

GILES GILLYARD GERENT

**ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO COM
NANOPARTÍCULAS DE PLATINA E DE MAGNETITA PARA
DETERMINAÇÃO INDIVIDUAL E SIMULTÂNEA DE
ISÔMEROS DE NITROFENÓIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Almir Spinelli

Florianópolis, SC

2016

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

Gerent, Giles Gillyard

Eletrodo quimicamente modificado com nanopartículas de platina e de magnetita para determinação individual e simultânea de isômeros de nitrofenóis / Giles Gillyard Gerent ; orientador, Almir Spinelli - Florianópolis, SC, 2016.

90 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências

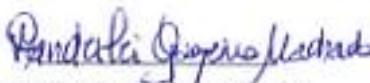
1. Química. 2. Eletrodos quimicamente modificados. 3. Magnetita. 4. Nanopartículas de platina. 5. Nitrofenóis. I. Spinelli, Almir. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Giles Gillyard Gerent

**ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO COM
NANOPARTÍCULAS DE PLATINA E MAGNETITA PARA
DETERMINAÇÃO INDIVIDUAL E SIMULTÂNEA DE
ISÔMEROS DE NITROFENÓIS**

Essa dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do título de Mestre em química no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 01 de março de 2016



Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado

Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA:



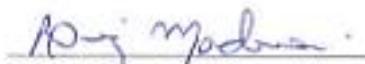
Prof. Dr. Almar Spinelli

Orientador



Prof. Dr. Gustavo Amadeu Mücke

(UFSC)



Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira

(UFSC)



Prof.ª Dr.ª Daniela Brendani

(UFSC-Blumenau)

*Dedico este trabalho à todas as pessoas
que me acompanharam nessa etapa de minha vida,
estando nos momentos felizes e / ou nos tristes.*

Esse trabalho foi desenvolvido no Grupo de Estudos de Processos Eletroquímicos e Eletroanalíticos (GEPEEA), laboratório 310 do Departamento de Química da UFSC, sob orientação do Prof. Dr. Almir Spinelli.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me proporcionar essa vida. Aos meus pais, Luiz e Marcia, por terem me apoiado e me ajudado nessa longa jornada. Aos meus irmãos Gunnar e Günther, por estarem do meu lado sempre me apoiando.

Ao professor Dr. Almir Spinelli, pela orientação e paciência durante a realização deste trabalho e também por me ensinar lições valiosas que levarei para vida toda.

Aos meus colegas de trabalho do GEPEEA: Paulo (meu mestre), Fernando (salve, salve Ramonera!), Camila, Jamily, Edinho, Lara, Cristiano (Cris), Vinícius, Schay, Fernanda e Rodolfo pela amizade, pelos momentos alegres, divertidos e por me ajudarem.

Aos meus amigos: Elvis, Juliana (Juh), Alison, Marco (Higuain), Carlos, Jahn, Iasmine, Juana, Matheus (coisa), André, Jean, Porco, Latino pelas festas, baladas e mesas de bar que frequentamos, gerando boas risadas e histórias.

À todos os integrantes da banca, por aceitarem fazer parte da mesma.

E por fim, a Universidade Federal de Santa Catarina e ao CNPq pelo suporte financeiro.

*No matter how dark is the night,
Morning always comes
- Lulu, F.F.-O*

RESUMO

No presente trabalho, um eletrodo de carbono vítreo foi modificado com nanopartículas de magnetita ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$) e com nanopartículas de platina (PtNPs), sendo estas estabilizadas com o polímero cloreto de 3-*n*-propil-4-picolina silsesquioxano ($\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$) gerando, assim, o eletrodo quimicamente modificado $\text{GCE}/(\text{Pt-Fe}_3\text{O}_4)\text{NPs}$. Este foi testado para a determinação individual e simultânea de isômeros de nitrofenóis. Com a técnica de voltametria de pulso diferencial e seus parâmetros otimizados para cada análise, o *o*-nitrofenol (*o*-NF), o *m*-nitrofenol (*m*-NF) e o *p*-nitrofenol (*p*-NF) foram determinados individualmente. Para as determinações simultâneas, só foi possível realizá-las com o *o*-NF e *p*-NF, cuja separação de pico foi de 0,138 V. A determinação simultânea com o *m*-NF não foi possível porque a separação de picos entre este e outros isômeros é pequena, resultando em apenas um pico de redução. Sob condições otimizadas, as correntes de pico de redução dos isômeros aumentaram linearmente com o aumento das suas concentrações na faixa de 0,1 – 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Na determinação individual, os limites de detecção obtidos para o *o*-NF, *m*-NF e *p*-NF foram de 33,7 nmol L^{-1} , 45,3 nmol L^{-1} e 48,2 nmol L^{-1} , respectivamente. Para a determinação individual de um nitrofenol na presença do outro isômero foram obtidos os seguintes valores de limites de detecção: 52,9 nmol L^{-1} para o *p*-NF na presença do *o*-NF e 55,1 nmol L^{-1} para o *o*-NF na presença do *p*-NF. Na determinação simultânea foram encontrados 69,6 nmol L^{-1} para o *o*-NF e 58,0 nmol L^{-1} para o *p*-NF. O $\text{GCE}/(\text{Pt-Fe}_3\text{O}_4)\text{NPs}$ foi aplicado para a determinação em amostras de água de chuva e de urina obtendo ótimos resultados. Estes resultados indicam que o $\text{GCE}/(\text{Pt-Fe}_3\text{O}_4)\text{NPs}$ pode ser utilizado como detector eletroquímico para a determinação individual dos três isômeros. Para a detecção simultânea, apenas os isômeros *o*-NF e *p*-NF podem ser analisados.

Palavras-chave: Eletrodos quimicamente modificados, magnetita, nanopartículas de platina, silsesquioxano, nitrofenóis.

ABSTRACT

In this work, a glassy carbon electrode (GCE) was modified with magnetite and platinum nanoparticles (PtNPs) stabilized with the polymer chloride 3-n-propyl-4-picoline silsesquioxane (Si4Pic⁺Cl⁻) and it was called GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs. This was tested for the individual and simultaneous determination of isomers of nitrophenols. With voltammetry technique of differential pulse voltammetry (DPV), *o*-nitrophenol (*o*-NF), *m*-nitrophenol (*m*-NF) and *p*-nitrophenol (*p*-NF) were determined individually. For simultaneous determination, it was only possible to achieve it with the *o*-NF and *p*-NF whose peak separation was 0.138 V. The simultaneous determination with *m*-NF was not possible because the separation between the peaks and other isomers was small, resulting in only one reduction peak. Under optimized conditions, the reduction peaks currents of the isomers increased linearly with increasing their concentrations in the range of 0.1 - 1.5 mmol L⁻¹. In individual determination, detection limits obtained for the *o*-NF, *m*-NF and *p*-NF were 33.7 nmol L⁻¹, 45.3 nmol L⁻¹ and 48.2 nmol L⁻¹ respectively. For the individual determination of a nitrophenol in the presence of the other isomer, the following detection limits values was obtained: 52.9 nmol L⁻¹ for *p*-NF and 55.1 nmol L⁻¹ for *o*-NF. In the simultaneous determination were found 69.6 nmol L⁻¹ for *o*-NF and 58.0 nmol L⁻¹ for *p*-NF. The GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs was applied to the determination of nitrophenols in rain water and urine samples and obtained great results. These results indicate that the GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs can be used as electrochemical sensors for individual or simultaneous determination of isomers of nitrophenols.

