



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MAYARA DA SILVA ARAUJO

**SENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO EM ELETRODO DE
CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM QUANTUM DOTS
DE GRAFENO E CARBON BLACK PARA A
DETERMINAÇÃO DO HORMÔNIO 17- α -ETINILESTRADIOL**

Londrina
2021

MAYARA DA SILVA ARAUJO

**SENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO EM ELETRODO DE
CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM QUANTUM DOTS
DE GRAFENO E CARBON BLACK PARA A
DETERMINAÇÃO DO HORMÔNIO 17- α -ETINILESTRADIOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Química da Universidade
Estadual de Londrina, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof^a. Dra. Roberta Antigo
Medeiros

Londrina
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de
Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

A663 Araujo, Mayara da Silva.

Sensor eletroquímico baseado em eletrodo de carbono vítreo modificado com quantum dots de grafeno e carbon black para a determinação de 17- α -etinilestradiol / Mayara da Silva Araujo. - Londrina, 2021.
100 f.: il.

Orientador: Roberta Antigo Medeiros.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2021.

Inclui bibliografia.

1. Sensores Eletroquímicos, quantum dots de grafeno e carbon black, hormônios estrogênicos - Tese. I. Antigo Medeiros, Roberta II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU 54

MAYARA DA SILVA ARAUJO

**SENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO EM ELETRODO DE
CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM QUANTUM DOTS
DE GRAFENO E CARBON BLACK PARA A
DETERMINAÇÃO DO HORMÔNIO 17- α -ETINILESTRADIOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Química da Universidade
Estadual de Londrina, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em Química.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dra. Roberta Antigo
Medeiros
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Bruno Campos Janegitz
Universidade Estadual de São Carlos –
UFSCar

Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 18 de junho de 2021.

Dedico este trabalho, com muito amor e carinho, aos meus pais, José Carlos e Zuleica

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Jesus Cristo por capacitar-me e dar-me forças, fé, serenidade e sabedoria nos momentos mais difíceis.

À Professora Roberta Antigo Medeiros, pela orientação e ensinamento durante minha jornada acadêmica.

Aos meus pais, José Carlos e Zuleica, por toda atenção, paciência e apoio financeiro e emocional.

A todos os meus familiares pelo incentivo e confiança em mim depositados.

Aos amigos de laboratório pelo convívio diário e por tornar tudo mais leve e animado no ambiente de trabalho.

Aos amigos mais que especiais Alexandre Guimarães, Ana Paula Barbosa, Caroline Teixeira, Daniele Tashima, Eduardo Lins, Gabriel Junquetti, Luan Camargo, Luana Rocha, Maiyara Prete, Pedro Nunes, Raul Zanchet e Yara Oliveira pelas discussões científicas, conversas e pelos melhores momentos proporcionados nestes últimos anos.

Aos professores Roberto de Matos e César R. T. Tarley pela colaboração na realização deste trabalho.

Aos professores Bruno C. Janegitz e César R. T. Tarley pela disponibilidade como membros avaliadores desta defesa de mestrado e pelas futuras contribuições enriquecedoras.

Aos órgãos financiadores CAPES, UEL e CNPq.

***“Não é o que o mundo reserva para você,
mas o que você traz para o mundo”***

*Anne with an E (Anne de Green Gables – Lucy
Maud Montgomery)*

..

ARAUJO, Mayara da Silva. **Sensor eletroquímico baseado em eletrodo de carbono vítreo modificado com quantum dots de grafeno e carbon black para a determinação do hormônio 17- α -etinilestradiol**. 2021. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021

RESUMO

No presente trabalho foi desenvolvido um sensor eletroquímico para a determinação do hormônio estrogênio sintético, 17- α -etinilestradiol (EE2), utilizando um eletrodo de carbono vítreo (CV) pré-tratado quimicamente com ácido sulfúrico e modificado pelo método *casting* com uma suspensão contendo quantum dots de grafeno (QDGs), carbon black (CB) e dihexadecilhidrogenofosfato de sódio (DHP). O hormônio EE2 é utilizado em medicamentos contraceptivos, está presente nos ambientes aquáticos e é potencialmente tóxico ao sistema endócrino. O comportamento voltamétrico do sensor eletroquímico foi avaliado empregando a técnica de voltametria cíclica, observou-se um aumento de 83% na intensidade de corrente de pico para a oxidação do EE2, após a modificação do CV com o filme de CB e QDGs, devido, possivelmente, a um aumento de condutividade, área superficial e uma maior interação entre a molécula do composto fenólico e a superfície do sensor. A proporção de QDGs e CB na superfície do eletrodo foi avaliada, uma maior intensidade de pico e definição de pico, para a oxidação do EE2 foi obtida empregando-se uma suspensão contendo 1,0 mg mL⁻¹ de CB e 300 μ L mL⁻¹ de QDGs. Diferentes surfactantes foram avaliados a fim de minimizar os efeitos de adsorção do EE2 e de produtos de sua oxidação na superfície do eletrodo modificado. O surfactante Tween 80 foi o que proporcionou menor desvio padrão relativo (DPR) para as medidas e maior estabilidade para o eletrodo. O efeito do pH do eletrólito suporte também foi avaliado, obtendo-se um melhor comportamento eletroquímico, em termos de maior intensidade de corrente de pico e menor potencial de pico, para a oxidação do EE2, com uma solução de tampão BR 0,04 mol L⁻¹ em pH 4,0. A técnica de voltametria de onda quadrada (VOQ) foi empregada no desenvolvimento do procedimento eletroanalítico para determinação do EE2. A curva analítica obtida apresentou uma faixa dinâmica linear de $9,98 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com um limite de detecção de $9,98 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Estudos de adição e recuperação foram realizados em amostra de água do lago, apresentando uma recuperação de 92,3%. A exatidão do método desenvolvido também foi avaliada por meio da determinação de EE2 em amostra de formulações farmacêuticas. Os resultados obtidos apresentaram concordância estatística com os obtidos utilizando um método cromatográfico comparativo, a um nível de confiança de 95%. Portanto, o sensor eletroquímico desenvolvido apresentou procedimento de construção simples e rápido e o método eletroanalítico para a determinação do EE2 mostrou-se preciso e exato, com baixo consumo de reagentes e baixo custo relativo, podendo ser utilizado na análise de amostras ambientais, como água de rios e lagos e de medicamentos, como as pílulas contraceptivas.

Palavras-chave: sensor eletroquímico; carbono vítreo; quantum dots de grafeno; carbon black; hormônios estrogênios.

ARAUJO, Mayara da Silva. **Electrochemical sensor based on modified with graphene quantum dots and carbon black glassy carbon electrode for determination of hormone 17- α -ethinylestradiol**. 2021. 99 p. Dissertation (Master in Chemistry) – Exact Sciences Center, State University of Londrina, Londrina, 2021

ABSTRACT

In the present work, an electrochemical sensor was developed for the determination of the synthetic estrogen hormone, 17- α -ethinylestradiol (EE2), using a glassy carbon electrode (GCE) chemically pretreated with sulfuric acid and modified by the casting method with a suspension containing graphene quantum dots (GQDs), carbon black (CB) and sodium dihexadecylhydrogen phosphate (DHP). The EE2 hormone is used in contraceptive drugs, it is present in aquatic environments and is potentially toxic to the endocrine system.. The voltametric behavior of electrochemical sensor was evaluated using the cyclic voltammetry technique, an increase of 83% in the peak current intensity for the oxidation of EE2 was observed after modifying the GCE with the CB and GQDs film, possibly due to an increase in conductivity, area surface and a greater interaction between the phenolic compound molecule and the sensor surface. The proportion of GQDs and CB on the electrode surface was evaluated, a higher peak intensity and peak definition for the oxidation of EE2 was obtained using a suspension containing 1.0 mg mL⁻¹ of CB and 300 μ L mL⁻¹ of GQDs. Different surfactants were evaluated, in order to minimize the adsorption effects of EE2 and its oxidation products on the surface of the modified electrode. The surfactant Tween 80 provided the smallest relative standard deviation (RSD) for measurements and greater stability for the electrode. The effect of the pH of the supporting electrolyte was also evaluated, obtaining a better electrochemical behavior, in terms of higher peak current intensity and lower peak potential, for the oxidation of EE2 with a BR buffer solution 0.04 mol L⁻¹ at pH 4.0. The square wave voltammetry (SWV) technique was used in the development of the electroanalytical procedure to determine the EE2. The analytical curve obtained presented a linear dynamic range from 9.98×10^{-7} to 1.0×10^{-5} mol L⁻¹, with a detection limit of 9.98×10^{-7} mol L⁻¹. Addition and recovery studies were carried out on a water sample from the lake, showing a recovery of 92.3%. The accuracy of the developed method was also evaluated through the determination of EE2 in samples of pharmaceutical formulations. The results obtained were in statistical agreement with those obtained using a comparative chromatographic method, at a confidence level of 95%. Therefore, the electrochemical sensor developed presented a simple and fast construction procedure and the electroanalytical method for the determination of EE2 proved to be precise and accurate, with low consumption of reagents and low relative cost, and can be used in the analysis of environmental samples such as water from rivers and lakes and from drugs such as contraceptive pills.

Key-words: electrochemical sensor; glassy carbon; graphen quantum dots; carbon black; estrogen hormones.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Relação entre o tamanho da estrutura dos QDGs e a energia de *band gap*26
- Figura 2** – Excitação eletrônica da BV para a BC e formação de um éxciton **(A)** e comparação entre o raio de Bohr de um éxciton formado e a dimensão de um QD **(B)**27
- Figura 3** – Esquema representativo do processo de fotoluminescência28
- Figura 4** – Estrutura molecular do 17- α -etinilestradiol34
- Figura 5** – Representação esquemática da síntese dos QDGs e modificação do eletrodo de CV46
- Figura 6** – Imagens de MET obtidas com os QDGs **(a)** e com o compósito de QDGs e CB **(b)**.....49
- Figura 7** – Distribuição do tamanho de partícula dos QDGs obtida pela técnica de espalhamento de luz dinâmica.....50
- Figura 8** – Espectros de absorção UV-visível obtidos para as amostras de AC e QDGs. Imagem inserida: Fotografias obtidas para os QDGs e AC na ausência (esquerda) e na presença (direita) de luz negra51
- Figura 9** – Voltamogramas cíclicos obtidos com o CV após os diferentes PTs **(a)**; após os PTs com diferentes proporções de soluções ácidas **(b)** e após o PT químico em diferentes tempos de exposição ao ácido sulfúrico concentrado **(c)**. Parâmetros: faixa de potencial de varredura= -0,5 a 1,3V; $\Delta E_s = 0,01 \text{ V}$; $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ 53
- Figura 10** – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando eletrodo de CV apenas com polimento (-), CB-DHP/CV (-), QDGs-CB-DHP/CV (-) **(a)** avaliação da composição das suspensões de QDGs-CB: QDGs (600 $\mu\text{L mL}^{-1}$)-CB(1,0 mg mL^{-1})-DHP/CV (-), QDGs(300 $\mu\text{L mL}^{-1}$)-CB(1,0 mg mL^{-1})-DHP/CV (-) e QDGs(300 $\mu\text{L mL}^{-1}$)-CB(2,0 mg mL^{-1})-DHP/CV (-) **(b)**. Parâmetros: faixa de potencial de varredura= -0,5V a 1,3V; $\Delta E_s = 0,01\text{V}$; $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$55
- Figura 11** – Estrutura química dos surfactantes: dodecil sulfato de sódio (SDS) e monooleato de sorbitan etoxilados (Tween 80).....56
- Figura 12** – Voltamogramas cíclicos obtidos com 125 $\mu\text{mol L}^{-1}$ do padrão de EE2 em solução de Tampão Britton Robinson 0,04 mol L^{-1} ,

pH=7,0 (20% v/v etanol) como solução eletrólito suporte na ausência de surfactante **(a)** na presença dos surfactantes: SDS 0,02 mol L⁻¹ **(b)** e Tween 80 809 μmol L⁻¹ **(c)**. Parâmetros: faixa de potencial de varredura= -0,5V a 1,3V; ΔE_s = 0,01V; ν = 100 mV s⁻¹ ...58

Figura 13 – Distribuição das espécies de EE2 sobre diferentes valores de pH59

Figura 14 – Mecanismo proposto para o processo de remoção do filme de QDGS-CB-DHP após a adição do surfactante SDS59

Figura 15 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando QDGS-CB-DHP/CV em solução contendo EE2 125 μmol L⁻¹ na presença de 809 μmol L⁻¹ de Tween 80 com diferentes intervalos de tempo de agitação entre as medidas: 3 minutos **(a)**; 4 minutos **(b)** e 5 minutos **(c)** entre as medidas. Eletrólito suporte: solução de tampão Britton Robinson 0,04 mol L⁻¹, pH=7,0. Parâmetros: faixa de potencial de varredura= -0,5V a 1,3V; ΔE_s = 0,01V; ν = 100 mV s⁻¹.....61

Figura 16 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de QDGS-CB-DHP/CV em solução de tampão Britton Robinson 0,04 mol L⁻¹ (20%v/v etanol 809 μmol L⁻¹ de Tween 80) na presença de EE2 120 μmol L⁻¹ em diferentes valores de pH: **(a)** 2,0 (-); 4,0 (-); 6,0 (-); 7,0 (-); 8,0 (-) e 10,0 (-); **(b)** Relação entre pH e as intensidades de corrente de pico para a oxidação do EE2. Parâmetros: faixa de potencial de varredura= -0,5V a 1,3V; ΔE_s = 0,01V; ν = 100 mV s⁻¹ ...62

Figura 17 – Relação entre o potencial de pico (E_{pa}) obtido para o EE2 e o pH da solução de tampão Britton Robinson 0,04 mol L⁻¹.....63

Figura 18 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o QDGS-CB-DHP/CV em solução de tampão Britton Robinson 0,04 mol L⁻¹ (pH=4,0) (20% v/v etanol e 809 μmol L⁻¹ de Tween 80) contendo 500 μmol L⁻¹ de EE2, sob diferentes velocidades de varredura (10 – 300 mV s⁻¹) **(a)**; Relação de I_{pa} versus ν^{1/2} **(b)**. Gráfico inserido: relação de log I_{pa} versus log ν^{1/2}. Parâmetros: faixa de potencial de varredura= -0,5V a 1,3V; ΔE_s = 0,01V64

Figura 19 – Voltamogramas de pulso diferencial **(a)** e de onda quadrada **(b)** obtidos com o eletrodo de QDGS-CB-DHP/CV em solução de tampão Britton Robinson 0,04 mol L⁻¹ (pH=4,0) (20% v/v etanol e

	809 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Tween 80) contendo EE2 120 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Parâmetros: VDP – faixa de potencial de varredura = 0,6 a 1,2V; $\Delta E_s = 10,0 \text{ mV}$; $E_{\text{pulso}} = 0,01\text{V}$; $t_{\text{pulso}} = 0,1\text{s}$ e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. VOQ - faixa de potencial de varredura = 0,6 a 1,2V; $f = 30,0 \text{ s}^{-1}$; $a = 50,0$ mV e $\Delta E_s = 5,0 \text{ mV}$66
Figura 20 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de QDGS-CB-DHP/CV em diferentes valores de frequência de aplicação de pulsos, em solução de tampão BR 0,04 mol L ⁻¹ (pH=4,0) (20% v/v de etanol e 809 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Tween 80) contendo EE2 120 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a) ; Relação entre frequência de aplicação de pulsos e I_{pa} para a oxidação do EE2 (b) . Parâmetros: $a = 80,0 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5,0 \text{ mV}$67	
Figura 21 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de QDGS-CB-DHP/CV em diferentes valores de amplitude de pulsos, em solução de tampão BR 0,04 mol L ⁻¹ (pH=4,0) (20% v/v de etanol e 809 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Tween 80) contendo EE2 120 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a) ; Relação entre amplitude de pulsos e I_{pa} para a oxidação do EE2 (b) . Parâmetros: $f = 30,0 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 5,0 \text{ mV}$68	
Figura 22 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de QDGS-CB-DHP/CV em diferentes valores de incremento de varredura, em solução de tampão BR 0,04 mol L ⁻¹ (pH=4,0) (20% v/v de etanol e 809 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Tween 80) contendo EE2 120 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a) ; Relação entre incremento de varredura e I_{pa} para a oxidação do EE2 (b) . Parâmetros: $f = 30,0 \text{ s}^{-1}$ e $a = 80,0 \text{ mV}$69	
Figura 23 – Curva de Tafel obtida para o sistema eletroquímico empregando QDGS-CB-DHP/CV na presença do hormônio EE270	
Figura 24 – Relação entre E_{pa} e $\log f$ obtida para o sistema eletroquímico empregando QDGS-CB-DHP/CV na presença do hormônio EE272	
Figura 25 – Mecanismo proposto para a reação de eletrooxidação do EE272	
Figura 26 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos empregando o eletrodo de QDGS-CB-DHP/CV em solução de tampão BR 0,04 mol L ⁻¹ , pH=4,0 (20% v/v etanol e 809 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Tween 80) contendo EE2 (a-i): 1,0; 2,0; 4,0; 5,0; 6,9; 8,8; 10,7; 20,2; 29,2; 46,3; 62,2	

$\mu\text{mol L}^{-1}$ **(a)** e curva analítica obtida para o EE2 na faixa dinâmica linear de $1,0 - 10,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ **(b)**. *Gráfico inserido*: Faixa dinâmica avaliada para o EE2. Parâmetros: $f = 30,0 \text{ s}^{-1}$; $a = 80,0 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5,0 \text{ mV}$ 73

Figura 27 - Cromatogramas obtidos para o EE2 (a-g) 10,4; 30,2; 50,0; 69,6; 90,5; 199,0; 400,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (tempo de retenção=4,80 min). Fase móvel: mistura metanol:água 80:20 (v/v); vazão: 1,0 mL min⁻¹; volumes de injeção: 20 μL ; coluna cromatográfica: C18 e detecção UV em comprimento de onda de 220 nm. *Gráfico inserido*: Curva analítica obtida para o EE2 na faixa dinâmica linear de $10,4 - 400,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ 82

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Valores de intensidade de corrente de pico (I_p) e ΔE_p obtidos com o CV após os diferentes PTs e para as diferentes composições das soluções ácidas utilizadas nos PTs químicos.....53
- Tabela 2** – Valores de I_p e ΔE_p obtidos com o CV após os PTs sob diferentes intervalos de tempo de exposição ao ácido sulfúrico concentrado.....54
- Tabela 3** – Valores de corrente de pico e DPR obtidos empregando as técnicas de VPD e VOQ.....66
- Tabela 4** – Procedimentos eletroquímicos reportados para a determinação do EE276
- Tabela 5** – Valores de DPR obtidos nos estudos de repetibilidade intra-dia e entre-dias para o EE2 empregando o QDGs-CB-DHP/CV.....79
- Tabela 6** – Valores de erro relativo obtidos com o estudo de interferente para as proporções 1:1 e 1:10 (EE2:interferente).....80
- Tabela 7** – Resultados obtidos nos estudos de adição e recuperação em amostra de água do lago Ribeirão do Cambé, utilizando o QDGs-CB-DHP/CV.....81
- Tabela 8** – Resultados obtidos na determinação do EE2 em amostra de formulação farmacêutica com os procedimentos voltamétrico e cromatográfico.....82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
UEL	Universidade Estadual de Londrina
<i>a</i>	Amplitude de pulso
α	Coeficiente de transferência de elétrons
AA	Ácido Ascórbico
AC	Ácido cítrico
Adsv	Técnica de voltametria de redissolução adsortiva
AML	Besilato de amiodipina
AU	Ácido Úrico
BC	Banda de condução
BDD	Boron doped Diamond (Diamante dopado com Boro)
BHA	Hidroxianisol butilado
BR	Tampão Britton Robinson
BOT	Botriosferana
BV	Banda de valência
CB	Carbon Black
CE	Contaminante Emergente
Chi	Chitosan (Quitosana)
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLAE-DAD	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de fotodiodos
CLAE-DF	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de fotoluminescência
CLAE-EM/EM	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrômetro de massas sequencial

CLAE-UV	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector espectrofotômetro ultra-violeta
CNFs	Carbon nanofibers (Nanofibras de carbono)
CNTs	Carbon nanotubes (Nanotubos de carbono)
CPE	Carbon Paste Electrode (Eletrodo de Pasta de Carbono)
CTAB	Brometo de hexadeciltrimetilamônio
CV	Carbono vítreo
ΔE_p	Diferença entre E_p anódico e E_p catódico
$\Delta E_{p1/2}$	Largura de meia altura de pico
ΔE_s	Incremento de varredura
DES	Diestilbestrol
DME	Dropping Mercury Electrode (Eletrodo gotejante de mercúrio)
DOP	Dopamina
DPPH	2,2-difenil-1-picrihidrazil
DPR	Desvio Padrão relativo
EDC	Disruptor endócrino
EIE	Espectroscopia de impedância eletroquímica
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
E_p	Potencial de pico
EPA	Environmental Protection Agency
E_r	Erro relativo
E1	Estrona
E2	17- β -estradiol
E3	Estriol
EE2	17- α -etinilestradiol
EQS	Environmental Quality Standard
f	Frequência de aplicação de pulsos

F	Constante de Faraday
FT-IR	Infravermelho por transformada de Fourier
FTO	Fluorine doped tin oxide (Óxido de estanho dopado com flúor)
GNPs	Graphene nanoplates (Nanoplacas de grafeno)
GP	Grafite pirolítico
h^+	Buraco
HQ	Hidroquinona
I_p	Intensidade de corrente de pico
K_{ow}	Coefficiente de partição octanol/água
LAC	Lacase
LD	Limite de detecção
LDS	Laser diffraction spectrometry
LI	Líquido Iônico
LQ	Limite de quantificação
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MIP	Molecularly imprinted polymers
MNZ	Metronidazol
MWCNT	Multi-walled carbon nanotubes (Nanotubos de carbono de múltiplas paredes)
NPs	Nanopartículas
OG	Óxido de grafeno
OGR	Óxido de grafeno reduzido
OSWV	Osteryoung Square Wave Voltammetry
PS	Potato Starch (Amido de batata)
PAH	Poli(cloridrato de alilamina)
PAR	Paracetamol
PVP	Polvinilpirrolidona
PT	Pré-tratamento

QDGs	Quantum dots de Grafeno
R	Constante dos gases ideais
rGO	Óxido de grafeno reduzido
RF	Radiofrequência
RPE	Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica
RSV	Rosuvastatina cálcica
SCV	Starcaise Voltammetry (Voltametria de Escada)
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SPE	Screen Printed Electrode (Eletrodo de carbono impresso)
TBHQ	Terc-butilhidroquinona
Tween 80	Monooleato de sorbitan etoxilados
UCM	Unregulated Contaminant Monitoring
ν	Velocidade de varredura
VC	Voltametria Cíclica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	PRÉ-TRATAMENTOS (PTs) SUPERFICIAIS EM ELETRODOS DE TRABALHO	16
1.2	CARBON BLACK (CB)	21
1.2.1	Aplicação do CB em Sensores Eletroquímicos	22
1.3	QUANTUM DOTS DE GRAFENO (QDGs).....	25
1.3.1	Métodos De Síntese Dos QDGs.....	29
1.3.2	Aplicação Dos QDGs No Desenvolvimento De Sensores Eletroquímicos.....	32
1.4	17- ALFA – ETINILESTRADIOL (EE2).....	34
1.4.1	Desenvolvimento De Sensores Eletroquímicos Para A Determinação Do EE2	37
2	OBJETIVOS	41
2.1	OBJETIVOS GERAIS	41
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	42
3.1	INSTRUMENTAÇÃO.....	42
3.2	REAGENTES QUÍMICOS E MATERIAIS	42
3.3	PREPARO DE SOLUÇÕES	43
3.4	SÍNTESE DOS QDGs.....	44
3.5	FUNCIONALIZAÇÃO QUÍMICA DO CB	44
3.6	LIMPEZA, CONDICIONAMENTO E PRÉ-TRATAMENTOS DO ELETRODO DE CV.....	45
3.7	PREPARO DO SENSOR ELETROQUÍMICO QDGs-CB-DHP/CV.....	45
3.8	PROCEDIMENTO ELETROANALÍTICO	47
3.9	MÉTODO COMPARATIVO PARA A QUANTIFICAÇÃO DO EE2	48
3.10	PREPARO DA AMOSTRA DE ÁGUA DO LAGO E AMOSTRAS DE MEDICAMENTOS.....	48
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1	CARACTERIZAÇÃO SUPERFICIAL DO CB e QDGs.....	50

4.2	EFEITO DOS DIFERENTES PTs NA SUPERFÍCIE DO ELETRODO DE CV	52
4.3	COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO EE2	55
4.4	ESTUDO DA ESTABILIDADE DA RESPOSTA VOLTAMÉTRICA DO CV/DHP- CB-GQDs NA PRESENÇA DE SURFACTANTE	57
4.4.1	Estudo Do Tempo De Agitação Da Solução Entre As Medidas.....	62
4.5	EFEITO DO pH DO ELETRÓLITO SUPORTE	64
4.6	EFEITO DA VELOCIDADE DE VARREDURA.....	66
4.7	AVALIAÇÃO DAS TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS DE PULSO PARA A DETERMINAÇÃO DO EE2	67
4.8	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA TÉCNICA DE VOQ.....	69
4.8.1	Efeito Da Frequência De Aplicação De Pulsos.....	69
4.8.2	Efeito Da Amplitude De Pulso De Potencial	70
4.8.3	Efeito Do Incremento De Varredura.....	71
4.8.4	Determinação Do Número De Elétrons Pelo Estudo De v Na VC	72
4.8.5	Determinação Do Número De Elétrons Pelo Estudo Da Frequência De Aplicação De Pulsos De Potenciais (f) Na VOQ	74
4.9	CONSTRUÇÃO DA CURVA ANALÍTICA PARA EE2.....	75
4.10	ESTUDOS DE INTERFERENTES E EFEITO DE MATRIZ.....	82
4.11	ANÁLISE DE 17-ALFA-ETINILESTRADIOL EM MEDICAMENTOS.....	84
5	CONCLUSÕES	87

1 INTRODUÇÃO

As técnicas eletroanalíticas apresentam baixo custo relativo, baixo consumo de reagentes e, em geral, são de rápida detecção. Se dividem em técnicas coulométricas, condutométricas, eletrogravimétricas, potenciométricas, polarográficas, amperométricas e voltamétricas, sendo que as quatro últimas apresentam maior sensibilidade e precisão (FARIDBOD; GUPTA; ZAMANI, 2011; THAPLIYAL et al., 2016; YANG et al., 2018)

Atualmente, as técnicas voltamétricas estão entre as mais utilizadas, sua instrumentação baseia-se no uso de um potenciostato/galvanostato e uma célula eletroquímica de três eletrodos, sendo um eletrodo de referência, no qual é estabelecido um potencial estável e reprodutível, um eletrodo auxiliar, composto normalmente de um material inerte e um eletrodo de trabalho, transdutor das reações de oxirredução que ocorrem em sua superfície a uma informação elétrica (STRADIOTTO; YAMANAKA; ZANONI, 2003).

O eletrodo gotejante de mercúrio (DME), desenvolvido por Jaroslav Heyrovsky em 1922, foi inicialmente utilizado como eletrodo de trabalho em medidas polarográficas quantitativas e qualitativas de diferentes espécies. No entanto, devido a algumas limitações e a toxicidade do mercúrio, na voltametria, outros eletrodos estão sendo utilizados, principalmente os eletrodos sólidos. Estes podem apresentar formas e tamanhos distintos, podem ser modificados superficialmente, o que possibilita um aumento na seletividade e sensibilidade do método (NUNES; DOS ANJOS; QUINÁIA, 2018).

Entre os materiais mais utilizados como eletrodos de trabalho estão os carbonáceos, tais como, pasta de carbono (CPE), carbono vítreo (CV), grafite pirolítico (GP) e diamante dopado com boro (BDD), estes apresentam como principais características uma ampla janela de potencial e baixa corrente de fundo. (ADARAKATTI; KEMPAHANUMAKKAGARI, 2019; ŠIŠOLÁKOVÁ et al., 2020; ZAIB et al., 2015; TANG et al., 2013) . Por outro lado, dependendo de sua forma e composição, alguns destes eletrodos podem apresentar limitações, como baixa sensibilidade, seletividade e alta adsorção, causando a passivação da superfície. Desse modo, para contornar tais problemas, o uso de diferentes tipos de pré-tratamentos superficiais e a modificação com novos materiais são temas frequentes em muitos estudos reportados na literatura (SUHERMAN et al., 2017).

Entre os pré-tratamentos superficiais mais comuns, estão os eletroquímicos, exposição à radiação eletromagnética na região do ultravioleta (UV) e procedimentos térmicos e mecânicos, tais como aquecimentos e polimentos, os quais providenciam a remoção de produtos adsorvidos na superfície dos eletrodos e produzem grupos hidrofílicos responsáveis pela melhora na performance eletroquímica do sensor (HEIDUSCHKA; DITTRICH, 1992; ZHOU e WIPF, 2001).

Para a modificação dos eletrodos, materiais como nanopartículas metálicas, óxidos metálicos, nanotubos de carbono (NTCs), óxido de grafeno (OG), óxido de grafeno reduzido (OGR), carbon black e quantum dots de óxidos semicondutores e de grafeno (QDGs), estão entre os mais citados na literatura. Estes, em geral, possuem alta estabilidade, grande área superficial e elevada condutividade (SILVA et al., 2020; FARIDBOD; SANATI, 2018).

Em virtude de suas múltiplas vantagens, os materiais utilizados na modificação de eletrodos podem ser combinados, para a formação de nanocompósitos, os quais, em geral, se apresentam na forma de filmes finos, a partir de estratégias envolvendo processos químicos e físicos. Entre estes procedimentos, são apresentados, na literatura, os métodos de coprecipitação, dip coating, electrospining, montagem layer-by-layer, método *casting*, entre outras técnicas (HASNAIN et al., 2018; MEHMOOD et al., 2016) .

Os eletrodos de trabalho, também conhecidos como sensores eletroquímicos são utilizados no desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para a detecção e quantificação de diferentes substâncias, como fármacos, poluentes, aditivos alimentares, entre outros. Uma classe de substâncias que está se destacando e sendo reportada em muitos trabalhos são os chamados contaminantes emergentes (CE), constituintes de produtos de higiene pessoal, medicamentos e produtos agroquímicos, que se encontram em concentrações consideradas elevadas no meio ambiente e são prejudiciais ao organismo humano e animal (STARLING; AMORIM; LEÃO, 2019).

Entre CEs encontram-se os hormônios estrogênicos, como os naturais estrona (E1), o 17- β -estradiol (E2) e o estriol (E3), e o sintético 17- α -etinilestradiol (EE2). Estes, além de serem produzidos naturalmente por mulheres e homens, também são encontrados nos medicamentos contraceptivos utilizados pelas mulheres. Grande parte desses hormônios estrogênicos, produzidos naturalmente e ingeridos, na forma de medicamentos, são eliminados via urina e

fezes e seguem para redes de esgoto (CARBALLA et al., 2004).

