho (Figura 31). Neste procedimento, o extrato vegetal atuou como agente redutor e estabilizante das partículas e a reação foi conduzida em condições brandas, sem a necessidade de aquecimento. A dispersão modificadora do eletrodo foi preparada misturando-se 100 μL da suspensão AuNPs-Ext e 0,5 mg de pó de grafeno em um tubo Eppendorf. A mistura foi homogeneizada por 1 min em vórtex e sonicada continuamente por 3 min em banho-maria a 25°C, resultando na dispersão modificada (AuNPs-Ext-GR).

Figura 31. Esquema ilustrativo do preparo do extrato de araçá, síntese das AuNPs-Ext e do preparo da dispersão AuNPs-Ext-GR.



A formação das AuNPs-Ext foi comprovada pelo monitoramento da banda de absorção característica do ouro (≈ 530 nm), através de medidas obtidas em um espectrofotômetro UV-Vis Cary 60 (Agilent Technologies, EUA), utilizando uma cubeta de quartzo com 1,0 cm de caminho óptico. A morfologia das AuNPs-Ext foi observada por microscopia eletrônica de

transmissão (TEM, 1011-JEM, JEOL) e as amostras foram preparadas depositando a dispersão em uma grade de cobre revestida com carbono disposta sobre um papel filtro para remover o excesso de material. A distribuição do diâmetro médio das AuNPs-Ext foi avaliada através da contagem de 100 partículas (escolhidas aleatoriamente) a partir das micrografias de TEM analisadas utilizando o software ImageJ, sendo o tratamento dos dados realizado através do *software* Origin Pro 8.5 (OriginLab Corporation).

4.2.4 Preparo do eletrodo quimicamente modificado

Primeiramente, a superfície do eletrodo de carbono vítreo (diâmetro = 2 mm) foi polida com uma suspensão de alumina (0,05 μm), por meio de fricção em tecido feltro, e posteriormente lavada com água deionizada. A modificação do eletrodo foi feita pelo método “*drop coating*”, no qual uma alíquota (2 μL) da dispersão de AuNPs-Ext-GR foi gotejada na superfície de um GCE. O eletrodo foi então deixado em dessecador sob vácuo por 15 min para evaporação do solvente. Após o período de secagem, o eletrodo de trabalho proposto (AuNPs-Ext-GR/GCE) estava pronto para uso. Um GCE não modificado e GCE modificados com Ext e AuNPs-Ext foram preparados e testados de forma semelhante para avaliar a contribuição de cada modificador separadamente. As proporções dos modificadores utilizados na construção dos eletrodos foram estudadas a fim de obter a melhor resposta analítica para o analito de estudo.

4.2.5 Coleta e preparo das amostras

As amostras de águas de uso doméstico foram coletadas em residências localizadas em dois bairros (Trindade e Itacorubi) da cidade de Florianópolis-SC. A coleta foi realizada utilizando-se frascos previamente esterilizados em autoclave, sendo a água coletada diretamente de torneiras de uso residencial e posteriormente acondicionadas a 4°C em refrigerador no laboratório. Alíquotas de 0,5 mL de cada amostra, sem tratamento prévio, foram fortificadas com uma concentração conhecida de 2,4,6-TCF e adicionadas a celinha contendo 15 mL de eletrólito suporte. A concentração de 2,4,6-TCF em cada amostra foi quantificada a partir das correntes de pico obtidas com curvas de calibração por adição de padrão.

4.2.6 Medidas eletroquímicas

Os estudos voltamétricos foram realizados à temperatura ambiente ($\approx 25^\circ\text{C}$), sem a necessidade de controle de temperatura, em uma célula eletroquímica contendo 15,0 mL de

eletrólito suporte (solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 6,0) e uma alíquota da solução padrão do analito (2,4,6-TCF). Os voltamogramas foram registrados após agitação magnética da célula eletroquímica por 60 segundos para homogeneização da solução e as correntes de pico obtidas para 2,4,6-TCF na superfície do sensor proposto foram utilizadas para quantificar este analito. Todas as medidas de potencial foram obtidas *vs.* Ag/AgCl (KCl, 3,0 mol L⁻¹). Os experimentos de SWV foram realizados através de uma varredura de potencial de +0,3 a +1,1 V, na frequência de 30 Hz, amplitude de pulso de 30 mV e incremento de varredura de 3 mV. Voltamogramas cíclicos foram obtidos através de uma varredura de potencial de -0,2 a +1,2 V, com uma velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. Os dados utilizados para otimizar as condições experimentais, obter a curva de calibração e determinar as concentrações em amostras reais foram obtidos através da média de três medições, sendo o desvio padrão dessa média representado pela barra de erro expressa nos gráficos correspondentes.

As medições de EIS, usadas para caracterização do sensor, foram realizadas em um sistema de três eletrodos (como descrito na seção 4.2.2), em uma célula eletroquímica contendo 15,0 mL de solução [Fe(CN)₆]³⁻/[Fe(CN)₆]⁴⁻ (5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹). Os gráficos de Nyquist foram obtidos no modo de circuito aberto, com amplitude de 10 mV e frequência na faixa de 0,1 a 100.000 Hz.

4.2.7 Método comparativo

A técnica de espectrometria UV-Vis foi aplicada para determinar o teor de 2,4,6-TCF em amostras fortificadas de água de torneira. As análises foram feitas na faixa de comprimento de onda de 190 a 250 nm. A absorvância máxima para o 2,4,6-TCF foi encontrada em torno de 200 nm. As medidas espectrofotométricas foram obtidas com um espectrofotômetro UV-Vis Cary 60 (Agilent Technologies, EUA), utilizando uma cubeta de quartzo com 1,0 cm de caminho óptico.

4.2.8 Avaliação do método eletroanalítico

Para avaliação do desempenho da metodologia proposta foram utilizados os testes de repetibilidade (intra e inter-dia), estabilidade, ensaio de adição e recuperação, método comparativo (espectrometria UV-Vis) e testes estatísticos (*t* e *F*), descritos em detalhes no capítulo 3, seção 3.2.8

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

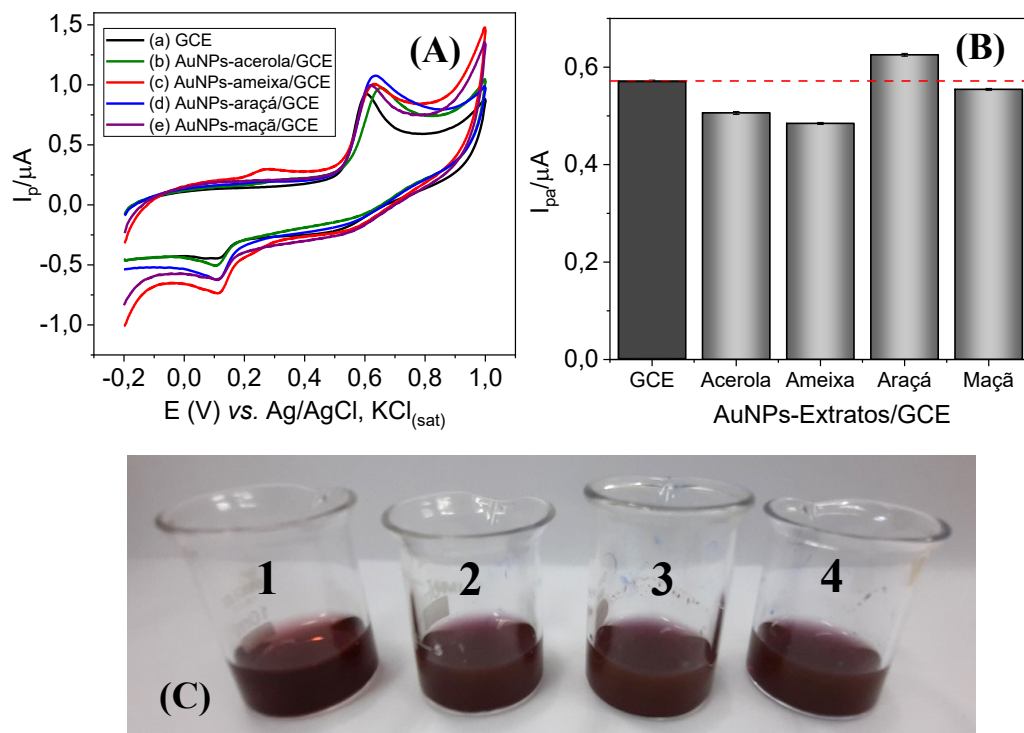
O CME proposto foi construído a partir da modificação de um GCE com uma dispersão a base de grafeno (GR) e nanopartículas de ouro sintetizadas em extrato vegetal (AuNPs-Ext). O protocolo de síntese verde foi baseado em trabalho desenvolvido no grupo (ZAMARCHI; VIEIRA, 2021), e é descrito em detalhes na seção 4.2.3. O emprego de extrato vegetal na síntese de NPs foi proposto com o intuito de estudar a aplicação de materiais menos tóxicos e mais ecologicamente sustentáveis, além de condições reacionais brandas (condições normais de temperatura e pressão – CNTP) em acordo com os princípios da química verde. Neste trabalho, avaliou-se a utilização da polpa de frutas como precursor no preparo do extrato devido a fácil aquisição destes alimentos comercialmente e sua composição química rica em açúcares e compostos fenólicos que auxiliam no processo de redução e estabilização das partículas. Os estudos dos parâmetros experimentais da síntese (escolha do extrato vegetal e proporção ouro:água:extrato) estão descritos abaixo.

4.3.1 Otimização da síntese de nanopartículas

Com o objetivo de desenvolver um método de síntese mais ecológico, de baixo custo e com baixa toxicidade, foram testados extratos de frutas aplicados a síntese de AuNPs, de modo a atuarem como agentes redutores e estabilizantes das partículas. Primeiramente, sintetizou-se as AuNPs a partir da mistura de 0,25 mL de solução de ácido cloroáurico (HAuCl_4) 6 mmol L^{-1} em 2,0 mL de água ultrapura, adicionando-se 1,25 mL de extrato vegetal preparado a partir das seguintes frutas: (a) acerola, (b) ameixa, (c) araçá e (d) maçã. Posteriormente, realizou-se a modificação de eletrodos de carbono vítreo, com as suspensões sintetizadas com os extratos mencionados acima, aplicados na determinação do analito de interesse (2,4,6-TCF). Os resultados foram obtidos utilizando uma cela eletroquímica com 15 mL de solução tampão B-R ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0), contendo 2,4,6-TCF $16,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Os voltamogramas da Figura 32A mostram que o eletrodo modificado com as AuNPs sintetizadas em extrato de araçá apresentou um sinal de corrente superior aos outros extratos testados (cerca de 1,2 vezes maior) sendo o único a apresentar sinal de corrente maior do que o obtido com o eletrodo sem modificação (Figura 32B). Dentre as nanopartículas sintetizadas, a suspensão de AuNPs em extrato de araçá apresentou uma coloração avermelhada, em oposição aos demais extratos que resultaram em suspensões arroxeadas (Figura 32C). A coloração próxima ao vermelho em suspensões de AuNPs indica a formação de partículas de tamanho reduzido (SZTANDERA; GORZKIEWICZ; KLAJNERT-MACULEWICZ, 2019), que aumentam a área eletroativa do

CME, e justifica o aumento do sinal de corrente observado. Sendo assim, é possível concluir que os extratos de acerola, ameixa e maçã não devem possuir em sua composição um teor suficiente de compostos orgânicos capazes de promover uma estabilização efetiva das AuNPs. Outro dado interessante está relacionado ao tempo de síntese das NPs, no qual os demais extratos testados tiveram um tempo médio de síntese entre 15 a 25 min, enquanto o extrato de araçá levou apenas 5 min para promover a mudança de coloração (de amarelo para vermelho) característica da formação das partículas. Isto demonstra que o extrato de araçá é capaz de atuar como um agente redutor eficiente, além de promover uma estabilização adequada das nanopartículas formadas fazendo deste extrato um material promissor na síntese verde de nanopartículas metálicas.

Figura 32. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) GCE e eletrodos modificados com nanopartículas de ouro sintetizadas com diferentes extratos de frutas: (b) acerola, (c) ameixa, (d) araçá, e (e) maçã, em solução tampão B-R ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0) contendo 2,4,6-TCF $16,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Respostas de corrente de pico (I_{pa}) para 2,4,6 TCF utilizando GCE e GCE modificado com AuNPs sintetizadas nos extratos de frutas mencionados acima. (C) Imagens das suspensões obtidas a partir dos diferentes extratos testados: (1) araçá, (2) acerola, (3) ameixa e (4) maçã.



Em processos de síntese verde que utilizam extratos vegetais, a concentração de polifenóis é crítica na preparação de nanopartículas, especialmente AuNPs, devido a competição sinérgica entre os grupos hidroxila e carbonila, causando a oxidação dos polifenóis e afetando o tamanho e a morfologia das NPs (NOAH; NDANGILI, 2022). Sendo assim, o volume de extrato utilizado na síntese das AuNPs foi otimizado. A Tabela 7 mostra as

proporções utilizadas, fixando o volume de solução HAuCl_4 6 mmol L^{-1} (0,25 mL) e variando o volume de água ultrapura e extrato:

Tabela 7. Proporções de ouro:água:extrato usadas na síntese de AuNPs-Ext.

Suspensão AuNPs-Ext	A	B	C	D
Volume (mL) de HAuCl_4 6 mmol L^{-1}	0,25	0,25	0,25	0,25
Volume (mL) de H_2O	2,00	1,00	0,50	0,00
Volume (mL) de extrato de araçá	1,25	2,25	2,75	3,25
Volume (mL) total da suspensão	3,50	3,50	3,50	3,50

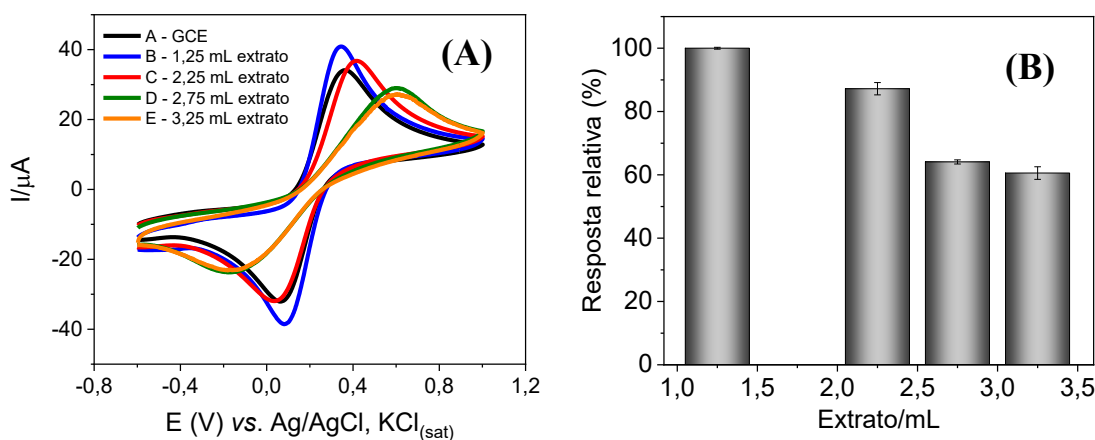
A Figura 33A mostra os voltamogramas cíclicos resultantes da modificação de eletrodos com as suspensões sintetizadas nas proporções acima, nos quais as correntes de pico foram registradas em uma cela contendo 15 mL de solução $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ($5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$). A proporção A obteve a melhor resposta em termos de corrente de pico ($33,9 \mu\text{mol L}^{-1}$), que representou um ganho de sinal variando de 1,1 a 1,7 vezes maior que as outras proporções testadas (Figura 33B). É possível verificar que o sinal de corrente diminui a medida que há um aumento do volume de extrato na composição da suspensão de AuNPs-Ext, isto pode ser atribuído a grande concentração de compostos orgânicos presentes no extrato de fruta, tais como, compostos fenólicos, polissacarídeos e flavonóides, que podem influenciar dois parâmetros:

(I) As interações inter-moleculares entre os compostos orgânicos em alta concentração podem dificultar o processo de estabilização das nanopartículas, favorecendo o processo de aglomeração que diminui a área superficial ativa das AuNPs, afetando negativamente o sinal obtido para o analito. Isto pôde ser confirmado pela coloração das suspensões obtidas que apresentaram coloração mais avermelhada para a proporção com menos extrato (A) e mais arroxeada para as proporções com maior quantidade de extrato (B, C e D);

(II) A alta concentração de compostos orgânicos, proveniente do extrato, presente no filme modificador do eletrodo pode gerar um bloqueio parcial da superfície do CME impedindo a aproximação do analito e dificultando sua reação redox.

Foram testados volumes menores de extrato (0,5 e 0,75 mL), porém não foi constatada a formação de nanopartículas. Portanto, a proporção A (1,25 mL de extrato: 2,00 de água: 0,25 de HAuCl_4 (6 mmol L^{-1})) foi fixada para a síntese de AuNPs-Ext e a suspensão resultante foi aplicada como modificador da superfície do GCE nos estudos posteriores.

Figura 33. Estudo da proporção do extrato de arará utilizado na síntese de AuNPs. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($5,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) aplicando o GCE sem modificação (A) e modificado com suspensões de AuNPs sintetizadas com os seguintes volumes de extrato: (B) 1,25, (C) 2,25, (D) 2,75 e (E) 3,25 mL. (B) Respostas relativas (%).

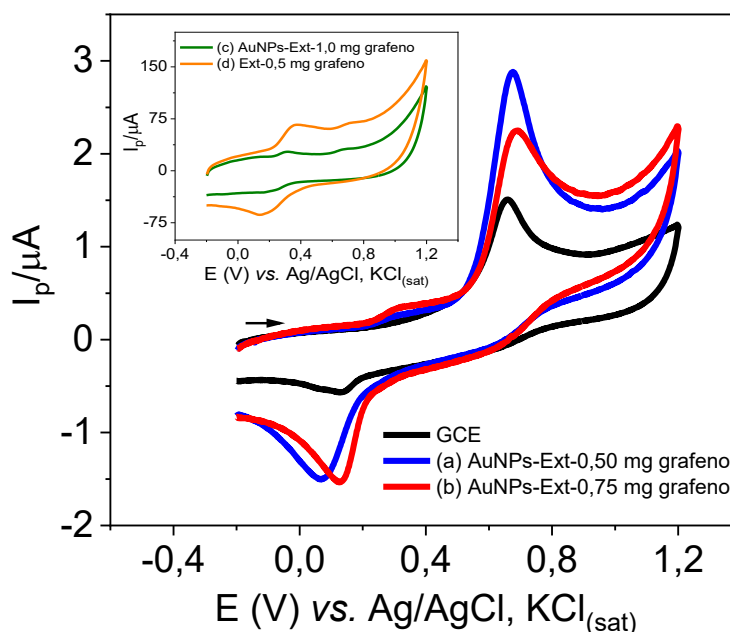


4.3.2 Otimização da proporção de grafeno como modificador

A dispersão usada para modificação da superfície do GCE foi preparada adicionando-se GR à suspensão de AuNPs-Ext, sendo a quantidade de grafeno otimizada com o objetivo de melhorar o desempenho analítico do eletrodo proposto. O grafeno foi escolhido como material modificador devido suas características elétricas e condutoras, além de apresentar grande área superficial favorecendo a transferência de elétrons na superfície do eletrodo principalmente quando associado a nanopartículas metálicas. A dispersão modificadora foi preparada adicionando-se $100 \mu\text{L}$ da suspensão AuNPs-Ext em um tubo Eppendorf e as seguintes quantidades de pó de grafeno: (a) 0,5, (b) 0,75 e (c) 1,0 mg. A Figura 34 mostra os voltamogramas resultantes obtidos com o CME proposto em uma cela eletroquímica contendo $15,0 \text{ mL}$ de solução tampão B-R ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH } 6,0$) e 2,4,6-TCF $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Dentre as proporções de grafeno testadas, a dispersão contendo 0,5 mg (a) apresentou o melhor resultado com uma corrente de pico de $2,09 \mu\text{A}$, valor este que representa um ganho de sinal de 2,2 vezes maior que o GCE e 1,5 vezes maior que o eletrodo modificado com a suspensão contendo 0,75 mg de grafeno (b). Podemos observar que o sinal de corrente diminui à medida que aumentamos a proporção de grafeno na dispersão, e esse comportamento se torna mais evidente na proporção 1 mg/ $100 \mu\text{L}$ (c), que resultou no alargamento significativo do perfil do voltamograma gerando uma perda do sinal obtido. Concentrações maiores de grafeno tendem a formar filmes modificadores mais espessos, o que pode gerar um bloqueio do sinal analítico na superfície do eletrodo, justificando a tendência observada. Avaliou-se também a proporção 0,5 mg/ $100 \mu\text{L}$ -Ext (ausência de AuNPs), porém a dispersão obtida não foi homogênea resultando em um perfil de pico voltamétrico distorcido (d). Este resultado é uma evidência de que a interação entre as

nanopartículas de ouro e o extrato de araquá formam um material modificador com propriedades únicas capaz de atuar como dispersante para o grafeno em meio aquoso.