Keyword: Chemically modified electrode, magnetite, platinum nanoparticles, silsesquioxane, nitrophenols.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática de uma reação de oxidação de A \rightarrow B + e ⁻ sobre a superfície de um eletrodo convencional e de um eletrodo modificado com espécies eletroativas.	21
Figura 2 - Representação esquemática de uma reação de oxidação de R ₁ \rightarrow O ₁ + e ⁻ sobre a superfície de A) um eletrodo convencional e B) de um eletrodo modificado com espécies não eletroativas.	22
Figura 3 - Diferentes tipos de modificação de eletrodos.	23
Figura 4 - Estruturas químicas dos silsesquioxanos: a) aleatória, b) bidimensional, c) poliedro completo e d) poliedro completo. R = H, alquil, aril ou fenil.	26
Figura 5 - Unidade de repetição do polímero cloreto de 3-n-propil-4-picolina silsesquioxano.	27
Figura 6 - Nanopartícula estabilizada (a) eletrostaticamente e (b) por impedimento estérico.	29
Figura 7 - Estrutura espinélio cúbico de face centrada do Fe ₃ O ₄	32
Figura 8 - Isômeros do nitrofenol: a) o-nitrofenol (o-NF), b) m-nitrofenol (m-NF), c) p-nitrofenol (p-NF).	34
Figura 9 - Comportamento eletroquímico do o-nitrofenol sobre o GCE/PPI-AuNPs.	35
Figura 10 - Mecanismo das reações redox do o-NF. (1) Reação de redução irreversível do o-NF formando 2-(hidroxiamino)fenol. (2) Reação reversível de oxidação do grupo hidroxilamina (-NHOH) para o grupo nitroso (-NO).	36
Figura 11 - Estudo da influência de diferentes soluções modificadoras. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para p-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão B-R 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,0 sobre a) GCE; b) GCE/(Au-Fe ₃ O ₄)NPs; c) GCE/(Ag-Fe ₃ O ₄)NPs; d) GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs, (B) gráfico de barras para a) GCE; b) GCE/(Au-Fe ₃ O ₄)NPs; c) GCE/(Ag-Fe ₃ O ₄)NPs e d) GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs. $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$	46
Figura 12 - Estudo de diferentes quantidades de magnetita utilizada: (A) voltamogramas cíclicos para o p-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão B-R 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,0 usando diferentes quantidade de Fe ₃ O ₄ (a) GCE, b) 1,0 mg, c) 2,0 mg, d) 4,0 mg, e) 10,0 mg), (B) gráfico de barras. $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$. [Pt] = 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	48

Figura 13 - Estudo do uso de diferentes concentrações de Pt utilizada: (A) voltamogramas cíclicos para o p-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão B-R 0,1 mol L^{-1} pH 7,0 usando diferentes concentrações de Pt (a) 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, b) 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, c) 30,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, d) 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$), (B) gráfico de barras, (C) Comparação entre a) GCE e b) GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs. $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$. $m_{\text{magnetita}} = 4,0 \text{ mg}$	48
Figura 14 - Imagens de TEM para (A) PtNPs, (B) Fe ₃ O ₄ NPs, (C) (Pt-Fe ₃ O ₄)NPs. (D) Histograma de distribuição de tamanho para as PtNPs. (E) Histograma de distribuição de tamanho para as Fe ₃ O ₄ NPs.....	49
Figura 15 - Imagens de SEM para (A e B) Fe ₃ O ₄ NPs com diferentes ampliações e (C e D) (Pt-Fe ₃ O ₄)NPs com diferentes ampliações.....	50
Figura 16 - Gráficos de Nyquist para a) GCE e para b) GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs em [Fe(CN) ₆ ³⁻]/[Fe(CN) ₆ ⁴⁻] 0,5 mmol L^{-1}	51
Figura 17 - Estudo do comportamento eletroquímico do o-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs em tampão B-R 0,1 mol L^{-1} com pH (A) 3,0, (B) 4,0, (C) a) 5,0; b) 6,0; c) 7,0; d) 8,0; e) 9,0, (D) gráfico de barras i vs pH, (E) gráfico E_{pr} vs pH. $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$	53
Figura 18 - (A) Estudo do comportamento eletroquímico do o-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} com pH a) 6,0; b) 6,5; c) 7,0; d) 7,5; e) 8,0, (B) gráfico de barras i vs pH, (C) gráfico E_{pr} vs pH. $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$	54
Figura 19 - Comportamento eletroquímico do o-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs em tampão amoniacal 0,1 mol L^{-1} em pH a) 7,5; b) 8,5, c) 9,5. $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$	55
Figura 20 - Comportamento eletroquímico do o-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} pH 6,0 sobre a) GCE e b) GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs.	55
Figura 21 - Estudo da variação da velocidade de varredura com o-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 6,0 sobre o GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs (A) voltamogramas obtidos para diferentes velocidade de varredura (10,0 – 200,0 mV s^{-1}), (B) gráfico i_{pc} vs $\nu^{1/2}$, (C) gráfico $\log i$ vs $\log \nu$	57
Figura 22 - Gráfico de barras para as diferentes técnicas eletroanalíticas em diferentes velocidades (a) 50,0; b) 100,0; c) 150,0; d) 200,0 mV s^{-1}) usando o-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} pH 6,0 sobre o GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs.	58
Figura 23 - Otimização dos parâmetros da DPV: (A) voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo do ΔE_s , (B) gráfico i vs ΔE_s , (C)	

voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo da a , (D) gráfico i vs a , (E) voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo da v , (F) gráfico i vs v . Tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0 o-NF $0,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs. 59

Figura 24 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0 sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para diferentes concentrações de o-NF (a) 0,1; b) 0,3; c) 0,5; d) 0,7; e) 0,9; f) 1,1; g) 1,3; h) $1,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$), (B) curva de calibração média ($n = 8$) para o o-NF. $\Delta E_s = 4,0 \text{ mV}$, $a = 60,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$ 61

Figura 25 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0 sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para a) branco, b) amostra da água da chuva, (c-f) adições sucessivas de $50,0 \text{ } \mu\text{L}$ de padrão de o-NF $40,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição de padrão média ($n = 8$). $\Delta E_s = 4,0 \text{ mV}$, $a = 60,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$ 62

Figura 26 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0 sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para a) branco, b) amostra de urina, (c-f) adições sucessivas de $50,0 \text{ } \mu\text{L}$ de padrão de o-NF $40,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição de padrão média ($n = 8$). $\Delta E_s = 4,0 \text{ mV}$, $a = 60,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$ 63

Figura 27 - (A) Espectros de absorção no UV-vis para a) 1,0; b) 2,0; c) 3,0; d) 4,0; e) 5,0; f) 6,0; g) 7,0 e h) $8,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (B) Espectros de absorção no UV-vis para a) branco; b) amostra de chuva; c-f) adições sucessivas de o-NF $1,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (C) Espectros de absorção no UV-vis para a) branco; b) amostra de urina; c-f) adições sucessivas de o-NF $1,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (D) Comparação entre a curva de calibração média ($n = 8$) e as curvas de adição de padrão médias ($n = 8$). 64