Quando em excesso no organismo, esse estrogênios podem ligar-se aos receptores hormonais provocando alterações na forma de comunicação do sistema endócrino e diversos distúrbios à saúde (OLIVEIRA et al., 2015; MA; YATES, 2018; SIEGENTHALER et al., 2017; MARTÍNEZ et al., 2012; MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017).

Ao serem excretados ou descartados inadequadamente, os hormônios são dispostos em recursos hídricos, uma vez que os sistemas de remoção e controle destes contaminantes exigem uma tecnologia de custo elevado, ausente nas redes de tratamento de água. Desse modo, são encontrados nos ambientes aquáticos em níveis de ng L^{-1} , concentração prejudicial ao organismo humano e animal (CUNHA et al., 2016; MILLS et al., 2015; OWEN; JOBLING, 2012; RODRIGUES, 2021; BILA; DEZOTTI, 2007).

Em razão aos malefícios providenciados pelos estrogênios e por sua presença, sob baixas concentrações, em mares, rios e lagos, é essencial o desenvolvimento de metodologias que monitorem rigorosamente estes contaminantes nos recursos hídricos (MARONEZE et al., 2014; CAIS et al., 2021).

Na literatura, são encontrados procedimentos analíticos para a determinação de estrogênios empregando, principalmente, as técnicas cromatográficas, espectrofotométricas e eletroanalíticas. Dentre essas, as técnicas eletroanalíticas apresentam as vantagens de não usarem solventes orgânicos, não necessitarem de um grande consumo de reagentes ou etapas de pré-concentração e limpeza, além de possuírem uma instrumentação com baixo custo relativo (FERREIRA et al., 2020; TORAL et al., 2013; SILVA et al., 2013; SANTOS et al., 2021; MARQUES et al., 2020).

Nesse sentido, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver um sensor eletroquímico baseado em um eletrodo de carbono vítreo funcionalizado por meio de um pré-tratamento químico ácido e posteriormente modificado com um filme compósito de carbon black e QDGs (DHP-CB-QDGs/CV) para a determinação do estrogênio EE2.

1.1 PRÉ-TRATAMENTOS (PTs) SUPERFICIAIS EM ELETRODOS DE TRABALHO

Diferentes tipos de pré-tratamentos vêm sendo realizados na

superfície de eletrodos de trabalho a fim de diminuir processos de adsorção e aumentar a precisão, seletividade e sensibilidade (YUAN et al., 2021; KADARA; JENKINSON; BANKS, 2009). Polarizações eletroquímicas, exposição da superfície do eletrodo a radiação eletromagnética na região do UV, polimentos mecânicos com materiais particulados como a alumina (Al_2O_3) e pasta de diamante, aquecimento, tratamentos com plasma em atmosfera de oxigênio e hidrogênio, além de condicionamentos químico são alguns dos PTs encontrados na literatura (NĚMEČKOVÁ-MAKRLÍKOVÁ et al., 2019; ZHOU; WIPF, 2001; WANG et al., 2019; GONÇALVES et al., 2006; NOTSU et al., 2000; HOFFMANN et al., 2010; DIVYA; SAVITRI; MITRA, 1998; WEI et al., 2007).

De acordo com estudos, os PTs podem eliminar produtos adsorvidos e filmes passivadores da superfície dos eletrodos e promover a formação de grupos hidrofílicos tais como as carbonilas, carboxilas, ésteres e fenóis, os quais podem favorecer a interação entre o eletrodo e a molécula de interesse por aumentar a formação de pontes de oxigênio, transferências protônicas e efeitos eletrostáticos, promovendo uma melhora nas respostas eletroquímicas e um aumento na velocidade de transferência eletrônica. (ZHOU; WIPF, 2001; HEIDUSCHKA; DITTRICH, 1992; CHEN; FRYLING; MCCREERY, 1995).

PTs eletroquímicos, anódicos e catódicos, possuem grande aplicação, principalmente, na ativação superficial de eletrodos de trabalho constituídos de materiais carbonáceos (OLIVEIRA; OLIVEIRA-BRETT, 2010; NĚMEČKOVÁ-MAKRLÍKOVÁ et al., 2019; ANDRADE et al., 2009; NAIK; SWAMY, 2018; MAHANTHESHA; KUMARA SWAMY, 2013).

No PT eletroquímico anódico ocorrem reações de oxidação na superfície do eletrodo, produzindo grupos funcionais contendo átomos de oxigênio, com baixa condutividade e hidrofílicos. No PT eletroquímico catódico, ocorre a hidrogenação da superfície do eletrodo, produzindo grupos com terminações em hidrogênio, hidrofóbicos e altamente condutores (ANDRADE et al., 2009; SUFFREDINI et al., 2004; HAYASHI et al., 1997; MAIER et al., 2000; TAKEUCHI et al., 2005; HOFFMANN et al. 2010).

As modificações superficiais provocadas pelos PTs anódicos e catódicos são dependentes da intensidade e do tempo de polarização, além da natureza e concentração do eletrólito, podendo se utilizar soluções salinas, ácidas, básicas ou tamponantes (LOURENCAO et al., 2020; DIVYA; SAVITRI; MITRA, 1998;

WEI et al., 2007; LEE; ARRIGAN; SILVESTER, 2016).

LOURENCAO et al. (2020) apresentaram uma profunda revisão sobre o uso de PTs eletroquímicos, anódicos e catódicos, em eletrodo de BDD, e suas aplicações eletroanalíticas.

Estudos com PTs eletroquímicos também foram realizados com eletrodos de CPE e CV (MAHANTHESHA; KUMARA SWAMY, 2013; CHETANKUMAR; KUMARA SWAMY, 2020; SUNIL KUMAR NAIK; KUMARA SWAMY, 2018). Mahantesha e Swamy, (2013) utilizaram um CPE pré-tratado eletroquimicamente para a determinação do neurotransmissor dopamina (DOP) na presença de ácido úrico (AU) e ácido ascórbico (AA). O PT foi realizado utilizando a voltametria cíclica (VC), a faixa de potencial de varredura foi de 0,6 a 2,0 V a uma velocidade de 5,0 V s⁻¹ (200 ciclos) em solução de hidróxido de sódio (0,1 mol L⁻¹). Os estudos de caracterização eletroquímica indicaram que após o PT eletroquímico houve um aumento nas intensidades de corrente de pico (I_p) anódica e catódica, além de uma diminuição no valor de ΔE_p e um deslocamento dos potenciais de pico (E_p) para valores menos positivos.

Chetankumar e Swamy, (2020) também realizaram um PT eletroquímico sobre a superfície do eletrodo de CV utilizando a VC. O intervalo de potencial de varredura foi de -0,4 a 1,4 V, a uma velocidade de 50,0 mV s⁻¹ (15 ciclos) em solução de ácido nítrico (0,1 mol L⁻¹). O CV pré-tratado foi empregado na determinação dos compostos benzênicos, catecol e hidroquinona, onde maiores valores de I_p e menor valor de ΔE_p foram obtidos para os sistemas redox de ambos os compostos ao se utilizar o CV pré-tratado eletroquimicamente.

Naik e Swamy, (2018) também reportaram aumento nas intensidades de I_p e menores valores de ΔE_p para o catecol após a realização de um PT no CV utilizando a VC. O intervalo de varredura de potencial foi de -1,2 a 1,5V, a uma velocidade de 100,0 mV s⁻¹ em solução de ácido sulfúrico (1,0 mol L⁻¹).

A ativação superficial dos eletrodos de carbono também pode ser realizada empregando plasmas de oxigênio e hidrogênio.

HOFFMANN et al. (2010) realizaram um PT catódico com plasma de hidrogênio na superfície do eletrodo de BDD. Este foi inicialmente oxidado com uma mistura de ácido sulfúrico e ácido nítrico (3:1) a uma temperatura que variou entre 200 e 215°C por 1,5h. Em seguida, o eletrodo foi exposto ao plasma de hidrogênio induzido por micro-ondas a 800°C por 5 minutos (BDD-PTH). Os estudos de

caracterização eletroquímica empregando o par redox $[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{3-/4-}$ e a técnica de VC apresentaram uma diminuição no valor de ΔE_p após a ativação do eletrodo.

YUAN et al. (2021) submetem um eletrodo de SPE ao PT anódico em plasma de oxigênio utilizando um reator com radiofrequência (RF) de 13-56 MHz. O processo de ativação foi realizado a uma pressão de 20 Pa e um fluxo de oxigênio de $120,0 \pm 3 \text{ cm}^3/\text{minuto}$. Os autores realizaram um estudo das melhores condições de tempo (1,3,5,7 e 10 minutos) e potência de RF (50, 100, 200 e 300 W). Os voltamogramas cíclicos obtidos para o par redox $[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{3-/4-}$ apresentaram um aumento na I_p , um decréscimo no valor de ΔE_p e uma melhor reprodutibilidade após o PT durante 5 minutos empregando uma potência 100 W.

O PT de eletrodos utilizando radiação eletromagnética na região do ultravioleta combinada com ozônio é descrito na literatura como um método de limpeza e uma estratégia para a formação de grupos oxigenados que auxiliam no efeito electrocatalítico (ZHOU e WIPF, 2001; WANG et al., 2019).

WANG et al. (2019) submeteu um SPE a um PT com luz UV utilizando uma lâmpada de mercúrio (Hg) emitindo nos comprimentos de onda de 185 e 254 nm. Esta ficou a 6,0 cm da superfície do eletrodo. Os estudos de caracterização do UV/SPE foram realizados utilizando a técnica de VC e comparados com o SPE modificado com NTCs (NTCs/SPE). Os voltamogramas cíclicos obtidos com o processo de oxirredução do par redox $[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{3-/4-}$ apresentaram um menor valor de ΔE_p após o PT e ao se utilizar o nucleotídeo NADH como sonda eletroquímica, observou-se um aumento no valor de I_p e um deslocamento do E_p para valores menos positivos, quando comparado ao SPE e ao NTCs/SPE. De acordo com os autores, este comportamento indica uma melhora na velocidade de transferência de elétrons causada por grupos oxigenados formados na superfície do eletrodo com a quebra das moléculas de ozônio e a formação de oxigênio atômico.

A ativação da superfície de eletrodos de trabalho com pré-tratamentos químicos envolvendo reações de oxidação, peroxidação, nitração e bromação são encontradas na literatura empregando reagentes como soluções de brometo, peróxido de hidrogênio (H_2O_2), hidróxido de sódio, os ácidos sulfúrico, nítrico, ácido perclórico e tetrahydrofurano (THF) (CARVALHAL; FREIRE; KUBOTA, 2005 ; DIVYA; SAVITRI; MIATRA, 1998 ; WEI et al. 2007; CHOI; JO; YANG, 2013; SANDIER; PANTIER, 1965 ; LEE; ARRIGAN; SILVESTER, 2016).

Entre os tratamentos químicos apresentados, Carvalhal; Freire e Kubota, (2005) desenvolveram um procedimento consistindo na imersão de um eletrodo de ouro (Au) em solução de peróxido de hidrogênio e ácido sulfúrico (solução piranha) por um período de 10 minutos, seguido de seu enxague e sonicação em água ultra-pura por 1 minuto. A performance eletroquímica do eletrodo pré-tratado quimicamente (C/Au) foi avaliada empregando o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{2+/3+}$. De acordo com os autores, houve uma melhora no comportamento eletroquímico após o PT químico, com uma diminuição no valor de ΔE_p comparado ao eletrodo de Au submetido somente ao polimento em partículas de Al_2O_3 . Estes resultados indicam a formação de óxidos de ouro na superfície do eletrodo com a mistura exotérmica da solução piranha.

Divya; Savitri e Mitra, (1998) realizaram um estudo com diferentes PTs, envolvendo aquecimento e reações químicas de nitração, bromação e peroxidação, no CV, a fim de se obter melhores condições para o acoplamento da enzima peroxidase. A avaliação de atividade enzimática apresentou melhores respostas após a peroxidação do CV, este comportamento indica que o PT forneceu grupos hidroxilas suficientes para o acoplamento da enzima.

WEI et al. (2007) realizaram um PT químico seguido de um eletroquímico sobre o eletrodo de CV. O primeiro consistiu na imersão deste em uma solução de NaOH por um determinado período. Tanto a concentração de NaOH quanto o tempo de imersão foram estudados nas faixas de 1,0 a 8,0 mol L⁻¹ e de 10 a 100 minutos, respectivamente. Para o PT eletroquímico, realizou-se uma anodização em solução de hidróxido de sódio (0,5 mol L⁻¹), com um potencial aplicado de 1,2 V, por um período de 20 s. Os estudos voltamétricos utilizando as moléculas de dopamina (DA) e ácido ascórbico (AA) apresentaram uma diminuição nos valores de ΔE_p e um deslocamento do E_{pa} para valores menos positivos, indicando uma melhora na performance eletroquímica e a aproximação para comportamentos redox reversíveis. De acordo com os autores esses resultados foram devido a remoção de ligantes orgânicos passivadores durante o PT químico e a formação de grupos oxigenados durante o PT eletroquímico.

Contudo, novos PTs e estudos de diferentes condições podem ser explorados a fim de obter uma melhor performance eletroquímica dos eletrodos de trabalho. Desse modo, neste trabalho realizou-se um estudo com diferentes tipos de PTs sobre a superfície do CV, a fim avaliar qual destes pode proporcionar uma

melhora significativa em termos de aumento da velocidade de transferência de elétrons e intensidades das correntes de pico anódicas e catódicas.

1.2 CARBON BLACK (CB)

O carbon black (CB) é um material agregado de nanopartículas esféricas constituídas de um arranjo concêntrico de folhas de grafeno. Este material é normalmente produzido a partir da pirólise de fontes ricas em carbono como combustíveis fósseis (gás natural) e seus produtos (piche), além de biomassa e biocombustíveis (KHODABAKHSHI; FULVIO; ANDREOLI, 2020; FAN et al., 2019).

A estrutura do CB consiste em um núcleo amorfo sólido, obtido com o empilhamento de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, o qual é revestido por um conjunto de folhas de grafeno concêntricas e relativamente ordenadas, produzindo uma partícula primária que se funde a outras nanopartículas vizinhas para a formação de um agregado (KHODABAKHSHI; FULVIO; ANDREOLI, 2020; FAN et al., 2019).

As nanopartículas primárias que constituem o agregado de CB apresentam diâmetros que podem variar de 10 nm a 100 nm, conseqüentemente, o movimento individual das folhas de grafeno no interior de uma partícula é limitado, o que impede o maior ordenamento desses planos hexagonais. O CB também possui menores forças de ligação presentes entre as folhas de grafeno empilhadas e um maior espaçamento interplanar, comparado ao material grafite (KHODABAKHSHI; FULVIO; ANDREOLI, 2020).

Apesar das distinções entre os materiais CB e grafite, a região na qual se apresenta uma maior ordem das folhas de grafeno é definida como fase grafitica cristalina e a região do núcleo representa a fase amorfa (KHODABAKHSHI; FULVIO; ANDREOLI, 2020).

Entre as características presentes no CB, são reconhecidas sua baixa densidade, alta resistência mecânica, além de excelentes propriedades elétricas, elevada área superficial e um baixo custo relativo, as quais o tornam um material promissor em diferentes aplicações industriais, como no processo de fabricação de borrachas, pigmentos, materiais anódicos para baterias de íon-lítio, suportes de catalisadores, plásticos e eletrodos (KHODABAKHSHI; FULVIO; ANDREOLI, 2020; DEROCO; ROCHA-FILHO; FATIBELLO-FILHO, 2018);

Além das aplicações industriais, muitos trabalhos reportam a análise das propriedades presentes nos CB e sua contribuição para a performance de produtos comerciais, ademais, também são encontradas pesquisas sobre o desenvolvimento de novos materiais empregando este agregado (SILVA et al., 2020; HAUPTMAN et al. 2012; FARIDA et al. 2019; LACH et al., 2019; ZHANG et al., 2020; AMORNWACHIRABODEE et al., 2018).

No trabalho reportado por HAUPTMAN et al. (2012) estudou-se a condutividade de diferentes classes de CB em pigmentos, sendo tais classes representadas por CB de baixa estrutura ou baixo grau de agregação, CB de alta estrutura e CB de alta estrutura com alta condutividade. A espectroscopia eletrônica de raios X, espectroscopia Raman e espectroscopia de infra-vermelho foram as técnicas utilizadas para a determinação do tamanho dos agregados, sua ordem estrutural e as propriedades químicas nas superfícies do CB, condições que influenciam na condutividade deste agregado em meios polares e apolares. Segundo os autores, o aumento do caráter condutor do CB provém do maior teor de fase gráfica nas partículas, fonte de elétrons π livres no material.

Compósitos cerâmicos de oxycarbeto de silício (SiOC) e CB (SiOC/CB) foram desenvolvidos por SILVA et al. (2020). Neste trabalho, diferentes teores de CB foram incorporados na síntese dos precursores poliméricos, os quais, posteriormente foram submetidos a pirólise sob temperaturas iguais a acima de 1000°C para a formação do material cerâmico. Com respeito ao estudo de caracterização, revelou-se que o CB atuou como fonte de carbono, influenciando na formação de fases semicondutoras de SiC com maior tamanho de cristalito, ainda assim, mantendo a proporção da fase de carbono gráfico na matriz cerâmica de SiOC, ademais, também observou-se o aumento na porosidade do material com a presença deste agregado, favorecendo as propriedades elétricas e catalisadoras da cerâmica, promissora para distintas aplicações eletroquímicas.

1.2.1 Aplicação do CB em sensores eletroquímicos

Como previamente descrito, o CB constitui-se de um aglomerado de nanopartículas esféricas, composto por um arranjo concêntrico de folhas de grafeno, tal estrutura confere condutividade ao material. Desse modo, o tamanho da partícula e o distanciamento entre uma e outra no agregado são condições fundamentais para

a obtenção das propriedades elétricas do CB (KHODABAKHSHI; FULVIO; ANDREOLI, 2020).

Recentemente, muitos trabalhos reportaram o emprego do CB como material para a construção de eletrodos e também em combinações com outros componentes condutores e biológicos para a formação de filmes estáveis na superfície de eletrodos comerciais, capazes de prover aumento na sensibilidade e alcance de baixos limites de detecção (LD) na determinação de substâncias de interesse prejudiciais à saúde e contaminantes ambientais.

No trabalho proposto por ANGELIS et al. (2020), um eletrodo de pasta de CB (CBPE) foi desenvolvido para a determinação simultânea dos antioxidantes terc-butilhidroquinona (TBHQ) e hidroxianisol butilado (BHA) em amostras alimentícias de margarina e maionese e de biocombustível. A performance eletroquímica do CBPE foi investigada empregando a técnica de VC. Segundo o autores, observou-se maiores valores de I_p e maior velocidade na transferência de elétrons para o CBPE quando comparado ao CV. Ademais, a detecção simultânea dos antioxidantes apresentou uma linearidade e um LD semelhante a trabalhos encontrados na literatura, empregando outros materiais, como os nanotubos de carbono, cujo custo é relativamente superior ao CB.

MATTOS et al. (2019) desenvolveram um biossensor utilizando um CBPE modificado com nanopartículas de ouro (AuNPs), enzima lacase e botriosferana, um filme polissacarídeo que providencia a imobilização da enzima ao eletrodo mediante adsorção física (LAC-BOT-AuNPs/CBPE). O mecanismo de detecção do biossensor foi investigado com a hidroquinona (HQ), composto fenólico com comportamento eletroquímico reversível, com a ação catalisadora da enzima lacase. O biossensor apresentou elevada sensibilidade, estabilidade e seletividade para determinação de HQ em amostras de água, urina e creme dermatológico.

SCREMIN et al. (2020), modificaram um eletrodo de CV com uma suspensão de CB e poli-(cloridrato de alilamina) (CB-PAH/CV). O sensor CB-PAH/CV foi utilizado para a determinação simultânea dos medicamentos dopamina (DOP), paracetamol (PAR), rosuvastatina cálcica (RSV) e besilato de amlodipina (AML) e, segundo os autores apresentando uma melhora na velocidade de transferência de elétrons e maior área superficial eletroativa devido ao CB.

JEBRIL et al. (2021) descreveram a construção de um sensor eletroquímico utilizando um eletrodo de carbono sintetizado via processo sol gel

(SNGCE), modificado com AuNPs e CB (CB-AuNPs/SNGCE). O sensor CB-AuNPs/SNGCE foi aplicado na determinação do composto sintético bisfenol A (BPA) e os estudos voltamétricos para a sua oxidação apresentaram um aumento na I_p e um deslocamento do E_p para valores menos positivos após a modificação do AuNPs/SNGCE com CB.

No trabalho de DELGADO et al. (2018) um eletrodo de CV foi modificado com um biofilme de amido de batata (PS) e CB (CB-PS/CV). O comportamento eletroquímico do CB-OS/CV foi avaliado na determinação do antibiótico tetraciclina. De acordo com os autores, observou-se um aumento substancial na área superficial eletroativa do eletrodo, devido às propriedades condutoras dos materiais PS e CB.

Silva; Wong e Filho, 2020 utilizaram um eletrodo de CV modificado com o líquido iônico (LI), tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazólio e nanopartículas de CB (CB-LI/CV) via método *casting* para a determinação do corante alimentício Allura Red em amostras de bebidas em pó. O comportamento eletroquímico do CB-LI/CV foi avaliado empregando a técnica de VC e espectroscopia de impedância eletroquímica com o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. Segundo os autores, observou-se um aumento de 35% na I_p e uma diminuição significativa na resistência a transferência de carga após a modificação do eletrodo com o CB, demonstrando o caráter condutor e a elevada área superficial deste material carbonáceo.

Hwa; Sharma e Karuppaiah, (2019) reportaram o desenvolvimento de um SPE modificado com suspensões de carbeto de tungstênio (WC) e CB. A performance eletroquímica foi avaliada e os voltamogramas cíclicos obtidos para o antibiótico furazolidona, apresentaram maior valor de I_p para o eletrodo de CB/SPE comparado ao SPE não modificado, um comportamento proveniente da presença de sítios ativos na superfície e elevada área superficial das nanopartículas de CB.

Portanto, é possível observar o desenvolvimento de diferentes arquiteturas para sensores eletroquímicos empregando o CB, individualmente ou em combinação com outros componentes para a formação de compósitos que auxiliem na condutividade, reatividade, seletividade e aumento da área superficial (KHODABAKHSHI; FULVIO; ANDREOLI, 2020).

1.3 QUANTUM DOTS DE GRAFENO (QDGs)

Os quantum dots (QDs) são estruturas nanométricas semicondutoras que apresentam propriedades ópticas e eletrônicas únicas e estão sendo utilizados em diversas áreas de pesquisa, inclusive na eletroquímica e eletroanalítica. (SUMANTH KUMAR; JAI KUMAR; MAHESH, 2018).

Ao que concerne a produção dos QDs, estes podem ser formados a partir de elementos como silício e germânio, de materiais semicondutores como PbS, PbSe, CdSe, CdTe, SnO₂, entre outros compostos nanocristalinos, além de fontes de carbono como o grafeno (HUANG et al., 2017; LU et al., 2018; SURANA et al., 2014; GUPTA et al., 2017; DONG et al., 2012).

Os quantum dots de grafeno (QDGs) são fragmentos do grafeno, cujas dimensões podem variar entre 2 nm a 20 nm. Estes materiais vêm se destacando devido a sua alta área superficial, elevada estabilidade química, baixa toxicidade e por apresentarem grupos carboxilas localizadas nas extremidades de sua estrutura, o que contribui para uma maior solubilidade em meio aquoso (ZHU et al., 2015; FARIDBOD; SANATI, 2018; GEVAERD et al., 2019).

Os QDGs, devido às suas dimensões, apresentam densidade de estados de energia quantizados discretos semelhantes a átomos e moléculas simples, o que os tornam conhecidos como “átomos artificiais” como descrito em alguns trabalhos (SUMANTH KUMAR; JAI KUMAR; MAHESH, 2018; BERA et al., 2010; FARIDBOD; SANATI, 2018).

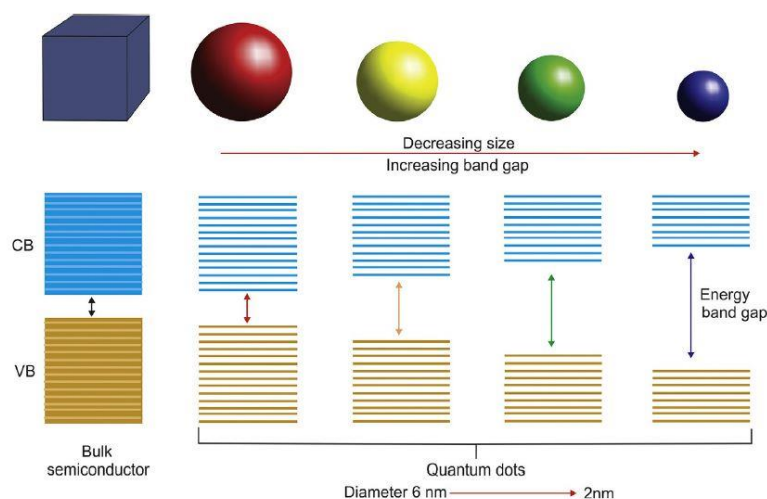
Assim como para os semicondutores, os QDGs possuem um conjunto de níveis eletrônicos de menor energia conhecido como banda de valência (BV), um conjunto de níveis eletrônicos de maior energia conhecido como banda de condução (BC) e uma barreira energética entre estas bandas, denominada *band gap*. Essa estrutura eletrônica dos QDGs é de grande importância para a compreensão das suas propriedades, tais como a formação de portadores de cargas e a produção de fotoluminescência (SUMANTH KUMAR; JAI KUMAR; MAHESH, 2018; BERA et al., 2010).

Embora possuam características eletrônicas semelhantes aos semicondutores, estes materiais possuem uma quantidade menor de níveis de energia e elétrons dispostos em sua estrutura devido a suas dimensões nanométricas. Ademais, os QDGs possuem um movimento eletrônico limitado, uma

vez que o tamanho do material é comparável ao comprimento de onda apresentado pelo movimento do elétron, este comportamento é denominado efeito de confinamento quântico e explica a dependência mútua entre as condições eletrônicas e estruturais dos QDGs (SUMANTH KUMAR; JAI KUMAR; MAHESH, 2018; FARIDBOD; SANATI, 2018; BERA et al., 2010; ZHU et al., 2017).

Além do efeito de confinamento quântico, é conhecido que a diminuição da estrutura resulta em um aumento substancial na diferença de energia entre os níveis eletrônicos. Neste sentido, os QDGs apresentam um valor de *band gap* maior quando comparado aos semicondutores macroscópicos. Além disso, os QDGs possuem uma variedade de tamanhos e formas e, conseqüentemente, uma variação na energia de *band gap* como representado na Figura 1 (SUMANTH KUMAR; JAI KUMAR; MAHESH, 2018; BERA et al., 2010; NEIKOV; YEFIMOV, 2019; BENÍTEZ-MARTÍNEZ; VALCÁRCEL, 2014; FARIDBOD; SANATI, 2018; FACURE et al., 2020).

Figura 1 – Relação entre o tamanho da estrutura dos QDGs e a energia de *band gap*



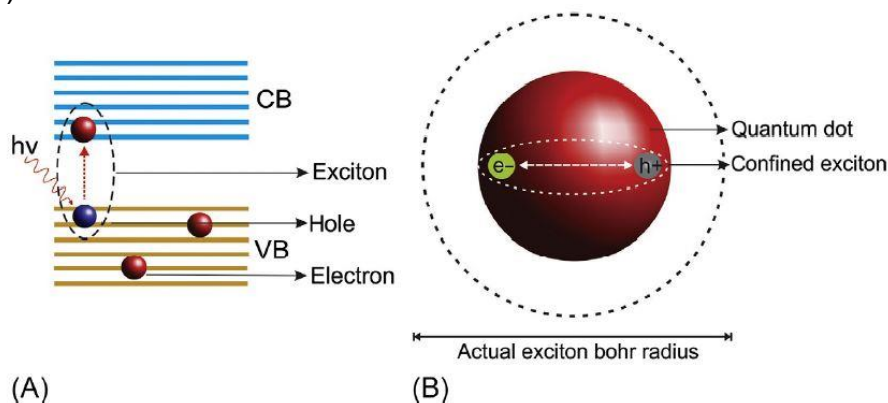
Fonte: Kumar; Kumar and Mahesh (2018, p. 62)

Em relação às propriedades singulares dos QDGs, para que se compreenda como são formados os portadores de carga em sua estrutura, é necessário entender que, em teoria, a uma temperatura de 0K, as BV estarão completamente preenchidas em elétrons e as BC estarão vazias. Assim, quando um elétron presente na BV é excitado a partir de uma energia térmica ou pela absorção de um fóton com energia igual ao superior ao valor de *band gap*, este é transferido

para a BC produzindo um orifício instável e carregado (h^+) (“buraco”) na BV (Figura 2-a). Desse modo, a combinação, entre elétrons na BC e os “buracos”, formam pares de portadores de cargas, os quais, em conjunto com a elevada área superficial que estes materiais apresentam, catalisam as reações de oxirredução na superfície dos sensores eletroquímicos (SUMANTH KUMAR; JAI KUMAR; MAHESH, 2018; BERA et al., 2010; FARIDBOD; SANATI, 2018).

A distância entre os elétrons na BC e os buracos na BV são conhecidos como raio de Bohr éxciton (Figura 2-b). Para os QDs, quando a dimensão do material é próxima ou menor que o raio de Bohr éxciton, os elétrons e os buracos exercem uma fraca interação entre si conhecida como “éxciton” (Figura 2-b), nessa condição, as bandas de energia tornam-se níveis discretos, semelhantes aos níveis atômicos e proporciona uma limitação no movimento do elétron (efeito de confinamento quântico) (SUMANTH KUMAR; JAI KUMAR; MAHESH, 2018; BEARD et al., 2013; NEIKOV; YEFIMOV, 2019; FARIDBOD; SANATI, 2018).

Figura 2 – Excitação eletrônica da BV para a BC e formação de um éxciton (A) e comparação entre a raio de Bohr de um éxciton formado e a dimensão de um QD (B)



Fonte: Kumar; Kumar and Mahesh (2018, p. 62)

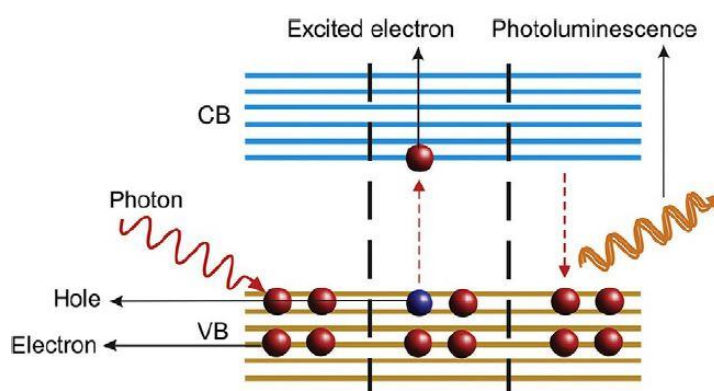
Uma das propriedades dos QDGs é a capacidade de múltipla geração de éxcitons com apenas um fóton que possua energia superior ao valor de *band gap*. Este comportamento é singular, uma vez que para semicondutores com estruturas macroscópicas, um fóton é capaz de excitar apenas um elétron para a BC, formando somente um éxciton, portanto, qualquer energia que supere o *band gap*, nestes materiais, é perdida na forma de calor ao longo da estrutura. Assim, esta característica incomum presente nos QDGs os tornam materiais com grande eficiência para aplicação em células solares (SUMANTH KUMAR; JAI KUMAR;

MAHESH, 2018; BEARD et al., 2013; GOODWIN et al., 2018).