Figura 34. Estudo da massa de grafeno utilizada no preparo da dispersão AuNPs-Ext-GR. Voltamogramas cíclicos obtidos com solução padrão 2,4,6-TCF 5,00 mmol L⁻¹ em solução tampão B-R (0,1 mol L⁻¹, pH 6,0) aplicando GCE e eletrodos modificados com dispersões contendo grafeno nas seguintes proporções: (a) 0,5, (b) 0,75, (c) 1,0 mg/100 µL AuNPs-Ext (Inserido) e (d) 0,5 mg/100 µL Ext (Inserido).



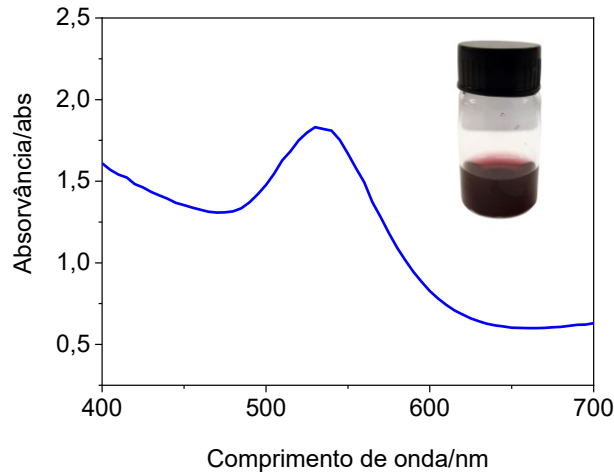
Como comparativo, também foi avaliada uma proporção menor de grafeno (0,25 mg/100 µL AuNPs-Ext), porém a dispersão obtida não foi homogênea resultando na formação de um filme modificador irregular e instável que se despreendeu da superfície do eletrodo ao ser mergulhado em solução. Sendo assim, a proporção 0,5 mg grafeno/100 µL AuNPs-Ext foi fixada para o preparo da dispersão modificadora. O eletrodo modificado com a dispersão acima foi então denominado AuNPs-Ext-GR/GCE (CME proposto).

4.3.3 Caracterização do nanomaterial

A síntese das AuNPs foi avaliada através da espectroscopia UV-Vis, esta técnica é uma abordagem amplamente utilizada para comprovar a formação das nanopartículas metálicas através de suas propriedades ópticas, dependentes de seu tamanho e forma. Conforme postulado pela teoria de Mie (MIE, 1908), as nanopartículas esféricas resultam em uma única banda de ressonância plasmônica de superfície nos espectros de absorção. O espectro de absorção obtido (Figura 35) mostra a presença de uma banda plasmônica característica do ouro, em torno de 530 nm, indicando que a síntese das AuNPs foi bem-sucedida e que as partículas formadas possivelmente apresentam um formato esférico. Este valor de comprimento de onda também

está próximo aos valores encontrados em outros trabalhos da literatura para a síntese de AuNPs em extratos vegetais (SUSAN PUNNOOSE; BIJIMOL; MATHEW, 2021; ZHAO, W. et al., 2022).

Figura 35. Espectro UV-Vis para a suspensão de AuNPs-Ext.



As morfologias das nanopartículas de ouro estabilizadas, bem como da dispersão de AuNPs-Ext-GR e o grafeno individualmente (como comparativo) foram caracterizadas a partir da técnica de TEM. Na Figura 36 são mostradas três micrografias referentes aos seguintes nanomateriais: (A) AuNPs-Ext, (B) GR e (C) AuNPs-Ext-GR. É possível observar na Figura 36A que as AuNPs-Ext possuem partículas pequenas e de aspecto esférico, apresentando boa dispersão no meio e sem a presença de aglomerados. A partir deste dado também é possível afirmar que o extrato de araquá desempenha duas funções:

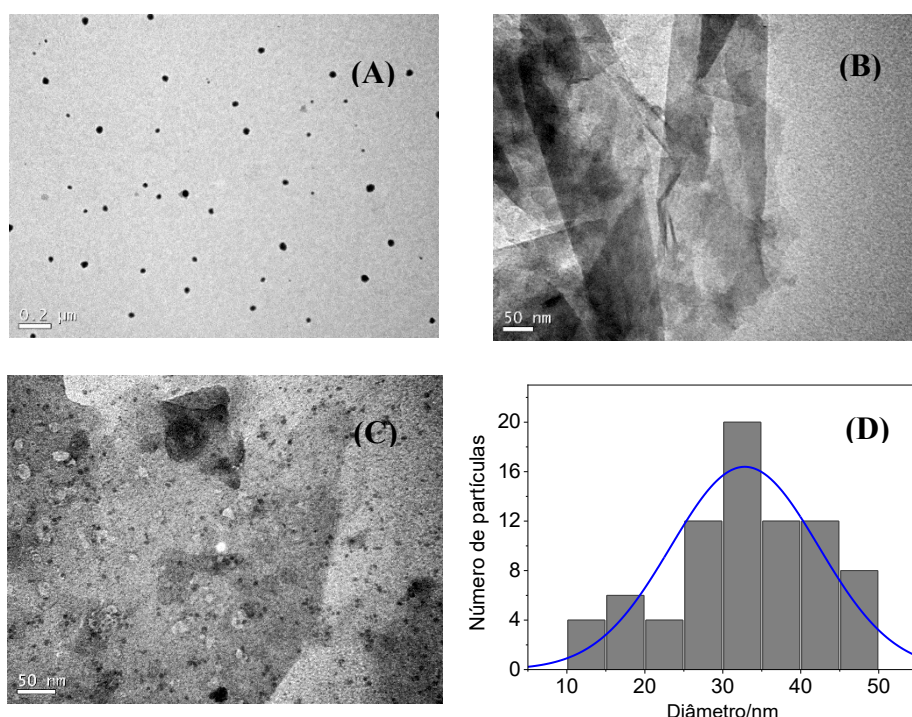
(I) Agente redutor: atua como agente redutor através dos grupos hidroxilas presentes nos polifenóis derivados de plantas, que participam do processo de redução de íons de ouro.

(II) Estabilizante: a presença de compostos fenólicos, polissacarídeos, metabólitos, entre outros, em extratos vegetais também podem contribuir na estabilização das nanopartículas, devido a presença de anéis aromáticos e substituintes volumosos que promovem um efeito estérico.

A Figura 36B mostra a imagem de uma folha lamelar de grafeno e a Figura 36C mostra a dispersão composta pelas AuNPs-Ext e o grafeno. A adição de grafeno à suspensão das nanopartículas não interferiu significativamente na dispersidade das partículas no meio, mostrando que não houve a formação de aglomerados e que as AuNPs-Ext se encontram bem distribuídas sobre as lâminas do material. Isto indica que o grafeno além de agregar características vantajosas ao eletrodo modificado, através de suas propriedades elétricas e condutoras, também atua como uma plataforma de imobilização das nanopartículas. Em

contrapartida, a suspensão AuNPs-Ext atua como um dispersante para o grafeno que, embora apresente um caráter fortemente hidrofóbico foi completamente dissolvido em meio aquoso resultando em uma mistura homogênea. A Figura 36D mostra o gráfico de histograma referente a distribuição do tamanho médio dos diâmetros das partículas de AuNPs-Ext, no qual é possível observar que a maior parte das nanopartículas possuem diâmetro médio de 35 nm. Este tamanho reduzido indica que as AuNPs-Ext sintetizadas apresentam grande área superficial e, juntamente com o grafeno, formam um material nanoestruturado promissor para aplicação como modificador em eletrodos.

Figura 36. Imagens de TEM para: (A) AuNPs-Ext, (B) GR, e (C) AuNPs-Ext-GR. (D) Histograma de distribuição do tamanho médio das AuNPs-Ext (contagem de ± 100 partículas).

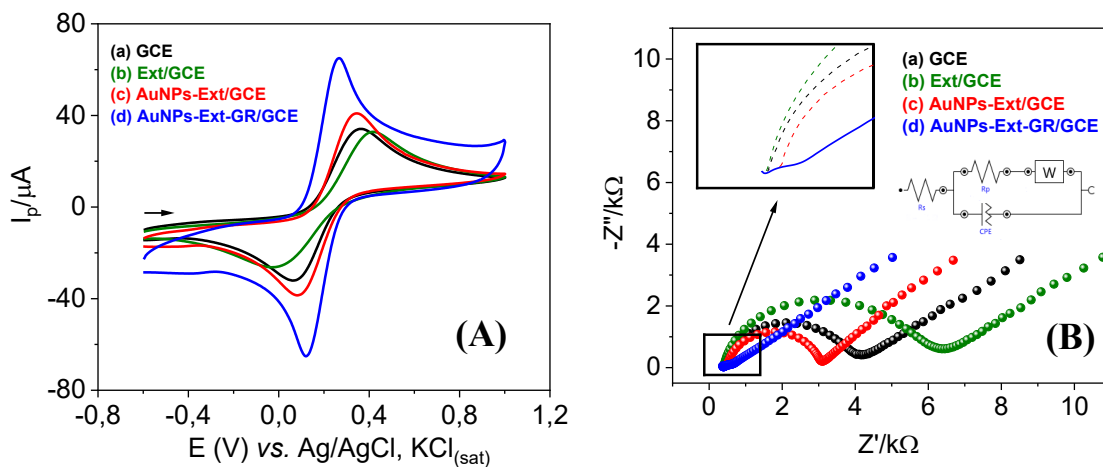


4.3.4 Caracterização eletroquímica dos CME

O CME foi caracterizado eletroquimicamente através das técnicas de CV e EIS, de modo a avaliar o comportamento das modificações do eletrodo frente ao par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($5,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) utilizado como padrão analítico. A Figura 37A apresenta os voltamogramas resultantes do estudo da contribuição de cada modificador na resposta analítica do eletrodo proposto. Comparativamente ao sinal de corrente anódica obtido pelo (a) GCE ($I_p = 27,46 \mu\text{A}$), o eletrodo modificado apenas com o extrato ((b) Ext/GCE) apresentou uma queda no valor de corrente ($I_p = 25,07 \mu\text{A}$) e também resultou em um voltamograma com um perfil de pico um pouco distorcido. Isto se deve a grande concentração de compostos orgânicos (por

exemplo, compostos fenólicos e polissacarídeos) oriundos do extrato que podem promover um bloqueio parcial da superfície do eletrodo, impedindo a aproximação do analito e consequentemente dificultando a reação redox. O eletrodo modificado com as nanopartículas de ouro estabilizadas no extrato ((c) AuNPs-Ext/GCE) apresentou um aumento de 1,2 vezes no sinal de corrente obtido ($I_p = 33,00 \mu\text{A}$), comparativamente ao eletrodo sem modificação. Este ganho de resposta está relacionado as propriedades condutoras das nanopartículas que facilitam a transferência de carga na superfície do eletrodo. Por último, o eletrodo proposto (d) AuNPs-Ext-GR/GCE apresentou a maior resposta de corrente ($I_p = 58,46 \mu\text{A}$) representando um aumento de sinal cerca de 1,7 a 2,3 vezes comparado aos outros eletrodos testados. O CME exibiu um bom desempenho devido a união das propriedades condutoras das NPs e a presença do grafeno como modificador, que possui características vantajosas como grande área superficial e propriedades elétricas e condutoras, além de possuir vários sítios quimicamente ativos capazes de interagir com o analito de interesse favorecendo a reação de oxirredução na superfície do eletrodo (BENJAMIN; MIRANDA RIBEIRO JUNIOR, 2022).

Figura 37. (A) Voltamogramas cíclicos e (B) Espectros de EIS obtidos para os seguintes eletrodos: (a) GCE; (b) Ext/GCE; (c) AuNPs-Ext/GCE e (d) AuNPs-Ext-GR/GCE em solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em modo de circuito aberto com amplitude de 10 mV e faixa de frequência de $0,1-100.000 \text{ Hz}$.



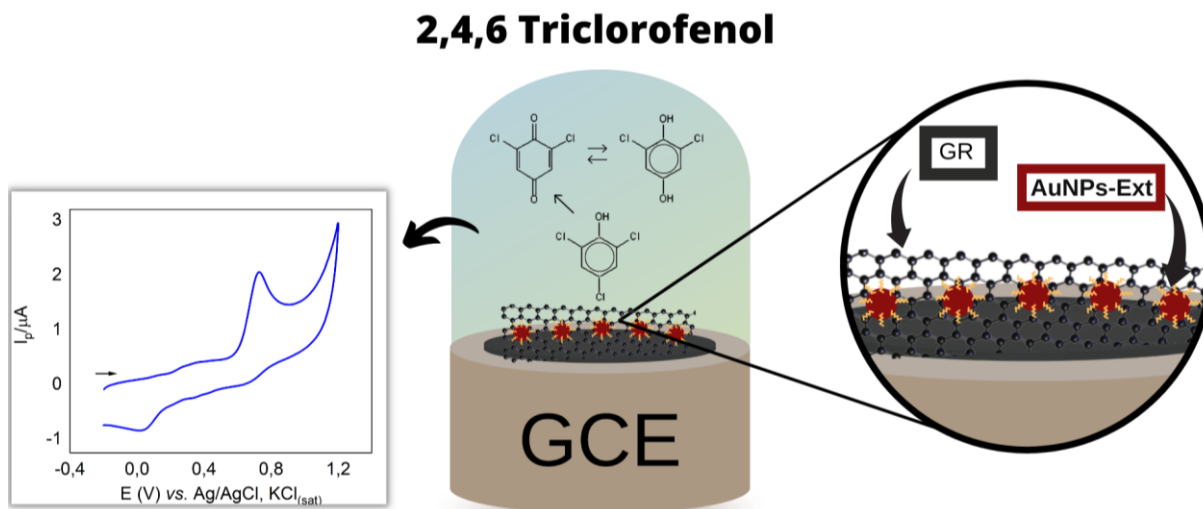
A técnica de EIS foi empregada para investigar as propriedades de interface eletrodo/solução do CME proposto. Os espectros de impedância apresentados no gráfico de Nyquist incluem duas partes: uma região de semicírculo em frequências mais altas correspondendo a um processo limitado pela transferência de elétrons e uma região linear em frequências mais baixas relacionada a processos limitados por difusão. A resistência à transferência de carga (R_{ct}) pode ser avaliada medindo o diâmetro do semicírculo. A Figura 37B exibe os gráficos de Nyquist observados para os seguintes eletrodos testados anteriormente: (a) GCE, (b) Ext/GCE, (c) AuNPs-Ext/GCE e (d) AuNPs-Ext-GR/GCE em

solução por redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($5,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$). O eletrodo sem modificação (GCE) apresentou um valor de R_{ct} igual a $3,78 \text{ k}\Omega$, indicando que o material confere uma certa resistência a transferência de carga na sua superfície. Com relação ao eletrodo Ext/GCE, este apresentou um valor de resistência mais alto ($R_{ct} = 6,18 \text{ k}\Omega$) sendo praticamente o dobro da resistência obtida com o GCE. Este aumento já era esperado e está de acordo com os voltamogramas expressos na Figura 37A, indicando que à presença dos compostos orgânicos do extrato geram um bloqueio parcial da superfície do eletrodo aumentando a resistência a passagem de corrente e dificultando a reação redox do analito. O eletrodo AuNPs-Ext/GCE apresentou uma diminuição do valor da resistência ($R_{ct} = 2,62 \text{ k}\Omega$) em comparação ao GCE, isto se deve as propriedades elétricas e condutoras das nanopartículas e também está de acordo com os dados expressos na Figura 37A. O CME proposto obteve uma queda expressiva do valor de R_{ct} ($0,65 \text{ k}\Omega$), de aproximadamente dez vezes o valor obtido com o GCE, demonstrando que a presença do grafeno contribui para a melhora significativa do sinal analítico através de suas propriedades condutoras que favorecem a transferência de carga na superfície do eletrodo.

4.3.5 Comportamento eletroquímico do 2,4,6-TCF na superfície do CME

O comportamento eletroativo do analito foi avaliado utilizando-se o eletrodo proposto (AuNPs-Ext-GR/GCE) em uma cela contendo 15 mL de solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH } 6,0$) e $2,4,6\text{-TCF } 16,5 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, através da voltametria cíclica em uma velocidade de varredura de $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ e faixa de potencial de $-0,2$ a $+1,2 \text{ V}$. O voltamograma referente a reação de oxirredução do analito (Figura 38) apresentou dois picos: a varredura direta resultou em um pico de corrente anódica igual a $I_{pa} = 2,00 \text{ }\mu\text{A}$ em um potencial de oxidação ($E_{po} = 0,69 \text{ V}$), e a varredura inversa resultou em um pico de corrente catódica de menor intensidade ($I_{pc} = 0,90 \text{ }\mu\text{A}$) em potencial de redução $E_{pr} = 0,07 \text{ V}$. A reação eletroquímica do 2,4,6-TCF ocorre através da abstração do cloro do anel aromático, presumivelmente pelo mecanismo de substituição nucleofílica, seguido da oxidação do grupo fenólico que é convertido em um produto quinona, devido ao processo de transferência de prótons de carga rápida. Registros na literatura confirmam que o mecanismo de oxidação do 2,4,6-TCF é irreversível (ARUMUGAM et al., 2022; VINOTH; WANG, 2022), tendo como subproduto a formação do composto 2,6-dicloro-1,4-benzoquinona que pode ser reduzido a forma 2,6-dicloro-1,4-benzenodiol (SANTHAN et al., 2022), justificando então a presença do pico catódico observado em potencial mais negativo.

Figura 38. Representação esquemática da composição do AuNPs-Ext-GR/GCE, voltamograma cíclico e esquema proposto da reação redox do 2,4,6-TCF em solução tampão B-R ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0).