Figura 28 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,5 sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para diferentes concentrações de m-NF (a) 0,1; b) 0,3; c) 0,5; d) 0,7; e) 0,9; f) 1,1; g) 1,3; h) $1,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$), (B) curva de calibração média ($n = 8$) para o m-NF. $\Delta E_s = 5,0 \text{ mV}$, $a = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$ 66

Figura 29 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0 sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para diferentes concentrações de p-NF (a) 0,1; b) 0,3; c) 0,5; d) 0,7; e) 0,9; f) 1,1; g) 1,3; h) $1,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$), (B) curva de calibração média ($n = 8$) para o p-NF. $\Delta E_s = 6,0 \text{ mV}$, $a = 40,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$ 68

Figura 30 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,5 sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para a) branco, b) amostra da água da chuva, (c-f) adições sucessivas de $50, 0 \mu\text{L}$ de padrão de m-NF $40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição de padrão média ($n = 8$). $\Delta E_s = 5,0 \text{ mV}$, $a = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$ 69

Figura 31 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0 sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para a) branco, b) amostra de urina, (c-f) adições sucessivas de $50, 0 \mu\text{L}$ de padrão de p-NF $40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição de padrão média ($n = 8$). $\Delta E_s = 6,0 \text{ mV}$, $a = 40,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$ 70

Figura 32 - Otimização dos parâmetros da DPV: (A) voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo da a , (B) gráfico i vs a , (C) voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo do ΔE_s , (D) gráfico i vs ΔE_s , (E) voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo da v , (F) gráfico i vs v . Tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,5 o-NF e p-NF $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs. 73

Figura 33 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o p-NF ($0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1,1; 1,3; 1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) na presença de o-NF ($0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$) sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,5, (B) curva de calibração média ($n = 8$). $\Delta E_s = 2,0 \text{ mV}$, $a = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$ 74

Figura 34 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o o-NF (a) $0,1$; b) $0,3$; c) $0,5$; d) $0,7$; e) $0,9$; f) $1,1$; g) $1,3$; h) $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) na presença de p-NF ($0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$) sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,5, (B) curva de calibração média ($n = 8$). $\Delta E_s = 2,0 \text{ mV}$, $a = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$ 76

Figura 35 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o o-NF e p-NF ($0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1,1; 1,3; 1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,5, (B) curva de calibração para o o-NF, (C) curva de calibração para o p-NF. $\Delta E_s = 2,0 \text{ mV}$, $a = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$ 77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados obtidos a partir da curva de calibração para o <i>o</i> -NF.....	61
Tabela 2 - Valores estatísticos na determinação de <i>o</i> -NF em amostras da água da chuva e de urina.....	65
Tabela 3 - Resumo dos resultados obtidos pelos estudos de eletrólito de suporte, pH, velocidade de varredura e pela otimização dos parâmetros do pulso diferencial usando 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ do isômero sobre o GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs.....	66
Tabela 4 - Dados obtidos a partir da curva de calibração para o <i>m</i> -NF....	67
Tabela 5 - Dados obtidos a partir da curva de calibração para o <i>p</i> -NF.....	68
Tabela 6 - Valores estatísticos na determinação de <i>m</i> -NF em amostras da água da chuva e de <i>p</i> -NF em urina.....	71
Tabela 7 - Comparação do desempenho do GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs com outros trabalhos da literatura para a determinação individual de nitrofenóis.....	72
Tabela 8 - Dados obtidos a partir da curva de calibração para o <i>p</i> -NF na presença do <i>o</i> -NF.....	75
Tabela 9 - Dados obtidos a partir da curva de calibração para o <i>o</i> -NF na presença do <i>p</i> -NF.....	76
Tabela 10 - Dados obtidos a partir da curva de calibração para a análise simultânea do <i>o</i> -NF e <i>p</i> -NF.....	78
Tabela 11 - Comparação do desempenho do GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs com outros trabalhos da literatura para a determinação simultânea de nitrofenóis.....	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ΔE_s - incremento de potencial

A - ampere

a - amplitude de pulso

CMEs - eletrodos quimicamente modificados (do inglês, *chemically modified electrodes*)

CPE - eletrodo de pasta de carbono (do inglês, *carbon paste electrode*)

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

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

E - potencial

E_{pr} - potencial de pico de redução

Fe₃O₄NPs - nanopartículas de magnetita

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

GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs - eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de platina e de magnetita

i - corrente

i_{pc} - corrente de pico catódico

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

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

m/n - razão entre prótons e elétrons

m -NF - metanitrofenol

o -NF - ortonitrofenol

p -NF - paranitrofenol

PtNPs - nanopartículas de platina

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

SAM - monocamada auto organizada (do inglês, *self-assembled monolayer*)

SEM - microscopia eletrônica de varredura (do inglês, *scanning electronic microscopy*)

Si4Pic⁺Cl⁻ - cloreto de 3- n -propil-4-picolina silsesquioxano

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

TEM - microscopia eletrônica de transmissão (do inglês, *transmission electronic microscopy*)

UV-vis - ultravioleta-visível

V - volt

η - sobrepotencial

v - velocidade

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	20
2.1. ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS.....	20
2.1.1. Preparação dos CMEs.....	22
2.2. SILSESQUIOXANOS.....	25
2.2.1. Cloreto de 3-<i>n</i>-propil-4-picolina silsesquioxano (Si4Pic⁺Cl⁻).....	27
2.3. NANOPARTÍCULAS METÁLICAS.....	28
2.3.1. Síntese de nanopartículas.....	28
2.3.2. Nanopartículas de platina.....	30
2.4. MAGNETITA.....	31
2.4.1. Uso de Fe₃O₄ na construção de CMEs.....	32
2.5. NITROFENÓIS.....	34
2.5.1. Determinação eletroquímica dos nitrofenóis.....	36
3. OBJETIVOS.....	39
3.1. OBJETIVO GERAL.....	39
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	40
4.1. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	40
4.2. SÍNTESE DO Si4Pic ⁺ Cl ⁻	40
4.3. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS.....	41
4.4. CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS.....	42
4.5. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	42
4.6. PREPARAÇÃO DO CME.....	42
4.7. CARACTERIZAÇÃO DO CME.....	42
4.8. MÉTODO VOLTAMÉTRICO.....	43
4.9. MÉTODO COMPARATIVO.....	43
4.10. EQUIPAMENTOS.....	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
5.1. SÍNTESE DE DIFERENTES NANOPARTÍCULAS METÁLICAS.....	45
5.1.1. Preparação e comparação de diferentes soluções modificadoras.....	46
5.1.2. Otimização do preparo das (Pt-Fe₃O₄)NPs.....	47

5.2. CARACTERIZAÇÃO DAS PtNPS E DAS Fe ₃ O ₄ NPS.....	49
5.3. CARACTERIZAÇÃO DO CME.....	50
5.4. COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO <i>o</i> -NF.....	52
5.4.1. Estudo do eletrólito de suporte e de pH.....	52
5.4.2. Estudo da variação da velocidade de varredura para o <i>o</i> -NF.....	56
5.4.3. Seleção da técnica eletroanalítica.....	57
5.4.4. Curva de calibração para o <i>o</i> -NF.....	60
5.4.5. Determinação em amostras ambientais e biológicas.....	61
5.4.6. Método comparativo.....	63
5.5. ANÁLISE DO <i>m</i> -NF E DO <i>p</i> -NF.....	65
5.6. DETERMINAÇÃO INDIVIDUAL DE NITROFENOL NA PRESENÇA DE OUTRO ISÔMERO.....	72
5.7. DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS ISÔMEROS ORTO E PARA.....	76
6. CONCLUSÃO.....	80
7. REFERÊNCIAS.....	81

1. INTRODUÇÃO

A utilização de métodos eletroanalíticos tem crescido nos últimos anos para a determinação dos mais diversos compostos metálicos e orgânicos. Isso se deve ao fato de que a construção de equipamentos portáteis, para tal finalidade, tornou-se real graças ao avanço da tecnologia. Com a portabilidade, tornou-se possível fazer análises eletroquímicas *on site*. Também graças a este avanço, os equipamentos se tornaram cada vez mais sensíveis. Todavia, para que estas vantagens sejam devidamente aproveitadas, um sensor eletroquímico deve corresponder à altura. Por isso, o desenvolvimento de sensores eletroquímicos sensíveis e seletivos é de grande importância.