A segunda propriedade singular dos QDGs é a fotoluminescência, responsável pela variedade de cores que estes materiais possuem (SUMANTH KUMAR; JAI KUMAR; MAHESH, 2018; FACURE et al., 2020; LAI et al., 2020; BENÍTEZ-MARTÍNEZ; VALCÁRCEL, 2014; FARIDBOD; SANATI, 2018).

O processo de fotoluminescência ocorre quando um elétron excitado, é promovido da BV para a BC e, posteriormente, recombina-se retornando ao seu estado fundamental na BV, emitindo energia na forma de irradiação visível (Figura 3). A luz emitida pelos QDGs é o resultado da combinação entre a energia de *band gap*, a energia de confinamento do elétron e do buraco formado durante a promoção eletrônica e a energia da interação coulombica entre os portadores de carga para a formação do éxciton (SUMANTH KUMAR; JAI KUMAR; MAHESH, 2018; FACURE et al., 2020).

Figura 3 – Esquema representativo do processo de fotoluminescência para os QDs



Fonte: Kumar; Kumar and Mahesh (2018, p. 62)

Considerando que a energia de irradiação emitida pelos QDGs é dependente do valor de *band gap* e que esta barreira presente entre os níveis eletrônicos varia com o tamanho e forma do material, para QDGs menores, a energia emitida é elevada e sua coloração aproxima-se do azul. Para QDs maiores a energia emitida é baixa e a coloração destes materiais aproxima-se do vermelho. A relação entre o tamanho e a cor dos QDs pode ser observada na Figura 1 (SUMANTH KUMAR; JAI KUMAR; MAHESH, 2018; FARIDBOD; SANATI, 2018; LAI et al., 2020).

Além do uso em sensores eletroquímicos e células solares, os QDs

também são promissores na produção de LEDs, monitores, membranas bactericidas, bioimagens, entre outros dispositivos ópticos e eletrônicos (SUMANTH KUMAR; JAI KUMAR; MAHESH, 2018; BAGHERI et al., 2017; SAMSUNG, 2016; LIU et al., 2020b; LUK et al., 2012; ZHAO et al., 2020; KUMAR et al., 2020; ZENG et al., 2016).

1.3.1 Métodos de síntese dos QDGs

Nos últimos anos, foram realizados muitos estudos para o desenvolvimento de diferentes rotas de síntese dos QDGs. Estes métodos são classificados em métodos top-down (estratégias de corte) e métodos bottom-up (estratégias de pirólise ou carbonização). (FARIDBOD; SANATI, 2018; BENÍTEZ-MARTÍNEZ; VALCÁRCEL, 2014; BRADLEY et al., 2017; KARGOZAR et al., 2020; DONG et al., 2012; LIU et al., 2020; TAJIK et al., 2020).

As estratégias de síntese top-down consistem na quebra ou decomposição de materiais carbonáceos maiores para a formação dos materiais nanoestruturados como os QDGs. Para o desenvolvimento deste método, são necessários precursores que apresentem grandes estruturas de carbono como o óxidos de grafeno (OG), nanotubos de carbono, grafite, carbon black, diamantes, entre outros (LIU et al., 2020a).

Os procedimentos mais conhecidos envolvem clivagens oxidativas, métodos hidrotérmicos, ultrassons e microondas e oxidação eletroquímica (CHEN et al., 2018; FARIDBOD; SANATI, 2018; ZHU et al., 2017).

Um procedimento de síntese top-down envolvendo clivagem oxidativa foi descrito por LIU et al. (2015). Neste trabalho, utilizou-se carbon black Vulcan XC 72, como material precursor, em conjunto com ácido nítrico concentrado, para a decomposição da estrutura carbônica. A mistura foi mantida sobre refluxo, aquecida para a remoção do ácido nítrico e posteriormente, submetida ao processo de centrifugação e filtração. Os QDGs obtidos apresentaram um alto rendimento e um elevado poder fotoluminescente multicolorido ao serem excitados sobre diferentes comprimentos de onda.

SU et al. (2020) desenvolveram um procedimento hidrotérmico para a produção de QDGs dopados com nitrogênio (N-QDGs). Na síntese, foram utilizados o OG como precursor, etilenodiamina como um agente redutor, fonte de

nitrogênio para a dopagem e peróxido de hidrogênio, responsável pela decomposição oxidativa do OG. Todos foram dispersos em água ultrapura e transferidos para uma autoclave de teflon. Os N-QDGs produzidos apresentaram uma estável fluorescência, na região azul do espectro eletromagnético, e uma excelente biocompatibilidade, sendo promissor no ramo de pesquisas em bioimagens (SU et al., 2020).

LI et al. (2017) prepararam QDGs dopados com fósforo (P-QDGs) empregando um método eletroquímico. Uma haste de grafite foi utilizada como eletrodo de trabalho e material precursor, um fio de platina como eletrodo auxiliar e uma solução de fitato de sódio foi empregada como fonte de fósforo e eletrólito suporte. A síntese foi realizada aplicando um potencial constante de 5,0 V por um período de 12 horas. A fim de se avaliar a potencialidade dos P-QDGs na absorção dos radicais $\cdot\text{OH}$ e 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), foram utilizadas solução de H_2O_2 e uma solução de DPPH em metanol, as quais foram monitoradas com a técnica de espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE). Os P-QDGs produzidos apresentaram alta capacidade na adsorção dos radicais $\cdot\text{OH}$ e 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, além disso, o material apresentou propriedades de anti-erosão, sendo promissor para aplicações em materiais poliméricos e biomédicos.

Portanto, as estratégias de síntese top-down, para os QDGs, possuem muitos benefícios e envolvem metodologia simples e a abundância em materiais precursores disponíveis. Porém, o controle sobre a síntese e o rendimento são baixos (CHEN et al., 2018; FARIDBOD; SANATI, 2018).

Ao contrário dos procedimentos de síntese top-down, as rotas de síntese bottom-up empregam pequenas estruturas carbônicas, tais como a glucose e o ácido cítrico, estes são capazes de sofrer uma série de reações químicas para a formação de estruturas maiores (CHEN et al., 2018; FARIDBOD; SANATI, 2018).

Os procedimentos mais conhecidos na literatura envolvem métodos que empreguem irradiação por microondas, métodos hidrotérmicos e de carbonização (CHEN et al., 2018; FARIDBOD; SANATI, 2018).

Um método de síntese bottom-up envolvendo o processo hidrotérmico foi desenvolvido por BIAN et al. (2017). QDGs dopados com enxofre (S-QDGs) foram preparados utilizando o composto fenólico 1,3,6-trinitropireno como precursor e o ácido mercaptopropiônico como fonte de enxofre. Os S-QDGs obtidos foram submetidos ao processo de filtração e diálise, sendo posteriormente utilizados

para a detecção fluorescente de íons prata em amostras de água.

YAO et al. (2020) sintetizaram QDGs utilizando irradiação por microondas, os autores empregaram uma solução aquosa de glucose como precursor em mistura com etilenoglicol. A mistura foi aquecida em um reator de microondas sob potência de 800 W por 9 minutos e o produto obtido foi resfriado ao escuro, em temperatura ambiente, por 2 horas e posteriormente filtrada, dialisada por 48 horas e liofilizada por 24 horas. Os QDGs foram aplicados na detecção fluorescente de íons Al^{3+} .

Uma estratégia de síntese bottom-up envolvendo a carbonização de precursores orgânicos consiste na pirólise do ácido cítrico. Este procedimento foi desenvolvido por DONG et al. (2012) e consiste no aquecimento do ácido cítrico, a uma temperatura de 200°C, por 30 minutos. O ácido cítrico é inicialmente liquefeito e sua aparência incolor é convertida para um amarelo claro e com o passar do tempo se torna alaranjada, aspecto físico que indica a formação dos QDGs.

Subsequentemente, para a obtenção de uma suspensão, o produto da carbonização é lentamente disperso em solução de NaOH (10 mg mL^{-1}) sob vigorosa agitação. Segundo os autores, o aquecimento do ácido cítrico por um período de 2 horas resulta na carbonização completa do precursor produzindo o OG e a obtenção do material é evidenciada pela coloração escura do produto.

Os QDGs obtidos a partir do processo de pirólise do ácido cítrico são empregados em diferentes aplicações, em muitos trabalhos há algumas alterações no procedimento de síntese visando a dopagem e modificação, a fim de melhorar suas propriedades elétricas e fotoluminescentes (BENÍTEZ-MARTÍNEZ; VALCÁRCEL, 2014; CHEN et al., 2017; NAGHSHBANDI et al., 2018; RAHIMI; YAZDANI, 2018; ZHANG et al., 2018).

No trabalho proposto por BENÍTEZ-MARTÍNEZ and VALCÁRCEL, (2014), os QDGs, obtidos por pirólise do ácido cítrico, foram utilizados em um nanosensor fotoluminescente para compostos fenólicos em óleo de oliva. De acordo com os autores, a rede aromática situada na superfície dos QDGs possui uma interação de empilhamento dipolo-dipolo com os grupos fenóis, constituintes do óleo de oliva. Ademais, também existem interações não covalentes, tais como ligações de hidrogênio, entre os compostos aromáticos e os grupos oxigenados localizados nas extremidades dos QDs, capazes de exercerem uma transferência de carga na qual os QDGs são os doadores, tal mecanismo providencia a diminuição na

intensidade fotoluminescente dos nanomateriais, proporcional a concentração de grupos fenólicos, de modo a tornar possível o desenvolvimento de um método de análise sensível, reproduzível e de fácil execução.

Portanto, é possível obter QDGs por diferentes metodologias de síntese, constituídas de estratégias simples, rápidas e economicamente acessíveis, além de uma extensa possibilidade de aplicações nas áreas de pesquisa e tecnologia (CHEN et al., 2018).

1.3.2 Aplicação dos QDGs no desenvolvimento de sensores eletroquímicos

Em virtude de suas propriedades ópticas e elétricas especiais, QDGs estão sendo muito utilizados no desenvolvimento de sensores eletroquímicos, os quais, em geral, apresentaram uma melhora no efeito eletrocatalítico.

GEVAERD et al. (2019) construíram um sensor eletroquímico utilizando um eletrodo de carbono impresso (SPE) modificado com QDGs (QDGs/SPE) para a determinação do hormônio dietilestilbestrol (DES). Para a modificação do SPE, gotejou-se 100 μL de uma suspensão de QDGs ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) sobre a superfície do eletrodo e em seguida realizou-se um condicionamento eletroquímico, empregando a VC. De acordo com os autores, após a modificação do SPE com os QDGs houve um aumento significativo nas intensidades de I_p anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}) para o processo redox do DES. Os estudos de impedância eletroquímica também demonstraram que houve uma melhora na velocidade de transferência de elétrons.

HUANG et al. (2020) reportaram o desenvolvimento de um sensor eletroquímico utilizando um eletrodo de carbono vítreo (CV) modificado com nanocompósitos constituídos de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) e QDGs (QDGs-MWCNTs/CV), empregando o método *casting*. Subsequentemente, o QDGs-MWCNTs/CV foi utilizado na determinação do neurotransmissor dopamina (DOP), na qual observou-se um valor de I_{pa} 17,82 vezes superior a resposta obtida com o eletrodo de CV não modificado. Segundo os autores, a modificação com o nanocompósito proporciona interações entre a DOP e os grupos aniônicos dos QDGs e com as ligações π conjugadas dos QDGs-MWCNTs, indicando a eficiência destes no processo eletrocatalítico para a detecção de DOP.

TASHKHOURIAN; NAMI-ANA; SHAMSIPUR (2018), construíram um eletrodo de pasta de carbono (CPE) modificado com QDGs e quitosana (QDGs-quitosana/CPE) utilizado como agente estabilizante. O sensor eletroquímico foi utilizado na detecção do neurotransmissor epinefrina. As caracterizações eletroquímicas demonstraram um aumento no valor de I_{pa} e um deslocamento do potencial de pico (E_p) para valores menos positivos, quando comparado ao CPE. Segundo os autores, estes resultados indicam uma interação eletrostática favorável entre os grupos aniônicos dos QDGs e os grupos funcionais de amina presentes na epinefrina, além de uma maior condutividade e área superficial.

ARAB et al. (2020) utilizaram os QDGs na preparação de um compósito de MWCNTs funcionalizados com grupos carboxilas (MWCNTs-COOH) e o solvente eutético profundo (QDGs-DES- MWCNTs-COOH). Posteriormente, os autores modificaram um eletrodo de CV com a suspensão do nanocompósitos e, em seguida, realizaram uma eletropolimerização do aminoácido L-arginina na superfície deste eletrodo modificado, utilizando a técnica de VC (QDGs-DES- MWCNTs-COOH/CV). Este foi aplicado na determinação do anti-inflamatório paracetamol (PAR) e do produto primário da sua oxidação, 4-aminofenol. De acordo com os autores, os QDGs proporcionaram um aumento na área superficial, além de um valor de I_{pa} 2 vezes maior comparado ao eletrodo de CV sem modificação.

No trabalho proposto por ENSAFI; NASR-ESFAHANI; REZAEI, (2018), um polímero foi molecularmente impresso na superfície dos QDGs (QDGs-MIPs) empregando o método sol-gel, subsequentemente, a suspensão deste material (QDGs-MIPs) foi utilizada na modificação, via “*drop casting*”, de um eletrodo de CV previamente modificado com nanoplaquetas de grafeno (QDGs-MIPs-GNPs/CV). O sensor eletroquímico foi utilizado na determinação do antibiótico metronidazol (MZN) e observou-se uma I_{pa} 2 vezes superior quando comparado ao eletrodo não modificado, indicando um aumento na atividade eletrocatalítica proporcionada pelos QDGs e pelas cavidades presentes nos MIPs capazes de realizarem interações de hidrogênio estáveis com o MZN.

SANTOS et al. (2021) reportaram o desenvolvimento de um sensor eletroquímico baseado em SPE modificado com grafeno funcionalizado, QDGs e nanopartículas magnéticas de Fe_2O_3 revestidas com um polímero molecularmente impresso ($Fe_2O_3@MIP-QDGs-FG/SPE$). O eletrodo modificado foi aplicado na determinação do 17- α -etinilestradiol.

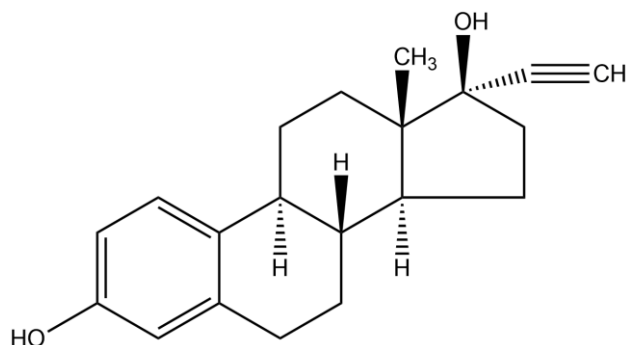
RAO et al. (2018) desenvolveram um sensor eletroquímico para o composto fenólico bisfenol S, empregando QDGs revestidos com nanoesferas ocas de níquel (hNiNS), estes materiais modificaram a superfície de um eletrodo de CV, o qual foi submetido, posteriormente, a um processo de eletropolimerização para a formação de um polímero molecularmente impresso, utilizando polipirrol como monômero (MIP-QDGs-hNiNS/CV). O comportamento eletroquímico do sensor MIP-QDGs-hNiNS/CV foi investigado e os resultados demonstraram um aumento nas intensidades de I_{pa} obtidas na oxidação irreversível do bisfenol S.

No desenvolvimento do sensor eletroquímico proposto por LI et al. (2017a), um compósito constituído de QDGs decorados com nitrogênio e dopados com nanofibras de carbono (NQDGs@NCNFs) foi utilizado na modificação da superfície de um eletrodo de CV (NQDGs@NCNFs/CV). Este foi utilizado na determinação de nitrito. Para a caracterização eletroquímica, o eletrodo de CV também foi modificado com os QDGs e CNFs separadamente na presença e ausência de nitrogênio. Segundo os autores observou-se um aumento significativo na resposta eletroquímica para o processo redox do nitrito, causado pela diminuição da aglomeração dos QDGs providenciada pelos NCNFs, elevando a área superficial do sensor. A presença de grupos pirrólicos na estrutura do compósito também permite uma maior mobilidade de carga durante a eletro-oxidação.

Assim, é possível observar um avanço crescente em pesquisas envolvendo o desenvolvimento de sensores eletroquímicos utilizando QDGs obtidos por diferentes métodos de síntese. Estes, em geral, proporcionam um aumento na condutividade, área superficial e, conseqüentemente, melhora na sensibilidade dos métodos de análise (FARIDBOD; SANATI, 2018).

1.4 17- ALFA – ETINILESTRADIOL (EE2)

O 17- α -etinilestradiol, também conhecido como etinilestradiol (EE2) é um hormônio estrogênio sintético, derivado do composto natural estradiol (E2) (Figura 4) (NAGPAL; MEAYS, 2009).

Figura 4 – Estrutura molecular do 17- α -etinilestradiol

Fonte: o próprio autor

Este hormônio é muito utilizado em formulações farmacêuticas de anticoncepcionais, além do uso em terapias de reposição hormonal e interrupção da amamentação (BARREIROS et al., 2016; ARIS; SHAMSUDDIN; PRAVEENA, 2014).

Nos últimos anos, muitos estudos foram realizados a fim de avaliar a potencialidade do EE2 como um composto químico disruptor endócrino (EDC), ou seja uma substância que interage com os receptores do sistema endócrino, alterando ou simulando o efeito normal dos hormônios e possuindo a capacidade de agir no metabolismo, provocando variações nos níveis dos receptores hormonais e complicações como, aumento na ansiedade e ganho de peso (BARREIROS et al., 2016).

Como encontra-se entre os medicamentos de grande consumo no mundo, o EE2 vem sendo detectado em recursos hídricos e sistemas de tratamento de esgoto a partir resíduos industriais e da excreção de urina e fezes. Sendo assim, quando em contato com diferentes espécies animais, como anfíbios, pássaros e, principalmente, em peixes, acarretam em alterações do sistema reprodutivo, além de desenvolver aspectos sexuais femininos na anatomia masculina, podendo provocar a queda da população destes seres nos ambientes aquáticos (BARREIROS et al., 2016, CUNHA et al., 2016; GILBERT, 2012).

A respeito das propriedades físico-químicas do EE2, este hormônio possui um elevado coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}), com um valor de $\log K_{ow}$ igual a 4,15, o que confere ao estrógeno um caráter hidrofóbico, uma baixa solubilidade em água (4,8 mg L⁻¹ a 20°C) e uma alta capacidade de sorção em solos,

sedimentos, matéria orgânica e particulados sólidos (BARREIROS et al., 2016; MES; ZEEMAN; LETTINGA, 2005; ARIS; SHAMSUDDIN; PRAVEENA, 2014).

Além do elevado poder de sorção em materiais sólidos, a baixa taxa de fotodegradação do EE2 e seu alto poder de bioacumulação (com uma afinidade aos receptores de estrogênio duas à cinco vezes superior ao E2) torna sua toxicidade ainda mais alarmante (BARREIROS et al., 2016; MES; ZEEMAN; LETTINGA, 2005; ARIS; SHAMSUDDIN; PRAVEENA, 2014).

Recentemente, além do uso do EE2 em contraceptivos, este hormônio vem sendo empregado ilegalmente como aditivos para promover o crescimento de plantas e animais. Deste modo, pode estar presente nos recursos hídricos, solos, animais, plantas, e conseqüentemente nos produtos alimentícios de origem animal e vegetal (ZHENG et al., 2019).

Com a ausência de leis que estabeleçam o nível máximo do EE2 em recursos hídricos, água potável, entre outros cenários ambientais, este hormônio vem sendo classificado como um contaminante de preocupação emergente (CEC), assim como os respectivos hormônios naturais E1, E2 e E3 (BRANDT; AQUINO; BASTOS, 2019)

Em razão dos potenciais perigos à saúde e ao meio ambiente, muitos países vêm oferecendo medidas para a regulamentação do EE2 em recursos hídricos e em água potável. Nos Estados Unidos, a Agência de Proteção Ambiental (EPA) por intermédio do programa *Unregulated Contaminant Monitoring* (UCM), inseriu este hormônio sintético na lista de contaminantes a serem controlados por lei (U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2016). Em países europeus, a Comissão Europeia estabeleceu um nível máximo correspondente a 0,035 ng L⁻¹ de EE2 em ambientes aquáticos, como padrão de qualidade ambiental (EQS) não obrigatório (EUROPEAN COMMISSION, 2011).

No Brasil, recentemente, o Ministério da Saúde apresentou uma revisão para padrão de potabilidade e planos de amostragem, na qual o EE2 encontra-se como possível contaminante (EUROPEAN COMMISSION, 2011; BRANDT; AQUINO; BASTOS, 2019). Vale ressaltar que a remoção do EE2 em Unidades de Tratamentos de Águas é incompleta, portanto, este componente poderá estar presente em ambientes aquáticos na ordem de ng L⁻¹, uma concentração com grande potencial tóxico ao sistema endócrino animal e humano (PAVINATTO et al., 2018). Contudo, o desenvolvimento de metodologias analíticas

para a detecção e quantificação do EE2 em matrizes ambientais se faz necessário.

Nos últimos anos, diferentes métodos de análise vêm sendo desenvolvidos, nos quais, são empregadas, principalmente, técnicas cromatográficas como CLAE-DAD, CLAE-DF, CLAE-UV, CLAE-EM/EM, CG-EM, espectrofotométricas UV-vis, teste de imunoenensaio ELISA (TAVAZZI et al., 2015; CAIS et al., 2021; FERREIRA et al., 2020; BRITTO- COSTA; RUOTOLO, 2012; ARSOVA-SARAFINOVSKA et al., 2006; AL-ANSARI et al., 2011; TORAL et al., 2013; SILVA et al., 2013) e, as técnicas eletroanalíticas (PEREZ; SIMÕES; CODOGNATO, 2016; PAVINATTO et al., 2018; SMAJDOR et al., 2017; SANTOS et al., 2021; CANEVARI et al., 2016) .

Entre os trabalhos encontrados na literatura, a determinação do hormônio EE2 em recursos hídricos e água potável sob níveis de ng L^{-1} foi realizada empregando principalmente as técnicas de CLAE, CLAE-EM/EM e teste de imunoenensaio ELISA em regiões da Polônia e da Costa do Mediterrâneo na Espanha (CZERWONKA; KACA, 2012; RIPOLLÉS et al., 2014).

Embora as metodologias mais utilizadas para a quantificação de EE2 possuam elevada sensibilidade, precisão, seletividade e baixos valores de LQ, também apresentam limitações como, a necessidade de trabalhosas etapas de pré-concentração e limpeza, além do uso de reagentes e instrumentos com alto custo relativo (YADAV et al., 2013; NUNES et al., 2016).

Neste sentido, as técnicas eletroanalíticas vêm se destacando, pelo fato de serem altamente sensíveis, não necessitarem de longos procedimentos de preparo de amostras e possuem instrumentos economicamente acessíveis com capacidade de miniaturização (YADAV et al., 2013; NUNES et al., 2016).

1.4.1 Desenvolvimento de sensores eletroquímicos para a determinação do EE2

Atualmente, o estudo de novas plataformas eletroquímicas para a determinação do hormônio EE2 estão sendo desenvolvidas empregando materiais carbonáceos, biológicos, além de semicondutores e partículas metálicas que auxiliam na condutividade e providenciam maior sensibilidade ao método de análise (NODEHI et al., 2020; ZHENG et a., 2019; PEREZ; SIMÕES; CODOGNATO, 2016; PAVINATTO et al., 2018; SCALA-BENUZZI et al., 2018; COELHO; SILVA; PEREIRA, 2019; JESUS; FERREIRA; LUCCA 2020; PRADO et al., 2017;

CINCOTTO et al., 2016; TRIVIÑO et al. 2019).

No sensor eletroquímico desenvolvido por NODEHI et al. (2020), um eletrodo de CV foi modificado com suspensões de MWCNTs e nanopartículas de ouro com nanopartículas magnéticas de Fe_2O_3 funcionalizadas com ácido tânico e (Au- Fe_2O_3 @TA-MWCNTs/CV), pelo método layer-by-layer. A detecção do EE2 foi avaliada utilizando a voltametria de onda quadrada (VOQ), a faixa de concentração linear foi de $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $120 \mu\text{mol L}^{-1}$ e o LD obtido foi de $3,3 \mu\text{mol L}^{-1}$. Amostras de soro sanguíneo, urina e águas naturais e residuais foram analisadas, obtendo-se recuperações de EE2 que variaram entre 93,5% e 106,5%.

No trabalho proposto por ZHENG et al (2019), um eletrodo de CV foi modificado com um compósito de nitreto de carbono grafítico, nanotubos de carbono (NTC) e nanopartículas de paládio (Pd-NTC- gC_3N_4 /CV), via método *drop casting*. A faixa de concentração linear para a determinação do EE2 foi de $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $150,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ com um LD de $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$. Posteriormente, realizou-se estudos de adição e recuperação do hormônio em amostras de ração para frangos e porcos e os valores de recuperação variaram entre 98,2% e 106,7%.

Perez; Simões e Codognato (2016) empregaram um eletrodo de BDD para a determinação do EE2 em amostras de águas naturais provindas da represa de Billings na cidade de Diadema, em São Paulo. Obteve-se uma faixa de concentração linear entre $0,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $5,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ com um LD de $0,24 \mu\text{mol L}^{-1}$ para a determinação de EE2 em água ultrapura e uma faixa linear de concentração entre $0,79 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $5,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ com um LD de $0,75 \mu\text{mol L}^{-1}$ em águas naturais. Ademais, estudos de adição e recuperação foram realizados em amostras de água, obtendo-se valores de recuperação entre 86 e 114%.

Um biossensor constituído de um eletrodo de óxido de estanho dopado com flúor (FTO) modificado com nanofibras de polivinilpirrolidona (PVP), quitosana (Chi) e rGO, empregando a técnica de eletrospinning e, posteriormente, imobilizado com enzimas lacase (LAC-rGO-Chi-PVP/FTO) para a determinação do EE2 foi apresentado por PAVINATTO et al. (2018). A faixa linear de concentração obtida foi de $0,25 \text{ pmol L}^{-1}$ a $20,00 \text{ pmol L}^{-1}$ com um LD de $0,15 \text{ pmol L}^{-1}$. Estudos de adição e recuperação de EE2 foram realizados em amostras de urina humana e sintética, obtendo-se recuperações entre 96% e 132% para urina humana e 99% e 102% para urina sintética.

Uma plataforma eletroquímica baseada na imunocaptura do EE2 foi

desenvolvida por SCALA-BENUZZI et al. (2018). Um SPE modificado com grafeno reduzido (GR/SPE) foi empregado como transdutor e um papel funcionalizado com nanopartículas de sílica (SNPs) e anticorpos específicos para o EE2 (antiEE2-SNPs/P) foi utilizado para pré-concentração deste hormônio. Para a determinação do EE2 em uma amostra água de rio, o antiEE2-SNPs/P foi mergulhado por 30 minutos, nos recipientes contendo as amostras. Em seguida, o EE2-antiEE2-SNPs/P foi disposto na superfície do SPE e uma solução de ácido sulfúrico ($0,010 \text{ mol L}^{-1}$) foi utilizada para a eluição do EE2 do papel e sua determinação direta foi realizada. Um LD de $0,1 \text{ ng L}^{-1}$ foi obtido e nos estudos de adição e recuperação obteve-se recuperações entre 97% e 104%.

Coelho; Silva e Pereira (2019) construíram um sensor eletroquímico baseado em um eletrodo de CV modificado com MWCNTs e ftalocianina de cobalto (CoPc-MWCNTs/CV). A faixa de concentração linear para determinação de EE2 foi de $2,50\text{-}90,00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ com um LD de $2,20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Nos estudos de adição e recuperação de EE2 em amostras de leite, água de rio e formulações farmacêuticas foram obtidos valores de recuperação entre 88,0% e 103,9%.

Jesus; Ferreira e Lucca (2020) empregaram um eletrodo de amálgama sólido construído com nanopartículas de prata (AgNP-SAE) para a determinação simultânea do EE2 e do hormônio acetato de ciproterona. A faixa linear de concentração do EE2 foi de $1,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ a $10,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ com um LD de $0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Nos estudos de adição e recuperação de EE2, em amostras de formulação farmacêutica e urina, foram obtidas recuperações de 97,1 e 107,2%, respectivamente.

PRADO et al. (2017) utilizaram um eletrodo de CV como substrato para a modificação com um compósito de GR e nanopartículas de rutênio (RuNP-GR/CV), o qual foi utilizado na determinação simultânea de EE2 e do antibiótico amoxicilina. O LD obtido para a determinação do EE2 foi de $2,04 \text{ nmol L}^{-1}$ e as recuperações em amostras de urina variaram entre 98,0% e 100,0%.

CINCOTTO et al. (2016) desenvolveram um imunossensor baseado em um eletrodo de CV modificado com um compósito híbrido de óxido de grafeno com sílica e nanopartículas de prata, no qual foi imobilizado anticorpos específicos para o EE2 (antiEE2-AgNPs-SiO₂-OG/CV). A faixa linear de concentração do EE2 foi de $0,1 \text{ ng mL}^{-1}$ a $50,0 \text{ ng mL}^{-1}$ com um LD de $65,0 \text{ pg mL}^{-1}$. As recuperações deste hormônio em amostras de urina variaram entre 96,0% e 100,0%.

TRIVIÑO et al. (2019) empregaram três eletrodos de trabalho para a determinação do EE2, o eletrodo gotejante de mercúrio (HME), SPE e o eletrodo de nanotubos de carbono impresso (SPNTE). Os sensores eletroquímicos foram aplicados na determinação do estrogênio em amostras de formulação farmacêutica e urina utilizando a técnica de voltametria de redissolução adsortiva (AdsRV). Os valores de LD obtidos foram $14,8 \mu\text{g L}^{-1}$; $191,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $277,0 \mu\text{g L}^{-1}$ com o HMDE, SPE e SPNTE, respectivamente.

Portanto, é possível observar um crescente avanço no desenvolvimento de dispositivos eletroquímicos, para a determinação de EE2, com alta sensibilidade e precisão. Entretanto, ainda há uma grande demanda de estudos para novos sensores eletroquímicos economicamente acessíveis e de fácil construção para determinação deste contaminante em matrizes farmacêuticas, ambientais e alimentícias.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho apresentou o objetivo de desenvolver um sensor eletroquímico utilizando um eletrodo de CV pré-tratado quimicamente e modificado com um filme compósito de CB, QDGs e o polieletrólito dihexadecilhidrogenfosfato de sódio (DHP) (QDG-CB-DHP/CV). Este sensor foi utilizado no desenvolvimento de um método eletroanalítico para a determinação do hormônio estrogênio EE2.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O trabalho também apresentou como objetivos específicos:

A caracterização dos QDGs e do CB por microscopia eletrônica de transmissão (MET), técnica de espalhamento de luz dinâmica (DLS) e espectroscopia de absorção UV-vis.