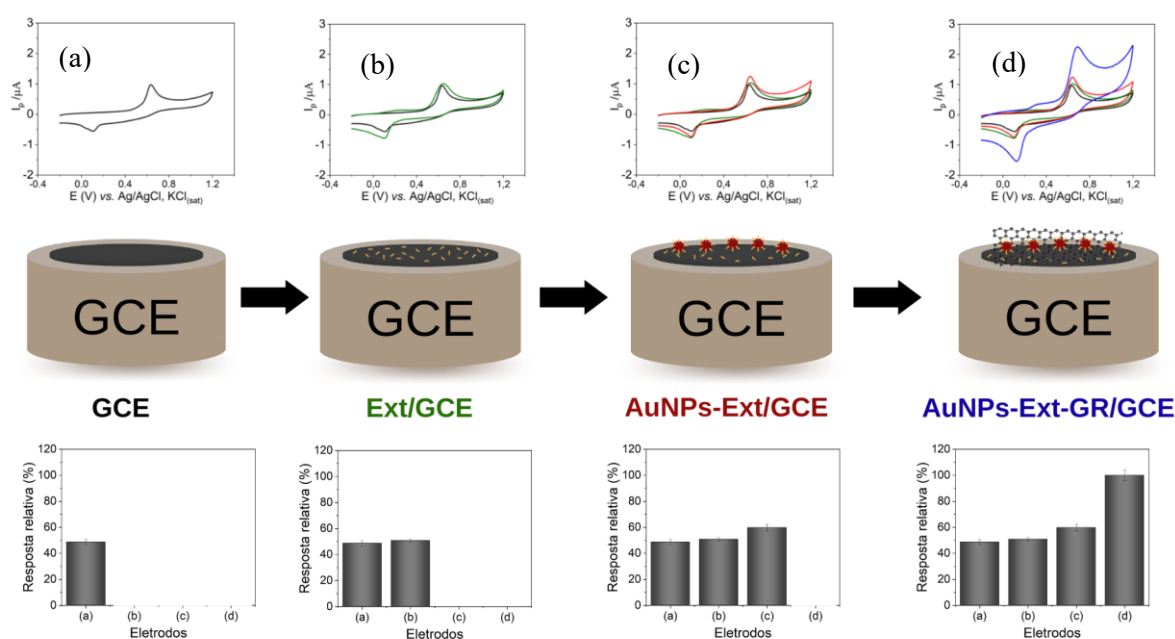


4.3.6 Contribuição dos modificadores na resposta analítica do 2,4,6-TCF

Avaliou-se a contribuição de cada modificador, separadamente, na resposta obtida para o 2,4,6-TCF afim de comprovar o bom desempenho do CME proposto na determinação do analito. Foram testados quatro eletrodos (Figura 39), sendo um eletrodo sem modificação (a) GCE, e três eletrodos modificados: (b) Ext/GCE, (c) AuNPs-Ext/GCE e (d) AuNPs-Ext-GR/GCE, monitorando o sinal de corrente do 2,4,6-TCF em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,0) através da técnica de voltametria cíclica. O eletrodo (b) Ext-GCE apresentou um valor de corrente de pico ($I_{pa} = 0,73 \mu\text{A}$) muito próximo ao valor obtido com o GCE ($I_{pa} = 0,70 \mu\text{A}$), indicando que o extrato de araquá não contribui diretamente para a melhora do sinal do analito, mas contribui indiretamente com o desempenho do CME atuando como agente redutor ecologicamente sustentável e um material não tóxico para estabilização das nanopartículas. Neste trabalho, o extrato vegetal em conjunto com as AuNPs também atuaram como dispersante para o grafeno através da interação entre os grupamentos hidroxila dos compostos orgânicos presentes no extrato e os oxigênios residuais presentes na estrutura do grafeno. O sinal obtido para o eletrodo (c) AuNPs-Ext/GCE foi de $I_{pa} = 0,86 \mu\text{A}$, representando um aumento de 1,2 vezes maior que o sinal do GCE. Este acréscimo de corrente está relacionado as propriedades condutoras das nanopartículas que favorecem a transferência de carga, além da grande área superficial das partículas que atuam como sítios ativos de interação do analito com a superfície do eletrodo. O eletrodo proposto (d) AuNPs-Ext-GR/GCE apresentou o maior sinal de corrente ($I_{pa} = 1,44 \mu\text{A}$), cerca de 2,0 vezes maior que o sinal obtido com o GCE. Este ganho em desempenho do CME está relacionado a adição do grafeno que possui características específicas

como, por exemplo, sua estrutura de monocamadas de folhas de carbono (semelhantes a favos de mel) com átomos ligados por ligações sp^2 , que faz com que o material apresente grande condutividade e forneça um local para a fácil transferência de carga. O GR também possui grande área superficial fornecendo sítios eletroativos para o eletrodo que melhoram a adsorção do analito, apresentando também uma resistência muito mais baixa do que o GCE (SURESH, R. et al., 2022). Os dados apresentados acima estão de acordo com os dados mostrados na seção 4.3.4, indicando que o CME proposto possui um bom desempenho para o analito de interesse bem como para o padrão analítico de referência (par redox $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$).

Figura 39. Voltamogramas cíclicos usando diferentes eletrodos: (a) GCE; (b) Ext/GCE; (c) AuNPs-Ext/GCE e (d) AuNPs-Ext-GR/GCE, em solução tampão B-R ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0), contendo 2,4,6-TCF $16,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Inserido: Respostas relativas (%)



4.3.7 Estudo do pH e otimização do eletrólito de suporte

Com o intuito de aprimorar o desempenho da metodologia proposta foi realizado o estudo da influência do pH do eletrólito suporte na reação redox do 2,4,6-TCF, aplicando o AuNPs-Ext-GR/GCE em uma cela contendo 15 mL de solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ nos seguintes valores de pH: (a) 3,0, (b) 4,0, (c) 5,0, (d) 6,0, (e) 7,0, (f) 8,0, e (g) 9,0. O sinal eletroquímico do analito foi monitorado através das correntes de pico resultantes de voltamogramas de varredura linear. Os voltamogramas da Figura 40A mostram que há uma relação de dependência entre a corrente de pico obtida e o pH do eletrólito suporte. No gráfico de barras (Figura 40B) é possível observar que há um acréscimo da corrente de pico entre os valores de pH de 3,0 a 6,0, seguido de um decréscimo acentuado em valores de pH mais básicos (acima de 7,0). Isto ocorre devido o equilíbrio de dissociação do composto 2,4,6-TCF em

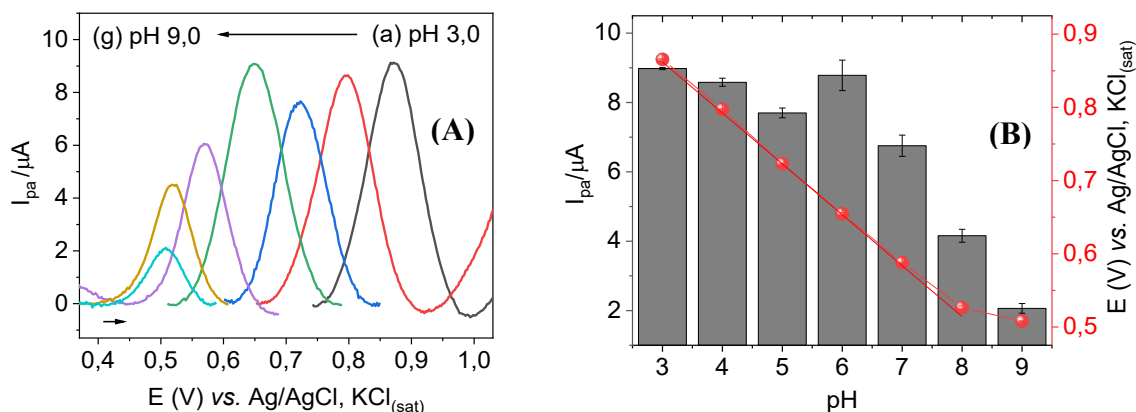
valores de pH mais ácidos estar deslocado em prol da forma protonada da molécula ($pK_a \approx 6,4$), fazendo com que a reação de oxidação seja favorecida. Além disso, em valores de pH mais alcalinos a forma desprotonada do 2,4,6-TCF, que encontra-se presente em grande quantidade, compete pelos sítios ativos na superfície do eletrodo dificultando a reação redox (ZHU, X. et al., 2016). Os maiores valores de corrente de pico obtidos com o CME para o analito ($I_{pa} = 8,97$ e $I_{pa} = 8,78 \mu A$) foram medidos empregando a solução tampão B-R nos valores de pH 3,0 e 6,0, respectivamente. Estas médias de corrente foram comparadas por meio do teste de Tukey para avaliar se há diferença significativa entre os valores. O cálculo foi realizado através da Equação 7 descrita a seguir:

$$\Delta_{teórico} = q * \frac{\sqrt{QME}}{n} \quad (7)$$

No qual q é um valor tabelado considerando o número de graus de liberdade e o número de variáveis, QME é o quadrado médio do resíduo obtido através da análise dos parâmetros por ANOVA e n é o número de repetições das medidas. Considerando o valor de q tabelado para a amostra (3,93), a diferença entre as médias das correntes ($1,96 \times 10^{-7}$) foi menor do que o valor teórico ($\Delta = 6,11 \times 10^{-7}$), indicando que não há diferença significativa entre os dados. Desta forma, para proceder com a escolha do pH do eletrólito levou-se em consideração os seguintes critérios de otimização: em solução tampão de pH = 3,0 o potencial de oxirredução é deslocado para valores mais positivos (desfavorecendo energeticamente a reação do analito), e o meio fortemente ácido promove o desprendimento do filme da superfície do eletrodo. Por outro lado, o potencial redox em pH 6,0 apresentou um deslocamento para valores mais negativos e menos energéticos (comparativamente ao pH 3,0) contribuindo eletrocataliticamente para a reação de oxidação do analito, além de favorecer a estabilidade do filme modificador. Portanto, de acordo com os dados obtidos e as considerações acima o pH 6,0 foi escolhido e fixado para os demais testes de otimização.

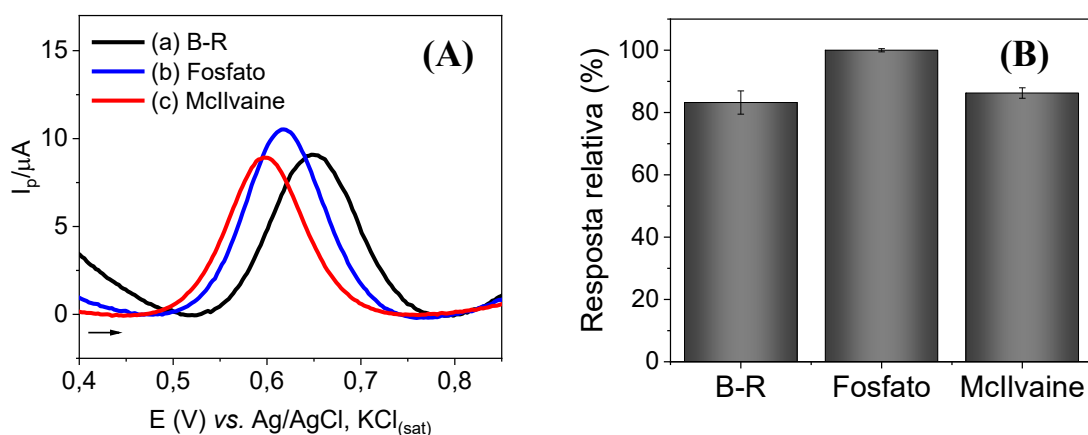
A Figura 40B mostra a relação linear ($E = -0,069 \text{ pH} + 1,07$; $r = 0,999$) entre o potencial de pico anódico do 2,4,6-TCF e os diferentes valores de pH do eletrólito, no qual o potencial é deslocado para valores mais negativos conforme aumentamos o pH do meio. Este deslocamento indica o envolvimento direto de prótons na reação de oxidação, e o valor obtido para o coeficiente angular da reta (-69,0 mV) se aproxima do valor teórico previsto pela equação de Nernst (-59,2 mV) indicando que a reação envolve o mesmo número de mols de prótons e elétrons. Ambos os dados estão em acordo com outros trabalhos descritos na literatura para a determinação voltamétrica do 2,4,6-TCF (HWA et al., 2021; ZHU, X. et al., 2016).

Figura 40. Voltamogramas lineares em solução tampão B-R ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em diferentes valores de pH: (a) 3,0, (b) 4,0, (c) 5,0, (d) 6,0, (e) 7,0, (f) 8,0, e (g) 9,0 para 2,4,6-TCF $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ utilizando AuNPs-Ext-GR/GCE. (B) Gráfico da relação entre I_{pa} vs. pH e E (V) vs. pH ($n = 3$).



Considerando o pH ótimo como 6,0 prosseguiu-se com a otimização dos parâmetros através da avaliação da composição do eletrólito suporte. Foram testadas três soluções de eletrólitos ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0): solução tampão B-R, solução tampão McIlvaine e solução tampão fosfato. A Figura 41 representa os voltamogramas obtidos, nos quais observa-se que a solução tampão fosfato obteve a melhor resposta em termos de corrente de pico ($I_{pa} = 11,5 \mu\text{A}$), além de promover um pequeno efeito catalítico deslocando o potencial de oxidação para valores mais negativos e menos energéticos, comparativamente a solução tampão B-R, favorecendo a reação de oxidação do 2,4,6-TCF. Sendo assim, a solução tampão fosfato foi escolhida para ser utilizada como eletrólito suporte nos demais testes de otimização do método proposto.

Figura 41. (A) Voltamogramas de onda quadrada para 2,4,6-TCF ($25,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) utilizando diferentes soluções de eletrólito de suporte ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0): (a) solução tampão B-R, (b) solução tampão fosfato e (c) solução tampão McIlvaine. (B) Respostas relativas (%).



4.3.8 Estudo da velocidade de varredura

A avaliação do efeito da velocidade de varredura no comportamento eletroquímico do analito e sinal de corrente obtido foi feita através da técnica de voltametria cíclica, utilizando

uma cela contendo 15 mL de solução tampão fosfato (0,1 mol L⁻¹, pH 6,0) e solução padrão 2,4,6-TCF 1 mmol L⁻¹, variando a velocidade aplicada na faixa de 10 a 90 mV. Os voltamogramas resultantes do estudo são mostrados na Figura 42A, na qual é possível observar uma relação diretamente proporcional entre o aumento da corrente de pico anódica e o aumento da velocidade de varredura. Também é possível observar que o aumento da velocidade contribui para o surgimento de um novo pico anódico relativo a reação redox reversível do produto de oxidação (2,6-dicloro-1,4-benzoquinona) do 2,4,6-TCF. Este dado pode indicar que a reação do analito de interesse é favorecida em velocidades mais lentas pois, em velocidades maiores a reação do subproduto pode gerar uma competição pelos sítios ativos na superfície do eletrodo. A Figura 42B mostra o gráfico de I_{pa} vs. $v^{1/2}$, cujos parâmetros apresentaram uma relação linear que, segundo a literatura (ELGRISHI et al., 2018), indica que a reação de oxidação é regida predominantemente pelo processo de difusão. O gráfico da Figura 42C apresenta a equação de reta da relação entre o logaritmo da corrente de pico anódica ($\log I_{pa}$) e o logaritmo das velocidades de varredura ($\log v$) para o 2,4,6-TCF. O valor experimental obtido foi de 0,65 indicando que a etapa determinante da reação é regida pela difusão com uma pequena contribuição da adsorção (GOSSER, 1994), e está de acordo com o dado obtido na Figura 42B.

Segundo a regressão linear “ E_{po} vs. $\log v$ ” descrita por Laviron (LAVIRON, 1979), o coeficiente angular da equação é equivalente a $2,303RT/(1-\alpha)zF$, no qual α é o coeficiente de transferência de elétrons; z é o número de elétrons transferidos no processo; R , T e F são as notações usuais ($R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, $T = 298 \text{ K}$, $F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$). Considerando o valor de α igual a 0,5 para sistemas irreversíveis (BARD; FAULKNER, 2001) e o coeficiente angular expresso na Figura 42D ($a = 0,049$), calculou-se o parâmetro z para a reação de oxidação do 2,4,6-TCF, obtendo um valor aproximado igual a 2,0 elétrons. Levando em consideração estes dados e os resultados apresentados na seção 4.3.7, que comprovam que a reação de oxidação envolve o mesmo número de prótons e elétrons, a Figura 43 abaixo expressa um esquema de reação de oxidação proposto para o analito de interesse, envolvendo dois prótons e dois elétrons.

Figura 42. (A) Voltamogramas cíclicos em solução tampão fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0) em diferentes velocidades de varredura de potencial: (a) 10, (b) 20, (c) 30, (d) 40, (e) 50, (f) 60, (g) 70, (h) 80 e (i) 90 mV s^{-1} para 2,4,6-TCF $16,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando AuNPs-Ext-GR/GCE. (B) Relação entre $\log I_{pa}$ vs. $v^{1/2}$ ($n = 3$). (C) Relação entre $\log I_{pa}$ vs. $\log v$ ($n = 3$). (D) Relação entre E_{po} vs. $\log v$ ($n = 3$).

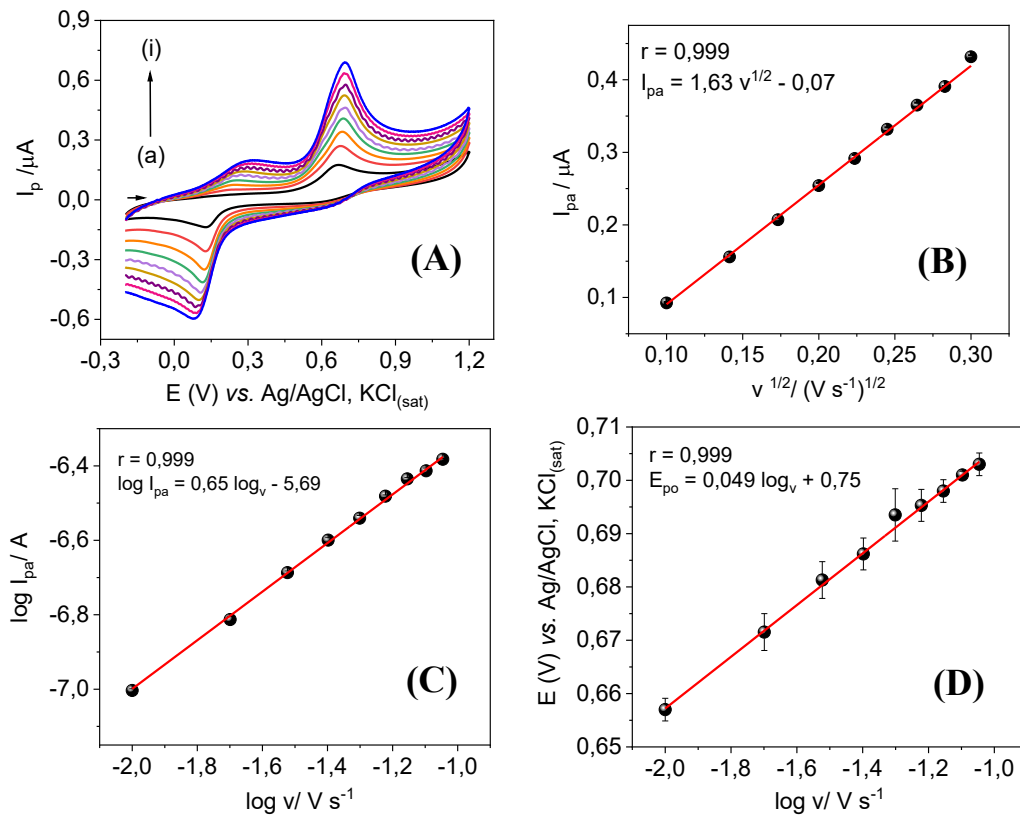
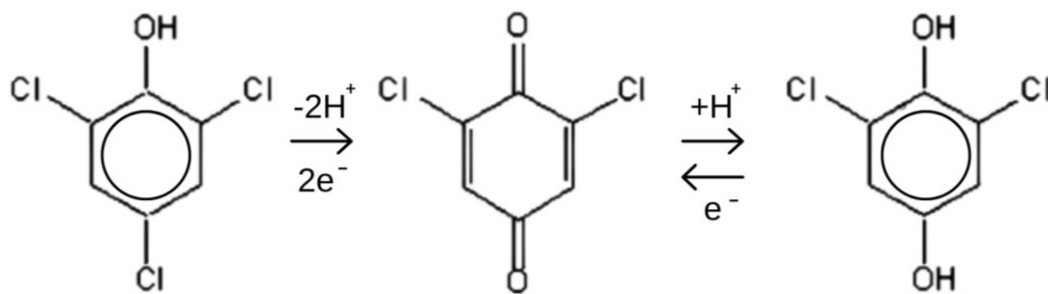


Figura 43. Esquema proposto da reação de oxidação do 2,4,6 triclorofenol na superfície do eletrodo.