Para que um composto possa ser determinado diretamente por métodos eletroanalíticos, ele deve ser eletroativo. Uma classe de compostos eletroativos são os nitrocompostos, os quais são usados em várias indústrias como a farmacêutica, a de pesticidas e a de explosivos. Do ponto de vista prático, eles também desempenham um papel importante porque são componentes ativos de insumos químicos (herbicidas e pesticidas) usados para a proteção das lavouras. Por outro lado, também é bem conhecido que alguns nitrocompostos são tóxicos e considerados prejudiciais ao ser humano e ao meio ambiente.

Em razão disso, o objetivo deste trabalho foi construir um eletrodo quimicamente modificado com nanopartículas de platina e de Fe_3O_4 estabilizadas em um silsesquioxano capaz de detectar e determinar isômeros de nitrofenóis. O silsesquioxano utilizado para estabilizar as nanopartículas de platina foi o cloreto de 3-*n*-propil-4-picolina silsesquioxano na sua forma solúvel em água.

Para fins de apresentação, esta dissertação está dividida em capítulos sendo que o Capítulo 1 é constituído por esta introdução. O Capítulo 2 apresenta uma revisão bibliográfica sobre os temas abordados em estudo. Nos Capítulos 3 e 4 são apresentados os objetivos e a parte experimental, respectivamente. Os resultados obtidos para a metodologia proposta para a determinação individual e simultânea dos isômeros de nitrofenóis estão incluídos no Capítulo 5. As considerações finais deste trabalho estão no Capítulo 6.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

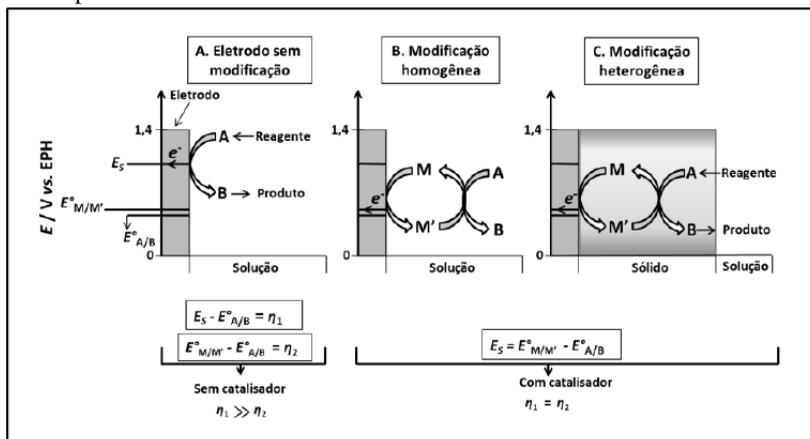
2.1. ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS

Murray e colaboradores foram os primeiros a usarem o termo “eletrodos quimicamente modificados” (do inglês, *chemically modified electrodes* – CMEs) para denominar eletrodos com espécies químicas ativas devidamente imobilizadas na superfície do substrato (MURRAY, 1980). Até o início dos anos 70, os eletrodos usados eram os convencionais constituídos essencialmente por mercúrio, platina, ouro e carbono (SOUZA, 1997; PEREIRA *et al.*, 2002).

A modificação na superfície do eletrodo tem como finalidade possibilitar ou melhorar alguma propriedade eletroquímica. Sensibilidade, seletividade, estabilidade química ou eletroquímica são alguns exemplos dessas propriedades. Entretanto, a característica principal dos CMEs é a sua propriedade catalítica. Essencialmente, quando há um processo redox na superfície do eletrodo, ocorre, por exemplo, uma transferência de carga das espécies eletroativas que exibe um sobrepotencial (η) alto. Essa transferência de carga pode ser facilitada com a modificação da superfície do eletrodo que, por sua vez, diminui η .

A Figura 1 ilustra este processo eletrocatalítico na superfície de um eletrodo modificado com uma espécie eletroativa, ou seja, o modificador sofre redução e/ou oxidação. Com a finalidade de promover a reação $A \rightarrow B + e^-$, foi utilizado um mediador redox M/M' (reversível) com potencial padrão $E^\circ_{M/M'}$ para modificar a superfície do eletrodo. Para o eletrodo sem modificação (A), é observado um η alto, enquanto para o eletrodo com a modificação (B e C), ocorre a diminuição de η . Este tipo de eletrodo não é apenas sensível e seletivo, mas também rápido para aplicações eletroanalíticas (ZEN *et al.*, 2003). Dessa forma, a modificação da superfície de eletrodos permite melhorar seu desempenho e aplicá-los na determinação de diversos compostos eletroativos de maneira específica (PEREIRA *et al.*, 2002).

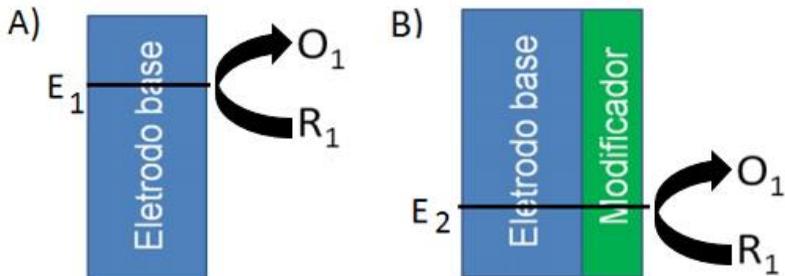
Figura 1 - Representação esquemática de uma reação de oxidação de $A \rightarrow B + e^-$ sobre a superfície de um eletrodo convencional e de um eletrodo modificado com espécies eletroativas.



Os termos M e M' correspondem ao mediador redox reversível no seu estado reduzido e oxidado, respectivamente, η corresponde ao sobrepotencial. Os termos E_S , $E^{\circ}_{M/M'}$, $E^{\circ}_{A/B}$ correspondem aos potenciais não catalisados, mediado por M/M' e padrão, respectivamente, para a reação mencionada acima. Na reação catalisada em meio homogêneo (B), o mediador M/M' e o reagente estão em solução. Na reação catalisada heterogênea (C), o mediador M/M' está ligado na superfície do eletrodo. **Fonte:** Adaptado de ZEN *et al.*, 2003.