O estudo do comportamento eletroquímico após os diferentes PTs na superfície do eletrodo de CV.

A avaliação do comportamento eletroquímico do EE2 após a modificação do eletrodo de CV com QDGs, CB e DHP (QDG-CB-DHP/CV).

A otimização dos parâmetros da técnica de VOQ para a determinação do EE2.

A avaliação da precisão, exatidão e seletividade do método eletroanalítico desenvolvido com estudos de repetibilidade, interferência e adição e recuperação em amostra de água do lago e medicamentos.

A comparação dos resultados obtidos na determinação do EE2 nas amostras de medicamentos com um método comparativo empregando a CLAE.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

As medidas de pH foram realizadas utilizando pHmetro digital modelo pH 827 Lab Metrohm®, balança analítica modelo AY220 Marte com uma precisão de $\pm 0,01$ mg, centrífuga modelo Q222T Quimis® e banho ultrassom modelo Q33502 Quimis®.

A caracterização espectrofotométrica dos QDGs foi realizada em um espectrofotômetro UV-vis (200 nm – 800 nm) U-300, Hitachi.

A morfologia das amostras de CB e QDGs foram avaliadas utilizando um microscópio eletrônico de transmissão (MET) modelo JEM-1400, Jeol. O diâmetro de partícula da amostra de QDGs foi obtido utilizando o analisador de tamanho de partículas Nanotrac Wave II, Microtrac MRB. As análises eletroquímicas foram realizadas empregando o potenciostato PalmSens 4.0 interfaceado a um computador com o software PSTrace 5.3. Também foi utilizada uma cela eletroquímica de compartimento único com três eletrodos, o eletrodo de Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$ KCl), platina e o sensor eletroquímico construído, como eletrodo de referência, auxiliar e de trabalho, respectivamente.

Para as análises de medicamentos com o método comparativo, empregou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), modelo LC-20AD/T LPGE KIT, Shimadzu® com um detector de arranjo de diodos (DAD) (Tokyo, Japão) e uma coluna cromatográfica C18, Phenomenex® (250,0 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro) com tamanho de partículas de $5,0 \mu\text{m}$.

3.2 REAGENTES QUÍMICOS E MATERIAIS

Os reagentes usados nos experimentos foram de grau analítico e as soluções foram preparadas empregando água ultrapura coletada pelo sistema de purificação ELGA PURELAB MAXIMA (Woodridge, IL) com resistividade elétrica igual a $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$.

A Dopamina (>98%) e o 17- α -etinilestradiol (>98%) foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA).

O ácido cítrico utilizado é da marca Synth (Diadema, SP, BR). Ácido sulfúrico (>98%), ácido fosfórico (>85%), ácido nítrico (>65%), ácido acético (>99%), cloreto de potássio e 2-propanol foram adquiridos da Sigma Aldrich.

Ácido bórico e hidróxido de sódio são da marca Vetec (Rio de Janeiro, RJ, BR).

O material comercial carbon black foi obtido de Cabot Corporation (CAS no 1333–86-4, LOT- 3271824).

3.3 PREPARO DE SOLUÇÕES

Os eletrólitos suportes utilizados foram soluções de cloreto de potássio (KCl) 0,1 mol L⁻¹ e de tampão Britton-Robinson (BR) 0,04 mol L⁻¹ em diferentes valores de pH entre 2,0 e 10,0. Essas soluções foram preparadas com quantidades adequadas de ácido acético, ácido fosfórico e ácido bórico e o pH do meio ajustado com adições de uma solução de NaOH 3,0 mol L⁻¹, ambas diluídas em água ultrapura.

As soluções estoque de dopamina 0,1 mol L⁻¹ (MM= 189,64 g mol⁻¹) e K₃[Fe(CN)₆] 0,1 mol L⁻¹ (MM=329,25 g mol⁻¹) foram preparadas em água ultrapura. Para a solução estoque do EE2 0,01 mol L⁻¹ (MM= 296,40 g mol⁻¹), a diluição foi realizada em etanol 98% (v/v).

Para a síntese dos QDGs, a solução de NaOH 0,25 mol L⁻¹ foi preparada em água deionizada.

A solução estoque do surfactante Tween 80 0,1 mol L⁻¹ foi preparada em água ultrapura. A solução do surfactante aniônico dodecil sulfato de sódio (SDS) 0,004 mol L⁻¹ foi preparada diretamente na solução do eletrólito suporte tampão BR 0,04 mol L⁻¹ (pH=7,0) adicionada na cela eletroquímica.

Soluções de ácido sulfúrico na concentração de 0,1 mol L⁻¹, empregada no condicionamento eletroquímico do eletrodo de CV e concentração de 0,5 mol L⁻¹, utilizada no processo de PT anódico e catódico foram preparadas em água deionizada.

Para o estudo de interferentes, as soluções estoques de NaCl, ureia, lactose, glucose, NH₄Cl, Cu e Zn, ambas nas concentrações de 0,01 mol L⁻¹, foram preparadas em água ultrapura. A solução estoque de estearato de magnésio 0,01 mol L⁻¹ foi preparada em etanol 98% (v/v).

3.4 SÍNTESE DOS QDGs

A síntese dos QDGs, por meio da pirólise do ácido cítrico, foi realizada baseando-se no método desenvolvido por DONG et al. (2012).

Inicialmente, 1,0 g de AC foi transferido para um balão de fundo redondo e aquecido em banho do óleo a 200° C com auxílio de um bico de Bunsen. Neste processo, durante os 5 minutos iniciais de aquecimento, observou-se a liquefação do AC e o aparecimento de uma coloração amarela. Após 15 minutos, observou-se uma coloração alaranjada indicando a formação dos QDGs. A reação é mantida por 30 minutos, período no qual o aquecimento é cessado e o produto obtido é mantido a temperatura ambiente para resfriamento.

O procedimento de síntese foi finalizado com a diluição dos QDGs, gota a gota, com 50 mL de uma solução de NaOH (0,25 mol L⁻¹), sob vigorosa agitação.

3.5 FUNCIONALIZAÇÃO QUÍMICA DO CB

As nanopartículas de CB foram quimicamente ativadas por uma metodologia via úmida empregado ácido sulfúrico e ácido nítrico (REDÍN, 2009; PÉREZ-RODRÍGUEZ; PASTOR; LÁZARO, 2018). Neste procedimento, 3,0 g de CB foram pesados, transferidos para um béquer de 500 mL e, posteriormente, dispersos em 200,0 mL de uma mistura sulfonítrica de ácido sulfúrico/ácido nítrico na proporção de 3:1.

A solução contendo CB foi sonicada em banho ultrassom por um período de 20 minutos e em seguida, submetida à agitação por 1 hora, para completa dispersão do particulado. Após o tratamento químico, o excesso da solução ácida foi removido e, subseqüentes lavagens do material foram realizadas. O procedimento de lavagem foi realizado pela a adição de água ultrapura ao material, seguido de centrifugação por 10 minutos a 10 rpm e o sobrenadante descartado.

Para a neutralização da solução ácida com CB, NH₄OH concentrado foi adicionado gradualmente na suspensão do material carbonáceo até atingir pH 7,0.

Após a neutralização das nanopartículas de CB, o material em

suspensão foi transferido para placas de Petri seladas com folhas de alumínio e submetido ao aquecimento à 50°C por um período de 2 dias para a evaporação da água.

Após a secagem, o CB funcionalizado foi transferido para tubos Falcon e armazenado a temperatura ambiente.

3.6 LIMPEZA, CONDICIONAMENTO E PRÉ-TRATAMENTOS DO ELETRODO DE CV

O eletrodo de CV foi submetido a um polimento com pasta de diamante (fina granulometria) seguido de um segundo polimento em água com auxílio de uma lixa com menor granulometria. Após, o eletrodo foi sonicado em banho ultrassom em 2-propanol e, em seguida, em água ultrapura por um período de 3 minutos. Posteriormente, um condicionamento eletroquímico foi realizado em solução de ácido sulfúrico (0,1 mol L⁻¹) empregando a técnica de VC sob as seguintes condições: intervalo de potencial = -0,5 V a 1,0 V; $\Delta E_s = 0,005$ V; velocidade de varredura = 0,1 V s⁻¹; 25 ciclos.

Após o procedimento de limpeza e condicionamento, o eletrodo foi submetido a três processos de pré-tratamento diferentes. Para o pré-tratamento eletroquímico, utilizou-se uma solução de ácido sulfúrico (0,5 mol L⁻¹) e a técnica de cronoamperometria sob as seguintes condições: tempo de varredura = 5 minutos; intervalo de tempo = 0,1 s; $E_{\text{aplicado}} = 1,5$ V (PT anódico) e $E_{\text{aplicado}} = -1,5$ V (PT catódico).

O segundo procedimento de PT consistiu na exposição da superfície do eletrodo de CV a irradiação UV durante 10 minutos.

No PT químico a superfície do eletrodo de CV foi exposta a três diferentes proporções de ácidos, uma mistura de ácido sulfúrico/ácido nítrico (3:1), ácido nítrico concentrado e ácido sulfúrico concentrado. Após avaliar a melhor composição do ácido para o pré-tratamento químico, o tempo de exposição do eletrodo de CV à solução ácida foi estudado nos intervalos de 3, 5, 8 e 10 minutos.

3.7 PREPARO DO SENSOR ELETROQUÍMICO QDGs-CB-DHP/CV

Previamente ao preparo de sensor eletroquímico QDGs-CB-DHP/CV, uma suspensão de QDGs-CB-DHP foi preparada pela dispersão de 1,0 mg

mL⁻¹ do polieletrólito DHP, 1,0 ou 2,0 mg de CB e 300 ou 600 µL de QDGs em 1,0 mL de água ultrapura. Esta suspensão foi levada à agitação e sonicação, por um período de uma hora para melhor homogeneização dos materiais. Em seguida, foi armazenada em refrigerador para as posteriores modificações do eletrodo de CV. A suspensão de CB-DHP também foi preparada contendo igual composição em DHP e CB.

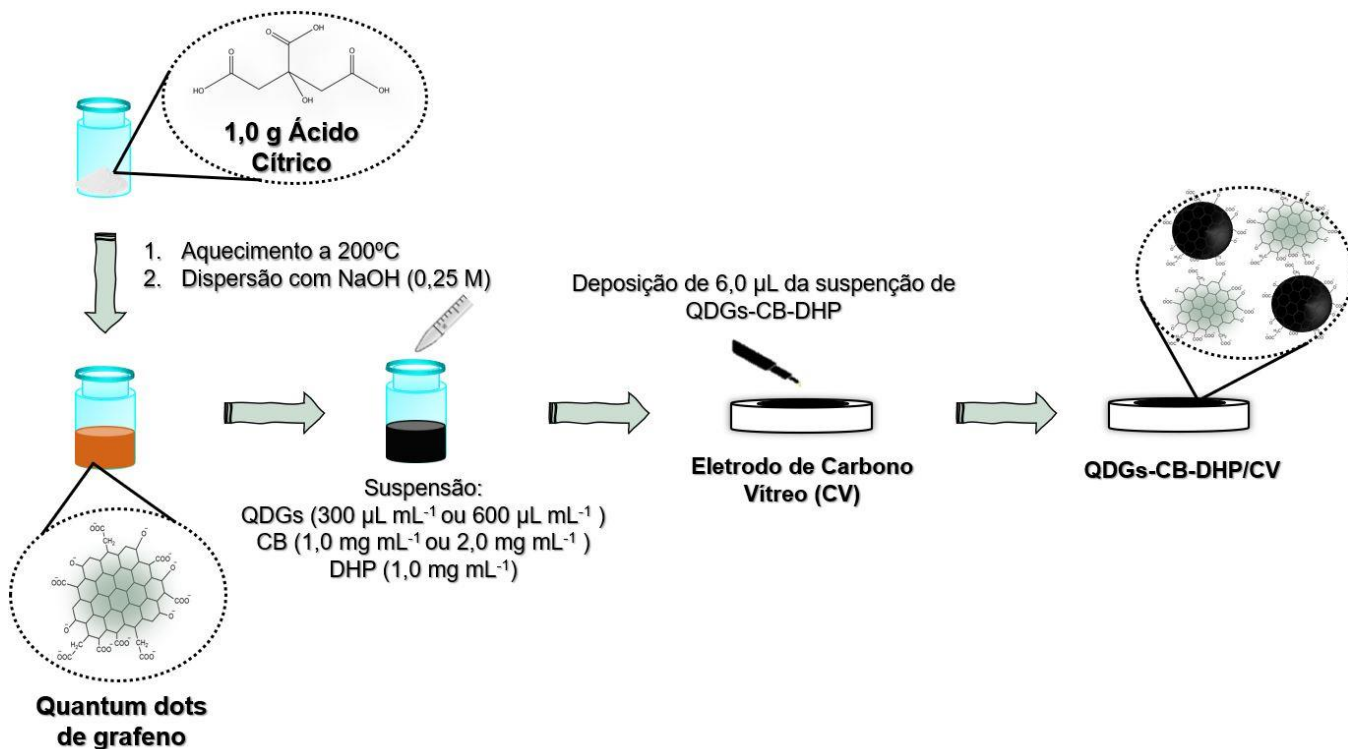
As suspensões apresentaram-se estáveis durante três meses, após este período, realizava-se uma nova síntese dos QDGs e o preparo da suspensão do compósito.

Após a limpeza, condicionamento e pré-tratamento, o eletrodo de CV foi modificado, via *casting*, com 6,0 µL da suspensão previamente preparada. Posteriormente, o eletrodo modificado foi mantido a 50°C em estufa por um intervalo de tempo de 30 minutos para completa secagem do filme, encontrando-se, em seguida, pronto para os posteriores estudos eletroquímicos. O filme de QDGs-CB-DHP apresentou-se estável na superfície do eletrodo de CV sendo possível a realização de 30 a 40 medidas voltamétricas com o mesmo eletrodo modificado

Há importância em destacar que previamente a modificação do eletrodo de CV, a suspensão do compósito foi submetida a sonicação por um período de 30 minutos, com o intuito de se obter uma maior homogeneização dos particulados a cada construção do sensor eletroquímico.

Um esquema da preparação do sensor eletroquímico QDGs-CB-DHP/CV é apresentado na Figura 5.

Figura 5 – Representação esquemática da síntese dos QDGs e preparação do sensor eletroquímico QDGs-CB-DHP/CV



Fonte: o próprio autor

3.8 PROCEDIMENTO ELETROANALÍTICO

Para os estudos do comportamento eletroquímico do EE2, com os diferentes sensores eletroquímicos preparados, utilizou-se a técnica de VC. Para o desenvolvimento do método eletroanalítico na determinação do hormônio estrogênio, avaliou-se a melhor técnica voltamétrica de pulso (VDP ou VOQ) a ser utilizada.

Após a otimização dos parâmetros da técnica voltamétrica de pulso, a curva analítica foi construída, em triplicata, com a adição de alíquotas da solução padrão do EE2 em uma cela eletroquímica contendo 10,0 mL de solução tampão BR 0,04 mol L⁻¹ (20% etanol v/v), empregada como eletrólito suporte. Após a adição da primeira alíquota de EE2, realizou-se agitação por 10 minutos para estabilização do sensor eletroquímico. Subsequentemente, entre as adições da solução padrão de EE2 realizou-se uma agitação por 3 minutos.

O tempo de agitação entre as medidas foi otimizado durante o

estudo do efeito de memória empregando os diferentes surfactantes.

O estudo de repetibilidade intra e entre-dias foi realizado com duas concentrações distintas de EE2. Para os ensaios de repetibilidade intra-dias, dez medidas consecutivas foram realizadas para cada concentração de EE2 e para a repetibilidade entre-dias, foram realizadas medidas durante cinco dias consecutivos.

No estudo para avaliar a interferências de substâncias comumente presentes nas amostras analisadas, as medidas voltamétricas foram realizadas com o EE2 na presença do possível interferente, nas proporções de 1:1 e 1:10 (EE2:interferente). As I_{pa} obtidas foram comparadas às obtidas somente com o hormônio. Os compostos avaliados neste estudo foram NaCl, ureia, lactose, glucose, NH_4Cl , estearato de magnésio e os metais Cu e Zn.

3.9 MÉTODO COMPARATIVO PARA A QUANTIFICAÇÃO DO EE2

A fim de validar o método proposto, as amostras de medicamento também foram analisadas por dois métodos comparativos empregando a CLAE descritos na literatura por LABAN et al. (2004) e SILVA et al.(2013b)

Segundo o procedimento descrito por LABAN et al. (2004), uma coluna C18 foi empregada como fase estacionária, a mistura metanol:água 80:20 (v/v) seguindo o p e a mistura acetonitrila:água 50:50 (v/v) foi utilizada como fase móvel com eluição no modo isocrático. A vazão foi de 1,0 mL / minuto e o volume de injeção de 20,0 μ L. A detecção do EE2 foi realizada no comprimento de onda de 220 nm.

Segundo o método descrito por SILVA et al.(2013b), empregou-se uma coluna C18 como fase estacionária e uma mistura de acetonitrila:água 50:50 (v/v) como fase móvel com eluição no modo isocrático. A vazão foi de 1,0 mL / minuto e o volume de injeção de 20,0 μ L. A detecção do EE2 foi realizada no comprimento de onda de 200 nm.

3.10 PREPARO DA AMOSTRA DE ÁGUA DO LAGO E AMOSTRAS DE MEDICAMENTOS

A amostra de água no Lago Ribeirão do Cambé (Londrina/PR/Brasil) foi coletada em frasco de vidro âmbar previamente limpo e, tratada com ácido nítrico concentrado imediatamente após a coleta da amostra (3 gotas de ácido nítrico para

aproximadamente 1 L de amostra). Posteriormente, a amostra foi filtrada à vácuo com auxílio de uma membrana de filtro Nylon com microporos de 0,45 μm de espessura e 47,0 mm de diâmetro obtida de Unifil (CAS no 508-04-7, LOT- 0686-0617). Assim como para a amostra de água de torneira, a água do lago foi empregada no preparo da solução eletrólito suporte.

Para os testes de adição e recuperação, as soluções de tampão BR (pH 4,0) preparadas com as amostras de água da torneira e do Lago Ribeirão Cambé foram utilizadas como eletrólitos suporte para a construção das curvas de adição de padrão, que foram obtidas em triplicata, com alíquotas de 60,0; 40,0 e 20 μL da solução padrão de EE2 $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Duas amostras de medicamentos (1 e 2), contendo o hormônio EE2, nas respectivas concentrações de 35,0 $\mu\text{g/comprimido}$ e 30,0 $\mu\text{g/comprimido}$, foram adquiridas em um estabelecimento comercial local. Para o preparo de cada amostra, dez comprimidos foram cuidadosamente pesados, macerados e posteriormente, a massa referente a dois comprimidos foi transferida para um balão de 5,0 mL e diluída em solução de Tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,0, com 20% (v/v) em etanol. A alíquota de 1,0 mL da solução da amostra foi adicionada diretamente na cela eletroquímica contendo 10,0 mL do eletrólito suporte. Os estudos de adição e recuperação de EE2 foram realizados pela construção de curvas de adição de padrão, obtidas em triplicata.

Para a determinação do EE2 na amostra 1 empregando a CLAE, dez comprimidos foram cuidadosamente pesados, macerados e posteriormente, a massa referente a três comprimidos foi diluída em uma mistura de metanol:água 80:20 (v/v) (fase móvel) e transferida para um balão volumétrico de 5,0 mL. Em seguida, foi filtrada em filtro de celulose com diâmetro de poro de 0,22 μm para as posteriores injeções.

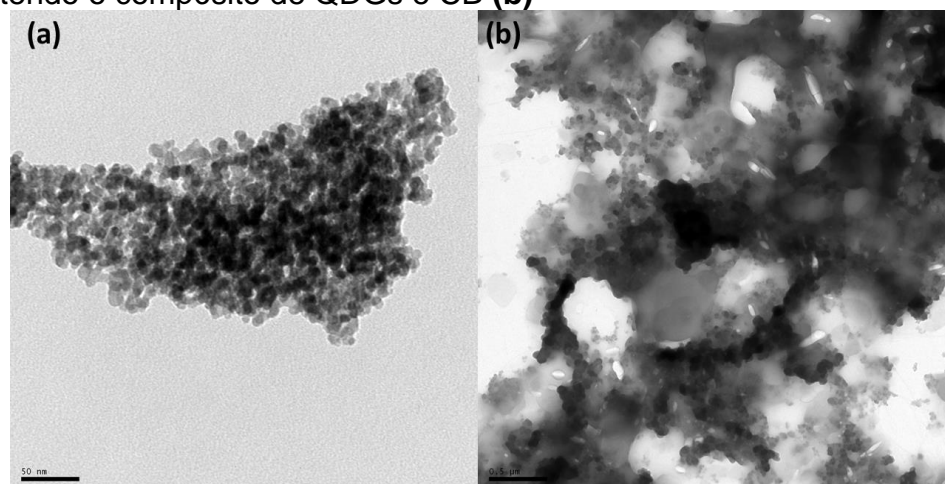
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO SUPERFICIAL DO CB E QDGs

A morfologia das nanopartículas de QDGs e CB foi investigada utilizando a técnica de microscopia eletrônica de transmissão (MET). Nas imagens de MET obtidas para os QDGs, observou-se uma dispersão homogênea das partículas em escala nanométrica com estrutura semelhante a obtida em outros trabalhos que reportaram a síntese de QDGs pelo método de pirólise do AC (Figura 6-(a)). (DONG et al., 2012; BENÍTEZ-MARTÍNEZ; VALCÁRCEL, 2014; GEVAERD et al., 2019).

Nas imagens de MET obtidas com a suspensão, contendo QDGs e CB, também observou-se uma dispersão homogênea dos materiais e a presença de particulados esféricos em duas escalas de tamanho diferentes (Figura ,6-(b)) os quais seriam QDGs, as partículas de menor dimensão e CB os agregados de tamanhos maiores (DONG et al., 2012; GEVAERD et al., 2019; ANGELIS et al., 2020).

Figura 6 – Imagens de MET obtidas para os QDGs **(a)** e para a suspensão contendo o composto de QDGs e CB **(b)**

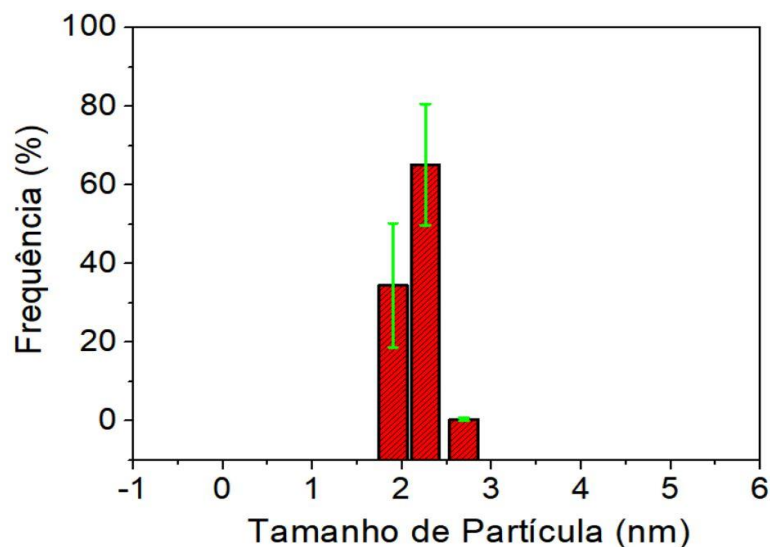


Fonte: o próprio autor

A distribuição do tamanho de partícula dos QDGs, apresentada na Figura 7, foi obtida a 25°C utilizando a técnica de espalhamento de luz dinâmica (DLS). O tamanho de partícula médio dos QDGs encontrou-se em torno de $2,14 \pm$

0,18 nm, em concordância com trabalhos apresentados na literatura nos quais o diâmetro de partícula dos QDGs via pirólise do AC variou de 1 a 7 nm (WANG et al., 2015; NAIK; SUTRADHAR; SAHA, 2017; ZHANG et al., 2018; CHEN et al., 2017; GEVAERD et al., 2019).

Figura 7 – Distribuição do tamanho de partícula dos QDGs obtida pela técnica de espalhamento de luz dinâmica



Fonte: o próprio autor

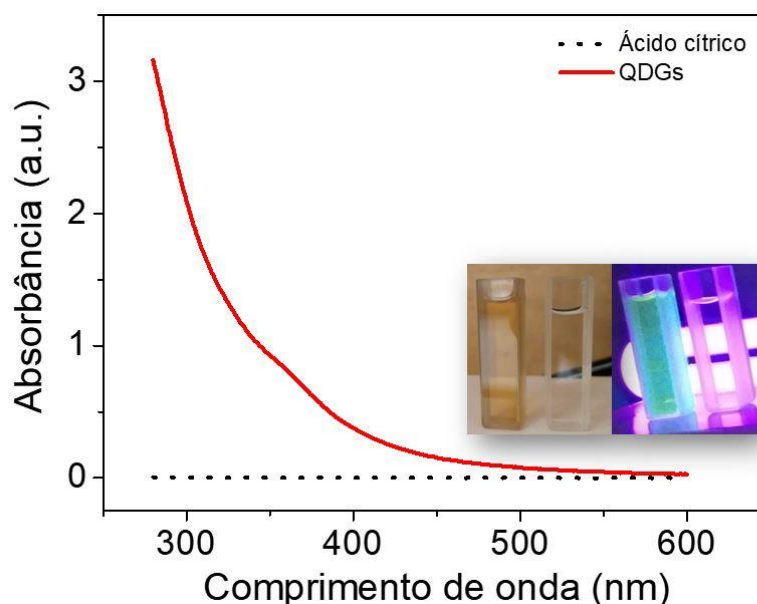
A formação dos QDGs também foi avaliada empregando-se a técnica de espectrofotometria de absorção UV-visível. Os espectros de UV-vis obtidos para o ácido cítrico e os QDGs são apresentados na Figura 8. Observou-se uma banda de absorção discreta em 360 nm para os QDGs, característica de sistemas aromáticos e proveniente de uma transição proibida $n \rightarrow \pi^*$ em ligações C=O residuais, presentes na estrutura dos QDGs após a reação de condensação, durante o processo de síntese (SANTOS et al., 2021).

Para a caracterização espectrofotométrica empregando o precursor AC, nenhuma banda de absorção foi evidenciada na região de 250 nm a 600 nm.

A banda de absorção próxima a 360 nm é apresentada em muitos trabalhos envolvendo a síntese dos QDGs a partir do processo de pirólise do AC. FAJARDO et al. (2019) e NAGHSHBANDI et al. (2018) revelaram uma banda de excitação em 362 nm, SANTOS et al. (2021) obteve uma banda de absorção na região de 330 nm e para DONG et al. (2012) o comprimento de onda máximo para a absorção se apresentou em 365 nm.

Alguns trabalhos presentes na literatura também avaliaram a formação dos QDGs empregando a técnica de espectroscopia de fotoluminescência, os quais apresentaram um comprimento de onda máximo de emissão próximo a 460 nm, associado a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ em ligações C=C. Este comprimento de onda está na faixa de radiação eletromagnética visível entre as cores azul e verde. Neste trabalho, ao incidir luz negra nos QDGs a cor observada foi a verde, como pode ser observado na fotografia inserida na Figura 8 (DONG et al. 2012; SANTOS et al. 2021; CHEN et al., 2017; RAHIMI; YAZDANI, 2018; NAGHSHBANDI et al., 2018).

Figura 8 – Espectros de absorção UV-visível obtidos para as amostras de AC e QDGs. Imagem inserida: Fotografias obtidas para os QDGs e AC na ausência (esquerda) e na presença (direita) de luz negra



Fonte: o próprio autor

4.2 EFEITO DOS DIFERENTES PTS NA SUPERFÍCIE DO ELETRODO DE CV

Previamente a construção do sensor eletroquímico, o eletrodo de CV foi submetido a um processo de limpeza e condicionamento no qual etapas de polimento em pasta de diamante e sonicação em 2-propanol foram empregados para a remoção de componentes orgânicos adsorvidos em sua superfície (seção 3.5).

No entanto, de acordo com a literatura, as nanopartículas de diamante são potenciais contaminantes e providencia um decréscimo na rugosidade e na velocidade de transferência de elétrons do sensor eletroquímico (ZHOU; WIPF,

2001). Então, em função da possível contaminação com o material de polimento e das limitações apresentadas por eletrodos de materiais carbonáceos, o efeito de diferentes PTs no comportamento eletroquímico do CV foram avaliados.

Na Figura 9-(a) são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de CV apenas com a limpeza e polimento em pasta de diamante e após ser submetido a diferentes PTs, em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo dopamina (DOP) na concentração de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Observou-se que os PTs eletroquímico catódico e irradiação UV podem ter causado uma maior resistência na transferência de elétrons com relação ao CV apenas com polimento, uma vez que, como apresentado na Tabela 1, as intensidades de corrente de pico (I_p) diminuíram e a diferença entre os potenciais de pico de oxidação e redução (ΔE_p) aumentaram após esses dois PTs.

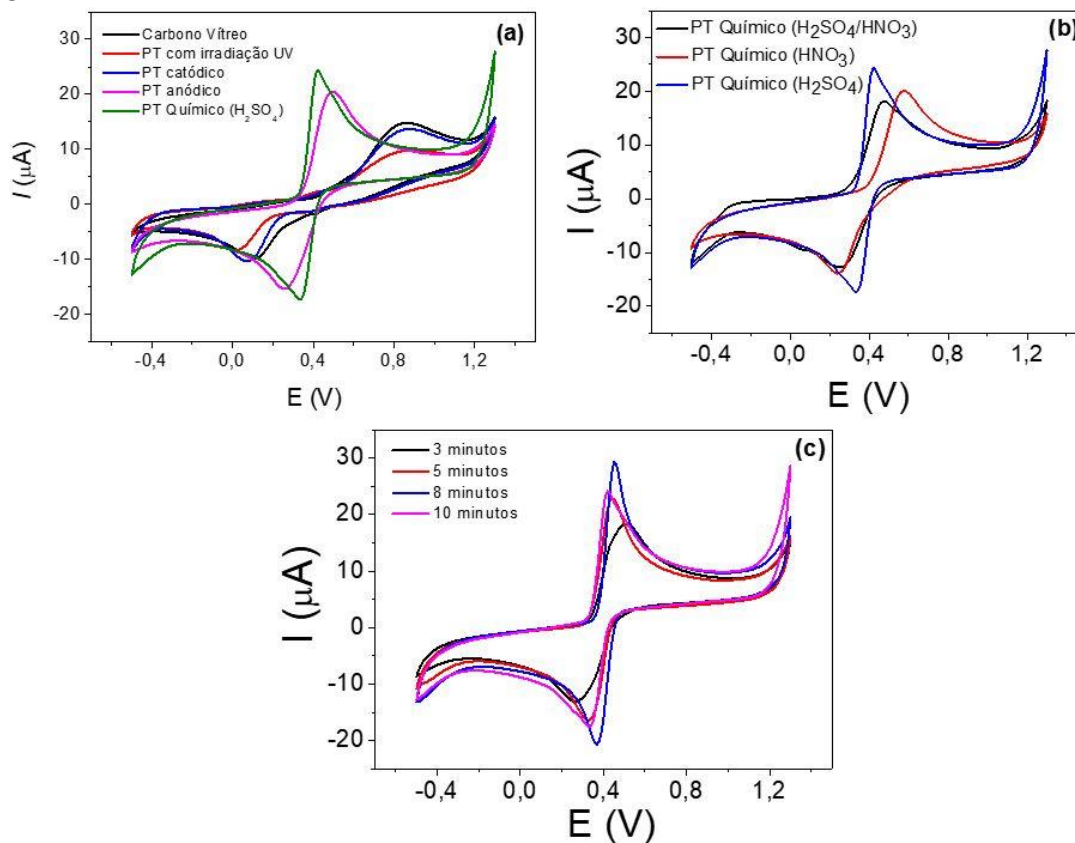
Por outro lado, observou-se uma melhora na resposta voltamétrica após o PT químico com ácido sulfúrico. As intensidades de corrente foram superiores às obtidas com o CV apenas com o polimento e o valor de ΔE_p se aproximou de 59 mV, valor obtido para sistemas totalmente reversíveis (Tabela 1) (ELGRISHI et al., 2018).