4.3.9 Escolha e otimização da técnica voltamétrica

Para otimizar a metodologia proposta foram testadas três técnicas voltamétricas (LSV, DPV e SWV) com o objetivo de verificar qual apresenta o melhor sinal em termos de corrente de pico, perfil voltamétrico e sensibilidade na detecção do analito de interesse. A corrente de pico foi avaliada através de medidas utilizando cada técnica individualmente aplicando a mesma velocidade de varredura ($50,0 \text{ mV s}^{-1}$), e a sensibilidade foi avaliada através da construção de curvas de calibração externa para cada técnica. Ambos os testes foram realizados

em triplicata utilizando o eletrodo AuNPs-Ext-GR/GCE em uma cela contendo 15 mL de solução tampão fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0) e 2,4,6-TCF $16,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

A Figura 44A mostra os voltamogramas obtidos nos quais é possível observar que as técnicas LSV e DPV apresentaram valores de corrente muito próximos ($I_{pa} = 0,81 \text{ } \mu\text{A}$ e $0,65 \text{ } \mu\text{A}$, respectivamente), porém a medida feita com LSV resultou em um voltamograma com perfil mais alargado, provavelmente devido a presença de interferência de correntes capacitivas que influenciam negativamente na detecção do sinal de corrente do analito (corrente faradaica). A técnica SWV apresentou um sinal de corrente igual a $I_{pa} = 1,51 \text{ } \mu\text{A}$, cerca de 1,8 e 2,3 vezes maior que as técnicas de LSV e DPV, respectivamente. Embora a SWV geralmente apresente vantagens para sistemas reversíveis (devido sua aplicação de potencial em dois sentidos), neste caso ela obteve o melhor resultado mesmo em comparação com outra técnica pulsada (DPV) e considerando o fato de que o 2,4,6-TCF possui um mecanismo de reação irreversível. Isto pode ser explicado devido a outras características vantajosas da técnica SWV como, por exemplo, oferecer supressão de ruído de fundo com a mesma eficácia que a DPV, possuir uma sensibilidade ligeiramente maior do que a DPV, apresentar tempos de varredura muito mais rápidos e ser aplicável a uma gama de materiais eletródicos e sistemas (BARD, 1980).

Figura 44. (A) Voltamogramas de 2,4,6-TCF ($16,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) em solução tampão fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0) obtidos com AuNPs-Ext-GR/GCE aplicando as seguintes técnicas voltamétricas: (a) LSV; (b) DPV e (c) SWV. Inserido: Respostas relativas (%). (B) Curvas de calibração externa para a 2,4,6-TCF ($16,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) empregando SWV, DPV e LSV com velocidades de varredura de 50 mV s^{-1} .

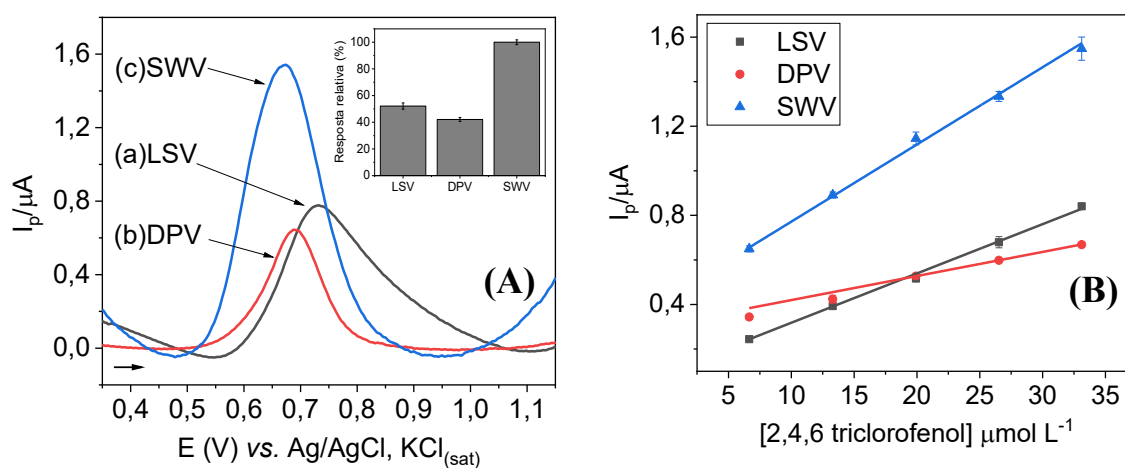


Tabela 8. Resumo dos parâmetros das curvas de calibração externa para cada técnica voltamétrica.

Técnica voltamétrica	Equação de reta	r^2	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
SWV	$I_p = 4,229 \times 10^{-7} \pm 8,488 \times 10^{-9} + 0,035 [2,4,6\text{-TCF}]$	0,999	0,73
DPV	$I_p = 3,115 \times 10^{-7} \pm 6,079 \times 10^{-9} + 0,010 [2,4,6\text{-TCF}]$	0,998	1,68
LSV	$I_p = 9,647 \times 10^{-8} \pm 8,390 \times 10^{-9} + 0,022 [2,4,6\text{-TCF}]$	0,998	1,13

[2,4,6-TCF] = concentração de 2,4,6 triclorofenol

As técnicas também foram avaliadas em termos de sensibilidade, utilizando o CME proposto em solução tampão fosfato (0,1 mol L⁻¹, pH 6,0) para construção de curvas de calibração externa adicionando à cela alíquotas de 2,4,6-TCF na faixa de concentração de 6,65 a 33,11 mol L⁻¹. Como é possível observar na Figura 44B, a técnica de SWV obteve um resultado superior em termos de sensibilidade através dos parâmetros de coeficiente angular ($\alpha = 0,035$) e também do valor de limite de detecção (LOD = 0,73 $\mu\text{mol L}^{-1}$), aproximadamente 2,3 e 1,5 vezes menor que as técnicas de LSV (LOD = 1,13 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e DPV (LOD = 1,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$), conforme mostra a Tabela 8. Desta forma, a voltametria de onda quadrada foi escolhida como a técnica voltamétrica a ser empregada neste trabalho. Após esta escolha, os parâmetros internos da técnica também foram otimizados para que a metodologia possa expressar seu máximo desempenho frente ao analito de estudo.

Os parâmetros ΔE_p , ΔE_s e f da técnica SWV foram otimizados fixando-se dois parâmetros em valores intermediários e variando um terceiro, utilizando como critério de escolha o melhor sinal de corrente obtido mantendo-se a linearidade com o valor do parâmetro avaliado. Os estudos foram realizados em solução tampão fosfato (0,1 mol L⁻¹, pH 6,0) contendo 2,4,6-TCF 16,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O valor de ΔE_s foi variado da faixa de 1 a 10 mV e o resultado é mostrado na Figura 45A. O incremento escolhido foi de 3 mV, pois está de acordo com o critério de escolha da linearidade. Além disso, baixos valores de incremento favorecem uma boa resolução de pico, sendo assim o valor 3 mV foi fixado para os demais estudos de otimização. O valor de ΔE_p foi variado na faixa de 10 a 100 mV, e o gráfico da Figura 45B mostra que o valor de 30 mV está de acordo com os critérios de escolha sendo então fixado para os demais testes. Por último, otimizou-se o parâmetro da frequência variando os valores na faixa de 10 a 100 Hz. O valor que apresentou o melhor sinal de corrente seguindo a linearidade foi 30 Hz (Figura 45C), indicando que é necessária uma velocidade de análise um pouco mais lenta para o melhor acompanhamento da cinética da reação redox, e está de acordo com os dados obtidos na seção 4.3.8. Os parâmetros avaliados, a faixa estudada e os valores otimizados encontram-se resumidos na Tabela 9.

Figura 45. Gráficos referentes a otimização dos parâmetros da SWV: (A) incremento de potencial (mV), (B) amplitude de pulso (mV), e (C) frequência (Hz), empregando o CME proposto em solução tampão fosfato (0,1 mol L⁻¹, pH 6,0) contendo 2,4,6-TCF 16,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (n = 3).

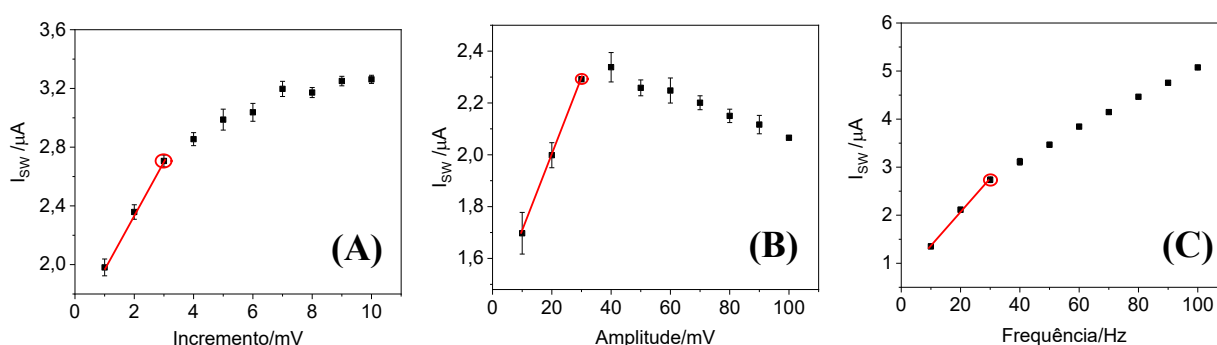


Tabela 9. Resumo dos parâmetros experimentais da técnica de SWV, faixa de estudo e valores otimizados para 2,4,6-TCF.

Parâmetro	Faixa estudada	Valor otimizado
Incremento (mV)	1 - 10	3
Amplitude (mV)	10 - 100	30
Frequência (Hz)	10 - 100	30

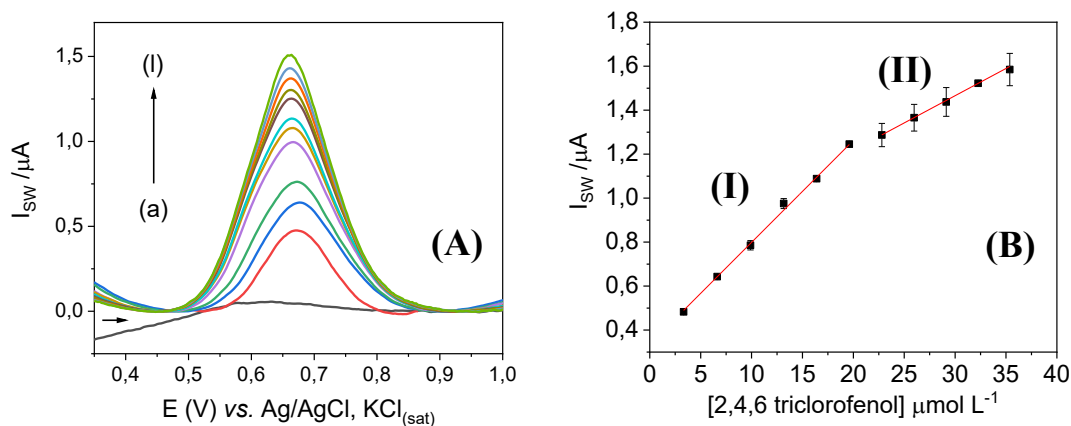
4.3.10 Curva de calibração para o 2,4,6-TCF

O desempenho da metodologia proposta foi avaliado através da determinação do analito de interesse a partir de uma curva de calibração externa, utilizando o CME (AuNPs-Ext-GR/GCE) nas condições otimizadas anteriormente, em uma faixa de potencial de +0,3 – + 1,0 V vs. Ag/AgCl. As curvas foram construídas por SWV, em triplicata, e a sensibilidade do método foi avaliada por meio dos cálculos de LOD e LOQ através das equações apresentadas no capítulo 3, seção 3.3.9. As Figuras 46A e 46B mostram os voltamogramas de SWV obtidos para 2,4,6-TCF e a curva de calibração externa relacionada a faixa de concentração de 3,32 a 35,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A curva de calibração apresentou duas faixas lineares:

(I) faixa linear de 3,32 – 19,60 $\mu\text{mol L}^{-1}$, expressa pela equação de reta igual a $I_{pa} = 0,04 \pm 0,05$ [2,4,6-TCF] + $0,33 \pm 0,004$ ($r = 0,999$), e valores de LOD e LOQ de 0,28 e 0,95 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 3$), respectivamente;

(II) faixa linear de 22,80 – 35,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$, expressa pela equação de reta igual a $I_{pa} = 0,02 \pm 0,06$ [2,4,6-TCF] + $0,72 \pm 0,02$ ($r = 0,999$).

Figura 46. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com AuNPs-Ext-GR/GCE em solução tampão de fosfato (0,1 mol L^{-1} , pH 6,0) contendo diferentes concentrações de 2,4,6-TCF ($\mu\text{mol L}^{-1}$): (a) branco, (b) 3,32, (c) 6,62, (d) 9,90, (e) 13,15, (f) 16,39, (g) 19,60, (h) 22,80, (i) 25,97, (j) 29,12, (k) 32,25 e (l) 35,36. (B) Curva de calibração externa para 2,4,6-TCF (média \pm desvio padrão; $n=3$).

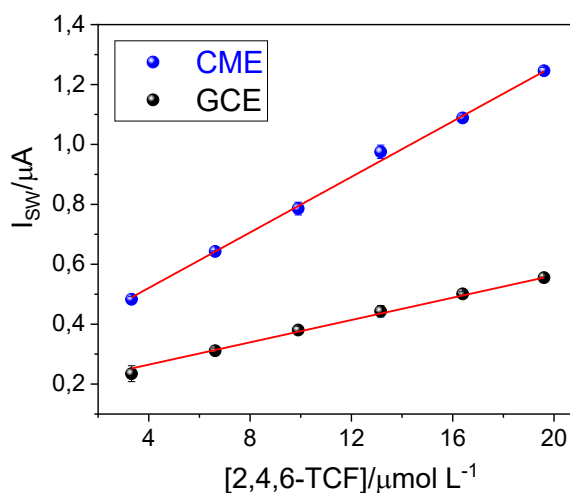


Os parâmetros analíticos da curva de calibração externa para 2,4,6-TCF estão resumidos na Tabela 10:

Tabela 10. Dados obtidos a partir da curva de calibração externa para 2,4,6-TCF utilizando AuNPs-Ext-GR/GCE.

Parâmetros Analíticos	1ª faixa linear	2ª faixa linear
Potencial de pico (V)	+ 0,69	+ 0,69
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	3,32 – 19,60	22,80 – 35,36
Coefficiente de correlação - r	0,999	0,999
Coefficiente angular ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	0,04	0,02
Desvio padrão do coeficiente angular ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	0,05	0,06
Coefficiente linear (μA)	0,33	0,72
Desvio padrão do coeficiente linear (μA)	0,004	0,02
LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		0,28
LOQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		0,95

Para avaliar o desempenho da modificação do CME proposto construiu-se uma curva de calibração externa (Figura 47), utilizando um eletrodo sem modificação (GCE) na faixa de menor concentração (3,32 – 19,60 $\mu\text{mol L}^{-1}$) obtida para o 2,4,6-TCF. A curva obteve a seguinte equação de reta: $I_{pa} = 0,01 \pm 0,03 [2,4,6\text{-TCF}] + 0,19 \pm 0,006$ ($r = 0,999$), com valores de LOD e LOQ de 1,08 e 3,62 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente ($n = 3$). Comparando com os valores expressos na tabela 10 é possível observar que o AuNPs-Ext-GR/GCE obteve valores de LOD e LOQ 3,9 e 3,8 vezes menor, respectivamente, demonstrando que a modificação proposta melhora significativamente a resposta analítica do eletrodo na determinação de 2,4,6-TCF.

Figura 47. Curvas de calibração externa para 2,4,6-TCF (média \pm desvio padrão; $n=3$) usando GCE e CME em solução tampão fosfato (0,1 mol L^{-1} , pH 6,0).

Os resultados obtidos com o AuNPs-Ext-GR/GCE também foram comparados com os dados descritos na literatura para eletrodos aplicados na determinação voltamétrica de 2,4,6-TCF (Tabela 11). O CME proposto apresentou uma faixa linear similar à de outros eletrodos

(PVA/F108/AuNPs/Lac/GCE e BDDE) além de um limite de detecção relativamente menor se comparado a outros eletrodos modificados com nanopartículas metálicas (por exemplo, CNTs-OH/PtNPs/RhB/GCE). Outras vantagens do AuNPs-Ext-GR/GCE com relação aos trabalhos citados incluem a utilização de matéria-prima natural não tóxica e sustentável (extrato vegetal) para a síntese de NPs e uso de condições reacionais brandas (sem a necessidade de agentes redutores fortes e aquecimento), processo de modificação fácil e rápido em uma única etapa, além de adequada sensibilidade na determinação do analito de interesse.

Tabela 11. Comparação entre o desempenho do CME proposto e outros eletrodos reportados na literatura, empregados na determinação eletroquímica de 2,4,6-TCF.

Eletrodo	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
CNTs-OH/PtNPs/RhB/GCE ^a	5,0 – 175,0	1,55	(ZHU, X. et al., 2018)
PVA/F108/AuNPs/Lac/GCE ^b	1,0 – 25,0	9,33	(LIU, J. et al., 2011)
CuO/Nafion/GCE ^c	1,0 – 120,0	0,04	(JAMIL, 2021)
BDD ^d	1,93 – 21,30	0,15	(SCHWAB et al., 2020)
AuNPs-Ext-GR/GCE	3,3 – 19,6 22,8 – 35,3	0.28	Este trabalho

CNTs-OH/PtNPs/RhB/GCE^a: eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono hidroxilado/nanopartículas de platina/filme composto de rodamina B; PVA/F108/AuNPs/Lac/GCE^b: eletrodo de carbono vítreo modificado com polivinil álcool/lacase/nanopartículas de ouro e estabilizador enzimático F108; CuO/Nafion/GCE^c: eletrodo de carbono vítreo modificado com material nanoestruturado de óxido de cobre e Nafion; BDD^d: eletrodo de diamante dopado com boro.