Já a Figura 2 mostra um processo electrocatalítico na superfície de um eletrodo modificado com espécies não eletroativas. Como pode ser visto na Figura 2A, um processo de oxidação ($R_1 \rightarrow O_1 + e^-$) sobre um eletrodo sem modificação possui um potencial E_1 . Empregando-se um eletrodo modificado com espécies não eletroativas (Figura 2B), o mesmo processo de oxidação passa a possuir um potencial E_2 , sendo que $E_2 < E_1$. Do ponto de vista físico-químico, a modificação superficial se refere à diminuição da energia de ativação de um processo redox em questão ou ao aumento da taxa de transferência eletrônica. Já em méritos analíticos, a modificação superficial de um eletrodo visa a inibição de alguns processos eletródicos em detrimento à intensificação de outros, gerando maior seletividade (CHEN *et al.*, 1994).

Figura 2 - Representação esquemática de uma reação de oxidação de $R_1 \rightarrow O_1 + e^-$ sobre a superfície de A) um eletrodo convencional e B) de um eletrodo modificado com espécies não eletroativas.

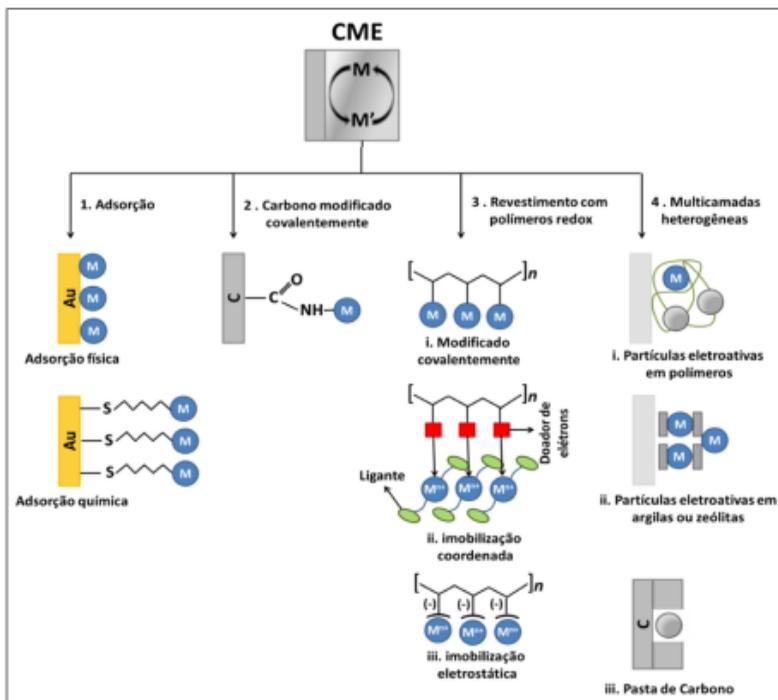


2.1.1. Preparação dos CMEs

O eletrodo base (substrato) e o agente modificador são, basicamente, as duas partes essenciais de um CME. Existem vários métodos para a sua confecção. A escolha do método mais adequado depende do substrato utilizado, cuja superfície sofrerá a modificação, e das características desejadas para o CME (SOUZA, 1997; PEREIRA *et al.*, 2002).

Existem quatro métodos para imobilizar espécies quimicamente ativas na superfície do eletrodo: adsorção ou quimissorção, ligação covalente, filmes poliméricos e compósitos (PEREIRA *et al.*, 2002; ZEN *et al.*, 2003). Uma ilustração destas quatro maneiras é apresentada na Figura 3.

Figura 3 - Diferentes tipos de modificação de eletrodos.



Fonte: Adaptado de ZEN *et al.*, 2003.

I – Adsorção: o agente modificador é dissolvido em um solvente apropriado, em seguida o eletrodo é imerso nesta solução. Pode também envolver a disposição desta solução, com a ajuda de uma micropipeta, sobre a superfície do eletrodo seguida da evaporação do solvente. São formadas, então, monocamadas na superfície do eletrodo. Isto acontece devido às interações químicas e/ou físicas entre a superfície do eletrodo e a solução modificadora. Um exemplo bem conhecido é a monocamada auto organizada de tióis, chamada de SAM (do inglês, *self-assembled monolayer*), adsorvida quimicamente em um eletrodo de ouro. Interações intermoleculares de van der Waals contribuem para a formação da monocamada, mas é a quimissorção que tem a maior contribuição energética para a SAM (ALKIRE *et al.*, 2009). Como não há alteração de

grupos funcionais, este método é classificado como adsorção, mesmo que haja uma formação de uma ligação covalente entre o enxofre e o ouro.

II – Ligação covalente: neste método há alteração de grupos funcionais, já que o modificador tem que ser ligado covalentemente ao eletrodo, acarretando tal alteração. Dependendo do eletrodo base, escolhe-se o grupo funcional para tal finalidade. Reações de silanização e óxidos presentes no substrato podem ser usados para fazer a modificação. Eletrodos metálicos oxidados em meio ácido, apresentam uma fina camada de óxido muito reativa em relação aos silanos (ALKIRE *et al.*, 2009). Os silanos podem atuar como um tipo de ponte para imobilizar um grupo funcional específico. A superfície de eletrodos à base de carbono também pode ser modificada por este método devido à presença de grupos funcionais como álcoois, ácidos carboxílicos, cetonas e anidridos. Dessa forma, a modificação deste tipo de substrato é baseada na manipulação de tais grupos funcionais frente a compostos como aminas, organossilanos, cloreto de tionilas, etc. No entanto, a limitação de apenas uma monocamada, às vezes pode restringir a quantidade de espécies eletroativas na superfície do eletrodo. A utilização de filmes poliméricos é uma alternativa para contornar esta desvantagem.

III – Filmes poliméricos: filmes poliméricos condutores ou permeáveis ao eletrólito de suporte e ao analito são usados como recobrimento da superfície do eletrodo. Quatro classes de filmes poliméricos são utilizados para esta finalidade: (1) os filmes condutores são muito empregados devido à sua característica de aumentar a velocidade de transferência de elétrons; (2) os filmes de troca iônica, nos quais o componente redox ativo é um contra íon de um filme poli-iônico como o Náfion ou polivinilpiridina; (3) os filmes não condutores, os quais possuem uma característica permeseletiva sendo muito usados em biossensores para imobilizar biocomponentes e mediadores. E, por fim, (4) os filmes de membranas compostas, que apresentam características de se combinar efetivamente com mais de um filme polimérico (ALKIRE *et al.*, 2009).

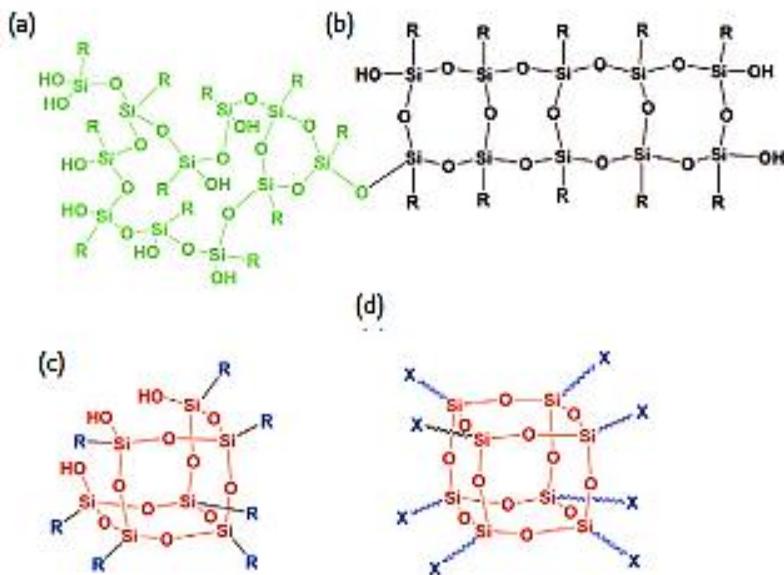
IV – Compósitos: é a mistura do agente modificador diretamente com o substrato. Neste caso, muitos materiais como argila, resina epóxi, polímeros, entre outros, podem ser utilizados. Modificações em eletrodos a base de carbono em pó, como por exemplo pasta de carbono CPE (do inglês, *carbon paste electrode*), são modificados desta maneira (SOUZA, 1997; PEREIRA *et al.*, 2002). A preparação do CPE além de simples é barata, pois, podem ser usados materiais de fácil obtenção. Basicamente um CPE modificado consiste de grafite em pó (ou outros materiais de