Um outro estudo realizado foi composição química da solução ácida utilizado no PT (Figura 9-(b)).

Observou-se maiores intensidades de I_p e melhor definição dos picos de oxidação e redução após o PT em ácido sulfúrico concentrado, estes resultados indicaram que o ácido sulfúrico proporcionou maior oxidação da superfície do eletrodo de CV, produzindo um maior número de grupo hidrofílicos que possibilitassem melhor interação com a DOP.

O tempo de exposição do CV à solução de ácido sulfúrico concentrado foi avaliado nos intervalos de 3,5,8 e 10 minutos. É possível observar as intensidades de I_p aumentaram com tempo de exposição à solução ácida até o tempo de 8 minutos (Figura 9-(c)). Com o tempo de 10 minutos houve uma diminuição nas intensidades de I_p . Desse modo, para os estudos posteriores, realizou-se o PT químico em ácido sulfúrico concentrado durante 8 minutos.

Figura 9 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o CV após os diferentes PTs **(a)**; após os PTs com diferentes proporções de soluções ácidas **(b)** e após PT químico em diferentes tempos de exposição ao ácido sulfúrico concentrado **(c)**. Parâmetros: faixa de potencial de varredura = -0,5 a 1,3 V; $\Delta E_s = 0,01$ V; $\nu = 50$ mV s⁻¹



Fonte: o próprio autor

Tabela 1 – Valores de intensidade de corrente de pico (I_p) e ΔE_p obtidos com CV após os diferentes PTs e para as diferentes composições das soluções ácidas utilizadas nos PTs químicos

Pré-tratamento	I_p (anódico) (μA)	I_p (catódico) (μA)	ΔE_p (mV)
CV com polimento	7,07	-6,90	720
Exposição a irradiação UV	3,92	-5,24	760
Eletroquímico catódico	6,99	-7,53	720
Eletroquímico anódico	18,05	-14,81	220
Químico (H ₂ SO ₄ /HNO ₃) 3:1	14,36	-12,11	220
Químico (HNO ₃)	15,14	-11,62	320
Químico (H ₂ SO ₄)	21,54	-17,81	80

Fonte: o próprio autor

Tabela 2 – Valores de I_p e ΔE_p obtidos com o CV após os PTs sob diferentes intervalos de tempo de exposição ao ácido sulfúrico concentrado

tempo de exposição (min)	I_p (anódico) (μA)	I_p (catódico) (μA)	ΔE_p (mV)
3	15,43	-12,96	220
5	20,06	-16,55	110
8	26,08	-20,73	90
10	21,54	-17,80	80

Fonte: o próprio autor

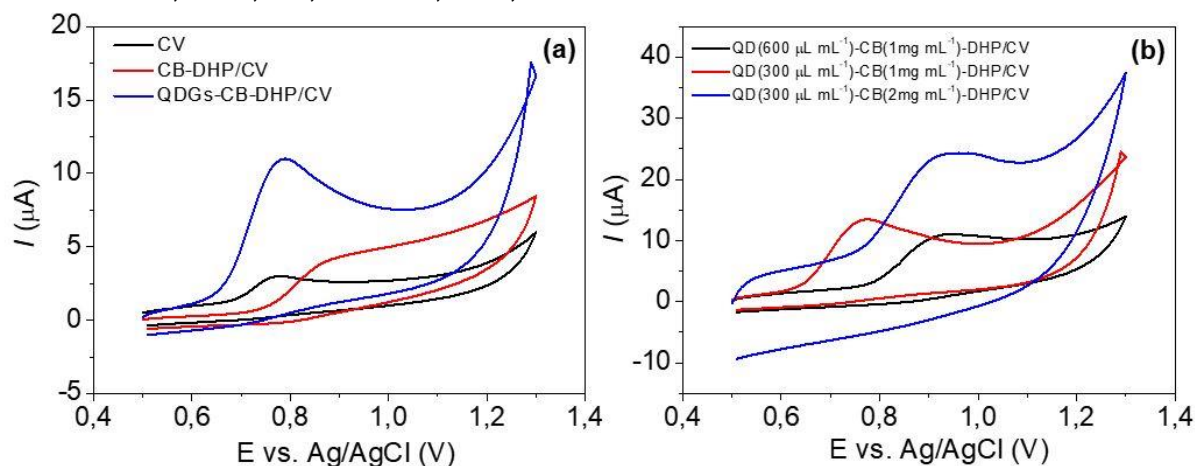
4.3 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO EE2

Um estudo comparativo foi realizado utilizando a VC com os eletrodos de CV apenas com o polimento, CB-DHP/CV e QDGs-CB-DHP/CV.

Na Figura 10-(a) são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos, observou-se a presença de apenas um pico anódico em aproximadamente 0,8 V, este comportamento indica que o processo redox é totalmente irreversível, característico da oxidação do EE2 reportada em trabalhos da literatura (NODEHI et al., 2020; PEREZ; SIMÕES; CODOGNATO, 2016; COELHO; SILVA; PEREIRA, 2019; PRADO et al., 2017).

A intensidade de corrente obtida para o eletrodo de CV apenas com o polimento ($I_p = 1,278 \mu A$) foi inferior às obtidas para o eletrodo modificado com o CB e GQDs. Ademais, o sensor GQDs-CB-DHP/CV ($I_p = 7,414 \mu A$) apresentou uma I_{pa} aproximadamente 6 vezes maior quando comparada ao CV e 5 vezes maior quando comparado ao CB-DHP/CV ($I_p = 1,424 \mu A$). Estes resultados indicam uma melhora na transferência de elétrons proporcionada pelo efeito sinérgico entre as nanopartículas de CB QDGs, uma vez que estes apresentam elevada condutividade, devido a suas características semicondutoras e uma grande área superficial. Além disso, os materiais carbonáceos possuem grupos hidrofílicos em suas bordas de superfícies (*edge plane*), tais como hidroxilas e carboxilas, capazes de providenciar maior interação com o EE2 e catalisar a reação de oxidação do hormônio.

Figura 10 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando o eletrodo de CV apenas com polimento (—), CB-DHP/CV (—) e QDGs-CB-DHP/CV (—) **(a)** avaliação da composição das suspensões de QDGs-CB: GQDs($600 \mu\text{L mL}^{-1}$)-CB($1,0 \text{ mg mL}^{-1}$)-DHP/CV(—), GQDs($300 \mu\text{L mL}^{-1}$)-CB($1,0 \text{ mg mL}^{-1}$)-DHP/CV(—) e GQDs($300 \mu\text{L mL}^{-1}$)-CB($2,0 \text{ mg mL}^{-1}$)-DHP/CV(—) **(b)**. Parâmetros: faixa de potencial= $-0,5$ a $1,3 \text{ V}$; $\Delta E_s = 0,01 \text{ V}$; $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$



Fonte: o próprio autor

Para avaliar o efeito das concentrações de CB e GQDs na resposta eletroquímica obtida para o EE2 foi realizado um estudo voltamétrico utilizando três suspensões com diferentes composições de CB e GQDs para a modificação do eletrodo de CV.

Como pode ser observado na Figura 10-(b), a resposta de corrente obtida para a oxidação do EE2 com o GQDs($300 \mu\text{L mL}^{-1}$)-CB($1,0 \text{ mg mL}^{-1}$)-DHP/CV ($I_p = 7,414 \mu\text{A}$) foi 2 vezes superior à obtida com o GQDs($600 \mu\text{L mL}^{-1}$)-CB($1,0 \text{ mg mL}^{-1}$)-DHP/CV ($I_p = 3,392 \mu\text{A}$), o qual não apresentou diferenças significativas com relação ao GQDs($300 \mu\text{L mL}^{-1}$)-CB($2,0 \text{ mg mL}^{-1}$)-DHP/CV ($I_p = 3,060 \mu\text{A}$). Portanto, nos estudos posteriores, o eletrodo de CV foi modificado com a suspensão contendo 1 mg mL^{-1} de CB e $300 \mu\text{L mL}^{-1}$ de GQDs, uma vez que o pico de corrente obtido para EE2 apresentou melhor definição e menor potencial de oxidação quando comparado às outras duas composições.

4.4 ESTUDO DA ESTABILIDADE DA RESPOSTA VOLTAMÉTRICA DO CV/DHP-CB-GQDs NA PRESENÇA DE SURFACTANTE

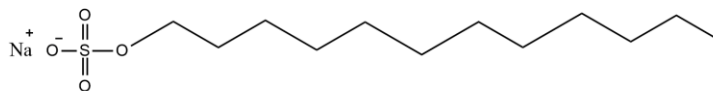
No processo eletroquímico de compostos fenólicos tais como hidroquinona (HQ), E2 e EE2, comumente, ocorre a adsorção destas, ou dos produtos de sua oxidação, na superfície do eletrodo de trabalho, ocasionando a diminuição do sinal elétrico e uma baixa precisão do método analítico (MORAES et al., 2015; HOSHYAR et al., 2021).

Entre as estratégias mais utilizadas para evitar ou minimizar processos de adsorção em sensores eletroquímicos está o uso de surfactantes. Estes são moléculas anfifílicas compostas por uma porção polar, a qual interage com a solução do eletrólito suporte e uma porção apolar, com capacidade de realizar interações hidrofóbicas com a superfície do eletrodo, produzindo camadas na interface sensor/solução que impedem um contato direto da espécie adsorvente (HU; YANG; HU, 2007; BRUGNERA; TRINDADE; ZANONI, 2010; MYERS, 2020).

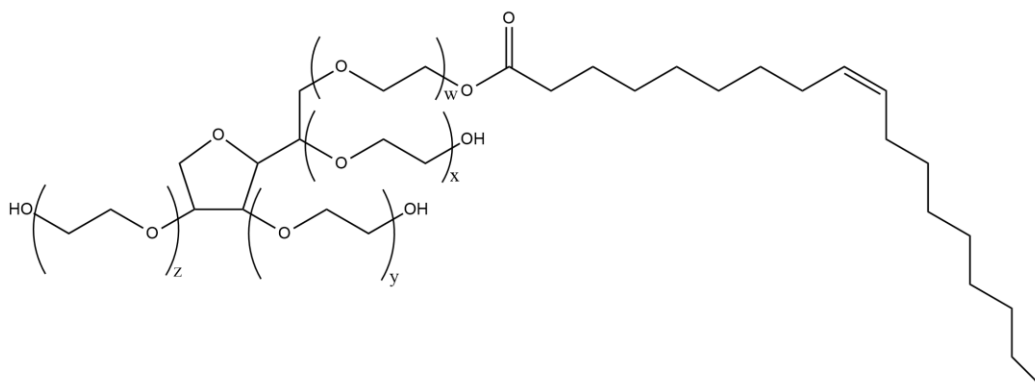
Nesse contexto, a fim de se avaliar a estabilidade do QDGs-CB-DHP/CV para a determinação do EE2, realizou-se um estudo com surfactantes dodecil sulfato de sódio (SDS), um surfactante aniônico, com uma porção polar negativamente carregada e monooleato de sorbitan etoxilados (Tween 80), um surfactante não iônico, cuja porção polar não apresenta carga resultante, suas estruturas químicas são apresentadas na Figura 11.

Figura 11 – Estrutura química dos surfactantes: dodecil sulfato de sódio (SDS) e monooleato de sorbitan etoxilados (Tween 80)

Dodecil sulfato de sódio (SDS)



Monooleato de sorbitan etoxilados (Tween 80)



Fonte: o próprio autor

Neste estudo, os sete voltamogramas cíclicos, apresentados na Figura 12, foram obtidos, sequencialmente, na ausência e presença de cada surfactante, sob agitação constante de dois minutos entre cada medida.

Os voltamogramas cíclicos obtidos para o EE2 com o QDGs-CB-DHP/CV na ausência de surfactante apresentaram uma diminuição gradual e significativa nas intensidades I_{pa} após a obtenção das sete varreduras sequenciais (Figura 12-(a)), resultando em um desvio padrão relativo (DPR) de 77,56% ($n=7$). Este comportamento indica uma elevada adsorção das moléculas de EE2 e do seu produto após o processo de oxidação na superfície do QDGs-CB-DHP/CV.

Nos estudos com o surfactante aniônico SDS, os voltamogramas cíclicos foram obtidos na presença de $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ deste surfactante, um valor superior a sua CMC de $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ (MERK KGAA, 2021), de modo que em solução, sua estrutura apresenta-se organizada em micelas. Na Figura 12-(b) observou-se uma melhora na repetibilidade das medidas, após sete varreduras, o DPR obtido foi de 22,14% ($n=7$). No entanto, também se observou uma perda significativa do filme na superfície do eletrodo.

Uma proposta para a conseqüente remoção do filme da superfície do QDGs-CB-DHP/CV é a formação de micelas normais com os monômeros de SDS

cuja porção polar negativa apresenta-se orientada para a solução, produzindo uma interação eletrostática favorável com a molécula de EE2, a qual possui pKa igual a 10,4, havendo portanto, uma maior proporção de moléculas protonadas deste hormônio em uma solução eletrólito suporte com pH=7,0, como representado pela distribuição de espécies na Figura 13.

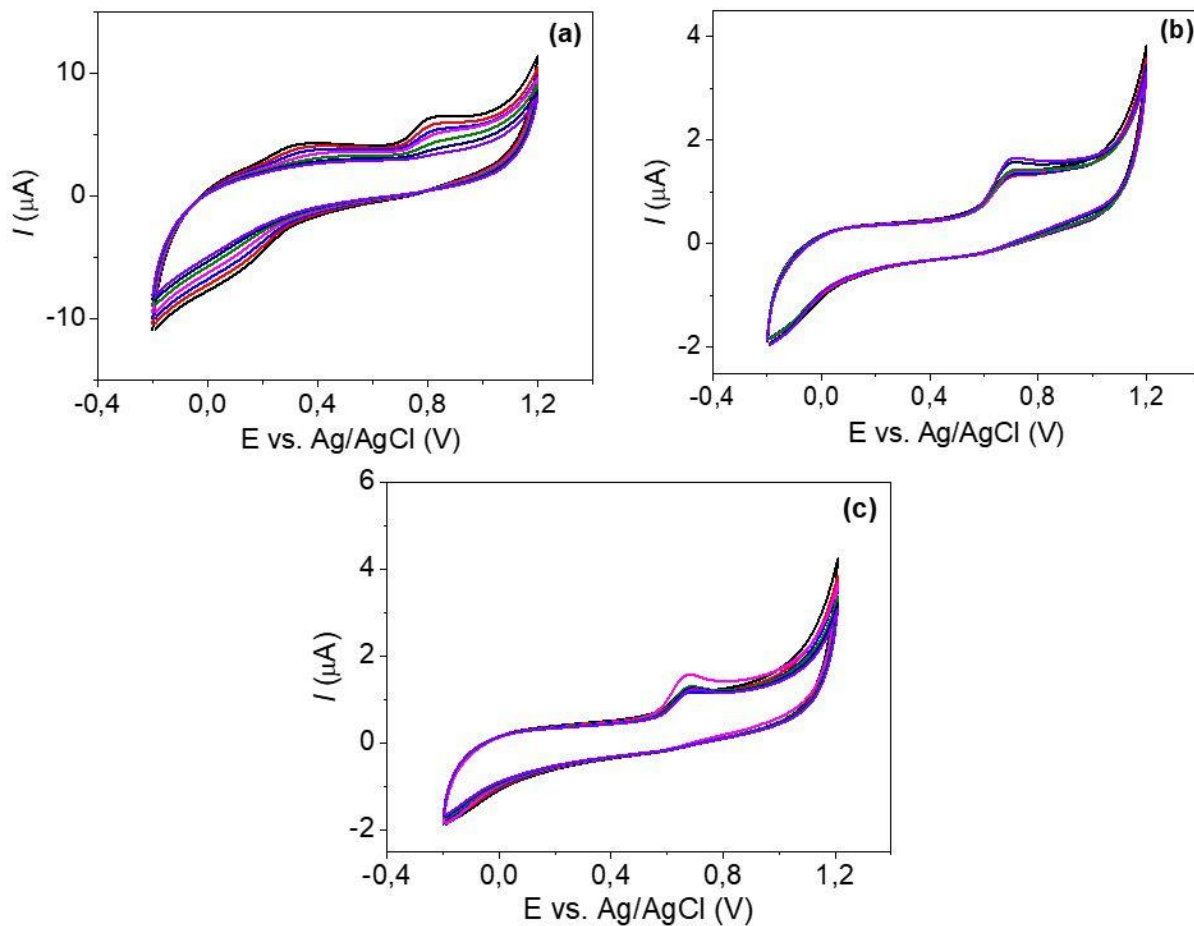
No entanto, em contato com o filme de QDGs e CB, contendo grupos oxigenados, ocorre uma repulsão eletrostática entre as cargas dos materiais carbonáceos e das micelas, capazes de ocasionar uma perda de estabilidade do filme na superfície do eletrodo, provocada pelo tensionamento da estrutura polimérica do DHP. Este é um surfactante solúvel em água com auxílio de sonicação, mas, após o processo de secagem, polimeriza-se por interações de hidrogênio (JANEGITZ et al. 2011) sendo responsável pela aderência dos materiais ao eletrodo (LELE; TILTON, 2019).

O mecanismo proposto para a perda de estabilidade do filme de QDGs-CB-DHP é ilustrado na Figura 14.

Os voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 12-(c) foram obtidos na presença de $809 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Tween 80, valor acima de sua CMC igual a $15 \mu\text{mol L}^{-1}$ (MAHMOOD; AL-KOOFEE, 2013). Observou-se uma considerável melhora na repetibilidade das medidas, resultando em um DPR de 31,05% (n=7). Com este surfactante não foi observado perda do filme na superfície do eletrodo.

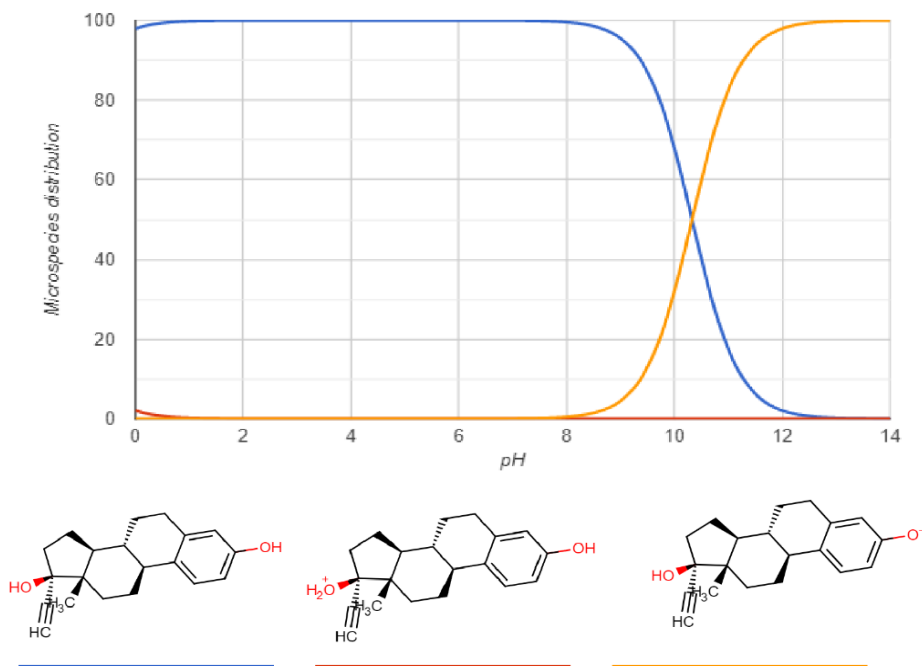
Assim, para as otimizações posteriores, empregou-se o surfactante não iônico Tween 80, o qual promoveu uma redução no processo de passivação do sensor eletroquímico.

Figura 12 – Voltamogramas obtidos com $125,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ do padrão de EE2 em solução Tampão Britton Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH}=7,0$ (20% v/v etanol), como solução eletrólito suporte na ausência de surfactante **(a)** e na presença dos surfactantes: SDS $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ **(b)** e Tween 80 $809 \mu\text{mol L}^{-1}$ **(c)**. Parâmetros: faixa de potencial = $-0,5$ a $1,3 \text{ V}$; $\Delta E_s = 0,01 \text{ V}$; $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$



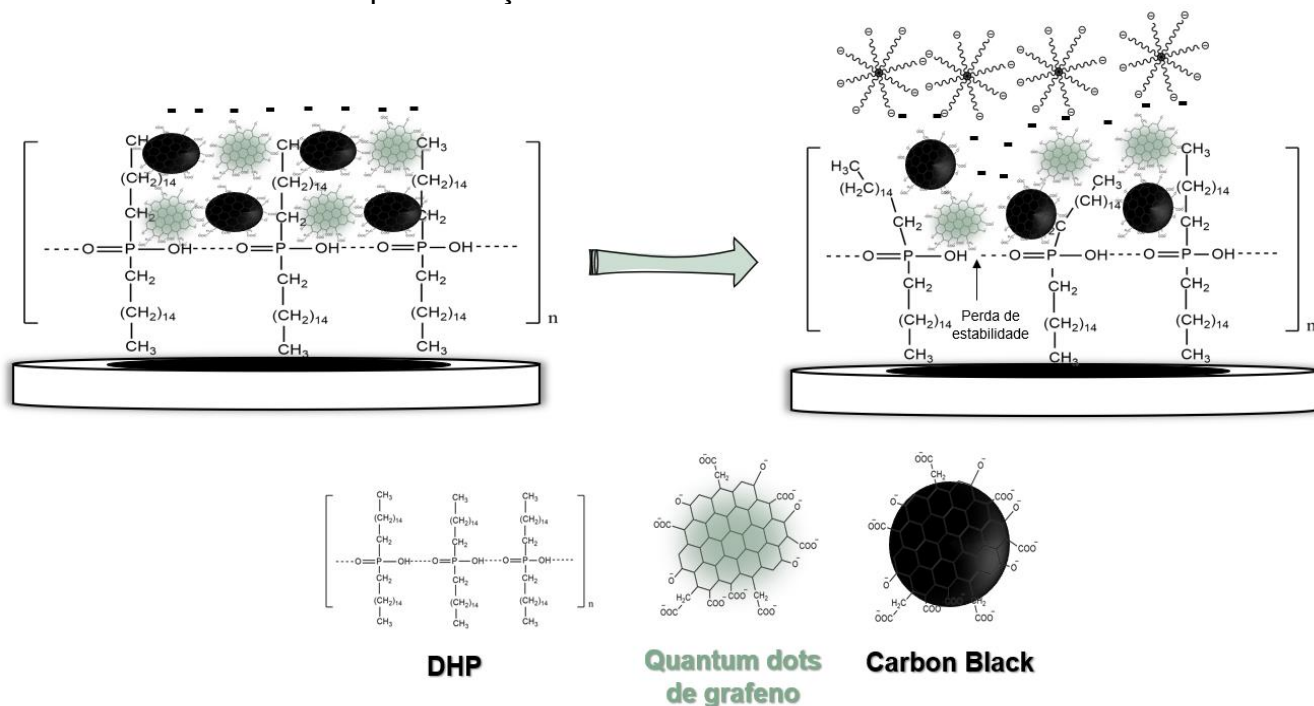
Fonte: o próprio autor

Figura 13 – Distribuição das espécies de EE2 sobre diferentes valores de pH



Fonte: Chemiaxion, (2021).

Figura 14 – Mecanismo proposto para o processo de remoção do filme de QDGs-CB-DHP após a adição do surfactante SDS



Fonte: o próprio autor (estrutura do surfactante DHP adaptada de JANEGITZ et al.,2011)

4.4.1 Estudo do tempo de agitação da solução entre as medidas

Os processos de oxirredução na superfície de eletrodos são regidos pela transferência de massa das espécies químicas, de modo a reduzir o gradiente de concentração entre o seio da solução e a interface eletrodo/eletrólito (PACHECO et al., 2013).

Entre as formas de transporte de massa, o processo convectivo, baseado no fluxo de moléculas e íons por agitação mecânica, proporciona a diminuição da diferença de concentração destas espécies no corpo da solução e a eliminação de bolhas da superfície do eletrodo, capazes de reduzir a uniformidade da densidade de corrente produzida (PACHECO et al., 2013; LEE; LAI, 2017).

Assim, a convecção pode auxiliar no movimento do composto a ser detectado em conjunto com o processo de difusão, onde o transporte das espécies ocorre espontaneamente, estimulado somente pelo gradiente de concentração, sendo ideal a predominância desta última forma de transporte para a formação de uma camada difusa, onde as moléculas solvatadas pelo eletrólito podem sofrer atração e moverem-se para a superfície do eletrodo (PACHECO et al., 2013; LEE; LAI, 2017).

Neste sentido, o tempo de agitação entre as medidas foi avaliado empregando-se a VC. O estudo consistiu na obtenção de três medidas consecutivas acompanhadas de uma agitação constante sob os intervalos de 3; 4 e 5 minutos entre uma varredura e outra. Há importância em se destacar que uma agitação inicial foi realizada em um intervalo de 10 minutos para auxiliar o transporte do EE2 à superfície do eletrodo e assegurar a ocupação de todos os sítios de oxidação com as moléculas do hormônio.

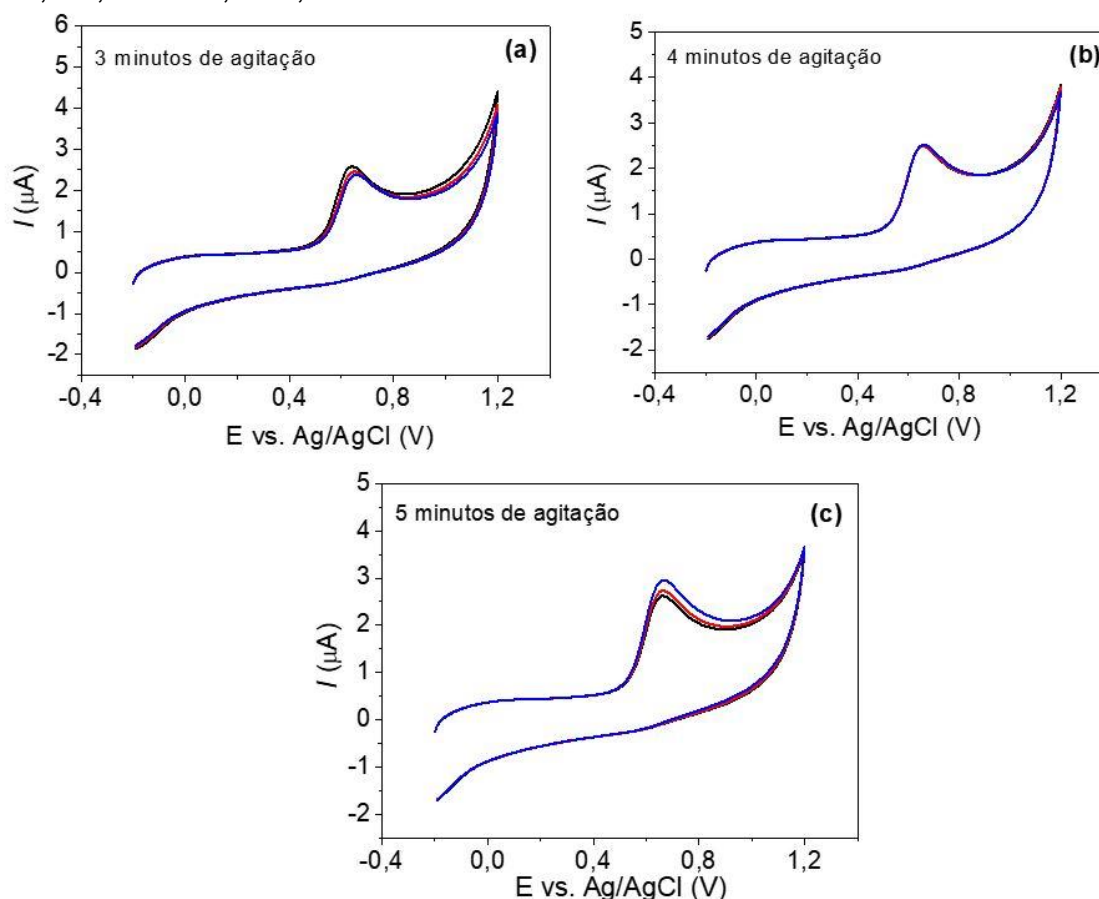
Nas Figuras 15-(a) e 15-(b), estão presentes as medidas voltamétricas acompanhadas de uma agitação constante de 3 e 4 minutos, respectivamente, onde foi possível observar um valor de DPR igual a 5,53% (n=3) para um intervalo de 3 minutos e um DPR igual a 0,83% (n=3) para um intervalo de 4 minutos de agitação, ambos os resultados foram promissores, indicando a importância da convecção no sistema para auxiliar no transporte de massa, na remoção de moléculas adsorvidas e na renovação das espécies sobre a superfície do eletrodo em conjunto com o processo difusional.

Na Figura 15-(c) são apresentados os voltamogramas cíclicos

obtidos com intervalos de tempo de agitação entre as medidas de 5 minutos. Observou-se maior oscilação nas intensidades de corrente de pico obtidas, resultando em um DPR de 9,03% (n=3).

De acordo com os resultados obtidos o intervalo de tempo de agitação entre as medidas escolhido foi de 3 minutos, considerando que não houve uma diferença significativa entre as respostas, em relação as intensidades de corrente de pico, indicando boa precisão na determinação do EE2 com o sensor desenvolvido.