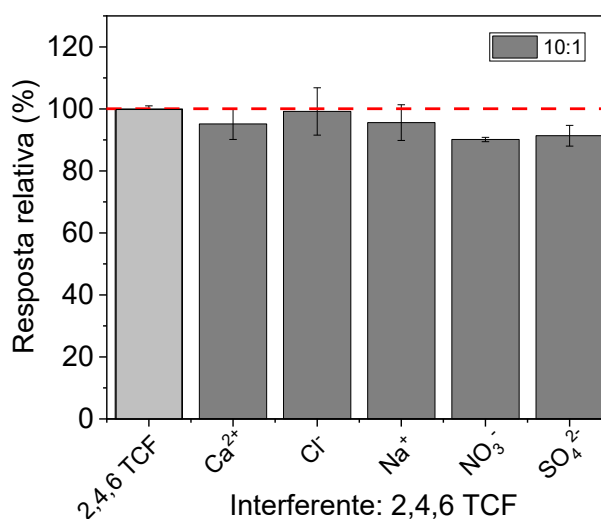
4.3.11 Parâmetros de avaliação do método: repetibilidade (intra e inter-dia), estabilidade e possíveis interferentes

Foi realizado o estudo de repetibilidade do CME com o intuito de avaliar a precisão das medidas obtidas. O estudo foi realizado através da técnica de SWV, utilizando o eletrodo proposto em tampão fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$; pH 6,0) contendo 2,4,6-TCF $33,1 \mu\text{mol L}^{-1}$. A repetibilidade intra-dia foi investigada realizando-se no mesmo dia 6 medidas, sendo a superfície do eletrodo renovada a cada nova medida. O RSD obtido para as correntes de pico foi de 5,85% e indica uma boa precisão do sensor. A repetibilidade inter-dia foi testada a partir de medidas em triplicata feitas em 6 dias diferentes utilizando o AuNPs-Ext-GCE/GCE, sendo a superfície do eletrodo renovada a cada nova medida. O RSD obtido para as correntes de pico foi de 3,89% indicando uma boa reprodutibilidade do sensor.

Para avaliar a estabilidade do nanomaterial, a suspensão de AuNPs-Ext foi armazenada em um tubo falcon sob refrigeração (4°C) e utilizada no preparo de CME avaliando os sinais de corrente obtidos para o 2,4,6-TCF durante aproximadamente 3 semanas. Os valores de corrente de 2,4,6-TCF para 3 medidas (1 medida/semana em triplicata) obtiveram um valor de RSD de 4,65%, o que indica uma boa repetibilidade do material e, conseqüentemente, um bom desempenho na determinação do analito de interesse. Após este período, o sinal de corrente obtido começou a diminuir significativamente e a suspensão adquiriu uma coloração arroxeada devido a oxidação e degradação do extrato vegetal, resultando na aglomeração das partículas. Sendo assim, para garantir o bom funcionamento do CME foram realizadas novas sínteses após este tempo limite de utilização do material.

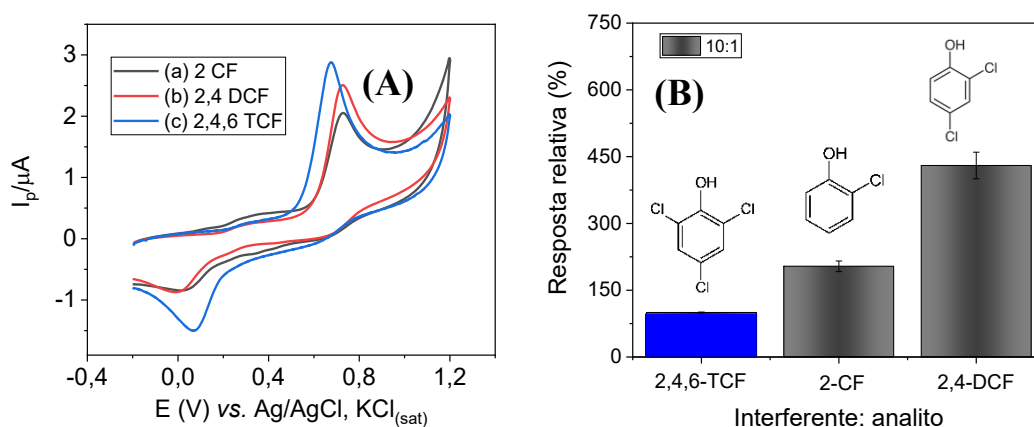
Também foi avaliada a possível interferência de alguns íons comuns presentes em grande quantidade nas águas de uso doméstico (Ca^{2+} , Cl^- , Na^+ , NO_3^- , SO_4^{2-}), segundo as portarias do Ministério da Saúde (Portarias nº 888/2021 e nº 2.914/2011) que legislam sobre controle e vigilância dos parâmetros de potabilidade da água para consumo humano, além de outros pesticidas da mesma família de clorofenóis (2-clorofenol (2-CF) e 2,4-diclorofenol (2,4 DCF)) na determinação do analito de interesse. As medidas foram feitas em SWV, utilizando o AuNPs-Ext-GR/GCE em solução tampão fosfato (0,1 mol L⁻¹, pH 6,0) contendo 2,4,6-TCF (6,65 µmol L⁻¹) no qual foram adicionadas alíquotas das soluções dos íons e pesticidas estudados em concentração 10 vezes maior (66,5 µmol L⁻¹). A Figura 48 indica que na presença dos íons o valor de corrente de pico para 2,4,6-TCF apresentou pouca variação (<10%), comprovando que o CME possui boa seletividade para a detecção eletroquímica do analito.

Figura 48. Estudo de interferentes utilizando o AuNPs-Ext-GR/GCE em solução tampão fosfato (0,1 mol L⁻¹, pH 6,0). Medidas de SWV expressas em resposta relativa (%), avaliando a corrente de pico de 2,4,6-TCF registrada na ausência (100 %) e na presença de outras espécies iônicas em concentração 10 vezes maior que o analito.



Com relação a interferência de pesticidas da classe de clorofenóis, é possível observar que ao aplicar o CME na análise individual de cada pesticida o 2,4,6-TCF obteve uma melhor resposta de corrente comparativamente ao demais (Figura 49A), indicando que o AuNPs-Ext-GR/GCE apresenta melhor sensibilidade na detecção do analito de interesse. Porém, ao analisar o 2,4,6-TCF na presença dos demais pesticidas em concentração 10 vezes maior (Figura 49B) o CME não conseguiu diferenciar os compostos devido o potencial de oxidação do 2,4,6-TCF ($E_{po} = 0,69$ V) ser muito próximo dos potenciais de oxidação do 2-CF ($E_{po} = 0,72$ V) e 2,4-DCF ($E_{po} = 0,71$ V), fazendo com o que os picos fossem sobrepostos no momento da análise e o eletrodo identificasse um único pico de alta concentração. Sendo assim, é possível afirmar que o CME proposto na presença de pesticidas clorofenóis não é específico para o analito de interesse, mas é seletivo a esta classe de compostos.

Figura 49. (A) Voltamogramas cíclicos usando o CME em tampão fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0) para os seguintes pesticidas: (a) 2-CF, (b) 2,4-DCF e (c) 2,4,6-TCF. (B) Medidas de SWV expressas em resposta relativa (%), avaliando a corrente de pico de 2,4,6-TCF registrada na ausência (100 %) e na presença de outros pesticidas clorofenóis em concentração 10 vezes maior que o analito.

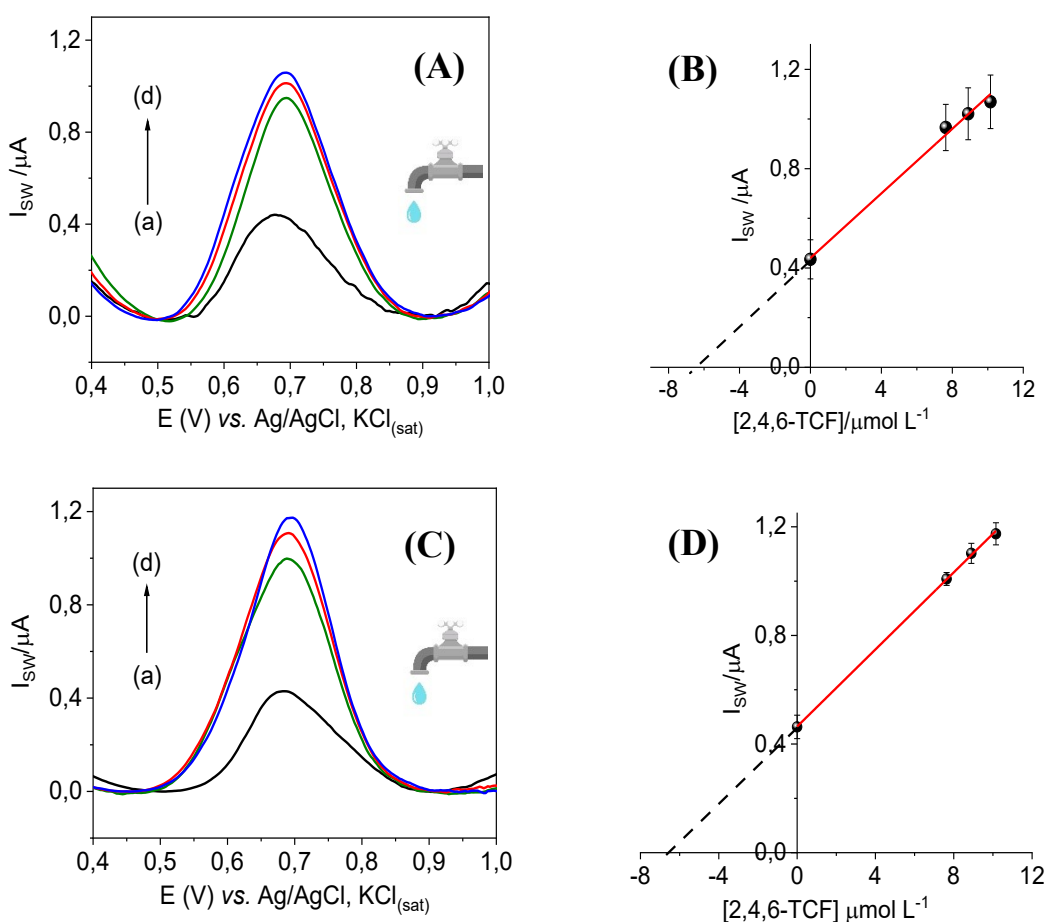


4.3.12 Determinação de 2,4,6-TCF em águas de uso doméstico

Avaliou-se o desempenho da metodologia proposta utilizando o eletrodo AuNPs-Ext-GR/GCE aplicado à análise de 2,4,6-TCF em amostras de águas de uso doméstico (água de torneira), devido este tipo de matriz ser um possível alvo de contaminação por subprodutos de desinfecção. As amostras foram coletadas em dois bairros (Trindade (A) e Itacorubi (B)) localizados na cidade de Florianópolis/SC, sendo posteriormente fortificadas adicionando-se uma alíquota de solução padrão de 2,4,6-TCF $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. A concentração do analito foi quantificada utilizando o CME em solução tampão de fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0) por SWV a partir de curvas de calibração por adição padrão. A Figura 50A mostra os voltamogramas de SWV em triplicata a partir da análise da amostra de água de torneira fortificada (0,5 mL) coletada no bairro A (a), e das adições sucessivas de alíquotas de uma solução padrão de 2,4,6-

TCF nas concentrações de: (b) 7,63, (c) 8,89, e (d) 1,02 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A curva de calibração por adição padrão (Figura 50B) apresentou a seguinte equação linear: $I_{pa} = 0,06 \pm 0,003[2,4,6\text{-TCF}] + 0,44 \pm 0,02$ ($r = 0,997$). A Figura 50C mostra os voltamogramas de onda quadrada obtidos em triplicata a partir da análise da amostra de água de torneira fortificada (0,5 mL) coletada no bairro B (a), e das adições sucessivas de alíquotas de uma solução padrão de 2,4,6-TCF nas concentrações de: (b) 7,63, (c) 8,89, e (d) 1,02 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A curva de calibração por adição padrão (Figura 50D) apresentou a seguinte equação linear: $I_{pa} = 0,07 \pm 0,001[2,4,6\text{-TCF}] + 0,46 \pm 0,009$ ($r = 0,999$). A partir das equações de reta das curvas de calibração de ambas as amostras é possível observar que os coeficientes angulares (0,06 e 0,07) são diferentes daquele obtido com a curva de calibração externa (0,28) na mesma faixa de concentração, o que indica que a matriz da amostra causa uma certa interferência fazendo com que o método de adição de padrão seja o mais indicado para a análise de 2,4,6-TCF em amostras reais.

Figura 50. (A) Voltamogramas de SWV obtidos usando AuNPs-Ext-GR/GCE, em solução tampão de fosfato (0,1 mol L^{-1} , pH 6,0), para a amostra fortificada do bairro A (a) e adições sucessivas de alíquotas de solução padrão 2,4,6-TCF nas seguintes concentrações de (b) 7,63, (c) 8,89 e (d) 1,02 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de calibração por adição de padrão para amostra A. (C) Voltamogramas SWV obtidos para amostra fortificada do bairro B (a) e adições sucessivas de alíquotas de solução padrão 2,4,6-TCF nas seguintes concentrações: (b) 7,63, (c) 8,89 e (d) 1,02 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (D) Curva de calibração por adição de padrão para amostra B.



A Tabela 12 mostra as concentrações de 2,4,6-TCF medidas com o AuNPs-Ext-GR/GCE nas amostras fortificadas (A e B) de águas de torneira. O parâmetro de recuperação foi avaliado para ambas as amostras, comparando a concentração adicionada ($6,41 \mu\text{mol L}^{-1}$) e recuperada da solução padrão de 2,4,6-TCF calculada a partir da equação de reta. A concentração quantificada com o CME foi semelhante a concentração inicialmente adicionada à amostra resultando em excelentes taxas de recuperação (102,03 a 105,61%), além de apresentar baixos valores de RSD (3,86% e 1,42) para as amostras A e B, respectivamente. Isto indica que a metodologia proposta fornece boa precisão e exatidão na determinação de 2,4,6-TCF em amostras reais.

Tabela 12. Estudo de recuperação para o 2,4,6-TCF em amostras de águas de torneira usando AuNPs-Ext-GR/GCE.

CBZ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)				
Amostra	Adicionada	Medida	Recuperação (%)	RSD (%)
A	6,41	$6,77 \pm 0,08^a$	105,61	3,86
B	6,41	$6,54 \pm 0,04^a$	102,03	1,42

^amédia \pm desvio padrão; n=3

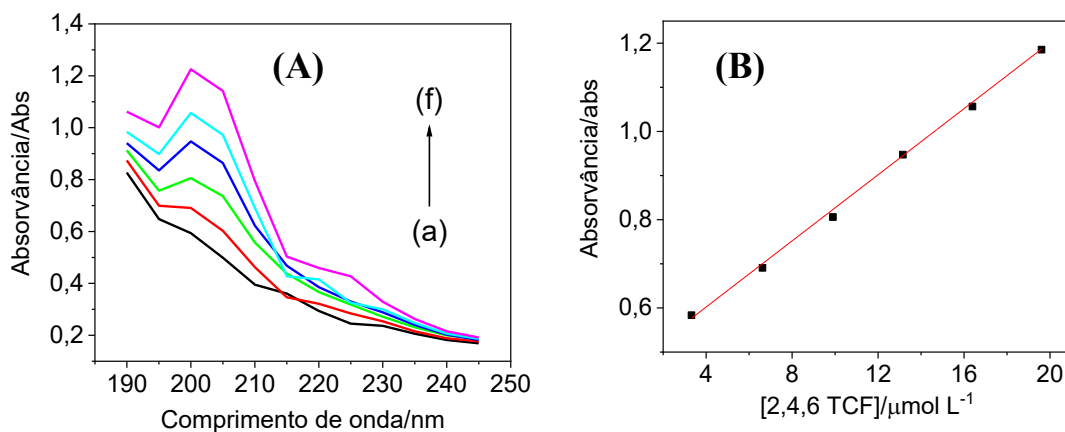
A portaria do Ministério da Saúde nº 888 de 04 de maio de 2021 dispõe sobre o procedimento de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e classifica o composto 2,4,6-TCF como um subproduto de desinfecção que representa risco a saúde, possuindo um valor máximo permitido de 0,2 mg/L para água potável. O menor limite de detecção para o 2,4,6-TCF obtido com o CME proposto foi de 0,18 mg/L, sendo assim a metodologia proposta se mostra adequada para a detecção deste analito em amostras reais de água de abastecimento residencial, podendo ser utilizada como uma ferramenta de monitoramento deste parâmetro de potabilidade da água.

4.3.13 Método comparativo

Para comprovar a exatidão do CME proposto, as amostras de águas de torneira fortificadas foram avaliadas por um método comparativo espectrofotométrico. A curva de calibração externa foi construída a partir da medida de seis alíquotas de solução padrão 2,4,6-TCF em diferentes concentrações (3,32; 6,62; 9,90; 13,20; 16,40 e $19,60 \mu\text{mol L}^{-1}$) em espectrofotômetro na região UV-Vis, utilizando uma cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico. As bandas de absorção foram registradas no comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{máx}}$) de

200 nm, como mostra a Figura 51A. O cálculo da concentração de 2,4,6-TCF foi feito substituindo-se na equação de reta da curva de calibração (Figura 51B) os valores de absorvância obtidos para as amostras fortificadas A e B.

Figura 51. (A) Espectros de absorvância obtidos para 2,4,6-TCF, nas seguintes concentrações: (a) 3,32; (b) 6,62; (c) 9,90; (d) 13,20; (e) 16,40; e 19,60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ por espectrofotometria UV-Vis, em comprimento de onda 200 nm. (B) Curva de calibração externa para 2,4,6-TCF.



A Tabela 13 apresenta a comparação dos resultados obtidos para o teor de 2,4,6-TCF (expresso em $\mu\text{mol L}^{-1}$) nas amostras de águas de uso doméstico fortificadas, usando o método espectrofotométrico e o método eletroanalítico proposto.

Tabela 13. Determinação de 2,4,6-TCF em amostras de águas de uso doméstico aplicando o CME proposto e o método comparativo UV-Vis.

Amostra ^a	Adição	2,4,6-TCF ($\mu\text{mol L}^{-1}$)					
		Método UV-Vis ^b	AuNPs-Ext-GR/GCE	ER ₁ ^c (%)	ER ₂ ^c (%)	t_c	F_c
A	6,41	6,52 ± 0,05	6,77 ± 0,08	3,83	5,61	2,58	2,56
B	6,41	6,50 ± 0,06	6,54 ± 0,04	0,61	2,03	0,69	0,44

^aAmostras de águas de torneira coletadas em Florianópolis-SC e fortificadas com 2,4,6-TCF.

^bMédia ± desvio padrão, n=3

t_c = valor de t calculado e t_f valor teórico (2,92), nível de confiança de 95%

F_c = valor de F calculado e F_t = valor teórico (19,0), nível de confiança de 95%.

^cErro Relativo (ER): ER₁ = CME vs. Método UV-Vis; ER₂ = CME vs. Adicionado.