carbono), um agente aglutinante e o modificador. Muitos eletrodos a base de compósitos de nanotubos de carbono são preparados desta forma (ALKIRE *et al.*, 2009). Como agente aglutinante, geralmente é utilizado um líquido orgânico (como por exemplo, óleo mineral) que deve ser quimicamente e eletroquimicamente inerte, com baixa volatilidade, imiscível com a solução do analito e deve preencher os interstícios entre as partículas de grafite.

2.2. SILSESQUIOXANOS

Silsesquioxanos são materiais híbridos orgânico-inorgânicos que combinam a estabilidade mecânica, térmica e química da cerâmica com o processo de dissolução e flexibilidade de materiais macios tradicionais (RO e SOLES, 2011). Estes materiais híbridos são obtidos pelo método sol-gel que ocorre por processos de hidrólise e policondensação de precursores, obtendo-se espécies de elevada massa molar (JOSÉ e PRADO, 2005). Sua fórmula empírica é $(\text{RSiO}_{3/2})_n$, onde R pode ser um hidrogênio ou um substituinte orgânico como alquil, aril, fenil ou um grupo organofuncionalizado derivado de um destes (BANEY *et al.*, 1995). Assim, há três ligações silicatos para cada átomo do Si e um substituinte orgânico pendente. É isso que faz com que os silsesquioxanos sejam propensos a formar redes com ligações cruzadas (LAINE, 2005; CORDES *et al.*, 2010). São essas ligações que abrem um caminho para combinar as propriedades da sílica ou quartzo com a natureza macia dos materiais orgânicos. Essas unidades $(\text{RSiO}_{3/2})_n$ podem assumir várias formas como a aleatória (Figura 4a), bidimensional (Figura 4b) e poliedros incompletos (Figura 4c) e completos (Figura 4d).

Figura 4 - Estruturas químicas dos silsesquioxanos: a) aleatória, b) bidimensional, c) poliedro completo e d) poliedro completo. R = H, alquil, aril ou fenil.



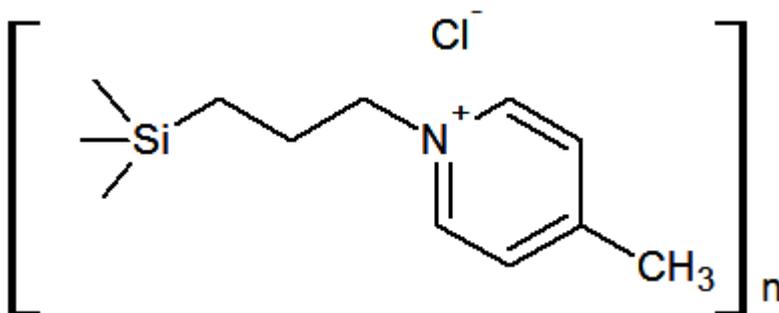
Fonte: Adaptado de RO e SOLES, 2011.

Entre os silsesquioxanos, destacam-se os iônicos que possuem propriedades que chamam a atenção dos pesquisadores: a solubilidade em água ou outros solventes de alta constante dielétrica, a possibilidade de formar filmes sobre superfícies de óxidos ou metais e a capacidade de troca iônica. Com essas características, esses materiais são utilizados na construção de eletrodos/sensores (LUCHO *et al.*, 2008), na preparação de filmes protetores (DALMORO *et al.*, 2012), em materiais dentários e em combinação com ligas especiais (SOH *et al.*, 2006). Se o material híbrido formado for poroso, este pode ser aplicado nas técnicas de separação, na catálise quiral e na indústria farmacêutica (PAUL *et al.*, 2008).

2.2.1. Cloreto de 3-*n*-propil-4-picolina silsesquioxano (Si4Pic⁺Cl⁻)

O Si4Pic⁺Cl⁻ é um polímero trocador aniônico, ou seja, consegue imobilizar espécies aniônicas em troca do cloreto na sua estrutura. Além do cloreto, há um grupo picolina que tem uma carga positiva no nitrogênio, e é essa carga que faz com que o polímero consiga imobilizar espécies aniônicas (MAGOSSO *et al.*, 2006). A Figura 5 mostra a unidade de repetição do polímero Si4Pic⁺Cl⁻.

Figura 5 - Unidade de repetição do polímero cloreto de 3-*n*-propil-4-picolina silsesquioxano.



Esse polímero pode ser sintetizado na sua forma solúvel ou insolúvel em água. Isso depende da rota sintética e da quantidade dos grupos catiônicos usados para sintetizá-lo. Sua principal característica é a grande capacidade de adsorver, em meio aquoso, complexos metálicos na forma MCl_4^{2-} , sendo $M = Zn^{2+}, Cd^{2+}, Hg^{2+}$ (MAGOSSO *et al.*, 2006). Outras características incluem a possibilidade de formar filmes em substratos sólidos e a utilização como estabilizante na síntese de nanopartículas. Mesmo assim, há poucos relatos sobre o Si4Pic⁺Cl⁻ sendo usado para construção de sensores eletroquímicos.

Com o intuito de modificar um eletrodo com nanopartículas de platina, o Si4Pic⁺Cl⁻ foi utilizado como estabilizante na síntese destas nanopartículas.

2.3. NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Nanopartículas são partículas que exibem tamanho entre 1 e 100 nanômetros, entretanto, esse termo é frequentemente usado para partículas de até 1000 nanômetros. A pesquisa envolvendo as nanopartículas é, atualmente, de intenso interesse científico devido a ampla variedade de aplicações nas áreas biomédicas, ópticas e eletrônicas (TAYLOR *et al.*, 2013; HEWAKURUPPU *et al.*, 2013). Partículas em escala nanométrica tem suas propriedades dependentes do seu tamanho. Assim, as propriedades dessas partículas mudam à medida que seu tamanho se aproxima da escala nanométrica. Nanopartículas possuem, normalmente, propriedades ópticas inesperadas já que são pequenas o suficiente para confinar seus elétrons e produzir efeitos quânticos (HEWAKURUPPU *et al.*, 2013). Por exemplo: nanopartículas de ouro apresentam coloração avermelhada em vez da amarelada. Essa mudança se deve a oscilação de elétrons na banda de condução ou banda plasmônica (MULVANEY, 1996). A condutividade também é afetada pelo tamanho da nanopartícula. São as energias de GAP, entre bandas de valência e de condução, que definem se um material é condutor, semicondutor ou isolante. Devido ao seu tamanho, os átomos ficam mais confinados, dando origem ao supermagnetismo.