Figura 15 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando QDGs-CB-DHP/CV em solução contendo EE2 $125 \mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de $809 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Tween 80, com diferentes intervalos de tempo de agitação entre as medidas: 3 minutos **(a)**; 4 minutos **(b)** e 5 minutos **(c)** entre as medidas. Eletrólito suporte: solução de tampão Britton Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, pH = 7. Parâmetros: faixa de potencial de varredura = -0,5 a 1,3 V; $\Delta E_s = 0,01 \text{ V}$; $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$

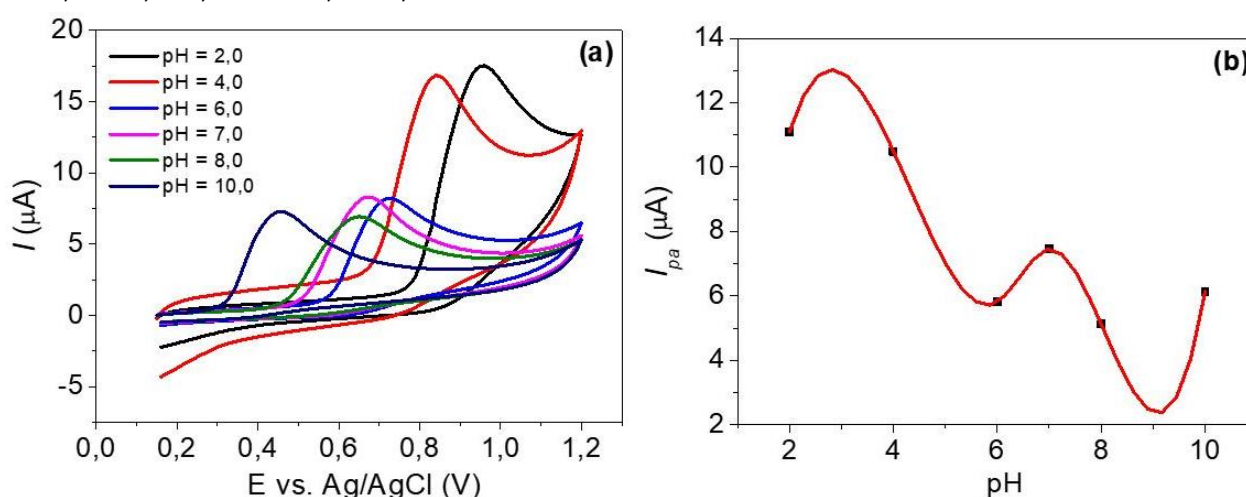


Fonte: o próprio autor

4.5 EFEITO DO PH DO ELETRÓLITO SUPORTE

O efeito do pH (na faixa de 2 a 10) do eletrólito suporte foi estudado utilizando uma solução de tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (com 20% de etanol (v/v)) na presença de EE2 na concentração de $120,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Na Figura 16-(a) são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos nos diferentes valores de pH. Observou-se um deslocamento da corrente de pico para potenciais menos positivos com o aumento do pH, comportamento característico para oxidação de compostos fenólicos como o EE2 (VEGA et al., 2007).

Figura 16 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo QDGs-CB-DHP/CV em solução de tampão Britton Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (20% v/v etanol) na presença de EE2 $120,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH: **(a)** 2,0 (—); 4,0 (—); 6,0 (—); 7,0 (—); 8,0 (—) e 10,0 (—); **(b)** Relação entre pH e as intensidades de corrente de pico para oxidação do EE2. Parâmetros: faixa de potencial de varredura = $-0,5$ a $1,3 \text{ V}$; $\Delta E_s = 0,01 \text{ V}$; $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$



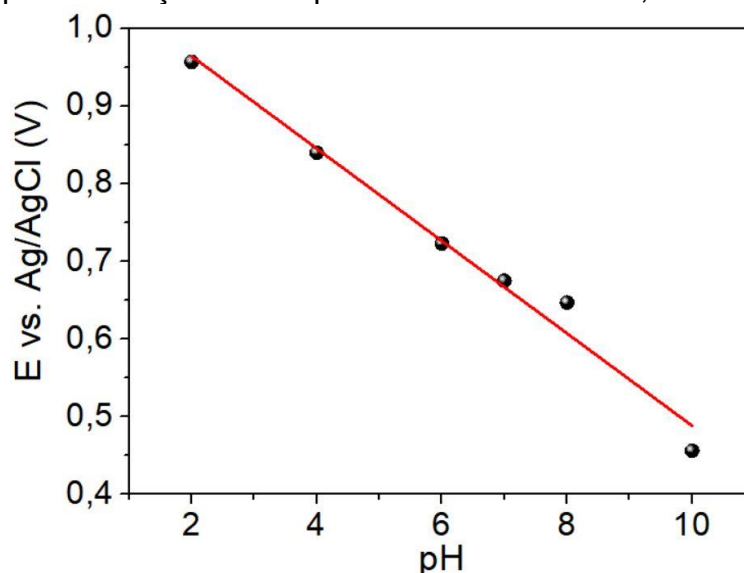
Fonte: o próprio autor

Na Figura 16-(b) é apresentada a relação entre a intensidade de corrente de pico e o pH da solução eletrólito suporte. Maiores intensidades de corrente foram obtidas em pHs baixos, 2,0 ($11,095 \text{ } \mu\text{A}$) e 4,0 ($10,491 \text{ } \mu\text{A}$), este comportamento indica uma melhor interação eletrostática entre a superfície do eletrodo contendo grupos carboxilas e hidroxilas presentes nos *planos edge* dos materiais carbonáceos e a molécula de EE2, considerando que, nestes valores de pH, grande proporção das moléculas de EE2 ($pK_a = 10,33$) estão protonadas (CHEMIAXION, 2021).

Assim, o eletrólito suporte em pH 4,0 foi utilizado nos estudos posteriores, uma vez que não houve diferença significativa em termos de intensidade de corrente de pico com relação ao pH 2,0 e, além disso, em pH 4,0 o pico de oxidação do EE2 se deslocou para potenciais menos positivos.

A relação entre o potencial de pico de oxidação (E_{pa}) e os diferentes valores de pH da solução do eletrólito suporte também foi avaliada. Na Figura 17, o gráfico de E_{pa} versus pH da solução apresentou um comportamento linear, indicando que o processo de oxidação do EE2 sobre a superfície do QDGs-CB-DHP/CV envolve somente um estágio de transferência protônica.

Figura 17 – Relação entre o potencial de pico anódico (E_{pa}) obtido para o EE2 e o pH da solução de tampão Britton Robinson 0,04 mol L⁻¹



Fonte: o próprio autor

A regressão linear resultante da relação de E_{pa} versus pH apresentou a seguinte equação:

$$E_{pa}(V) = 1,0835 - 0,0595 \text{ pH} \quad R^2 = 0,9765 \quad \text{Equação (1)}$$

O coeficiente angular obtido foi de 0,0595 V pH⁻¹, próximo ao coeficiente angular Nerstiano teórico de 0,0592 V pH⁻¹, a temperatura ambiente (EISELE et al., 2019). Este comportamento é característico de reações redox envolvendo um número igual de prótons e elétrons. De acordo com a literatura, um dos principais mecanismos de oxidação eletroquímica proposto para o EE2 envolve

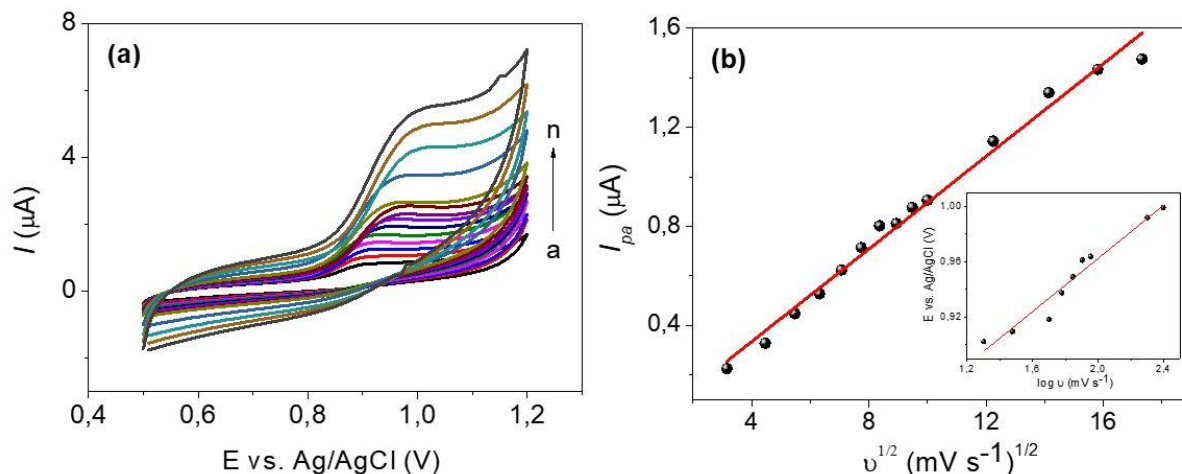
a transferência de um próton e um elétron (NODEHI et al., 2020; ZHENG et al., 2019; COELHO; SILVA; PEREIRA, 2019; JESUS; FERREIRA; LUCCA, 2020; LI, 2007; SMAJDOR et al., 2017; SANTOS et al., 2021), Estudos relacionados a este mecanismo ainda serão apresentados posteriormente

4.6 EFEITO DA VELOCIDADE DE VARREDURA

A velocidade de varredura (v) em estudos voltamétricos é representada pela taxa entre o potencial aplicado e o tempo, durante o processo de oxirredução. A avaliação do efeito da v é empregada em muitos trabalhos para a obtenção de parâmetros cinéticos e do transporte de massa das espécies presentes no seio da solução à superfície do eletrodo (ALLEN J. BARD; LARRY R. FAULKNER, 2001; SMAJDOR et al., 2017).

Os voltamogramas cíclicos obtidos para as diferentes taxas de varredura estão apresentados na Figura 18-(a). É possível observar respostas de corrente superiores para o EE2 ao aumentar a velocidade de varredura, este comportamento é o resultado de uma diminuição na camada de difusão proporcionada por maiores taxas varreduras, aproximando as moléculas do hormônio a superfície do eletrodo e conseqüentemente, elevando o sinal eletroquímico (ALLEN J. BARD; LARRY R. FAULKNER, 2001; ELGRISHI et al., 2018).

Figura 18 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo QDGs-CB-DHP/CV em solução de tampão Britton Robinson 0,04 mol L⁻¹ (pH=4,0) (20% (v/v) de etanol e 809 μmol L⁻¹ de Tween 80) contendo 500 μmol L⁻¹ de EE2, sob diferentes velocidades de varredura (10 - 300 mV s⁻¹) **(a)**; Relação de I_{pa} versus $v^{1/2}$. Gráfico inserido: relação de $\log I_{pa}$ versus $\log v^{1/2}$ **(b)**. Parâmetros: faixa de potencial = -0,5 a 1,3 V; $\Delta E_s = 0,01$ V



Fonte: o próprio autor

A relação de I_{pa} (μA) versus $v^{1/2}$ (mV s⁻¹)^{1/2} (Figura 18-(b)) apresentou-se linear, indicando que o processo de transferência de massa do hormônio para a superfície do eletrodo de QDGs-CB-DHP/CV ocorre por difusão, este resultado é concordante com outros trabalhos da literatura. (ZHENG et al., 2019; SMAJDOR et al., 2017).

A dependência do $\log I_{pa}$ (μA) versus $\log v$ (mV s⁻¹) inserida na Figura 19-(b) também apresentou uma linearidade orientada pela equação:

$$\log I_{pa} = -1,1933 + 0,5718 \log v \quad R^2 = 0,9872 \quad \text{Equação (2)}$$

O coeficiente angular obtido foi de 0,5718, próximo ao valor teórico de 0,50, para moléculas orgânicas, confirmando que o mecanismo de transferência de massa determinante na reação de oxidação do EE2 sob o eletrodo de QDGs-CB-DHP/CV é a difusão.

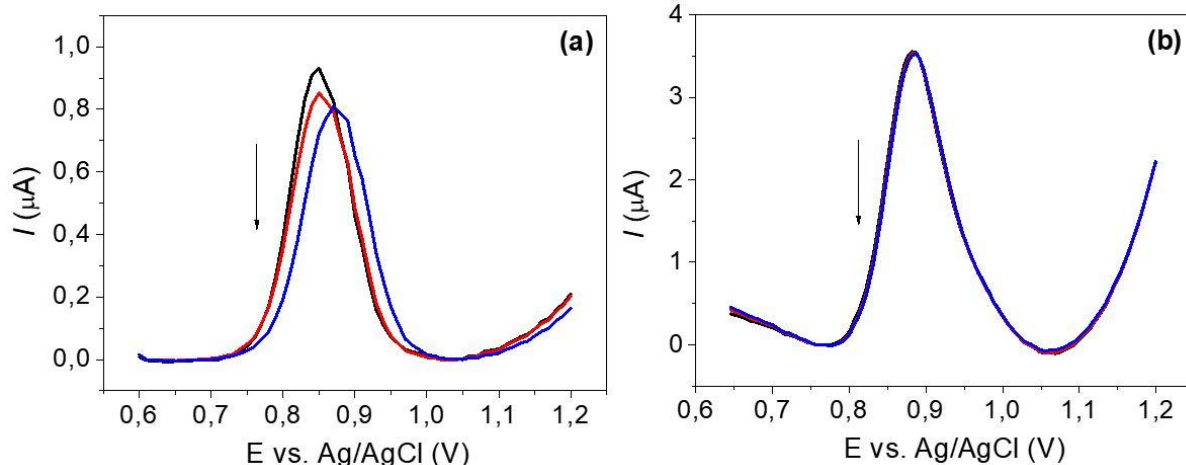
4.7 AVALIAÇÃO DAS TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS DE PULSO PARA A DETERMINAÇÃO DO EE2

As técnicas voltamétricas de pulso como a voltametria de pulso diferencial (VPD) e voltametria de onda quadrada (VOQ) são amplamente

empregadas na determinação de espécies eletroativas. Estas apresentam alta sensibilidade devido à redução na contribuição da corrente capacitiva e um curto tempo de análise, proveniente de uma maior velocidade de varredura efetiva comparada as técnicas de VC e voltametria linear (VL), sendo estas últimas técnicas usualmente empregadas para estudos cinéticos e caracterização das reações de oxirredução (SRIVASTAVA et al.,2018; SANTOS et al.,2014; FRITZ SCHOLZ, 2002)

Neste sentido, as técnicas de VPD e VOQ foram avaliadas para o desenvolvimento do método eletroanalítico na determinação de EE2. Os voltamogramas de pulso diferencial e onda quadrada obtidos em triplicata estão presentes na Figura 19-(a) e (b), respectivamente. Observou-se que os voltamogramas obtidos apresentaram picos mais bem definidos, maior intensidade de corrente e menor DPR (n=3), como apresentado na Tabela 3.

Figura 19 – Voltamogramas de pulso diferencial **(a)** e de onda quadrada **(b)** obtidos com o eletrodo QDGs-CB-DHP/CV em solução de tampão Britton Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH=4,0) (20% v/v etanol e $809 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Tween 80) contendo EE2 $120 \mu\text{mol L}^{-1}$. Parâmetros: VPD - faixa de potencial de varredura = 0,6 a 1,2 V; $\Delta E_s = 10,0 \text{ mV}$; $E_{\text{pulso}} = 0,01\text{V}$; $t_{\text{pulso}} = 0,1\text{s}$ e $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. VOQ - faixa de potencial de varredura= 0,6 a 1,2V; $f = 30,0 \text{ s}^{-1}$; $a = 50,0 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5,0 \text{ mV}$



Fonte: o próprio autor

Tabela 3 – Valores de corrente de pico e DPR obtidos empregando as técnicas VPD e VOQ

Técnica voltamétrica	I_p (anódico) (μA)	RSD (%) (n=3)
VPD	0,8592	7,28
VOQ	3,5716	0,68

Fonte: o próprio autor

Portando, devido a melhor estabilidade de resposta voltamétrica obtida com a VOQ, esta foi a técnica de pulso selecionada para o desenvolvimento do procedimento analítico para a determinação do EE2 com o sensor eletroquímico QDGs-CB-DHP/CV.

4.8 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA TÉCNICA DE VOQ

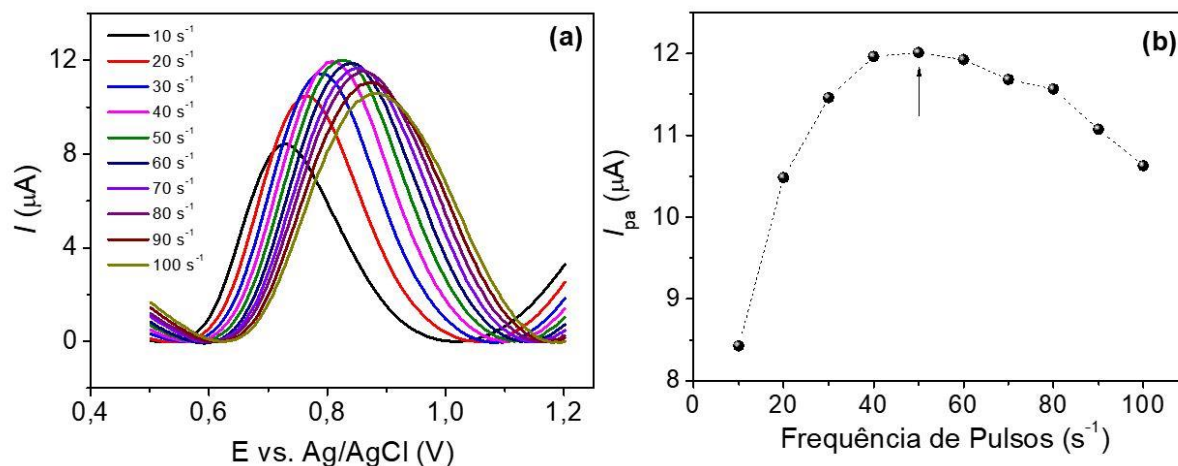
Os parâmetros de frequência de aplicação de pulsos de potencial (f), amplitude do pulso de potencial (a) e incremento de varredura de potencial (ΔE_s) exercem uma influência direta na resposta voltamétrica, conseqüentemente, a avaliação destes é essencial para o desenvolvimento do método eletroanalítico (PEREZ; SIMÕES; CODOGNATO, 2016; MEDEIROS, 2008).

4.8.1 Efeito da Frequência de Aplicação de Pulsos

A frequência de aplicação de pulsos (f) determina a intensidade do sinal eletroquímico, desse modo, este parâmetro possui grande importância para obtenção de métodos analíticos com maior sensibilidade (SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003; MEDEIROS, 2008).

Os voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes valores de frequência de pulsos são apresentados na Figura 20-(a) e a dependência entre o sinal de intensidade de corrente de pico e a frequência de aplicação de pulsos estão presentes na Figura 20-(b). Observou-se um aumento significativo nas intensidades de corrente com o aumento da frequência até $50,0 \text{ s}^{-1}$, sendo essa selecionada para os estudos posteriores.

Figura 20 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo QDGs-CB-DHP/CV em diferentes valores de frequência de aplicação de pulsos, em solução de tampão BR 0,04 mol L⁻¹ (pH=4,0) (20% (v/v) de etanol e 809 μmol L⁻¹ de Tween 80) contendo EE2 120 μmol L⁻¹ **(a)**; Relação entre as frequências de aplicação de pulsos de potenciais e I_{pa} para oxidação do EE2 **(b)**. Parâmetros: $a = 80,0$ mV e $\Delta E_s = 5,0$ mV



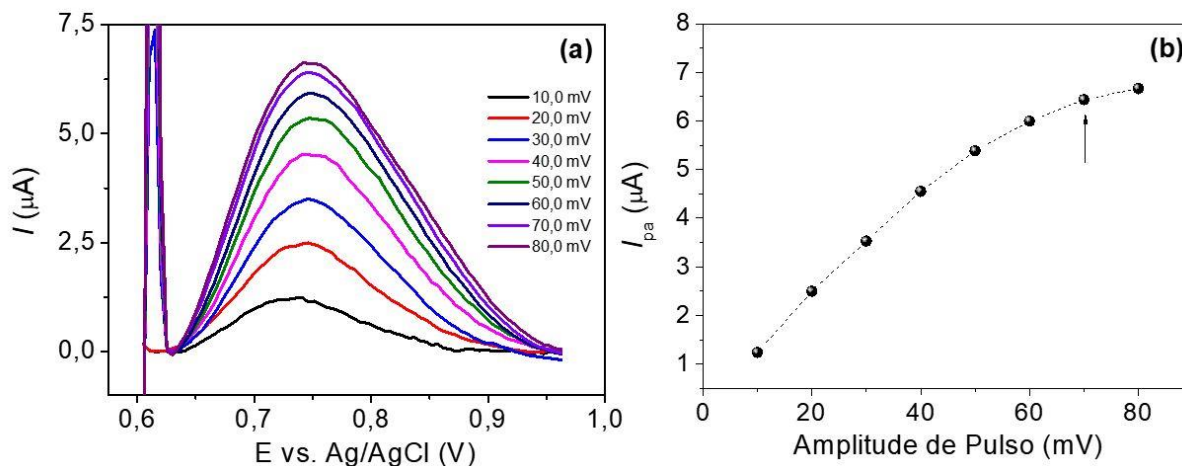
Fonte: o próprio autor

4.8.2 Efeito da Amplitude de Pulso de Potencial

A amplitude de pulso do potencial também foi avaliada, uma vez que este parâmetro pode ocasionar um aumento na intensidade de corrente e largura de meia altura do pico ($\Delta E_{p/2}$), além de um deslocamento no potencial de pico, para processos de oxirredução totalmente irreversíveis (SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003; MEDEIROS, 2008).

Os voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes valores de amplitude de pulso e a relação entre I_{pa} versus a são apresentados na Figura 21- (a) e (b). Também foi possível observar que o incremento nos valores de amplitude proporcionam um aumento nas intensidades de I_{pa} até a amplitude de 70 mV, acima desta, as I_{pa} se mantiveram praticamente constantes. Desse modo, o valor de 70,0 mV foi selecionado para os estudos posteriores.

Figura 21 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo QDGs-CB-DHP/CV em diferentes valores de amplitude de pulso, em solução de tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH=4,0) (20% (v/v) de etanol e $809 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Tween 80) contendo EE2 $120 \mu\text{mol L}^{-1}$ (a); Relação entre amplitude de pulso e I_{pa} para oxidação do EE2 (b). Parâmetros: $f=30,0 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s=5,0 \text{ mV}$



Fonte: o próprio autor

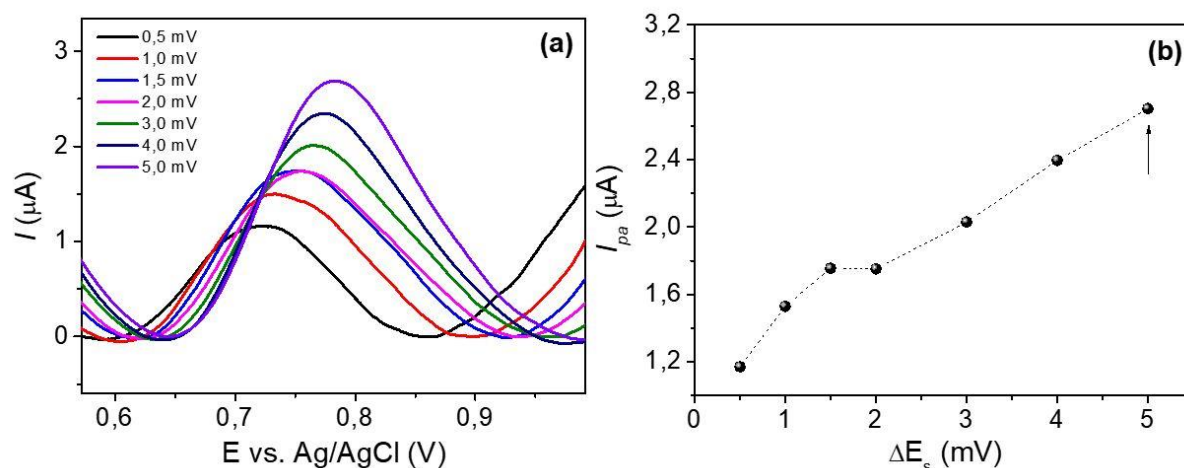
4.8.3 Efeito do Incremento de Varredura

O terceiro parâmetro avaliado foi o incremento de varredura (ΔE_s), o produto obtido entre este parâmetro e a frequência de pulsos resulta na velocidade efetiva de varredura de potenciais, promovendo um maior sinal eletroquímico e, conseqüentemente, uma melhora na sensibilidade do método analítico (SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003; MEDEIROS, 2008).

Os voltamogramas de onda quadrada obtidos sob diferentes valores de incremento de varredura e a relação I_{pa} versus ΔE_s são apresentados na Figura 23-(a) e (b). O aumento no ΔE_s promove um aumento nas intensidades de I_{pa} , assim, o valor máximo de 5,0 mV, empregado neste estudo, foi selecionado para os estudos posteriores.

Embora o incremento de varredura exerça uma interferência direta na resposta eletroquímica, este parâmetro também proporciona uma maior extensão da meia altura do voltamograma ($\Delta E_{p/2}$), como pode ser observado nos voltamogramas apresentados na Figura 22-(a), comprometendo a definição do pico, por esta razão, valores maiores de incrementos não foram considerados na avaliação (MEDEIROS, 2008).

Figura 22 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo QDGs-CB-DHP/CV em diferentes valores de incremento de varredura, em solução de tampão BR 0,04 mol L⁻¹ (pH=4,0) (20% (v/v) de etanol e 809 μmol L⁻¹ de Tween 80) contendo EE2 120 μmol L⁻¹ **(a)**; Relação entre incremento de varredura e I_{pa} para oxidação do EE2 **(b)**. Parâmetros: $f=30,0\text{ s}^{-1}$ e $a=80,0\text{ mV}$



Fonte: o próprio autor

4.8.4 Determinação do número de elétrons pelo estudo de ν na VC

De acordo com Laviron (1979), parâmetros como o coeficiente de transferência de elétrons (α) e número de elétrons envolvidos em uma reação irreversível de oxidação (n_e) podem ser obtidos em função da largura de meia altura do pico anódico ($\Delta E_{p/2}$) empregando a equação:

$$\Delta E_{p/2} = \frac{62,5}{(1 - \alpha)n_e} \quad \text{Equação (3)}$$

Segundo a teoria de Tafel, a determinação de α também é possível com a relação linear entre $\log I_{pa}$ (intensidade de corrente de pico) e E_p (potencial de pico) resultantes dos voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades, apresentados na Figura 18-(a), sendo o coeficiente angular representado pela equação 4 (equação de Tafel), destinada a sistemas irreversíveis (ALLEN J. BARD; LARRY R. FAULKNER, 2001; COELHO; SILVA; PEREIRA, 2019).

$$I_{pa} = (1 - \alpha) \frac{F}{2,3RT} E_{pa} \quad \text{Equação (4)}$$

Na qual F é a constante de Faraday (96.485,34 C mol⁻¹), R é a

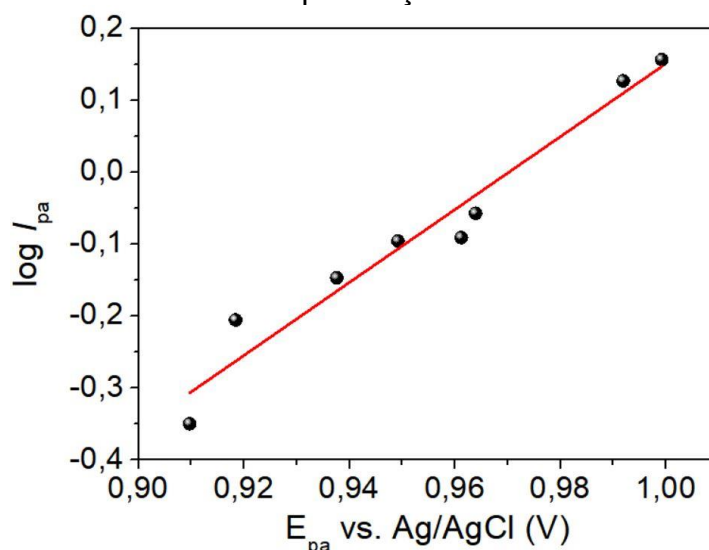
constante dos gases ideais ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) e T é a temperatura de $298,15 \text{ K}$.

A relação de $\log I_{pa}$ versus E_p é apresentada na Figura 24 e a equação da reta obtida foi:

$$\log I_p = -4,9212 + 5,0723 E_{pa} \quad R^2 = 0,9477 \quad \text{Equação (5)}$$

Assim, a substituição do valor de coeficiente angular (5,0723) na Equação 4 obteve-se um valor de α de 0,70.

Figura 23 – Curva de Tafel obtida para o sistema eletroquímico empregando QDGs-CB-DHP/CV na presença do hormônio EE2



Fonte: o próprio autor

A largura de meia altura do pico de oxidação do EE2 ($\Delta E_{p/2} = 271,06 \text{ mV}$) foi determinada com um voltamograma cíclico obtido em velocidade de varredura, de 10 mV s^{-1} .

Com a substituição dos valores de α e $\Delta E_{p/2}$ na equação 3, foi possível calcular o número de elétrons envolvidos na oxidação do EE2, que foi 0,76. Portanto concluiu-se que o processo de oxidação do EE2, no sistema eletroquímico apresentado neste trabalho, envolve a transferência de apenas 1 elétron. Este resultado é concordante com o mecanismo de oxidação eletroquímica do EE2 (Figura 25) propostos em muitos trabalhos encontrados na literatura. (SMAJDOR et al., 2017; COELHO; SILVA; PEREIRA, 2019; PRADO et al., 2017; NODEHI et al., 2020).

4.8.5 Determinação do número de elétrons pelo estudo da Frequência de aplicação de pulsos de potenciais (f) na VOQ

Para processos eletroquímicos totalmente irreversíveis, é possível determinar o número de elétrons envolvidos na reação de oxidação do EE2 por meio da relação entre o potencial de pico (E_p) e o logaritmo da frequência de pulsos ($\log f$), utilizando a equação (SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003):

$$\frac{\Delta E}{\Delta \log f} = \frac{-2,3RT}{\alpha n_e F} \quad \text{Equação (6)}$$

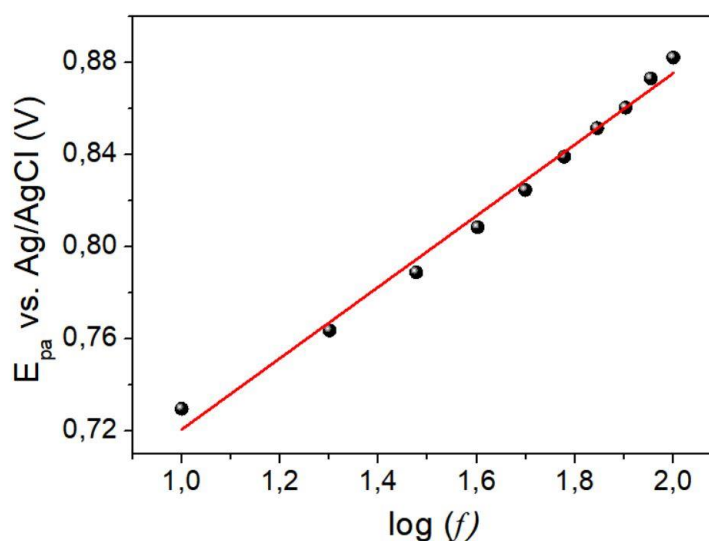
Sendo F a constante de Faraday ($96.485,34 \text{ C mol}^{-1}$), R é a constante dos gases ideais ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T é a temperatura de $298,15 \text{ K}$ e α é o coeficiente de transferência de elétrons, sendo utilizado o valor teórico de $0,5$.