Os resultados obtidos com o AuNPs-Ext-GR/GCE foram comparados aos dados obtidos com o método comparativo (UV-Vis) aplicando-se os testes t e F (SKOOG et al., 2013). Os valores de F calculado (F_c) foram menores que o F teórico (F_t -19,00) (Tabela 13), indicando que não há diferença significativa entre as variâncias obtidas para ambos os métodos, com um nível de confiança de 95%. Os valores de t calculado (t_c) também foram inferiores ao valor

teórico ($t_t - 2,92$) demonstrando que as concentrações de 2,4,6-TCF quantificadas por ambos os métodos (AuNPs-Ext-GR/GCE e método espectrofotométrico), utilizando a mesma amostra de água fortificada, não possuem diferença significativa em um nível de confiança de 95%. O CME proposto também apresentou baixos erros relativos entre os valores quantificados e o valor de concentração inicialmente adicionado (<10%). Desta forma, pode-se concluir que o método eletroanalítico desenvolvido utilizando o AuNPs-Ext-GR/GCE possui adequada precisão e exatidão na determinação de 2,4,6-TCF em água de uso residencial.

CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho, foi descrito o desenvolvimento de dois eletrodos quimicamente modificados com materiais nanoestruturados, aplicados na determinação de carbendazim e 2,4,6-triclorofenol em amostras de águas naturais e de uso doméstico. O primeiro eletrodo foi desenvolvido a partir da modificação com β -ciclodextrina e nanopartículas de magnetita estabilizadas em ácido ascórbico ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-CD/GCE}$), sendo aplicado na determinação do pesticida carbendazim em amostras de águas de lagoa. O segundo eletrodo foi construído a partir da modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com grafeno e nanopartículas de ouro sintetizadas em extrato de araquá (*Psidium cattleianum*) (AuNPs-Ext-GR/GCE) e aplicado na determinação do pesticida 2,4,6-TCF. Os materiais nanoestruturados e os eletrodos modificados foram devidamente caracterizados através de técnicas espectrofotométricas, voltamétricas e de microscopia eletrônica, e todas as condições experimentais foram otimizadas comprovando o bom desempenho das modificações propostas e adequada precisão e exatidão das metodologias desenvolvidas.

É importante ressaltar as vantagens específicas de cada eletrodo proposto: o $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs-AA-CD/GCE}$ apresentou excelentes resultados em termos de sensibilidade, seletividade e tempo de análise, devido a união das propriedades elétricas e condutoras das nanopartículas de magnetita com a capacidade de reconhecimento supramolecular do β -ciclodextrina. Este eletrodo modificado é o primeiro na literatura a utilizar β CD e nanopartículas de magnetita estabilizadas em ácido ascórbico aplicadas a determinação de pesticidas. O segundo eletrodo (AuNPs-Ext-GR/GCE) teve como foco a utilização de materiais mais ecologicamente sustentáveis e em concordância com os princípios da química verde, no qual o uso de extratos vegetais em síntese se mostra vantajoso pois substitui a necessidade de utilização de compostos tóxicos, além de ser uma opção de baixo custo e de fácil acesso. Deste modo, o segundo trabalho relatou pela primeira vez a síntese de nanopartículas de ouro produzidas em extrato de polpa de araquá e sua aplicação no desenvolvimento de um eletrodo quimicamente modificado.

As modificações propostas apresentaram um aumento significativo no sinal de corrente obtido para os analitos demonstrando um excelente desempenho dos CME nas aplicações propostas, além dos valores adequados de repetibilidade, seletividade, estabilidade e sensibilidade através de valores de limite de detecção na ordem de micromolar. Os CME foram aplicados na determinação dos pesticidas CBZ e 2,4,6-TCF em amostras reais de águas de lagoas e águas de uso doméstico, obtendo excelentes valores de recuperação e estando de acordo com o método comparativo espectrofotométrico. As duas metodologias desenvolvidas apresentaram vantagens significativas como baixo custo, rápido tempo de resposta e a

possibilidade de análise de amostras reais sem a necessidade de tratamento prévio. O AuNPs-Ext-GR/GCE também se mostrou eficaz em detectar o 2,4,6-TCF em níveis de concentração abaixo do limite máximo permitido pelo Ministério da Saúde em águas para consumo humano, demonstrando ser uma ferramenta analítica promissora para monitoramento deste parâmetro de qualidade da água.

REFERÊNCIAS

ABBASI KAJANI, A.; BORDBAR, A.-K. Biogenic magnetite nanoparticles: A potent and environmentally benign agent for efficient removal of azo dyes and phenolic contaminants from water. **Journal of Hazardous Materials**, 366, 268-274, 2019.

ABID, N.; KHAN, A. M.; SHUJAIT, S.; CHAUDHARY, K.; IKRAM, M.; IMRAN, M.; HAIDER, J.; KHAN, M.; KHAN, Q.; MAQBOOL, M. Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, 300, 102597, 2022.

ABRAHAM, P.; S, R.; VIJAYAN, P.; V, N.; SREEVALSAN, K.; ANITHAKUMARY, V. Review—Review on the Progress in Electrochemical Detection of Morphine Based on Different Modified Electrodes. **Journal of The Electrochemical Society**, 167, n. 3, 037559, 2020.

AGUILAR-MÉNDEZ, M. Á.; ESPINOSA-SOLARES, T.; GUERRERO-TOLEDO, F. D. M.; CANSECO-GONZÁLEZ, D.; VELÁZQUEZ-HERNÁNDEZ, A.; AGUILAR-MORENO, G. S.; NAVARRO-CERÓN, E. Synthesis and characterisation of magnetite nanoparticles using gelatin and starch as capping agents. **IET Nanobiotechnology**, 14, n. 1, 94-97, 2020.

AHATI, P.; XU, T.; CHEN, L.; FANG, H. Biosynthesis, characterization and evaluation of anti-bone carcinoma, cytotoxicity, and antioxidant properties of gold nanoparticles mediated by *Citrus reticulata* seed aqueous extract: Introducing a novel chemotherapeutic drug. **Inorganic Chemistry Communications**, 109791, 2022.

AHMAD, A.; GULRAIZ, Y.; ILYAS, S.; BASHIR, S. Polysaccharide based nano materials: Health implications. **Food Hydrocolloids for Health**, 2, 100075, 2022.

AHMAD, W.; CHANDRA BHATT, S.; VERMA, M.; KUMAR, V.; KIM, H. A review on current trends in the green synthesis of nickel oxide nanoparticles, characterizations, and their applications. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, 18, 100674, 2022.

AHMADI, M.; GHOORCHIAN, A.; DASHTIAN, K.; KAMALABADI, M.; MADRAKIAN, T.; AFKHAMI, A. Application of magnetic nanomaterials in electroanalytical methods: A review. **Talanta**, 225, 121974, 2021.

AKASHE, M.; PAWADE, U.; NIKAM, A. CLASSIFICATION OF PESTICIDES: A REVIEW. **International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy**, 9, 144-150, 2018.

AKPOMIE, K. G.; GHOSH, S.; GRYZENHOUT, M.; CONRADIE, J. Ananas comosus peel-mediated green synthesized magnetite nanoparticles and their antifungal activity against four filamentous fungal strains. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2021.

ALSBAIEE, A.; SMITH, B. J.; XIAO, L.; LING, Y.; HELBLING, D. E.; DICHTTEL, W. R. Rapid removal of organic micropollutants from water by a porous β -cyclodextrin polymer. **Nature**, 529, n. 7585, 190-194, 2016.

ALVES FREITAS, A.; CRUZ VIEIRA, I. Detection of Carbendazim in Natural Waters Using a Sensor Based on Magnetite Nanoparticles Modified with Ascorbic Acid/ β -cyclodextrin. **Electroanalysis**.

ANVISA. PROGRAMA DE ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS–PARA. 2019.

AROUA, W.; DERBALI, J.; RAAIF, M.; ABDELMALEK, F. Design of a new label free active biosensor based on metallic nanoparticles-doped graphene nanodisk platform. **Optics Communications**, 515, 128220, 2022.

ARUMUGAM, B.; NAGARAJAN, V.; NATTAMAI PERUMAL, K.; ANNARAJ, J.; KANNAN RAMARAJ, S. Fabrication of wurtzite ZnO embedded functionalized carbon black as sustainable electrocatalyst for detecting endocrine disruptor trichlorophenol. **Microchemical Journal**, 175, 107202, 2022.

ASGARI, S.; NIKKAM, N.; SANIEE, P. Metallic Nanoparticles as promising tools to eradicate H. pylori: A comprehensive review on recent advancements. **Talanta Open**, 6, 100129, 2022.

BAI, X.; ZHANG, T.; LI, H.; YANG, Z. Simultaneous dispersive liquid–liquid microextraction based on a low-density solvent and derivatization followed by gas chromatography for the simultaneous determination of chloroanisoles and the precursor 2,4,6-trichlorophenol in water samples. **Journal of Separation Science**, 39, n. 11, 2146-2155, 2016.

BAO, Y.; HE, J.; SONG, K.; GUO, J.; ZHOU, X.; LIU, S. Plant-Extract-Mediated Synthesis of Metal Nanoparticles. **Journal of Chemistry**, 2021, 6562687, 2021.

BARD, A. J. **Electrochemical methods : fundamentals and applications** / Allen J. Bard, Larry R. Faulkner. New Jersey: John Wiley & Sons, 1980.

BASAVEGOWDA, N.; SOMAI MAGAR, K. B.; MISHRA, K.; LEE, Y. R. Green fabrication of ferromagnetic Fe₃O₄ nanoparticles and their novel catalytic applications for the synthesis of biologically interesting benzoxazinone and benzthioxazinone derivatives. **New Journal of Chemistry**, 38, n. 11, 5415-5420, 2014.

BEIGMORADI, F.; ROHANI MOGHADAM, M.; BAZMANDEGAN-SHAMILI, A.; MASOODI, H. R. Electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer coating on metal–organic frameworks for the selective and sensitive determination of carbendazim. **Microchemical Journal**, 179, 107633, 2022.

BELLAR, T. A.; LICHTENBERG, J. J.; KRONER, R. C. The Occurrence of Organohalides in Chlorinated Drinking Waters. **Journal (American Water Works Association)**, 66, n. 12, 703-706, 1974.

BENJAMIN, S. R.; MIRANDA RIBEIRO JUNIOR, E. J. Chapter 4: GRAPHENE BASED ELECTROCHEMICAL SENSORS FOR DETECTION OF ENVIRONMENTAL POLLUTANTS. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, 100381, 2022.

BOMBARDI, L. M. A geography of agrottoxins use in Brazil and its relations to the European Union. 2019.

BOUMYA, W.; TAOUFIK, N.; ACHAK, M.; BARKA, N. Chemically modified carbon-based electrodes for the determination of paracetamol in drugs and biological samples. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 11, n. 2, 138-154, 2021.

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electrochemistry : principles, methods, and applications**. Oxford : Oxford university press, 1993. ISBN 0198553897

0198553889.

BULEDI, J. A.; SOLANGI, A. R.; MEMON, S. Q.; HAIDER, S. I.; AMEEN, S.; KHAND, N. H.; BHATTI, A.; QAMBRANI, N. Nonenzymatic Electrochemical Detection of 2,4,6-Trichlorophenol Using CuO/Nafion/GCE: A Practical Sensor for Environmental Toxicants. **Langmuir**, 37, n. 10, 3214-3222, 2021.

CAMPANALE, C.; MASSARELLI, C.; LOSACCO, D.; BISACCIA, D.; TRIOZZI, M.; URICCHIO, V. F. The monitoring of pesticides in water matrices and the analytical criticalities: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 144, 116423, 2021.

CHAUDHRY, A.; BASHIR, F.; ADIL, S. F.; SAIF, S.; SHAIK, M. R.; HATSHAN, M. R.; SHAIK, B. Ascorbic acid-mediated Fe/Cu nanoparticles and their application for removal of COD and phenols from industrial wastewater. **Journal of King Saud University - Science**, 34, n. 4, 101927, 2022.

CHAUHAN, C. Contemporary voltammetric techniques and its application to pesticide analysis: A review. **Materials Today: Proceedings**, 37, 3231-3240, 2021.

CHELLY, S.; CHELLY, M.; ZRIBI, R.; GDOURA, R.; BOUAZIZ-KETATA, H.; NERI, G. Electrochemical Detection of Dopamine and Riboflavine on a Screen-Printed Carbon Electrode Modified by AuNPs Derived from Rhanterium suaveolens Plant Extract. **ACS Omega**, 6, n. 37, 23666-23675, 2021.

CHEN, M.; WU, L.; YE, H.; LIANG, N.; ZHAO, L. Biocompatible BSA-AuNP@ZnCo₂O₄ nanosheets with oxidase-like activity: Colorimetric biosensing and antitumor activity. **Microchemical Journal**, 175, 107208, 2022.

CHEN, M.; ZHAO, Z.; LAN, X.; CHEN, Y.; ZHANG, L.; JI, R.; WANG, L. Determination of carbendazim and metiram pesticides residues in rapeseed and peanut oils by fluorescence spectrophotometry. **Measurement**, 73, 313-317, 2015.

CHIU, Y.-H.; SANDOVAL-INSAUSTI, H.; LEY, S. H.; BHUPATHIRAJU, S. N.; HAUSER, R.; RIMM, E. B.; MANSON, J. E.; SUN, Q.; CHAVARRO, J. E. Association between intake of fruits and vegetables by pesticide residue status and coronary heart disease risk. **Environment International**, 132, 105113, 2019.

CID-SAMAMED, A.; RAKMAI, J.; MEJUTO, J. C.; SIMAL-GANDARA, J.; ASTRAY, G. Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. **Food Chemistry**, 384, 132467, 2022.

COBOS CRUZ, L. A.; MARTÍNEZ PEREZ, C. A.; MONREAL ROMERO, H. A.; GARCÍA CASILLAS, P. E. Synthesis of magnetite nanoparticles- β -cyclodextrin complex. **Journal of Alloys and Compounds**, 466, n. 1, 330-334, 2008.

COSSUTTA, M.; VRETENAR, V.; CENTENO, T. A.; KOTRUSZ, P.; MCKECHNIE, J.; PICKERING, S. J. A comparative life cycle assessment of graphene and activated carbon in a supercapacitor application. **Journal of Cleaner Production**, 242, 118468, 2020.

CURULLI, A. Nanomaterials in Electrochemical Sensing Area: Applications and Challenges in Food Analysis. **Molecules**, 25, n. 23, 5759, 2020.

DA COSTA AMARAL, S.; ROUX, D.; CATON, F.; RINAUDO, M.; BARBIERI, S. F.; MEIRA SILVEIRA, J. L. Extraction, characterization and gelling ability of pectins from Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruits. **Food Hydrocolloids**, 121, 106845, 2021.

DAOUSH, W. Co-Precipitation and Magnetic Properties of Magnetite Nanoparticles for Potential Biomedical Applications. **Journal of Nanomedicine Research**, 2017.

DARUICH DE SOUZA, C.; RIBEIRO NOGUEIRA, B.; ROSTELATO, M. E. C. M. Review of the methodologies used in the synthesis gold nanoparticles by chemical reduction. **Journal of Alloys and Compounds**, 798, 714-740, 2019.

DE ALMEIDA LOPES, M. M.; DE OLIVEIRA SILVA, E. Araçá—*Psidium cattleianum* Sabine. In: RODRIGUES, S.; DE OLIVEIRA SILVA, E., *et al* (Ed.). **Exotic Fruits**: Academic Press, 2018. 31-36.

DHILLON, S.; KANT, R. Theory for electrochemical impedance spectroscopy of heterogeneous electrode with distributed capacitance and charge transfer resistance. **Journal of Chemical Sciences**, 129, n. 8, 1277-1292, 2017.

DIVAKARAN, D.; LAKKAKULA, J. R.; THAKUR, M.; KUMAWAT, M. K.; SRIVASTAVA, R. Dragon fruit extract capped gold nanoparticles: Synthesis and their differential cytotoxicity effect on breast cancer cells. **Materials Letters**, 236, 498-502, 2019.

DOBRUCKA, R. Biofabrication of platinum nanoparticles using *Fumariae herba* extract and their catalytic properties. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 26, n. 1, 31-37, 2019.

DOS SANTOS PEREIRA, E.; VINHOLES, J.; C. FRANZON, R.; DALMAZO, G.; VIZZOTTO, M.; NORA, L. *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. **Food Chemistry**, 258, 95-103, 2018.

DURST, R. A. Chemically modified electrodes: Recommended terminology and definitions (IUPAC Recommendations 1997) *J Pure and Applied Chemistry*. 69, n. 6, 1317-1324, 1997.

EDWARDS, G. A.; BERGREN, A. J.; PORTER, M. D. 8 - Chemically Modified Electrodes. In: ZOSKI, C. G. (Ed.). **Handbook of Electrochemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2007. 295-327.

ELGRISHI, 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**, 95, n. 2, 197-206, 2018.

ESCALADA, J. P.; PAJARES, A.; GIANOTTI, J.; MASSAD, W. A.; BERTOLOTTI, S.; AMAT-GUERRI, F.; GARCÍA, N. A. Dye-sensitized photodegradation of the fungicide carbendazim and related benzimidazoles. **Chemosphere**, 65, n. 2, 237-244, 2006.

FABIAN, W. M. F.; JANOSCHEK, R. Thermochemical properties of stable intermediates and derived radicals for the gas-phase formation of 1,3,6,8- and 1,3,7,9-tetrachlorodibenzo-p-dioxins from 2,4,6-trichlorophenol: A computational G3MP2B3 study. **Combustion and Flame**, 145, n. 1, 282-289, 2006.

FREITAS DE FREITAS, L.; VARCA, G. H. C.; DOS SANTOS BATISTA, J. G.; BENÉVOLO LUGÃO, A. An Overview of the Synthesis of Gold Nanoparticles Using Radiation Technologies. **Nanomaterials**, 8, n. 11, 939, 2018.

FURLAN, D. M.; MORGADO, D. L.; OLIVEIRA, A. J. A. D.; FACETO, Â. D.; MORAES, D. A. D.; VARANDA, L. C.; FROLLINI, E. Sisal cellulose and magnetite nanoparticles: formation and properties of magnetic hybrid films. **Journal of Materials Research and Technology**, 8, n. 2, 2170-2179, 2019.

GAETE, J.; MOLINA, L.; ALFARO, I.; YAÑEZ, J.; VALENZUELA, F.; BASUALTO, C. Recovery and separation of rhenium and molybdenum from aqueous solutions that simulate mine waters using magnetite nanoparticles functionalized with amine-derivative groups. **Minerals Engineering**, 136, 66-76, 2019.

GAO, X.; GAO, Y.; BIAN, C.; MA, H.; LIU, H. Electroactive nanoporous gold driven electrochemical sensor for the simultaneous detection of carbendazim and methyl parathion. **Electrochimica Acta**, 310, 78-85, 2019.

GAUTAM, Y. K.; SHARMA, K.; TYAGI, S.; KUMAR, A.; SINGH, B. P. Chapter 6 - Applications of green nanomaterials in coatings. In: SHANKER, U.; HUSSAIN, C. M., *et al* (Ed.). **Green Nanomaterials for Industrial Applications**: Elsevier, 2022. 107-152.

GILJOHANN, D. A.; SEFEROS, D. S.; DANIEL, W. L.; MASSICH, M. D.; PATEL, P. C.; MIRKIN, C. A. Gold nanoparticles for biology and medicine. **Angew Chem Int Ed Engl**, 49, n. 19, 3280-94, 2010.