Para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos, as nanopartículas metálicas oferecem algumas vantagens como: o aumento da área superficial ativa, da atividade catalítica e da biocompatibilidade e o melhoramento da condutividade do sistema (CAMPBELL e COMPTON, 2010; YIN e QIN, 2013). São essas características que fazem com que as nanopartículas metálicas sejam ideais para a construção de sensores eletroquímicos aplicados na eletroanalítica (YU *et al.*, 2011).

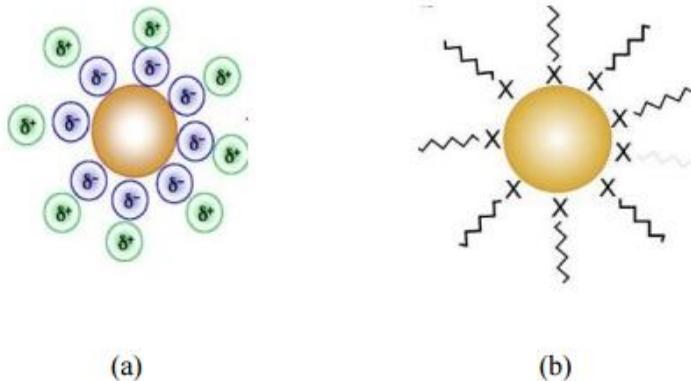
2.3.1. Síntese de nanopartículas

Para sintetizar nanopartículas, existem dois métodos: os físicos e os químicos (OZIN, 1992). O primeiro é conhecido como *top down*, onde partículas maiores são “quebradas” para formar partículas menores até ficarem na escala nanométrica. Já o segundo é conhecido como *bottom up*, que se tratam de reações químicas com precursores que permitem um maior controle sobre as características das nanopartículas. Graças à esse controle, simplicidade e eficácia, os métodos químicos são mais usados. A redução de um sal metálico na presença de um estabilizador é um

exemplo de um método químico (SHIPWAY *et al.*, 2000). São esses estabilizadores que controlam a forma e o tamanho das nanopartículas, podendo também funcionalizá-las (THOMAS *et al.*, 2002).

Para estabilizar as nanopartículas metálicas, recorre-se a alterações que as impeçam de se aproximarem uma da outra o suficiente para não agregarem. Basicamente há dois métodos: repulsão eletrostática (estabilização eletrostática) e impedimento estérico (estabilização estérica) (HANG *et al.*, 2009;). A Figura 6 mostra os dois tipos de estabilização. Para a estabilização eletrostática (Figura 6a), usa-se um composto com carga (positiva ou negativa) que geralmente fica adsorvido sobre a superfície da nanopartícula metálica, conferindo-lhes, portanto, potencial eletrostático. Essa carga impede que as nanopartículas se aproximem o suficiente para que o processo de agregação se inicie. Já na estabilização por impedimento estérico (Figura 6b), as nanopartículas são revestidas superficialmente com uma camada de polímero, proteína ou dendrímero. Dessa forma, cria-se uma barreira mecânica que impede a aproximação.

Figura 6 - Nanopartícula estabilizada (a) eletrostaticamente e (b) por impedimento estérico.



Fonte: adaptado de DUMUR *et al.*, 2011.

2.3.2. Nanopartículas de platina

Os metais Pd, Rh, Ru, Os, Ir e Pt apresentam propriedades extraordinárias, devido principalmente à estabilidade química e elevada atividade catalítica. Dentre esses metais, a platina desempenha um papel fundamental na indústria, já que possui alto ponto de fusão (1769 °C) e boa resistência à corrosão em eletrólitos ácidos. Cerca de 42% da platina produzida é empregada em catalisadores. Desses, 90% são aplicados em sistemas de escapamento de automóveis, já que a platina representa o catalisador mais eficiente em processos que visam a diminuição de poluentes proveniente da queima de combustíveis fósseis (INABA *et al.*, 2006).

A síntese de nanopartículas de platina (PtNPs) ocorre com a redução de um precursor de Pt²⁺ ou Pt⁴⁺ na presença de um estabilizante. As PtNPs têm sido consideradas como um dos melhores catalisadores existentes, e vem sendo empregadas em várias reações, inclusive eletroquímicas. O uso da platina como eletrocatalisador pode ser realizado tanto para a oxidação quanto para redução, aumentando consideravelmente a cinética das reações em eletrodos (SHENG e WANG, 2006).

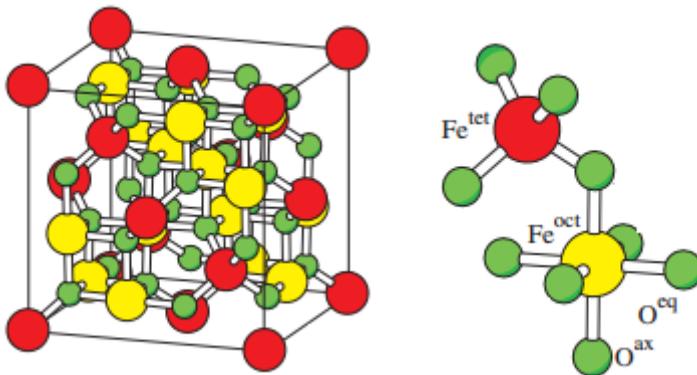
As PtNPs são mais usadas como catalisadores em células combustíveis (KUMAR e ZOU, 2006). YE e CROOKS usaram o polímero poliamidoamina para imobilizar as PtNPs e, assim, usá-las como catalisador para a eletroredução do oxigênio (YE e CROOKS, 2005). CRESPILO e colaboradores usaram o mesmo polímero para imobilizar as PtNPs mas utilizaram a técnica *layer-by-layer* (LbL) para modificar o eletrodo, deixando-o resistente ao metanol que podia fazer com que a célula combustível perdesse potência (CRESPILO *et al.*, 2006). Há também trabalhos usando as nanopartículas de platina para interesse analítico como, por exemplo, o de ENSAFI e colaboradores que modificaram um eletrodo de pasta de carbono com nanopartículas de platina suportadas em sílica porosa modificada a fim de determinar as drogas morfina e codeína. Obtiveram um ótimo limite de detecção de 30,0 nmol L⁻¹ e 20,0 nmol L⁻¹ respectivamente e também determinaram essas drogas em urina (ENSAFI *et al.*, 2015). Mas foram as pesquisas envolvendo catalisadores para células à combustível que contribuíram mais para o desenvolvimento de várias sínteses de nanopartículas de platina.

2.4. MAGNETITA

Magnetita é o nome usual do composto químico Fe_3O_4 que também pode ser escrito como $\text{FeO}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$, porque possui um íon Fe^{2+} e dois Fe^{3+} . Sua característica principal é o magnetismo, o qual é permanente e caracterizado como ferrimagnético (GREENWOOD e EARNSHAW, 1997). Seu principal uso é como pigmento ou corante da cor preta (BUXBAUM e PFAFF, 2005), mas a magnetita também é usada como catalisador no processo Haber ou síntese de Haber-Bosch (CHERKASOV *et al.*, 2015). São usados como contraste para a imagem por ressonância magnética (BABES *et al.*, 1999) e também são utilizados para separar proteínas, ácidos nucleicos e células de matrizes complexas na presença de um campo magnético aplicado externamente (AGUILAR-ARTEAGA *et al.*, 2010; LU *et al.*, 2013).