A relação de E_p versus $\log f$ é apresentada na Figura 25, com uma equação da reta de:

$$E_{pa} = 0,5660 + 0,1547 \log f \quad R^2 = 0,9876 \quad \text{Equação (7)}$$

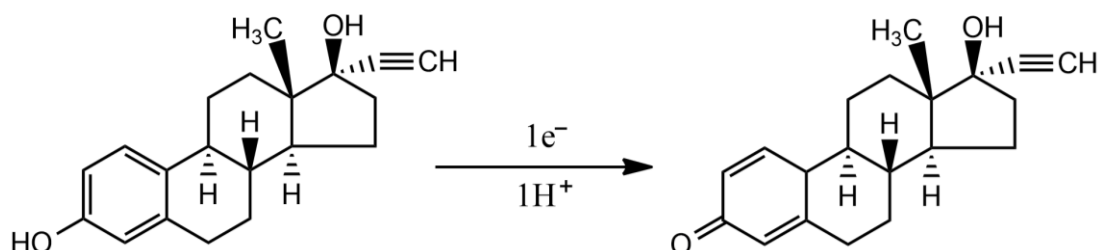
Com a substituição do coeficiente angular ($\Delta E/\Delta \log f$) na Equação 6, obteve-se um valor de n_e igual a $0,76$, confirmando que a oxidação eletroquímica do EE2 ocorre com a transferência de um único elétron para a superfície do QDGs-CB-DHP/CV, como apresentado na Figura 25.

Figura 24 – Relação entre E_{pa} e $\log f$ obtida para o sistema eletroquímico empregando QDGs-CB-DHP/CV na presença do hormônio EE2



Fonte: o próprio autor

Figura 25 – Mecanismo proposto para a reação de eletrooxidação do EE2



Fonte: o próprio autor; adaptação de SMAJDOR et al. (2017)

4.9 CONSTRUÇÃO DA CURVA ANALÍTICA PARA EE2

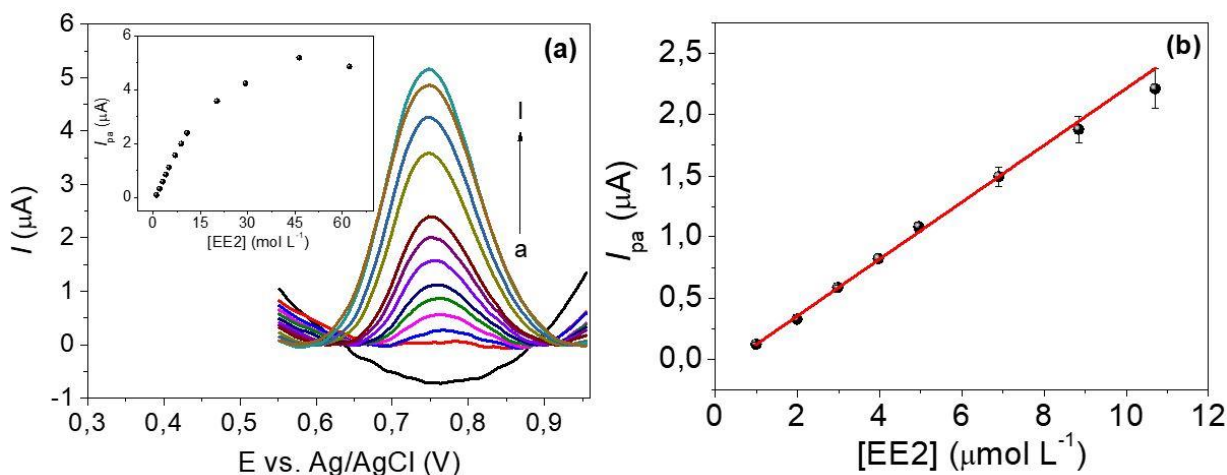
Após a otimização dos parâmetros da técnica de VOQ, a curva analítica para o EE2 foi construída empregando o eletrodo de QDGs-CB-DHP/CV. Na Figura 26-(a) são apresentados os voltamogramas de onda quadrada obtidos em solução Tampão Britton Robinson 0,04 mol L⁻¹, pH=4,0 (20% v/v de etanol e 809 μmol L⁻¹ de Tween 80) sob diferentes concentrações de EE2 em um intervalo de 0,998 μmol L⁻¹ - 62,2 μmol L⁻¹. A curva analítica apresentada na Figura 26-(b) foi obtida nas concentrações de EE2 de 0,998 μmol L⁻¹ a 10,0 μmol L⁻¹, a equação da reta obtida foi:

$$I_{pa}(A) = -1,1285 \times 10^{-7} + 0,2329 [EE2] \quad R^2 = 0,9876 \quad \text{Equação (8)}$$

Para a determinação do limite de detecção (LD), empregando o método da relação sinal ruído (RIBANI et al., 2004), estimou-se a concentração de EE2 com um sinal de corrente equivalente a três vezes a razão sinal/ruído (3.SN), para este procedimento, sucessivas concentrações diluídas e conhecidas da solução padrão de EE2 foram adicionadas no eletrólito suporte até que se obtivesse um sinal de corrente correspondente a 3 vezes o sinal de corrente obtido no branco (solução tampão BR 0,04 mol L⁻¹ com 20% (v/v) de etanol e 809 μmol L⁻¹ de Tween 80). Sendo assim, a concentração de 0,998 μmol L⁻¹ de EE2 providenciou uma resposta de 0,14 μA, equivalente a 3 vezes o desvio padrão do branco no valor de 0,13 μA. Assim, o valor de LD para o método eletroanalítico proposto foi igual a 0,998 μmol L⁻¹, igual a primeira concentração de EE2 apresentada na faixa dinâmica linear da

curva analítica.

Figura 26 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos empregando o QDGs-CB-DHP/CV em solução tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH}=4,0$ (20% v/v de etanol e $809 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de Tween 80) contendo EE2 (a – i) 1,0; 2,0; 4,0; 5,0; 6,9; 8,8; 10,7; 20,2; 29,2; 46,3 e $62,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (a) e curva analítica obtida para EE2 na faixa dinâmica linear de 1,0 - $10,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (b) *Gráfico inserido*: Faixa dinâmica avaliada para o EE2. Parâmetros: $f=30,0 \text{ s}^{-1}$; $a=80,0 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 5,0 \text{ mV}$



Fonte: o próprio autor

A performance analítica do QDG-CB-DHP/CV para a determinação do EE2, em termos de faixa de concentração linear e valor de LD apresentou resultados comparáveis com obtidos em trabalhos reportados na literatura durante os últimos cinco anos, como pode ser observado na Tabela 4 (SMAJDOR et al., 2017; TRIVIÑO et al., 2019; COELHO; SILVA; PEREIRA, 2019; ZHENG et al., 2019; JESUS; FERREIRA; LUCCA, 2020).

Entre os procedimentos analíticos desenvolvidos para a determinação do EE2 e que exibem uma ampla região linear de concentração e valores de LD extremamente baixos, é possível identificar a presença de materiais com alto custo relativo, tóxicos, ou que longo tempo de síntese, além da necessidade de pré-concentração antes do processo de análise.

SCALA-BENUZZI et al. (2018) desenvolveram uma sofisticada plataforma para imunossensor na qual a determinação do EE2 foi acompanhada de uma pré-concentração em papel, substrato utilizado na imobilização dos anticorpos e que foi previamente submetido a oxidação em plasma por 2 minutos, entre outros processos de funcionalização e interação com os anticorpos para o EE2 (anti-EE2) que exigiram um tempo aproximado de 2 horas. Assim, embora o trabalho apresente

um LD na escala de pmol L^{-1} , é necessário considerar o emprego de longas e complexas etapas no preparo da plataforma, além do uso de equipamentos e materiais com elevado custo relativo como o plasma de oxigênio e o material biológico anti-EE2.

SANTOS et al. (2021) desenvolveram um eletrodo de carbono impresso modificado com grafeno funcionalizado, QDGs obtidos via pirólise do AC, e além de nanopartículas de Fe_3O_4 revestidas com um polímero molecularmente impresso, materiais com elevada área superficial, capazes de auxiliar na sensibilidade, seletividade do método, responsáveis pela obtenção de um limite de detecção na escala de nmol L^{-1} , mas que empregam diferentes processos de síntese, prolongando o tempo de construção do sensor.

Para a obtenção de um limite de detecção do EE2 na ordem de nmol L^{-1} , CANEVARI et al. (2016) modificaram um eletrodo de CV com um compósito de nanotubos de carbono com paredes simples (SWNTCs) e carbon-dots (C-dots), sendo este último material preparado com um procedimento eletroquímico de síntese, envolvendo a mistura de hidróxido de potássio, 2-propanol e água deionizada, submetida a sonicação e tratamento químico empregando dois eletrodos de platina e aplicando um elevado potencial de 6,5 V, além de uma corrente de 100 mA, procedimento que se prosseguiu por um longo período de 8,5 horas.

Contudo, a construção do QDG-CB-DHP/CV não necessitou de reagentes tóxicos, tais como metais pesados ou a aplicação de elevados potenciais eletroquímicos para a obtenção dos materiais de modificação dos eletrodos, ademais, o intervalo linear de concentração e valor de LD foi equiparável a muitos trabalhos reportados para a determinação do EE2.

Tabela 4 – Procedimentos eletroquímicos reportados para a determinação do EE2

Técnica	Região Linear de concentração (mol L⁻¹)	LD (mol L⁻¹)	Características Analíticas	Referência
OSWV	$1,7 \cdot 10^{-12} - 4,1 \cdot 10^{-10}$	$3,4 \cdot 10^{-13}$	<ul style="list-style-type: none"> • Imunossensor • SPCE • Pré-concentração em papel • Longo tempo para o preparo do sensor 	(SCALA-BENUZZI et al., 2018)
VPD	$1,0 \cdot 10^{-8} - 1,2 \cdot 10^{-4}$	$3,3 \cdot 10^{-9}$	<ul style="list-style-type: none"> • Eletrodo de CV modificado com NTCs e nanopartículas de Fe₂O₃@ácido tânico • Grande volume de reagentes e longo tempo no preparo dos materiais de modificação • Tempo de vida = 14 dias 	(NODEHI et al., 2020)
VPD	$2,0 \cdot 10^{-6} - 1,5 \cdot 10^{-4}$	$5,0 \cdot 10^{-7}$	<ul style="list-style-type: none"> • Eletrodo de CV modificado com nitreto de carbono, NTCs e nanopartículas de paládio • Tempo de vida = 5 dias 	(ZHENG et al., 2019)
VOQ	$9,9 \cdot 10^{-7} - 5,2 \cdot 10^{-6}$	$2,4 \cdot 10^{-7}$	<ul style="list-style-type: none"> • Eletrodo de diamante dopado com boro 	(PEREZ; SIMÕES; CODOGNOTO, 2016)

Cronoamperometria	$2,5 \cdot 10^{-13} - 2,0 \cdot 10^{-11}$	$0,2 \cdot 10^{-12}$	<ul style="list-style-type: none"> • Eletrodo de FTO modificado com nanofibras de PVP, quitosana e óxido de grafeno reduzido e • Imobilizado da enzima lacase • Longo tempo no preparo dos materiais de modificação • Emprego da técnica de eletrospinning 	(PAVINATTO et al., 2018)
VOQ	$2,5 \cdot 10^{-6} - 9,0 \cdot 10^{-5}$	$2,2 \cdot 10^{-6}$	<ul style="list-style-type: none"> • Eletrodo de CV modificado com materiais carbonáceos e ftalocianinas metálicas • Materiais carbonáceos empregados: NTCs, OG, OGR ou grafite • Emprego de ftalocianinas compostas de Co, Fe ou Mn 	(COELHO; SILVA; PEREIRA, 2019)
SCV	$6,4 \cdot 10^{-7} - 7,8 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-7}$	<ul style="list-style-type: none"> • Eletrodo de amálgama de Ag • Uso de Pt e partículas de Ag • Uso de mercúrio líquido para formação da amálgama • Ativação eletroquímica do eletrodo aplicando um potencial de -2,2V 	(JESUS; FERREIRA; LUCCA, 2020)
VPD	$5,5 \cdot 10^{-8} - 1,2 \cdot 10^{-6}$	$2,0 \cdot 10^{-9}$	<ul style="list-style-type: none"> • Eletrodo de CV modificado com OGR decorado com nanopartículas de Ru • Necessidade de um elevado volume de ácido e um longo tempo para o preparo do OGR 	(PRADO et al., 2017)

			<ul style="list-style-type: none"> • Tempo de vida = 30 dias 	
VOQ	$1,0 \cdot 10^{-8} - 2,5 \cdot 10^{-6}$	$2,6 \cdot 10^{-9}$	<ul style="list-style-type: none"> • SPCE modificado com grafeno funcionalizado, QDGs e nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MIP}$ • Fotopolimerização empregando lâmpada de Hg sob alta pressão para o preparo do $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MIP}$ 	(SANTOS et al., 2021)
AdsV	-	$6,1 \cdot 10^{-7}$ (SPCE) $6,4 \cdot 10^{-7}$ (SPCE-NTCs)	<ul style="list-style-type: none"> • Eletrodos: SPCE e SPCE modificado com NTCs • Emprego de um HMDE para a técnica voltamétrica de redissolução 	(TRIVIÑO et al., 2019)
VPD	$2,5 \cdot 10^{-7} - 3,0 \cdot 10^{-6}$	$1,3 \cdot 10^{-7}$	<ul style="list-style-type: none"> • Eletrodo de CV modificado com CB • Pré-concentração ($E = -250 \text{ mV}$; $t = 20\text{s}$) 	(SMAJDOR et al., 2017)
VPD	$5,0 \cdot 10^{-8} - 7,0 \cdot 10^{-6}$	$4,0 \cdot 10^{-9}$	<ul style="list-style-type: none"> • Eletrodo de CV modificado com material híbrido de NTCs e C-dots e imobilizado com enzima Lacase • Aplicação de um potencial $E = -6,5$ para a síntese dos C-dots • Tempo de vida = 30 dias 	(CANEVARI et al., 2016)
VOQ	$1,0 \cdot 10^{-6} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$1,0 \cdot 10^{-7}$	<ul style="list-style-type: none"> • Eletrodo de CV funcionalizado quimicamente e modificado com QDGs-CB • Sem uso de reagentes tóxicos 	Este trabalho

-
- Simples procedimento de construção
 - Sem necessidade de pré-concentração
 - Tempo de vida do eletrodo modificado = 40 medidas voltamétricas durante o mesmo dia de análise
 - Tempo de vida da suspensão de QDGs-CB-DHP = 90 dias
-

A precisão do QDG-CB-DHP/CV foi avaliada com a realização dos estudos de repetibilidade intra-dia e entre-dia. Para a repetibilidade intra-dia, dez medidas sucessivas foram obtidas para duas concentrações diferentes de EE2. No caso da repetibilidade entre-dias, três eletrodos modificados foram preparados e investigados em três diferentes dias (um sensor destinado para cada dia) sob as mesmas concentrações de EE2 comparadas no estudo de repetibilidade intra-dia. Os valores de DPR obtidos para cada estudo são apresentados na Tabela 5, na qual é possível observar uma variação de 2,28 a 8,43%, indicando que há precisão no método eletroanalítico desenvolvido.

Tabela 5 – Valores de DPR obtidos nos estudos de repetibilidade intra-dia e entre-dias para o EE2 empregando o QDGs-CB-DHP/CV

[EE2] ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DPR (%)	
	<i>Repetibilidade Intra-dia</i> (n=10)	<i>Repetibilidade Entre-dias</i> (n=3)
2,98	5,07	8,43
6,90	2,28	6,32

Fonte: o próprio autor

4.10 ESTUDOS DE INTERFERENTES E EFEITO DE MATRIZ

A fim de validar o sensor eletroquímico e o método eletroanalítico desenvolvidos, estudos de adição e recuperação do EE2 em amostras de água do lago Ribeirão do Cambé foram realizados. Além disso, a determinação do EE2 também será realizada em amostras de medicamentos contraceptivos. Portanto, a interferência de algumas substâncias presentes nas matrizes dessas amostras foi avaliada de acordo com o procedimento descrito na seção 3.7 deste trabalho.

As espécies investigadas foram o NaCl, ureia, lactose, glucose, NH_4Cl , estearato de magnésio e os metais cobre e zinco. As intensidades de corrente de pico foram avaliadas na ausência e presença dos possíveis interferentes e os valores de erro relativo (E_r) são apresentados na Tabela 6. Não foi observada uma interferência significativa dos concomitantes ($E_r < 10,0\%$), com exceção a glucose e aos metais zinco e cobre.

Estudos prévios reportando a análise eletroquímica dos hormônios estrogênicos EE2, E2 e E3, apresentaram picos de oxidação situados em uma mesma região de potencial, uma vez que tais estruturas possuem semelhantes características, deste modo, prevê-se que a aplicação do método analítico proposto em amostras ambientais será capaz de determinar a concentração de estrogênios totais e não somente do EE2 (BROCENSCHI et al., 2014; MARQUES et al., 2020).

Tabela 6 – Valores de erro relativo obtidos com o estudo de interferente para as proporções 1:1 e 1:10 (EE2:interferente)

Interferentes	Erro relativo ^a (%)	
	1:1 (EE2:Interferente)	1:10 (EE2:Interferente)
NaCl	-1,62	-1,39
NH ₄ Cl	4,30	8,60
Estearato de Magnésio	5,86	5,55
Ureia	0,52	0,15
Cobre	-1,02	11,92
Zinco	-4,97	12,79
Lactose	4,96	5,95
Glucose	-1,59	-16,51

$$^a E_r = [I_{pa}(EE2 + Interferente) - I_{pa}(EE2)] / I_{pa}(EE2) \times 100$$

Fonte: o próprio autor

Os estudos de adição e recuperação de EE2 em amostra de água do lago Ribeirão do Cambé foram realizados a partir da construção de uma curva de adição de padrão, como descrito na seção 3.10 deste trabalho, , uma recuperação de 92,28% foi obtida (Tabela 7), indicando que é possível determinar o EE2 pelo método proposto sem efeito de matriz significativo. O método de adição de padrão foi utilizado considerando o fato dos coeficientes angulares da curva analítica obtida no eletrólito suporte (0,2329 A mol⁻¹ L) ser diferente da obtida no eletrólito suporte preparado com a amostra de água do lago (0,1146 A mol⁻¹ L).

Tabela 7 – Resultados obtidos nos estudos de adição e recuperação em amostra de água do lago Ribeirão do Cambé, utilizando o QDGs-CB-DHP/CV

Amostra	[EE2] ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		Recuperação ^a (%)
	Adicionado (<i>n</i> =3)	Recuperado (<i>n</i> =3)	
Água do lago	2,98	3 ± 2	92,3

^a Recuperação = $([\text{EE2}]_{\text{Adic.}}/[\text{EE2}]_{\text{Rec.}}) \times 100$

Fonte: o próprio autor

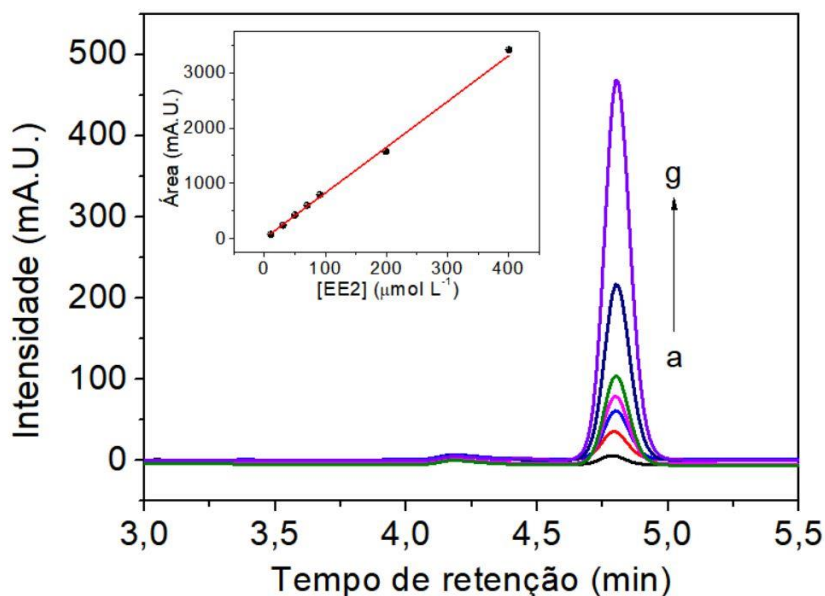
4.11 ANÁLISE DE 17-ALFA-ETINILESTRADIOL EM MEDICAMENTOS

O sensor QDG-CB-DHP/CV foi utilizado na determinação de EE2 em amostra de medicamentos, empregando o método de adição de padrão, ainda que no estudo de interferência, não foram observadas variações nos sinais de corrente significativas, na presença de concomitantes do medicamento, possivelmente interferentes.

Para validar o método analítico desenvolvido no presente trabalho, utilizando o sensor eletroquímico QDG-CB-DHP/CV e a técnica de VOQ, um método analítico empregado a técnica de CLAE, descrito na literatura foi utilizado para a determinação de EE2 nas mesmas amostras de medicamentos, para fins comparativos. Sob as condições experimentais descritas na seção 3.9 deste trabalho, o EE2 apresentou um tempo de retenção de 4,80 minutos. Na Figura 27 são apresentados os cromatogramas obtidos para as diferentes concentrações do hormônio em uma faixa dinâmica linear de 10,4 – 400,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, a equação da reta obtida foi:

$$\text{Área}(u. a.) = 7280,91 + 8,2469 \cdot 10^9 [\text{EE2}](\text{mol L}^{-1}) \quad R^2 = 0,9959 \quad \text{Equação (9)}$$

Figura 27 – Cromatogramas obtidos para o EE2 (a – g) 10,4; 30,2; 50,0; 69,6; 90,5; 199,0; 400,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (tempo de retenção = 4,80 min). Fase móvel: mistura metanol: água 80:20 (v/v); vazão: 1,0 mL min^{-1} ; volumes de injeção: 20 μL ; coluna cromatográfica C18 e detecção UV em comprimento de onda de 220 nm. *Gráfico inserido:* Curva analítica obtida para EE2 na faixa dinâmica linear de 10,4 - 400,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$



Fonte: o próprio autor

Na Tabela 8 são apresentadas as concentrações de EE2 na amostra de medicamento, encontradas para ambos os procedimentos.

Tabela 8 – Resultados obtidos na determinação de EE2 em amostra de formulação farmacêutica com os procedimentos voltamétrico e cromatográfico

Rotulado	Quantidade de EE2 ($\mu\text{g}/\text{comprimido}$) ^a			
	CLAE	VOQ	Erro relativo ^b (%)	Erro relativo ^c (%)
35,0	34 \pm 1	37 \pm 2	+ 5,7	+ 6,5
30,0	-	30 \pm 3	0,0	-

^a Média de 3 medidas (n=3)

^b $E_r = [\text{Valor obtido com a VOQ} - \text{Valor rotulado} / \text{Valor rotulado}] \times 100$

^c $E_r = [\text{Valor obtido com a VOQ} - \text{Valor obtido com a CLAE} / \text{Valor obtido com a CLAE}] \times 100$

Fonte: o próprio autor

Para se avaliar a concordância entre os resultados obtidos por ambos os métodos, o teste *t* de *student* foi aplicado aos dados apresentados na Tabela 8, neste estudo, adotou-se um nível de confiança de 95%. O valor de *t* experimental ($t_{\text{experimental}} = 1,96$) foi inferior ao valor de *t* crítico teórico ($t_{\text{crítico}} = 2,78$),

assim, é possível determinar que a concentração de EE2, no medicamento analisado, obtida pelos métodos voltamétrico e cromatográfico não apresentaram diferenças estatísticas.

Neste sentido, o método analítico proposto neste trabalho mostrou-se um procedimento simples, rápido, com um baixo consumo de reagentes, além de apresentar potencialidade na quantificação do EE2 em amostras ambientais e farmacêuticas, considerando a ausência de interferência significativa da matriz.

5 CONCLUSÕES

No presente trabalho construiu-se um sensor eletroquímico utilizando um eletrodo de CV pré-tratado quimicamente com ácido sulfúrico e modificado com nanopartículas de CB e QDGs, sendo este último obtido a partir do processo de pirólise do AC.

De acordo com as respostas voltamétricas obtidas, o CV apresentou uma melhora na velocidade de transferência de elétrons após o PT químico. Também se observou um aumento significativo nas intensidades de corrente de pico para a oxidação do EE2, após a modificação do CV com CB e QDGs, indicando um aumento na condutividade e área superficial.

No método eletroanalítico desenvolvido obteve-se uma faixa dinâmica linear para a quantificação do EE2 na região de 0,998 a 10,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e um LD de 0,998 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Nos estudos de repetibilidade intra- e entre-dias obteve-se DPRs baixos indicando boa precisão do método. Estudos de adição e recuperação de EE2 foram realizados em amostras de água do lago Ribeirão de Cambé, nos quais obteve-se valores de recuperação satisfatórios, mostrando ser viável a aplicação deste na quantificação de EE2 ou, estrogênios totais, em amostras de água que os contenham.

Ademais, a quantificação do EE2 em amostra de medicamentos apresentou um resultado concordante com o obtido por CLAE, confirmando a boa exatidão do método proposto.

Este trabalho também se destaca por apresentar metodologia simples, sem a necessidade de um grande consumo de reagentes, mesmo no processo de síntese QDGs e de um baixo custo relativo quando comparado a outros métodos da literatura.

REFERÊNCIAS

- ADARAKATTI, P. S.; KEMPAHANUMAKKAGARI, S. K. **Modified electrodes for sensing**. [s.l: s.n.]. v. 15
- AL-ANSARI, A. M. et al. The development of an optimized sample preparation for trace level detection of 17 α -ethinylestradiol and estrone in whole fish tissue. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 879, n. 30, p. 3649–3652, 2011.
- ALLEN J. BARD; LARRY R. FAULKNER. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. 2. ed. Austin: [s.n.].
- AMORNWACHIRABODEE, K. et al. Oxidized Carbon Black: Preparation, Characterization and Application in Antibody Delivery across Cell Membrane. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.
- ANDRADE, L. S. et al. Simultaneous differential pulse voltammetric determination of sulfamethoxazole and trimethoprim on a boron-doped diamond electrode. **Electroanalysis**, v. 21, n. 13, p. 1475–1480, 2009.
- ANGELIS, P. N. et al. Feasibility of a Nano-Carbon Black Paste Electrode for Simultaneous Voltammetric Determination of Antioxidants in Food Samples and Biodiesel in the Presence of Surfactant. **Electroanalysis**, v. 32, n. 6, p. 1198–1207, 2020.
- ARAB, N. et al. An amplified electrochemical sensor employing a polymeric film and graphene quantum dots/multiwall carbon nanotubes in a deep eutectic solvent for sensitive analysis of paracetamol and 4-aminophenol. **New Journal of Chemistry**, v. 44, n. 36, p. 15742–15751, 2020.
- ARIS, A. Z.; SHAMSUDDIN, A. S.; PRAVEENA, S. M. Occurrence of 17 α -ethinylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: A review. **Environment International**, v. 69, p. 104–119, 2014.
- ARSOVA-SARAFINOVSKA, Z. et al. Determination of ethinylestradiol and levonorgestrel in oral contraceptives with HPLC methods with UV detection and UV/fluorescence detection. **Macedonian Pharmaceutical Bulletin**, v. 52, p. 9–16, 2006.
- BAGHERI, Z. et al. New insight into the concept of carbonization degree in synthesis of carbon dots to achieve facile smartphone based sensing platform. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2017.
- BARREIROS, L. et al. Analysis of 17- β -estradiol and 17- α -ethinylestradiol in biological and environmental matrices - A review. **Microchemical Journal**, v. 126, p. 243–262, 2016.
- BEARD, M. C. et al. Third generation photovoltaics based on multiple exciton generation in quantum confined semiconductors. **Accounts of Chemical Research**, v. 46, n. 6, p. 1252–1260, 2013.

BENÍTEZ-MARTÍNEZ, S.; VALCÁRCEL, M. Graphene quantum dots as sensor for phenols in olive oil. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 197, p. 350–357, 2014.

BERA, D. et al. Quantum dots and their multimodal applications: A review. **Materials**, v. 3, n. 4, p. 2260–2345, 2010.

BIAN, S. et al. Facile synthesis of sulfur-doped graphene quantum dots as fluorescent sensing probes for Ag⁺ ions detection. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 242, p. 231–237, 2017.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651–666, 2007.

BRADLEY, S. J. et al. Heterogeneity in the fluorescence of graphene and graphene oxide quantum dots. **Microchimica Acta**, v. 184, n. 3, p. 871–878, 2017.

BRANDT, E. M. F.; AQUINO, S. F. DE; BASTOS, R. K. X. **Revisão do Anexo XX da Portaria de Consolidação n o 5 de 28 de setembro de 2017 do Ministério da Saúde (antiga Portaria MS Nº 2914 / 2011)**. 2019

BROCENSCHI, R. F. et al. The analysis of estrogenic compounds by flow injection analysis with amperometric detection using a boron-doped diamond electrode. **Talanta**, v. 126, p. 12–19, 2014.

BRUGNERA, M. F.; TRINDADE, M. A. G.; ZANONI, M. V. B. Detection of bisphenol a on a screen-printed carbon electrode in CTAB micellar medium. **Analytical Letters**, v. 43, n. 18, p. 2823–2836, 2010.

CAIS, T. A. et al. Analytical procedures for the determination of estrogen compounds in a surface water reservoir in Southeast Brazil. **Eclética Química Journal**, v. 46, n. 1, p. 41–51, 2021.

CANEVARI, T. C. et al. Efficient electrochemical biosensors for ethynylestradiol based on the laccase enzyme supported on single walled carbon nanotubes decorated with nanocrystalline carbon quantum dots. **Analytical Methods**, v. 8, n. 39, p. 7254–7259, 2016.

CARBALLA, M. et al. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. **Water Research**, v. 38, n. 12, p. 2918–2926, 2004.

CARVALHAL, R. F.; FREIRE, R. S.; KUBOTA, L. T. Polycrystalline gold electrodes: A comparative study of pretreatment procedures used for cleaning and thiol self-assembly monolayer formation. **Electroanalysis**, v. 17, n. 14, p. 1251–1259, 2005.

CHEMIAXION. **Instant Cheminformatics Solutions**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[https://chemicalize.com/app/calculation/C\[C%40\]12CC\[C%40H\]3\[C%40%40H\]\(CCc4cc\(O\)ccc34\)\[C%40%40H\]1CC\[C%40\]2\(O\)C%23C](https://chemicalize.com/app/calculation/C[C%40]12CC[C%40H]3[C%40%40H](CCc4cc(O)ccc34)[C%40%40H]1CC[C%40]2(O)C%23C)>.

CHEN, C. et al. Highly fluorescent nitrogen and sulfur co-doped graphene quantum dots for an inner filter effect-based cyanide sensor. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 241, p. 779–788, 2017.

CHEN, P.; FRYLING, M. A.; MCCREERY, R. L. Electron Transfer Kinetics at Modified Carbon Electrode Surfaces: The Role of Specific Surface Site. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 18, p. 3115–3122, 1995.