GLEITER, H. Nanostructured materials: basic concepts and microstructure. **Acta Materialia**, 48, n. 1, 1-29, 2000.

GÓMEZ-GRAÑA, S.; PÉREZ-JUSTE, J.; HERVÉS, P. Cyclodextrins and inorganic nanoparticles: Another tale of synergy. **Advances in Colloid and Interface Science**, 288, 102338, 2021.

GONÇALVES, C. R.; DELABONA, P. D. S. Strategies for bioremediation of pesticides: challenges and perspectives of the Brazilian scenario for global application – A review. **Environmental Advances**, 8, 100220, 2022.

GOPI, P. K.; RAVIKUMAR, C. H.; CHEN, S.-M.; CHEN, T.-W.; ALI, M. A.; AL-HEMAID, F. M. A.; EL-SHIKH, M. S.; ALNAKHLI, A. K. Tailoring of bismuth vanadate impregnated on molybdenum/graphene oxide sheets for sensitive detection of environmental pollutants 2, 4, 6 trichlorophenol. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 211, 111934, 2021.

GOSSER, D. K. Cyclic Voltammetry; Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms. **Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry**, 24, n. 7, 1237-1238, 1994.

GOSWAMI, A. D.; TRIVEDI, D. H.; JADHAV, N. L.; PINJARI, D. V. Sustainable and green synthesis of carbon nanomaterials: A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 9, n. 5, 106118, 2021.

GUMUSTAS, M.; OZKAN, S. A. J. T. O. A. C. J. The Role of and the Place of Method Validation in Drug Analysis Using Electroanalytical Techniques. **The Open Analytical Chemistry Journal**, 5, 1-21, 2011.

HAN, Y.; ZHANG, R.; DONG, C.; CHENG, F.; GUO, Y. Sensitive electrochemical sensor for nitrite ions based on rose-like AuNPs/MoS₂/graphene composite. **Biosensors and Bioelectronics**, 142, 111529, 2019.

HASSAAN, M. A.; EL NEMR, A. Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, 46, n. 3, 207-220, 2020.

HASSAN, R. M. Kinetics of reduction of Se (IV) by vitamin C with green synthesis of cluster-grapes nanoparticles: A Mechanistic approach on electron-transfer of nanoparticle growth rates. **Journal of Molecular Structure**, 1250, 131575, 2022.

HEINEMANN, M. G.; ROSA, C. H.; ROSA, G. R.; DIAS, D. Biogenic synthesis of gold and silver nanoparticles used in environmental applications: A review. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, 30, e00129, 2021.

HUANG, J.-T.; ALQUIER, L.; KAISA, J. P.; REED, G.; GILMOR, T.; VAS, G. Method development and validation for the determination of 2,4,6-tribromoanisole, 2,4,6-tribromophenol, 2,4,6-trichloroanisole, and 2,4,6-trichlorophenol in various drug products using stir bar sorptive extraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry detection. **Journal of Chromatography A**, 1262, 196-204, 2012.

HUSSAIN, I.; SINGH, N. B.; SINGH, A.; SINGH, H.; SINGH, S. C. Green synthesis of nanoparticles and its potential application. **Biotechnology Letters**, 38, n. 4, 545-560, 2016.

HWA, K.-Y.; GANGULY, A.; SANTHAN, A.; KANNA SHARMA, T. S. Vanadium selenide decorated reduced graphene oxide nanocomposite: A co-active catalyst for the detection of 2,4,6 – Trichlorophenol. **Chemosphere**, 282, 130874, 2021.

ILAGER, D.; MALODE, S. J.; SHETTI, N. P. Development of 2D graphene oxide sheets-based voltammetric sensor for electrochemical sensing of fungicide, carbendazim. **Chemosphere**, 303, 134919, 2022.

ILAGER, D.; SEO, H.; KALANUR, S. S.; SHETTI, N. P.; AMINABHAVI, T. M. A novel sensor based on WO₃·0.33H₂O nanorods modified electrode for the detection and degradation of herbicide, carbendazim. **Journal of Environmental Management**, 279, 111611, 2021.

JADON, N.; JAIN, R.; SHARMA, S.; SINGH, K. Recent trends in electrochemical sensors for multianalyte detection – A review. **Talanta**, 161, 894-916, 2016.

JAMIL, A. B. Nonenzymatic Electrochemical Detection of 2,4,6-Trichlorophenol Using CuO/Nafion/GCE: A Practical Sensor for Environmental Toxicants. **Langmuir**, v. 37, n. no. 10, pp. 3214-3222-2021 v.37 no.10, 2021.

JANNATHUL FIRDHOUSE, M.; LALITHA, P. Biogenic Green Synthesis of Gold Nanoparticles and Their Applications – A Review of Promising Properties. **Inorganic Chemistry Communications**, 109800, 2022.

JATOI, A. S.; HASHMI, Z.; ADRIYANI, R.; YUNIARTO, A.; MAZARI, S. A.; AKHTER, F.; MUBARAK, N. M. Recent trends and future challenges of pesticide removal techniques – A comprehensive review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 9, n. 4, 105571, 2021.

JEEVANANDAM, J.; BARHOUM, A.; CHAN, Y. S.; DUFRESNE, A.; DANQUAH, M. K. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. **Beilstein J Nanotechnol**, 9, 1050-1074, 2018.

JIANG, X.; SHI, P.; JIANG, L.; QIU, J.; XU, B.; PAN, Y.; ZHOU, Q. In vivo toxicity evaluations of halophenolic disinfection byproducts in drinking water: A multi-omics analysis of toxic mechanisms. **Water Research**, 218, 118431, 2022.

JUSTINO, C. I. L.; GOMES, A. R.; FREITAS, A. C.; DUARTE, A. C.; ROCHA-SANTOS, T. A. P. Graphene based sensors and biosensors. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 91, 53-66, 2017.

KALIMUTHU, K.; CHA, B. S.; KIM, S.; PARK, K. S. Eco-friendly synthesis and biomedical applications of gold nanoparticles: A review. **Microchemical Journal**, 152, 104296, 2020.

KALRA, S.; DEWAN, P.; BATRA, P.; SHARMA, T.; TYAGI, V.; BANERJEE, B. D. Organochlorine pesticide exposure in mothers and neural tube defects in offsprings. **Reproductive Toxicology**, 66, 56-60, 2016.

KARIMI, S.; SAMIMI, T. Green and simple synthesis route of Ag@AgCl nanomaterial using green marine crude extract and its application for sensitive and selective determination of mercury. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 222, 117216, 2019.

KARMAKAR, S.; SANKHLA, A.; KATIYAR, V. Reversible and biocompatible AuNP-decorated [Zn²⁺]:[Insulin] condensed assembly for potential therapeutic applications. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 173, 106168, 2022.

KAUR, R.; MAVI, G. K.; RAGHAV, S.; KHAN, I. J. I. J. C. M. A. S. Pesticides classification and its impact on environment. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, 8, n. 3, 1889-1897, 2019.

KHAN, Z. U. H.; KHAN, A.; CHEN, Y.; KHAN, A. U.; SHAH, N. S.; MUHAMMAD, N.; MURTAZA, B.; TAHIR, K.; KHAN, F. U.; WAN, P. Photo catalytic applications of gold nanoparticles synthesized by green route and electrochemical degradation of phenolic Azo dyes using AuNPs/GC as modified paste electrode. **Journal of Alloys and Compounds**, 725, 869-876, 2017.

KOZLENKO, D. P.; DUBROVINSKY, L. S.; KICHANOV, S. E.; LUKIN, E. V.; CERANTOLA, V.; CHUMAKOV, A. I.; SAVENKO, B. N. Magnetic and electronic properties of magnetite across the high pressure anomaly. **Scientific Reports**, 9, n. 1, 4464, 2019.

KUMAR, S.; ADARAKATTI, P. **Modified electrodes for sensing**. 2018. ISBN 978-1-78801-583-7.

KUMARI, Y.; KAUR, G.; KUMAR, R.; SINGH, S. K.; GULATI, M.; KHURSHEED, R.; CLARISSE, A.; GOWTHAMARAJAN, K.; KARRI, V. V. S. N. R.; MAHALINGAM, R.; GHOSH, D.; AWASTHI, A.; KUMAR, R.; YADAV, A. K.; KAPOOR, B.; SINGH, P. K.; DUA, K.; PORWAL, O. Gold nanoparticles: New routes across old boundaries. **Advances in Colloid and Interface Science**, 274, 102037, 2019.

LABAN, B.; KOŠANIN, M.; ISIĆ, G.; RALEVIC, U.; MARKOVIĆ, M.; JOKIĆ, A.; VASIĆ, V. Preparation of silver and copper nanoparticles in presence of ascorbic acid and investigation of their antibacterial activity. **University thought - Publication in Natural Sciences**, 7, n. 2, 36-40, 2017.

LADMAKHI, H. B.; CHEKIN, F.; FATHI, S.; RAOOF, J. B. Electrochemical sensor based on magnetite graphene oxide/ordered mesoporous carbon hybrid to detection of allopurinol in clinical samples. **Talanta**, 211, 120759, 2020.

LANDY, D.; MALLARD, I.; PONCHEL, A.; MONFLIER, E.; FOURMENTIN, S. Remediation technologies using cyclodextrins: an overview. **Environmental Chemistry Letters**, 10, n. 3, 225-237, 2012.

LAZAROTTO, J. S.; DA BOIT MARTINELLO, K.; GEORGIN, J.; FRANCO, D. S. P.; NETTO, M. S.; PICCILLI, D. G. A.; SILVA, L. F. O.; LIMA, E. C.; DOTTO, G. L. Application of araçá fruit husks (*Psidium cattleianum*) in the preparation of activated carbon with FeCl₃ for atrazine herbicide adsorption. **Chemical Engineering Research and Design**, 180, 67-78, 2022.

LI, J.; HU, X.; ZHOU, Y.; ZHANG, L.; GE, Z.; WANG, X.; XU, W. β -Cyclodextrin-Stabilized Au Nanoparticles for the Detection of Butyl Benzyl Phthalate. **ACS Applied Nano Materials**, 2, n. 5, 2743-2751, 2019.

LIMA, T.; SILVA, H. T. D.; LABUTO, G.; SIMÕES, F. R.; CODOGNOTO, L. An Experimental Design for Simultaneous Determination of Carbendazim and Fenamiphos by Electrochemical Method. **Electroanalysis**, 28, n. 4, 817-822, 2016.

LIN, Y.-T.; LIANG, C. Carbon Tetrachloride Degradation by Alkaline Ascorbic Acid Solution. **Environmental Science & Technology**, 47, n. 7, 3299-3307, 2013.

LIU, J.; NIU, J.; YIN, L.; JIANG, F. In situ encapsulation of laccase in nanofibers by electrospinning for development of enzyme biosensors for chlorophenol monitoring. **Analyst**, 136, n. 22, 4802-4808, 2011.

LIU, L.; SONG, K.-S.; LI, X.-S.; GUO, Q.-X. Charge-transfer Interaction: A Driving Force for Cyclodextrin Inclusion Complexation. **Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry**, 40, n. 1, 35-39, 2001.

LIU, R.; CHANG, Y.; LI, F.; DUBOVYK, V.; LI, D.; RAN, Q.; ZHAO, H. Highly sensitive detection of carbendazim in juices based on mung bean-derived porous carbon@chitosan composite modified electrochemical sensor. **Food Chemistry**, 392, 133301, 2022.

LIU, R.; LI, B.; LI, F.; DUBOVYK, V.; CHANG, Y.; LI, D.; DING, K.; RAN, Q.; WANG, G.; ZHAO, H. A novel electrochemical sensor based on β -cyclodextrin functionalized carbon nanosheets@carbon nanotubes for sensitive detection of bactericide carbendazim in apple juice. **Food Chemistry**, 384, 132573, 2022.

LIU, X.; LI, Y.; MA, J.; ZHENG, J. High-sensitivity amperometric hydrazine sensor based on AuNPs decorated with hollow-structured copper molybdenum sulfide nanomaterials. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 649, 129479, 2022.

LOPES, L. C.; LIMA, D.; MENDES HACKE, A. C.; SCHVEIGERT, B. S.; CALAÇA, G. N.; SIMAS, F. F.; PEREIRA, R. P.; IACOMINI, M.; VIANA, A. G.; PESSÔA, C. A. Gold nanoparticles capped with polysaccharides extracted from pineapple gum: Evaluation of their hemocompatibility and electrochemical sensing properties. **Talanta**, 223, 121634, 2021.

LOPEZ-CAMPOS, F.; CANDINI, D.; CARRASCO, E.; BERENQUER FRANCÉS, M. A. Nanoparticles applied to cancer immunoregulation. **Reports of Practical Oncology & Radiotherapy**, 24, n. 1, 47-55, 2019.

LUO, J.; LI, S.; WU, Y.; PANG, C.; MA, X.; WANG, M.; ZHANG, C.; ZHI, X.; LI, B. Electrochemical sensor for imidacloprid detection based on graphene oxide/gold nano/ β -cyclodextrin multiple amplification strategy. **Microchemical Journal**, 183, 107979, 2022.

MALIK, M.; NARWAL, V.; PUNDIR, C. S. Ascorbic acid biosensing methods: A review. **Process Biochemistry**, 118, 11-23, 2022.

MALLAKPOUR, S.; JAVADPOUR, M. Effective strategy for the production of novel magnetite poly(vinyl chloride) nanocomposite films with iron oxide nanoparticles double-capped through citric acid and vitamin C. **Journal of Vinyl and Additive Technology**, 23, n. S1, E4-E14, 2017.

MAŤÁTKOVÁ, O.; MICHAILEDU, J.; MIŠKOVSKÁ, A.; KOLOUCHOVÁ, I.; MASÁK, J.; ČEJKOVÁ, A. Antimicrobial properties and applications of metal nanoparticles biosynthesized by green methods. **Biotechnology Advances**, 58, 107905, 2022.

MATIAS, T. P.; CASTRO NETO, T. Z. D.; BOTEZELLI, L.; IMPERADOR, A. M. The best-selling pesticides in Brazil: Implications for the environment and health. **Research, Society and Development**, 10, n. 8, e12110817082, 2021.

MBAYACHI, V. B.; NDAYIRAGIJE, E.; SAMMANI, T.; TAJ, S.; MBUTA, E. R.; KHAN, A. U. Graphene synthesis, characterization and its applications: A review. **Results in Chemistry**, 3, 100163, 2021.

MEDINA, A. L.; HAAS, L. I. R.; CHAVES, F. C.; SALVADOR, M.; ZAMBLIAZI, R. C.; DA SILVA, W. P.; NORA, L.; ROMBALDI, C. V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, 128, n. 4, 916-922, 2011.

MENG, X.-T.; ZHU, D.-J.; JIANG, Y.-H.; CAO, Y.; SI, W.-M.; CAO, J.; LI, Q.-H.; LI, J.; LEI, W. Electrochemical sensing of phenacetin on electrochemically reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode. **New Carbon Materials**, 37, n. 4, 764-772, 2022.

MIE, G. Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. **Annalen der Physik**, 330, n. 3, 377-445, 1908.

MORENO, M. Chapter 7 - Quantum Mechanics and Molecular Mechanics Studies of Host-Guest Stabilization and Reactivity in Cyclodextrin Nanocavities. In: DOUHAL, A. (Ed.). **Cyclodextrin Materials Photochemistry, Photophysics and Photobiology**. Amsterdam: Elsevier, 1, 2006. 155-179.

MORRIN, A. Sensors | Chemically Modified Electrodes☆. In: WORSFOLD, P.; POOLE, C., *et al* (Ed.). **Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)**. Oxford: Academic Press, 2019. 161-171.

MURRAY, R. W. Chemically modified electrodes. **Accounts of Chemical Research**, 13, n. 5, 135-141, 1980.

NAG, A.; MITRA, A.; MUKHOPADHYAY, S. C. Graphene and its sensor-based applications: A review. **Sensors and Actuators A: Physical**, 270, 177-194, 2018.

NAG, A.; SIMORANGKIR, R. B. V. B.; GAWADE, D. R.; NUTHALAPATI, S.; BUCKLEY, J. L.; O'FLYNN, B.; ALTINSOY, M. E.; MUKHOPADHYAY, S. C. Graphene-based wearable temperature sensors: A review. **Materials & Design**, 221, 110971, 2022.

NICULESCU, A.-G.; CHIRCOV, C.; GRUMEZESCU, A. M. Magnetite nanoparticles: Synthesis methods – A comparative review. **Methods**, 199, 16-27, 2022.

NOAH, N. M.; NDANGILI, P. M. Green synthesis of nanomaterials from sustainable materials for biosensors and drug delivery. **Sensors International**, 3, 100166, 2022.

NOURBAKHSI, A.; RAHIMNEJAD, M.; ASGHARY, M.; YOUNESI, H. Simultaneous electro-determination of trace copper, lead, and cadmium in tap water by using silver nanoparticles and graphene nanoplates as nanocomposite modified graphite electrode. **Microchemical Journal**, 175, 107137, 2022.

NOVOSELOV, K. S.; GEIM, A. K.; MOROZOV, S. V.; JIANG, D.; ZHANG, Y.; DUBONOS, S. V.; GRIGORIEVA, I. V.; FIRSOV, A. A. Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. **Science**, 306, n. 5696, 666-669, 2004.

NOVOSELOVA, L. Y. Nanoscale magnetite: New synthesis approach, structure and properties. **Applied Surface Science**, 539, 148275, 2021.

NOYROD, P.; CHAILAPAKUL, O.; WONGSAWAT, W.; CHUANUWATANAKUL, S. The simultaneous determination of isoproturon and carbendazim pesticides by single drop analysis using a graphene-based electrochemical sensor. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 719, 54-59, 2014.

OLABI, A. G.; ABDELKAREEM, M. A.; WILBERFORCE, T.; SAYED, E. T. Application of graphene in energy storage device – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 135, 110026, 2021.

OLIVEIRA, L. C. A.; FABRIS, J. D.; PEREIRA, M. C. Óxidos de ferro e suas aplicações em processos catalíticos: uma revisão. **Química Nova**, 36, 123-130, 2013.

OLUWAFEMI, O. S.; SONGCA, S. P. A simple one-pot environmentally benign synthesis of ascorbic acid-capped CdSe nanoparticles at room temperature. **Materials Letters**, 75, 84-86, 2012.

ÖZCAN, A.; HAMID, F.; ÖZCAN, A. A. Synthesizing of a nanocomposite based on the formation of silver nanoparticles on fumed silica to develop an electrochemical sensor for carbendazim detection. **Talanta**, 222, 121591, 2021.

PALANIYAPPAN, J.; VENUGOPAL, D.; DURAISAMY, E.; BEERAPPA, R. Chapter 1 - Pesticides and human health implications. In: HADI DEHGHANI, M.; KARRI, R. R., *et al* (Ed.). **Pesticides Remediation Technologies from Water and Wastewater**: Elsevier, 2022. 3-21.

PANIS, C.; CANDIOTTO, L. Z. P.; GABOARDI, S. C.; GURZENDA, S.; CRUZ, J.; CASTRO, M.; LEMOS, B. Widespread pesticide contamination of drinking water and impact on cancer risk in Brazil. **Environment International**, 165, 107321, 2022.

PATTNAIK, S.; KUMAR SUTAR, M. Graphene Base Nanocomposites: An overview. **Materials Today: Proceedings**, 18, 5432-5437, 2019.