CHEN, W. et al. Synthesis and applications of graphene quantum dots: A review. **Nanotechnology Reviews**, v. 7, n. 2, p. 157–185, 2018.

CHETANKUMAR, K.; KUMARA SWAMY, B. E. Electrochemically nitric acid pre-treated glassy carbon electrode sensor for catechol and hydroquinone: A voltammetric study. **Sensors International**, v. 1, n. January, p. 100001, 2020.

CHOI, M.; JO, K.; YANG, H. Effect of different pretreatments on indium-tin oxide electrodes. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 34, n. 2, p. 421–425, 2013.

CINCOTTO, F. H. et al. Electrochemical immunosensor for ethinylestradiol using diazonium salt grafting onto silver nanoparticles-silica-graphene oxide hybrids. **Talanta**, v. 147, p. 328–334, 2016.

CUNHA, D. L. DA et al. Regulation of the synthetic estrogen 17 α -ethinylestradiol in water bodies in Europe, the United States, and Brazil. **Cadernos de saude publica**, v. 32, n. 3, p. e00056715, 2016.

CZERWONKA, G.; KACA, W. Comparing methods of 17 α -ethinylestradiol (EE2) determination in surface water. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 21, n. 4, p. 1089–1093, 2012.

DANIEL, M. DA S.; LIMA, E. C. Determinação simultânea de estriol, α -estradiol, 17 β -etinilestradiol e estrona empregando-se extração em fase sólida (SPE) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). **Revista Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 9, n. 4, p. 689–695, 2014.

DE ALMEIDA SILVA, M. et al. Structure and porosity of silicon oxycarbide/carbon black composites. **Materials Chemistry and Physics**, v. 254, n. June, 2020.

DE MES, T.; ZEEMAN, G.; LETTINGA, G. Occurrence and fate of estrone, 17 β -estradiol and 17 α - ethynylestradiol in STPs for domestic wastewater. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 275–311, 2005.

DELGADO, K. P. et al. Ultralow Cost Electrochemical Sensor Made of Potato Starch and Carbon Black Nanoballs to Detect Tetracycline in Waters and Milk. **Electroanalysis**, v. 30, n. 9, p. 2153–2159, 2018.

DEROCO, P. B.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. A new and simple method for the simultaneous determination of amoxicillin and nimesulide using carbon black within a dihexadecylphosphate film as electrochemical sensor. **Talanta**, v. 179, n. July 2017, p. 115–123, 2018.

DIVYA, P.S.; SAVITRI, D.; MITRA, C. . Covalent Enzyme Immobilization onto Glassy Carbon Matrix-Implications in Biosensor Design. **Journal of Biosciences**, v. 23, n. 2, p. 131–136, 1998.

DONG, Y. et al. Blue luminescent graphene quantum dots and graphene oxide

prepared by tuning the carbonization degree of citric acid. **Carbon**, v. 50, n. 12, p. 4738–4743, 2012.

EISELE, A. P. P. et al. Layering of a film of carboxymethyl-botryosphaeran onto carbon black as a novel sensitive electrochemical platform on glassy carbon electrodes for the improvement in the simultaneous determination of phenolic compounds. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 287, n. February, p. 18–26, 2019.

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

ENSAFI, A. A.; NASR-ESFAHANI, P.; REZAEI, B. Metronidazole determination with an extremely sensitive and selective electrochemical sensor based on graphene nanoplatelets and molecularly imprinted polymers on graphene quantum dots. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 270, p. 192–199, 2018.

EUROPEAN COMMISSION. **Scientific Committee on Health and Environmental Risks " CHEMICALS AND THE WATER FRAMEWORK DIRECTIVE: DRAFT ENVIRONMENTAL QUALITY STANDARDS " Diclofenac**. Health & Consumer Protection. **Anais...2011** Disponível em: <http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/environmental_risks/index_en.htm>

FACURE, M. H. M. et al. A review on graphene quantum dots and their nanocomposites: From laboratory synthesis towards agricultural and environmental applications. **Environmental Science: Nano**, v. 7, n. 12, p. 3710–3734, 2020.

FAJARDO, A. et al. Determination of norepinephrine using a glassy carbon electrode modified with graphene quantum dots and gold nanoparticles by square wave stripping voltammetry. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 49, n. 4, p. 423–432, 2019.

FAN, C. et al. Understanding the structural transformation of carbon black from solid spheres to hollow polyhedra during high temperature treatment. **RSC Advances**, v. 9, n. 51, p. 29779–29783, 2019.

FARIDA, E. et al. The effect of carbon black composition in natural rubber compound. **Case Studies in Thermal Engineering**, v. 16, n. November, p. 100566, 2019.

FARIDBOD, F.; GUPTA, V. K.; ZAMANI, H. A. Electrochemical Sensors and Biosensors. **International Journal of Electrochemistry**, v. 2011, p. 1–2, 2011.

FARIDBOD, F.; SANATI, A. L. Graphene Quantum Dots in Electrochemical Sensors/Biosensors. **Current Analytical Chemistry**, v. 15, n. 2, p. 103–123, 2018.

FERREIRA, F. N. et al. Magnetic solid-phase extraction and pre-concentration of 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol in tap water using maghemite-graphene oxide nanoparticles and determination via HPLC with a fluorescence detector. **Microchemical Journal**, v. 157, n. April, p. 104947, 2020.

FRITZ SCHOLZ. **Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications**. New York: [s.n.].

GEVAERD, A. et al. Graphene Quantum Dots Modified Screen-printed Electrodes as Electroanalytical Sensing Platform for Diethylstilbestrol. **Electroanalysis**, v. 31, n. 5, p. 838–843, 2019.

GILBERT, N. Drug-pollution law all washed up. **Nature**, v. 491, n. 7425, p. 503–504, 2012.

GONÇALVES, E. S. et al. Electrochemical reversibility of reticulated vitreous carbon electrodes heat treated at different carbonization temperatures. **Materials Research**, v. 9, n. 2, p. 147–152, 2006.

GOODWIN, H. et al. Multiple exciton generation in quantum dot-based solar cells. **Nanophotonics**, v. 7, n. 1, p. 111–126, 2018.

GUPTA, V. K. et al. Synthesis of CdSe quantum dots decorated SnO₂ nanotubes as anode for photo-assisted electrochemical degradation of hydrochlorothiazide: Kinetic process. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 508, p. 575–582, 2017.

HASNAIN, M. S. et al. **Nanocomposite materials for prosthetic devices**. [s.l.] Elsevier Inc., 2018.

HAUPTMAN, N. et al. Electrical conductivity of carbon black pigments. **Dyes and Pigments**, v. 95, n. 1, p. 1–7, 2012.

HAYASHI, K. et al. Investigation of the effect of hydrogen on electrical and optical properties in chemical vapor deposited on homoepitaxial diamond films. **Journal of Applied Physics**, v. 81, n. 2, p. 744–753, 1997.

HEIDUSCHKA, P.; DITTRICH, J. Impedance spectroscopy and cyclic voltammetry at bare and polymer coated glassy carbon electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 37, n. 14, p. 2573–2580, 1992.

HOFFMANN, R. et al. Electrochemical hydrogen termination of boron-doped diamond. **Applied Physics Letters**, v. 97, n. 5, p. 1–4, 2010.

HOSHYAR, S. A. et al. The effect of CTAB, a cationic surfactant, on the adsorption ability of the boron-doped diamond electrode: Application for voltammetric sensing of Bisphenol A and Hydroquinone in water samples. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 610, n. September 2020, 2021.

HU, C.; YANG, C.; HU, S. Hydrophobic adsorption of surfactants on water-soluble carbon nanotubes: A simple approach to improve sensitivity and antifouling capacity of carbon nanotubes-based electrochemical sensors. **Electrochemistry Communications**, v. 9, n. 1, p. 128–134, 2007.

HUANG, Q. et al. Graphene Quantum Dots/Multiwalled Carbon Nanotubes Composite-Based Electrochemical Sensor for Detecting Dopamine Release from Living Cells. p. 3–9, 2020.

HUANG, Z. et al. Low cost and large scale synthesis of PbS quantum dots with hybrid surface passivation. **CrystEngComm**, v. 19, n. 6, p. 946–951, 2017.

HWA, K. Y.; SHARMA, T. S. K.; KARUPPAIAH, P. Development of an electrochemical sensor based on a functionalized carbon black/tungsten carbide hybrid composite for the detection of furazolidone. **New Journal of Chemistry**, v. 43, n. 30, p. 12078–12086, 2019.

JANEGITZ, B. C. et al. Direct electron transfer of glucose oxidase at glassy carbon electrode modified with functionalized carbon nanotubes within a dihexadecylphosphate film. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 158, n. 1, p. 411–417, 2011.

JEBRIL, S. et al. A novel electrochemical sensor modified with green gold sononanoparticles and carbon black nanocomposite for bisphenol A detection. **Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology**, v. 264, n. June 2020, 2021.

JESUS, V. O.; FERREIRA, V. S.; LUCCA, B. G. Electrochemical study and simultaneous voltammetric determination of contraceptives ethinylestradiol and cyproterone acetate using silver nanoparticles solid amalgam electrode and cationic surfactant. **Talanta**, v. 210, n. October 2019, p. 120610, 2020.

KADARA, R. O.; JENKINSON, N.; BANKS, C. E. Characterisation of commercially available electrochemical sensing platforms. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 138, n. 2, p. 556–562, 2009.

KARGOZAR, S. et al. Quantum Dots: A Review from Concept to Clinic. **Biotechnology Journal**, v. 15, n. 12, p. 1–18, 2020.

KARLA LOMBELLO COELHO, M.; NUNES DA SILVA, D.; CÉSAR PEREIRA, A. Development of Electrochemical Sensor Based on Carbonaceous and Metal Phthalocyanines Materials for Determination of Ethinyl Estradiol. **Chemosensors**, v. 7, n. 3, p. 32, 2019.

KHODABAKHSHI, S.; FULVIO, P. F.; ANDREOLI, E. Carbon black reborn: Structure and chemistry for renewable energy harnessing. **Carbon**, v. 162, p. 604–649, 2020.

KUMAR, Y. R. et al. Graphene quantum dot based materials for sensing, bio-imaging and energy storage applications: a review. **RSC Advances**, v. 10, n. 40, p. 23861–23898, 2020.

LABAN, A. et al. Simultaneous Determination of Gestodene and Ethinyl Estradiol in Contraceptive Formulations by RP-HPLC. **Analytical Letters**, v. 37, n. 2, p. 273–282, 2004.

LACH, J. et al. Applications of carbon in lead-acid batteries: a review. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 23, n. 3, p. 693–705, 2019.

LAI, S. et al. Mechanisms behind excitation- and concentration-dependent multicolor photoluminescence in graphene quantum dots. **Nanoscale**, v. 12, n. 2, p. 591–601, 2020.

LAVIRON, E. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. **Journal of Electroanalytical**

Chemistry, v. 101, n. 1, p. 19–28, 1979.

LEE, J.; ARRIGAN, D. W. M.; SILVESTER, D. S. Mechanical polishing as an improved surface treatment for platinum screen-printed electrodes. **Sensing and Bio-Sensing Research**, v. 9, p. 38–44, 2016.

LEE, S.; LAI, J. IMECE2004-60152 EVALUATION OF ELECTRODE AGITATION EFFECTS ON ELECTROPOLISHING PROCESS. p. 1–6, 2017.

LELE, B. J.; TILTON, R. D. Colloidal Depletion and Structural Force Synergism or Antagonism in Solutions of Mutually Repelling Polyelectrolytes and Ionic Surfactants. **Langmuir**, v. 35, n. 48, p. 15937–15947, 2019.

LI, C. Voltammetric determination of ethinylestradiol at a carbon paste electrode in the presence of cetyl pyridine bromine. **Bioelectrochemistry**, v. 70, n. 2, p. 263–268, 2007.

LI, L. et al. Quantitative detection of nitrite with N-doped graphene quantum dots decorated N-doped carbon nanofibers composite-based electrochemical sensor. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 252, p. 17–23, 2017a.

LI, Y. et al. Electrochemical synthesis of phosphorus-doped graphene quantum dots for free radical scavenging. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 19, n. 18, p. 11631–11638, 2017b.

LIU, F. et al. Gram-scale synthesis of high-purity graphene quantum dots with multicolor photoluminescence. **RSC Advances**, v. 5, n. 125, p. 103428–103432, 2015.

LIU, W. et al. Graphene Quantum Dots-Based Advanced Electrode Materials: Design, Synthesis and Their Applications in Electrochemical Energy Storage and Electrocatalysis. **Advanced Energy Materials**, v. 10, n. 29, p. 1–49, 2020a.

LIU, Z. et al. Micro-light-emitting diodes with quantum dots in display technology. **Light: Science and Applications**, v. 9, n. 1, p. 1–23, 2020b.

LOURENCAO, B. C. et al. Analytical Applications of Electrochemically Pretreated Boron-Doped Diamond Electrodes. **ChemElectroChem**, v. 7, n. 6, p. 1291–1311, 2020.

LU, H. et al. N-Type PbSe Quantum Dots via Post-Synthetic Indium Doping. **Journal of the American Chemical Society**, v. 140, n. 42, p. 13753–13763, 2018.

LUK, C. M. et al. An efficient and stable fluorescent graphene quantum dot-agar composite as a converting material in white light emitting diodes. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, n. 42, p. 22378–22381, 2012.

MA, L.; YATES, S. R. Degradation and metabolite formation of 17 β -estradiol-3-glucuronide and 17 β -estradiol-3-sulphate in river water and sediment. **Water Research**, v. 139, p. 1–9, 2018.

MAHANTHESHA, K. R.; KUMARA SWAMY, B. E. Pretreated/Carbon paste electrode

based voltammetric sensors for the detection of dopamine in presence of ascorbic acid and uric acid. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 703, p. 1–8, 2013.

MAHMOOD, M. E.; AL-KOOFEE, D. A F. Effect of Temperature Changes on Critical Micelle Concentration for Tween Series Surfactant. **Global Journal of Science Frontier Research Chemistry**, v. 13, n. 4, p. 1–7, 2013.

MAIER, F. et al. Origin of surface conductivity in diamond. **Physical Review Letters**, v. 85, n. 16, p. 3472–3475, 2000.

MARQUES, G. L. et al. Development of Electrochemical Platform Based on Molecularly Imprinted Poly(methacrylic acid) Grafted on Iniferter-modified Carbon Nanotubes for 17 β -estradiol Determination in Water Samples. **Electroanalysis**, p. 1–12, 2020.

MARTÍNEZ, N. A. et al. Electrochemical detection of a powerful estrogenic endocrine disruptor: Ethinylestradiol in water samples through bioseparation procedure. **Analytica Chimica Acta**, v. 723, p. 27–32, 2012.

MATTOS, G. J. et al. Bioelectrochemistry Laccase stabilized on β -D-glucan films on the surface of carbon black / gold nanoparticles : A new platform for electrochemical biosensing. **Bioelectrochemistry**, v. 129, p. 116–123, 2019.

MEDEIROS, R. A. et al. **Determinação voltamétrica de ciclamato de sódio em produtos dietéticos empregando um eletrodo de diamante dopado com boro.** [s.l: s.n.].

MEHMOOD, U. et al. Carbon/carbon nanocomposites as counter electrodes for platinum free dye-sensitized solar cells. **Organic Electronics**, v. 35, p. 128–135, 2016.

MERK KGAA. **Guia de Comparação do produto Sodium dodecyl sulfate.** Disponível em: <[https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/sodiumdodecylsulfate2883815121311?lang=pt®ion=BR&attrlist=Critical micelle concentration](https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/sodiumdodecylsulfate2883815121311?lang=pt®ion=BR&attrlist=Critical%20micelle%20concentration)>. Acesso em: 28 fev. 2021.

MILLS, M. R. et al. Removal of ecotoxicity of 17 α -ethinylestradiol using TAML/peroxide water treatment. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1–10, 2015.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Contaminantes Emergentes em Matrices Aquáticas do Brasil: Cenário Atual e Aspectos Analíticos, Ecotoxicológicos e Regulatórios. **Química Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094–1110, 2017.

MORAES, F. C. et al. Sensitive determination of 17 β -estradiol in river water using a graphene based electrochemical sensor. **Analytica Chimica Acta**, v. 881, p. 37–43, 2015.

MYERS, D. Surfactants in Solution. **Surfactant Science and Technology**, p. 115–159, 2020.

NAGHSHBANDI, Z. et al. A novel synthesis of magnetic and photoluminescent

graphene quantum dots/MFe₂O₄ (M=Ni, Co) nanocomposites for catalytic application. **Applied Surface Science**, v. 443, p. 484–491, 2018.

NAGPAL, N.; MEAYS, C. **Water Quality Guidelines for Pharmaceutically-active-Technical Appendix**, 2009.

NAIK, J. P.; SUTRADHAR, P.; SAHA, M. Molecular scale rapid synthesis of graphene quantum dots (GQDs). **Journal of Nanostructure in Chemistry**, v. 7, n. 1, p. 85–89, 2017.

NAIK, T. S.; SWAMY, B. E. Pre-treated glassy carbon electrode sensor for catechol: A voltammetric study. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 826, n. August, p. 23–28, 2018.

NEIKOV, O. D.; YEFIMOV, N. A. **Nanopowders**. 2. ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2019.

NĚMEČKOVÁ-MAKRLÍKOVÁ, A. et al. Determination of tumour biomarkers homovanillic and vanillylmandelic acid using flow injection analysis with amperometric detection at a boron doped diamond electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 1087, p. 44–50, 2019.

NODEHI, M. et al. Electrochemical quantification of 17 α – Ethinylestradiol in biological samples using a Au/Fe₃O₄@TA/MWNT/GCE sensor. **Materials Chemistry and Physics**, v. 244, n. December 2019, 2020.

NOTSU, H. et al. Surface carbonyl groups on oxidized diamond electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 492, n. 1, p. 31–37, 2000.

NUNES, C. N. et al. Rapid Screening Method for Detecting Ethinyl Estradiol in Natural Water Employing Voltammetry. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2016, n. Lc, 2016.

NUNES, C. N.; DOS ANJOS, V. E.; QUINÁIA, S. P. The versatility of the hanging mercury drop electrode in analytical chemistry - A review about recent applications. **Quimica Nova**, v. 41, n. 2, p. 189–201, 2018.

OLIVEIRA, H. G. et al. Remediation of 17- α -ethinylestradiol aqueous solution by photocatalysis and electrochemically-assisted photocatalysis using TiO₂ and TiO₂/WO₃ electrodes irradiated by a solar simulator. **Water Research**, v. 72, p. 305–314, 2015.

OLIVEIRA, S. C. B.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Boron doped diamond electrode pre-treatments effect on the electrochemical oxidation of dsDNA, DNA bases, nucleotides, homopolynucleotides and biomarker 8-oxoguanine. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 648, n. 1, p. 60–66, 2010.

OWEN, R.; JOBLING, S. The hidden costs of flexible fertility. **Nature**, v. 485, n. 7399, p. 441–441, 2012.

P. H. BRITTO- COSTA; L. A. M. RUOTOLO. PHENOL REMOVAL FROM WASTEWATERS BY ELECTROCHEMICAL OXIDATION USING BORON DOPED DIAMOND (BDD) AND Ti / Ti O . 7 Ru O . 3 O 2. **Brazilian Journal of Chemical**

Engineering, v. 29, n. 04, p. 763–773, 2012.

PACHECO, W. F. et al. Artigo Voltametrias : Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos Voltammetry : A Brief Review About Concepts Voltametrias : Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. v. 5, n. 4, p. 516–537, 2013.

PAVINATTO, A. et al. Ultrasensitive biosensor based on polyvinylpyrrolidone/chitosan/reduced graphene oxide electrospun nanofibers for 17α – Ethinylestradiol electrochemical detection. **Applied Surface Science**, v. 458, p. 431–437, 2018a.

PAVINATTO, A. et al. Ultrasensitive biosensor based on polyvinylpyrrolidone/chitosan/reduced graphene oxide electrospun nanofibers for 17α – Ethinylestradiol electrochemical detection. **Applied Surface Science**, v. 458, n. July, p. 431–437, 2018b.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, S.; PASTOR, E.; LÁZARO, M. J. Electrochemical behavior of the carbon black Vulcan XC-72R: Influence of the surface chemistry. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 43, n. 16, p. 7911–7922, 2018.

PEREZ, C.; SIMÕES, F. R.; CODOGNOTO, L. Voltammetric determination of 17α -ethinylestradiol hormone in supply dam using BDD electrode. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 20, n. 9, p. 2471–2478, 2016.

PRADO, T. M. et al. Electrochemical Sensor-Based Ruthenium Nanoparticles on Reduced Graphene Oxide for the Simultaneous Determination of Ethinylestradiol and Amoxicillin. **Electroanalysis**, v. 29, n. 5, p. 1278–1285, 2017.

RAHIMI, K.; YAZDANI, A. Ethanol-sensitive nearly aligned ZnO nanorod thin films covered by graphene quantum dots. **Materials Letters**, v. 228, n. 3, p. 65–67, 2018.

RAO, H. et al. A novel molecularly imprinted electrochemical sensor based on graphene quantum dots coated on hollow nickel nanospheres with high sensitivity and selectivity for the rapid determination of bisphenol S. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 100, n. September 2017, p. 341–347, 2018.

REDÍN, G. G. I. **Funcionalização e caracterização do carbon black VULCAN XC-72R para aplicações em biossensores baseados em inibição enzimática**. São Carlos: [s.n.]. Disponível em: <<https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/7893/DissGGIR.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RIPOLLÉS, C. et al. Determination of 17β -estradiol and 17α -ethinylestradiol in water at sub-ppt levels by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Analytical Methods**, v. 6, n. 14, p. 5028–5037, 2014.

RODRIGUES, G. Análise dos efeitos tóxicos relacionados aos resíduos farmacológicos na água tratada Analysis of toxic effects related to pharmacological waste in treated water Victor Dick Victoria Thauan. v. 14, p. 11–23, 2021.

SAMSUNG, N. **Why Are Quantum Dot Displays So Good?** Disponível em: <<https://news.samsung.com/global/why-are-quantum-dot-displays-so-good>>. Acesso em: 17 mar. 2021.

SANDIER, Y. L.; PANTIER, E. A. The Effect of Electrode Pretreatment on the Oxygen Reduction on Platinum in Perchloric Acid. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 112, n. 9, p. 928, 1965.

SANTOS, A. M. et al. Voltammetric determination of ethinylestradiol using screen-printed electrode modified with functionalized graphene, graphene quantum dots and magnetic nanoparticles coated with molecularly imprinted polymers. **Talanta**, v. 224, n. September 2020, p. 121804, 2021.

SANTOS, S. B. et al. A simple square-wave voltammetric method for the determination of scopolamine in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode. **Quimica Nova**, v. 37, n. 10, p. 1579–1583, 2014.

SCALA-BENUZZI, M. L. et al. Novel Electrochemical Paper-Based Immunocapture Assay for the Quantitative Determination of Ethinylestradiol in Water Samples. **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 6, p. 4104–4111, 2018.

SCREMIN, J. et al. Glassy Carbon Electrode Modified with Layering of Carbon Black/Poly(Allylamine Hydrochloride) Composite for Multianalyte Determination. **Electroanalysis**, 2020.

SIEGENTHALER, P. F. et al. Effects of antiandrogenic progestins, chlormadinone and cyproterone acetate, and the estrogen 17 α -ethinylestradiol (EE2), and their mixtures: Transactivation with human and rainbowfish hormone receptors and transcriptional effects in zebrafish (*Danio rerio*). **Aquatic Toxicology**, v. 182, n. November 2016, p. 142–162, 2017.

SILVA, C. P. et al. Development of ELISA methodologies for the direct determination of 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol in complex aqueous matrices. **Journal of Environmental Management**, v. 124, p. 121–127, 2013a.

SILVA, T. A.; WONG, A.; FILHO, O. Electrochemical sensor based on ionic liquid and carbon black for voltammetric determination of Allura red colorant at nanomolar levels in soft drink powders. **Talanta**, v. 209, n. November 2019, 2020.

SILVA, V. B. et al. Simultaneous determination of ethinyl estradiol and drospirenone in oral contraceptive by high performance liquid chromatography. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 3, p. 521–528, 2013b.

ŠIŠOLÁKOVÁ, I. et al. Electrochemical determination of insulin at CuNPs/chitosan-MWCNTs and CoNPs/chitosan-MWCNTs modified screen printed carbon electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 860, 2020.

SMAJDOR, J. et al. Sensitive Voltammetric Determination of Ethinyl Estradiol on Carbon Black Modified Electrode. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 164, n. 13, p. H885–H889, 2017.

SOUZA, D. DE; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada.

Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81–89, 2003.

SRIVASTAVA, A. K. et al. Voltammetric Techniques for the Analysis of Drugs using Nanomaterials based Chemically Modified Electrodes. **Current Analytical Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 249–276, 2018.

STARLING, M. C. V. M.; AMORIM, C. C.; LEÃO, M. M. D. Occurrence, control and fate of contaminants of emerging concern in environmental compartments in Brazil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 372, n. October 2017, p. 17–36, 2019.

STRADIOTTO, N. R.; YAMANAKA, H.; ZANONI, M. V. B. Electrochemical sensors: A powerful tool in analytical chemistry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 159–173, 2003.

SU, J. et al. Preparation of graphene quantum dots with high quantum yield by a facile one-step method and applications for cell imaging. **Materials Letters**, v. 271, p. 127806, 2020.

SUFFREDINI, H. B. et al. Enhanced electrochemical response of boron-doped diamond electrodes brought on by a cathodic surface pre-treatment. **Electrochimica Acta**, v. 49, n. 22- 23 SPEC. ISS., p. 4021–4026, 2004.

SUHERMAN, A. L. et al. Electrochemical Detection of Ultratrace (Picomolar) Levels of Hg²⁺ Using a Silver Nanoparticle-Modified Glassy Carbon Electrode. **Analytical Chemistry**, v. 89, n. 13, p. 7166–7173, 2017.

SUMANTH KUMAR, D.; JAI KUMAR, B.; MAHESH, H. M. **Quantum Nanostructures (QDs): An Overview**. [s.l.] Elsevier Ltd., 2018.

SURANA, K. et al. Synthesis, characterization and application of CdSe quantum dots. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 6, p. 4188–4193, 2014.

TAJIK, S. et al. Carbon and graphene quantum dots: A review on syntheses, characterization, biological and sensing applications for neurotransmitter determination. **RSC Advances**, v. 10, n. 26, p. 15406–15429, 2020.

TAKEUCHI, D. et al. Direct observation of negative electron affinity in hydrogen-terminated diamond surfaces. **Applied Physics Letters**, v. 86, n. 15, p. 1–3, 2005.

TANG, Y. Z. et al. The novel carbon nanomaterials electrochemical sensor for determination of trace aluminum in human body fluids with 8-hydroxyquinoline. **IEEE Sensors Journal**, v. 13, n. 9, p. 3270–3275, 2013.

TASHKHOURIAN, J.; NAMI-ANA, S. F.; SHAMSIPUR, M. Designing a modified electrode based on graphene quantum dot-chitosan application to electrochemical detection of epinephrine. **Journal of Molecular Liquids**, v. 266, p. 548–556, 2018.

TAVAZZI, S. et al. **Water Framework Directive Watch List Method Analytical method for determination of compounds selected for the first Surface Water Watch List**. 2015

THAPLIYAL, N. et al. Research progress in electroanalytical techniques for determination of antimalarial drugs in pharmaceutical and biological samples. **RSC Advances**, v. 6, n. 62, p. 57580–57602, 2016.

TORAL, M. I. et al. Parallel determination of desogestrel and 17 α -ethinylestradiol in pharmaceutical formulation by derivative spectrophotometry. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 58, n. 2, p. 1779–1784, 2013.

TRIVIÑO, J. J. et al. Determination of a natural (17 β -estradiol) and a synthetic (17 α -ethinylestradiol) hormones in pharmaceutical formulations and urine by adsorptive stripping voltammetry. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 297, n. February, p. 126728, 2019.

U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **No Title**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/ccl/contaminant-candidate-list-4-ccl-4-0>>. Acesso em: 31 jan. 2021.

VEGA, D. et al. Electrochemical detection of phenolic estrogenic compounds at carbon nanotube-modified electrodes. **Talanta**, v. 71, n. 3, p. 1031–1038, 2007.

WANG, J. et al. Improvement of electrochemical performance of screen-printed carbon electrodes by UV/ozone modification. **Talanta**, v. 192, n. 2, p. 40–45, 2019.

WANG, S. et al. Structural evolution of graphene quantum dots during thermal decomposition of citric acid and the corresponding photoluminescence. **Carbon**, v. 82, p. 304–313, 2015.

WEI, H. et al. Enhanced electrochemical performance at screen-printed carbon electrodes by a new pretreating procedure. **Analytica Chimica Acta**, v. 588, n. 2, p. 297–303, 2007.

YADAV, S. K. et al. A review on determination of steroids in biological samples exploiting nanobio-electroanalytical methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 762, p. 14–24, 2013.

YANG, S. et al. Advances in the use of carbonaceous materials for the electrochemical determination of persistent organic pollutants. A review. **Microchimica Acta**, v. 185, n. 2, 2018.

YAO, M. et al. Transforming glucose into fluorescent graphene quantum dots: Via microwave radiation for sensitive detection of Al³⁺ ions based on aggregation-induced enhanced emission. **Analyst**, v. 145, n. 21, p. 6981–6986, 2020.

YUAN, X. et al. Simple pre-treatment by low-level oxygen plasma activates screen-printed carbon electrode: Potential for mass production. **Applied Surface Science**, v. 544, n. February 2020, p. 148760, 2021.

ZAIB, M. et al. Electrochemical determination of inorganic mercury and arsenic-A review. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 74, p. 895–908, 2015.

ZENG, Z. et al. Graphene Oxide Quantum Dots Covalently Functionalized PVDF Membrane with Significantly-Enhanced Bactericidal and Antibiofouling Performances.

Scientific Reports, v. 6, n. February, p. 1–11, 2016.

ZHANG, R. et al. Electrochemiluminescence of nitrogen- and sulfur-doped graphene quantum dots. **Carbon**, v. 129, p. 45–53, 2018.

ZHANG, S. et al. On factors affecting surface free energy of carbon black for reinforcing rubber. **Nanotechnology Reviews**, v. 9, n. 1, p. 170–181, 2020.

ZHAO, X. et al. High-performance Li-ion batteries based on graphene quantum dot wrapped carbon nanotube hybrid anodes. **Nano Research**, v. 13, n. 4, p. 1044–1052, 2020.

ZHENG, Z. XIANG et al. Palladium Nanoparticles/Graphitic Carbon Nitride Nanosheets-Carbon Nanotubes as a Catalytic Amplification Platform for the Selective Determination of 17 α -ethinylestradiol in Feedstuffs. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 2019.

ZHOU, J.; WIPF, D. O. UV/ozone pretreatment of glassy carbon electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 499, n. 1, p. 121–128, 2001.

ZHU, S. et al. The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective. **Nano Research**, v. 8, n. 2, p. 355–381, 2015.

ZHU, S. et al. Photoluminescence mechanism in graphene quantum dots: Quantum confinement effect and surface/edge state. **Nano Today**, v. 13, p. 10–14, 2017.