PEREIRA, E. D. S.; VINHOLES, J. R.; CAMARGO, T. M.; NORA, F. R.; CRIZEL, R. L.; CHAVES, F.; NORA, L.; VIZZOTTO, M. Characterization of araçá fruits (*Psidium cattleianum* Sabine): Phenolic composition, antioxidant activity and inhibition of α -amylase and α -glucosidase. **Food Bioscience**, 37, 100665, 2020.

PETRUCCI, R.; BORTOLAMI, M.; DI MATTEO, P.; CURULLI, A. Gold Nanomaterials-Based Electrochemical Sensors and Biosensors for Phenolic Antioxidants Detection: Recent Advances. **Nanomaterials (Basel)**, 12, n. 6, 2022.

POKROPIVNY, V. V.; SKOROKHOD, V. V. Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science. **Materials Science and Engineering: C**, 27, n. 5, 990-993, 2007.

PORADA, R.; JEDLIŃSKA, K.; LIPIŃSKA, J.; BAŚ, B. Review—Voltammetric Sensors with Laterally Placed Working Electrodes: A Review. **Journal of The Electrochemical Society**, 167, n. 3, 037536, 2020.

POULSON, B. G.; ALSULAMI, Q. A.; SHARFALDDIN, A.; EL AGAMMY, E. F.; MOUFFOUK, F.; EMWAS, A.-H.; JAREMKO, L.; JAREMKO, M. Cyclodextrins: Structural, Chemical, and Physical Properties, and Applications. **Polysaccharides**, 3, n. 1, 1-31, 2022.

POURHASSAN, B.; MEYSAMIE, A.; ALIZADEH, S.; HABIBIAN, A.; BEIGZADEH, Z. Risk of obstructive pulmonary diseases and occupational exposure to pesticides: a systematic review and meta-analysis. **Public Health**, 174, 31-41, 2019.

POURREZA, N.; RASTEGARZADEH, S.; LARKI, A. Determination of fungicide carbendazim in water and soil samples using dispersive liquid-liquid microextraction and microvolume UV–vis spectrophotometry. **Talanta**, 134, 24-29, 2015.

PROCHOWICZ, D.; KORNOWICZ, A.; LEWIŃSKI, J. Interactions of Native Cyclodextrins with Metal Ions and Inorganic Nanoparticles: Fertile Landscape for Chemistry and Materials Science. **Chemical Reviews**, 117, n. 22, 13461-13501, 2017.

RASTOGI, S.; KUMARI, V.; SHARMA, V.; AHMAD, F. J. Gold Nanoparticle-based Sensors in Food Safety Applications. **Food Analytical Methods**, 15, n. 2, 468-484, 2022.

REDDY, G. V. B.; GELPKKE, M. D. S.; GOLD, M. H. Degradation of 2,4,6-Trichlorophenol by *Phanerochaete chrysosporium*: Involvement of Reductive Dechlorination. **Journal of Bacteriology**, 180, n. 19, 5159-5164, 1998.

REKHARSKY, M. V.; INOUE, Y. Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins. **Chemical Reviews**, 98, n. 5, 1875-1918, 1998.

REN, B.; QI, H.; LI, X.; LIU, L.; GAO, L.; CHE, G.; HU, B.; WANG, L.; LIN, X. A novel fluorescent functional monomer as the recognition element in core–shell imprinted sensors responding to concentration of 2,4,6-trichlorophenol. **RSC Advances**, 8, n. 11, 6083-6089, 2018.

REN, S.; ZENG, J.; ZHENG, Z.; SHI, H. Perspective and application of modified electrode material technology in electrochemical voltammetric sensors for analysis and detection of illicit drugs. **Sensors and Actuators A: Physical**, 329, 112821, 2021.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C.; JARDIM, I.; MELO, L. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. **Química Nova**, 27, 771-780, 2004.

ROOK, J. J. W. T.; EXAMINATION. Formation of haloform during chlorination of natural water. **The Handbook of Environmental Chemistry**, 21, 259, 1972.

SAFIAN, M. T.-U.; UMAR, K.; MOHAMAD IBRAHIM, M. N. Synthesis and scalability of graphene and its derivatives: A journey towards sustainable and commercial material. **Journal of Cleaner Production**, 318, 128603, 2021.

SAIYAD, M.; SHAH, N. Nanopolymers in drug delivery system. **Materials Today: Proceedings**, 2022.

SAJID, M. Nanomaterials: types, properties, recent advances, and toxicity concerns. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, 25, 100319, 2022.

SAKTHI PRIYA, T.; NATARAJ, N.; CHEN, T.-W.; CHEN, S.-M.; KOKULNATHAN, T. Synergistic formation of samarium oxide/graphene nanocomposite: A functional electrocatalyst for carbendazim detection. **Chemosphere**, 307, 135711, 2022.

SANI, A.; CAO, C.; CUI, D. Toxicity of gold nanoparticles (AuNPs): A review. **Biochemistry and Biophysics Reports**, 26, 100991, 2021.

SANTHAN, A.; HWA, K. Y.; GANGULY, A. Self-assembled nanorods with reduced graphene oxide as efficient nano-catalyst for dual modality sensing of hazardous phenolic compound. **Chemosphere**, 135715, 2022.

SANTHOSHKUMAR, J.; RAJESHKUMAR, S.; VENKAT KUMAR, S. Phyto-assisted synthesis, characterization and applications of gold nanoparticles – A review. **Biochemistry and Biophysics Reports**, 11, 46-57, 2017.

SANTOS, A. M.; WONG, A.; PRADO, T. M.; FAVA, E. L.; FATIBELLO-FILHO, O.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; MORAES, F. C. Voltammetric determination of ethinylestradiol using screen-printed electrode modified with functionalized graphene, graphene quantum dots and magnetic nanoparticles coated with molecularly imprinted polymers. **Talanta**, 224, 121804, 2021.

SARAVANAN, A.; KUMAR, P. S.; HEMAVATHY, R. V.; JEEVANANTHAM, S.; JAWAHAR, M. J.; NESHAANTHINI, J. P.; SARAVANAN, R. A review on synthesis methods and recent applications of nanomaterial in wastewater treatment: Challenges and future perspectives. **Chemosphere**, 307, 135713, 2022.

SAWAN, S.; MAALOUF, R.; ERRACHID, A.; JAFFREZIC-RENAULT, N. Metal and metal oxide nanoparticles in the voltammetric detection of heavy metals: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 131, 116014, 2020.

SCHOLZ, F. **Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications**. Springer Berlin Heidelberg, 2009. ISBN 9783642029158.

SCHWAB, E. D. P.; DE ALMEIDA, S. V.; FELSNER, M. L.; DE CASTRO, E. G.; GALLI, A. Determination of 2,4,6-TRICHLOROPHENOL in Beverages Using Voltammetry: Optimization and Validation Studies. **Food Analytical Methods**, 13, n. 4, 1000-1007, 2020.

SEBASTIAN, N.; YU, W.-C.; BALRAM, D.; AL-MUBADDEL, F. S.; TAYYAB NOMAN, M. Functionalization of CNFs surface with β -cyclodextrin and decoration of hematite nanoparticles for detection and degradation of toxic fungicide carbendazim. **Applied Surface Science**, 586, 152666, 2022.

SEKOAI, P. T.; OUMA, C. N. M.; DU PREEZ, S. P.; MODISHA, P.; ENGELBRECHT, N.; BESSARABOV, D. G.; GHIMIRE, A. Application of nanoparticles in biofuels: An overview. **Fuel**, 237, 380-397, 2019.

SENGANI, M.; GRUMEZESCU, A. M.; RAJESWARI, V. D. Recent trends and methodologies in gold nanoparticle synthesis – A prospective review on drug delivery aspect. **OpenNano**, 2, 37-46, 2017.

SHABAANI, M.; RAHAIEE, S.; ZARE, M.; JAFARI, S. M. Green synthesis of ZnO nanoparticles using loquat seed extract; Biological functions and photocatalytic degradation properties. **LWT**, 134, 110133, 2020.

SHARMA, A.; SHUKLA, A.; ATTRI, K.; KUMAR, M.; KUMAR, P.; SUTTEE, A.; SINGH, G.; BARNWAL, R. P.; SINGLA, N. Global trends in pesticides: A looming threat and viable alternatives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 201, 110812, 2020.

SHEN, Z.; FAN, Q.; YU, Q.; WANG, R.; WANG, H.; KONG, X. Facile detection of carbendazim in food using TLC-SERS on diatomite thin layer chromatography. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 247, 119037, 2021.

SHI, Y.; ZHANG, Y.; CUI, Y.; SHI, J.; MENG, X.; ZHANG, J.; HE, H. Magnetite nanoparticles modified β -cyclodextrin PolymerCoupled with KMnO₄ oxidation for adsorption and degradation of acetaminophen. **Carbohydrate Polymers**, 222, 114972, 2019.

SILVA, R.; BARROS, K.; PAVÃO, A. Carcinogenicity of carbendazim and its metabolites. **Química Nova**, 37, 2014.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentals of Analytical Chemistry**. Cengage Learning, 2013. ISBN 9781285607191.

SONG, W. C.; KIM, B.; PARK, S. Y.; PARK, G.; OH, J.-W. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using Sargassum horneri extract as catalyst for industrial dye degradation. **Arabian Journal of Chemistry**, 15, n. 9, 104056, 2022.

SONI, S. K.; THOMAS, B.; KAR, V. R. A Comprehensive Review on CNTs and CNT-Reinforced Composites: Syntheses, Characteristics and Applications. **Materials Today Communications**, 25, 101546, 2020.

SOOD, A.; ARORA, V.; SHAH, J.; KOTNALA, R. K.; JAIN, T. K. Ascorbic acid-mediated synthesis and characterisation of iron oxide/gold core-shell nanoparticles. **Journal of Experimental Nanoscience**, 11, n. 5, 370-382, 2016.

SUN, C.; LIU, L.; GUO, C.; SHEN, Y.; PENG, Y.; XIE, Q. Photoelectrochemical biosensing of leukemia gene based on CdS/AuNPs/FeOOH Z-scheme heterojunction and a facile reflective device. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 362, 131795, 2022.

SURESH, I.; SELVARAJ, S.; NESAKUMAR, N.; RAYAPPAN, J. B. B.; KULANDAISWAMY, A. J. Nanomaterials based non-enzymatic electrochemical and optical sensors for the detection of carbendazim: A review. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, 31, e00137, 2021.

SURESH, R.; RAJENDRAN, S.; KUMAR, P. S.; HOANG, T. K. A.; SOTO-MOSCOSO, M.; JALIL, A. A. Recent developments on graphene and its derivatives based electrochemical sensors for determinations of food contaminants. **Food and Chemical Toxicology**, 165, 113169, 2022.

SUSAN PUNNOOSE, M.; BIJIMOL, D.; MATHEW, B. Microwave assisted green synthesis of gold nanoparticles for catalytic degradation of environmental pollutants. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, 16, 100525, 2021.

SZTANDERA, K.; GORZKIEWICZ, M.; KLAJNERT-MACULEWICZ, B. Gold Nanoparticles in Cancer Treatment. **Molecular Pharmaceutics**, 16, n. 1, 1-23, 2019.

TAHA, R. H. Green synthesis of silver and gold nanoparticles and their potential applications as therapeutics in cancer therapy; a review. **Inorganic Chemistry Communications**, 143, 109610, 2022.

TANG, Y.; LONG, X.; WU, M.; YANG, S.; GAO, N.; XU, B.; DUTTA, S. Bibliometric review of research trends on disinfection by-products in drinking water during 1975–2018. **Separation and Purification Technology**, 241, 116741, 2020.

THIPE, V. C.; KARIKACHERY, A. R.; ÇAKILKAYA, P.; FAROOQ, U.; GENEDY, H. H.; KAEOKHAMLOED, N.; PHAN, D.-H.; REZWAN, R.; TEZCAN, G.; ROGER, E.; KATTI, K. V. Green nanotechnology—An innovative pathway towards biocompatible and medically relevant gold nanoparticles. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, 70, 103256, 2022.

THUNDIYIL, J. G.; STOBER, J.; BESBELLI, N.; PRONCZUK, J. Acute pesticide poisoning: a proposed classification tool. **Bull World Health Organ**, 86, n. 3, 205-9, 2008.

TIZRO, N.; MONIRI, E.; SAEB, K.; PANAHI, H. A.; ARDAKANI, S. S. Preparation and application of grafted β -cyclodextrin/thermo-sensitive polymer onto modified Fe₃O₄@SiO₂ nano-particles for fenitrothion elimination from aqueous solution. **Microchemical Journal**, 145, 59-67, 2019.

TORKAMAN-ASADI, M. A.; KOUCHAKZADEH, M. A. Atomistic simulations of mechanical properties and fracture of graphene: A review. **Computational Materials Science**, 210, 111457, 2022.

TROTTA, F.; LOFTSSON, T.; GAUD, R. S.; TRIVEDI, R.; SHENDE, P. Integration of cyclodextrins and associated toxicities: A roadmap for high quality biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**, 295, 119880, 2022.

TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, 11, n. 0, 55-75, 1951.

TYAGI, H.; KUSHWAHA, A.; KUMAR, A.; ASLAM, M. pH-DEPENDENT SYNTHESIS OF STABILIZED GOLD NANOPARTICLES USING ASCORBIC ACID. 10, n. 04n05, 857-860, 2011.

UMER, A.; NAVEED, S.; NAVEED, R.; RAFIQUE, M.; IMRAN, M. A green method for the synthesis of Copper Nanoparticles using L-ascorbic acid. **Matéria (Rio de Janeiro)**, 19, 197-203, 2014.

URÇUK, A.; YILDIZ, C.; ESKIKÖY BAYRAKTEPE, D.; YAZAN, Z. Highly sensitive and disposable electrochemical nano sensor for simultaneous analysis of caffeic acid and uric acid based on halloysite nanotubes and magnetite nanoparticles. **Microchemical Journal**, 181, 107695, 2022.

VENTURINI, C. D. G.; NICOLINI, J.; MACHADO, C.; MACHADO, V. G. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. **Química Nova**, 31, 360-368, 2008.

VINOTH, S.; WANG, S.-F. Modification of glassy carbon electrode with manganese cobalt oxide-cubic like structures incorporated graphitic carbon nitride sheets for the voltammetric determination of 2,4,6-trichlorophenol. **Microchimica Acta**, 189, n. 5, 205, 2022.

WANG, N.; LIU, Q.; HU, X.; WANG, F.; HU, M.; YU, Q.; ZHANG, G. Electrochemical immunosensor based on AuNPs/Zn/Ni-ZIF-8-800@graphene for rapid detection of aflatoxin B1 in peanut oil. **Analytical Biochemistry**, 650, 114710, 2022.

WANG, Q.-B.; ZHANG, C.-J.; YU, H.; ZHANG, X.; LU, Q.; YAO, J.-S.; ZHAO, H. The sensitive "Turn-on" fluorescence platform of ascorbic acid based on conjugated polymer nanoparticles. **Analytica Chimica Acta**, 1097, 153-160, 2020.

WANI, S. U. D.; ALI, M.; MASOODI, M. H.; KHAN, N. A.; ZARGAR, M. I.; HASSAN, R.; MIR, S. A.; GAUTAM, S. P.; GANGADHARAPPA, H. V.; M. OSMANI, R. A. A review on nanoparticles categorization, characterization and applications in drug delivery systems. **Vibrational Spectroscopy**, 121, 103407, 2022.

WEI, L.; HUANG, X.; YANG, J.; WANG, Y.; HUANG, K.; XIE, L.; YAN, F.; LUO, L.; JIANG, C.; LIANG, J.; LI, T.; YA, Y. A high performance electrochemical sensor for carbendazim based on porous carbon with intrinsic defects. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 915, 116370, 2022.

WONG, A.; SANTOS, A. M.; DA FONSECA ALVES, R.; VICENTINI, F. C.; FATIBELLO-FILHO, O.; DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR, M. Simultaneous determination of direct yellow 50, tryptophan, carbendazim, and caffeine in environmental and biological fluid samples using graphite pencil electrode modified with palladium nanoparticles. **Talanta**, 222, 121539, 2021.

XIAO, Z.; ZHANG, Y.; NIU, Y.; KE, Q.; KOU, X. Cyclodextrins as carriers for volatile aroma compounds: A review. **Carbohydrate Polymers**, 269, 118292, 2021.

XU, Z. Fundamental Properties of Graphene. In: (Ed.). **Graphene**, 2018. 73-102.

YANG, C.; GAO, R.; YANG, H. Application of layered nanoclay in electrochemical energy: Current status and future. **EnergyChem**, 3, n. 5, 100062, 2021.

ZAMARCHI, F.; VIEIRA, I. C. Determination of paracetamol using a sensor based on green synthesis of silver nanoparticles in plant extract. **J Pharm Biomed Anal**, 196, 113912, 2021.

ZAMBRANO, G.; SEKRETAREVA, A.; D'ALONZO, D.; LEONE, L.; PAVONE, V.; LOMBARDI, A.; NASTRI, F. Oxidative dehalogenation of trichlorophenol catalyzed by a promiscuous artificial heme-enzyme. **RSC Advances**, 12, n. 21, 12947-12956, 2022.

ZHANG, T.; WANG, L.; GAO, C.; ZHAO, C.; WANG, Y.; WANG, J. Hemin immobilized into metal-organic frameworks as an electrochemical biosensor for 2,4,6-trichlorophenol. **Nanotechnology**, 29, n. 7, 074003, 2018.

ZHAO, W.; WANG, L.; CHEN, H.; QI, L.; YANG, R.; OUYANG, T.; NING, L. Green synthesis, characterization and determination of anti-prostate cancer, cytotoxicity and antioxidant effects of gold nanoparticles synthesized using *Alhagi maurorum*. **Inorganic Chemistry Communications**, 141, 109525, 2022.

ZHAO, X.; LI, H.; HAN, F.; DAI, M.; SUN, Y.; SONG, Z.; HAN, D.; NIU, L. Electrochemical exfoliation of graphene as an anode material for ultra-long cycle lithium ion batteries. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, 139, 109301, 2020.

ZHENG, X.; LIU, S.; HUA, X.; XIA, F.; TIAN, D.; ZHOU, C. Highly sensitive detection of 2,4,6-trichlorophenol based on HS- β -cyclodextrin/gold nanoparticles composites modified indium tin oxide electrode. **Electrochimica Acta**, 167, 372-378, 2015.

ZHU, X.; ZHANG, K.; LU, N.; YUAN, X. Simultaneous determination of 2,4,6-trichlorophenol and pentachlorophenol based on poly(Rhodamine B)/graphene oxide/multiwalled carbon nanotubes composite film modified electrode. **Applied Surface Science**, 361, 72-79, 2016.

ZHU, X.; ZHANG, K.; WANG, D.; ZHANG, D.; YUAN, X.; QU, J. Electrochemical sensor based on hydroxylated carbon nanotubes/platinum nanoparticles/rhodamine B composite for simultaneous determination of 2,4,6-trichlorophenol and 4-chlorophenol. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 810, 199-206, 2018.

ZHU, Z.; HUANG, Z.; HUANG, W.; WEN, H.; ZHANG, J.; WANG, P.; PENG, Y.; LIU, C. Polymer brush-grafted cotton fiber for the efficient removal of aromatic halogenated disinfection by-products in drinking water. **Journal of Colloid and Interface Science**, 597, 66-74, 2021.