Sua estrutura é a espinélio cúbico de face centrada como está ilustrada na Figura 7 (FRIÁK *et al.*, 2007). Nesta, os íons Fe^{2+} ocupam metade dos sítios octaédricos e os íons Fe^{3+} estão divididos igualmente entre os sítios octaédricos restantes e os sítios tetraédricos. O ferrimagnetismo do Fe_3O_4 surge porque os spins dos elétrons dos íons Fe^{2+} e Fe^{3+} nos sítios octaédricos são acoplados e os spins dos íons Fe^{3+} nos sítios tetraédricos são acoplados mas são antiparalelos ao primeiro. O resultado disto é que as contribuições de ambos os conjuntos não são equilibradas, formando um magnetismo permanente (GREENWOOD e EARNSHAW, 1997). O Fe_3O_4 vem atraindo uma grande atenção dos eletroanalíticos devido a sua grande área superficial, baixa toxicidade e magnetismo (FENG *et al.*, 2016). Abaixo está apresentada uma revisão de trabalhos envolvendo Fe_3O_4 na construção de CMEs.

Figura 7 - Estrutura espínélio cúbico de face centrada do Fe_3O_4 .



Fonte: Adaptado de FRÁK *et al.*, 2007.

2.4.1. Uso de Fe_3O_4 na construção de CMEs

OMDIFAR e colaboradores desenvolveram um imunossensor para detecção do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR – do inglês, *epidermal growth factor receptor*) em amostras de soro. Para tal finalidade, utilizaram um nanocompósito contendo Fe_3O_4 , N-trimetilquitosana e Au ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TMC}/\text{Au}$) para identificar o anticorpo anti-EGFR e politiofeno (PT) como plataforma de imobilização. O imunossensor foi construído sobre um eletrodo impresso de platina comercial. Testes de estabilidade foram realizados e observaram que o imunossensor apresentou boa resposta durante 8 semanas. Usando a técnica de voltametria de pulso diferencial, com seus parâmetros otimizados, construíram uma curva de calibração para o EGFR com um limite de detecção de $0,05 \text{ pg mL}^{-1}$. As repetibilidades intra-dia e inter-dia foram de 4,6 e 6,1 %, respectivamente (OMDIFAR *et al.*, 2015).

EROGUL e colaboradores construíram um sensor eletroquímico para a detecção de catecol (CC) e hidroquinona (HQ) em amostras de água modificando a superfície do eletrodo de carbono vítreo (GCE – do inglês, *glassy carbon electrode*) com Fe_3O_4 , óxido de grafeno e nanopartículas de ouro (AuNPs/ Fe_3O_4 -APTES-GO). Na voltametria cíclica, observaram um pico de oxidação em 0,15 V para o CC e em 0,05 V para a HQ, tendo uma separação entre os picos de 0,10 V. Com a técnica de voltametria de pulso diferencial, em condições otimizadas, construíram curvas de

calibração na faixa de 2,0 até 145,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o CC e de 3,0 até 137,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a HQ. Os limites de detecção para o CC e para a HQ foram de 0,8 e 1,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente (EROGUL *et al.*, 2015).

WU e colaboradores modificaram a superfície de um GCE com Fe_3O_4 funcionalizados com o grupo amino ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$) para a determinação simultânea de ácido ascórbico (AA), dopamina (DA) e ácido úrico (UA). Com a voltametria de pulso diferencial, obtiveram uma resposta linear para AA, DA e UA nas faixas de 5,0 – 1600,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 0,2 – 38,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 1,0 – 850,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente. Os limites de detecção foram de 0,074 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 0,126 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,056 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AA, DA e UA respectivamente. Amostras de injeções de cloridrato de dopamina, injeção de vitamina C e urina humana foram usadas para a determinação destes compostos (WU *et al.*, 2014).

YARI e DERKI modificaram um eletrodo de pasta de carbono usando nanopartículas de prata ancoradas em polidopamina cobertas com nanotubos de carbono de múltiplas paredes e Fe_3O_4 (MWCNT- Fe_3O_4 @PDA-Ag) para determinação individual ou simultânea de guanina (G) e adenina (A). Com a voltametria de pulso diferencial, conseguiram uma resposta linear na faixa de 8,0 – 130,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 10,0 – 120,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para G e A respectivamente. Os limites de detecção obtidos foram de 1,47 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para G e de 5,66 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para A. Como amostra, determinaram G e A em DNA de peixe (YARI e DERKI, 2016).

YU e colaboradores desenvolveram um imunossensor para determinar canamicina em amostras de carne de porco. Para isso, modificaram a superfície do GCE com nanopartículas de prata e Fe_3O_4 ($\text{Ag@Fe}_3\text{O}_4$ NPs) e com tionina (TH) misturada com grafeno. A TH foi usada como mediador de transferência de elétron. Com a grande área superficial e excelente condutividade elétrica, as $\text{Ag@Fe}_3\text{O}_4$ NPs conseguiram imobilizar mais anticorpos da canamicina e promover a transferência de elétrons. Empregaram a voltametria de onda quadrada para construir uma curva de calibração para a canamicina na faixa entre 0,050 – 16,0 ng mL^{-1} . Obtiveram um limite de detecção de 15,0 pg mL^{-1} (YU *et al.*, 2013).

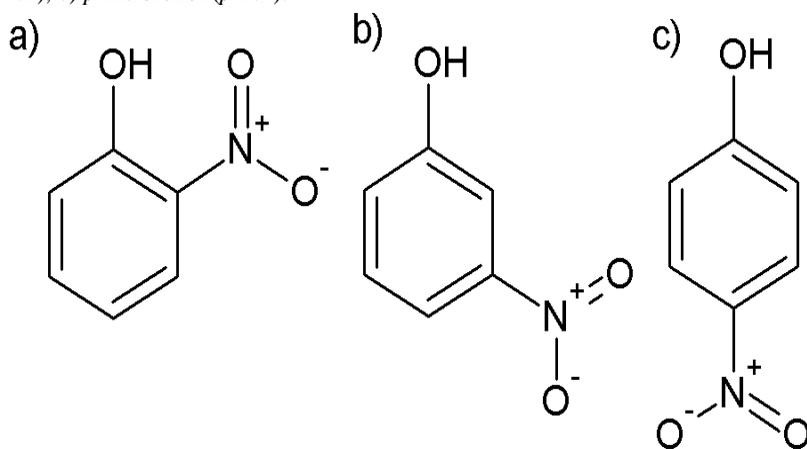
XIN e colaboradores modificaram a superfície de um eletrodo impresso de carbono com nanopartículas de Fe_3O_4 e de ouro revestidos com HPR (do inglês, *horseardish peroxidase*) e grafeno para a determinação de H_2O_2 . Esse biosensor mostrou excelentes resultados para a redução electrocatalítica do H_2O_2 . Usando a técnica de cronoamperometria, construíram uma curva de calibração para o H_2O_2 na faixa entre 20,0 – 2500,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com um limite de detecção de 120,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (XIN *et al.*, 2013).

2.5. NITROFENÓIS

Os nitrocompostos são compostos orgânicos usados em várias indústrias como a farmacêutica, a de pesticidas e a de explosivos (XU *et al.*, 2002; PAULA *et al.*, 2009; DEY *et al.*, 2013). Dentro desta classe de compostos estão os nitrofenóis, que contêm os grupos nitro e hidroxila em sua estrutura. Apresentando efeitos mutagênicos, citotóxico e fitotóxicos, os nitrofenóis são considerados como poluentes primários (TAHMASEBI *et al.*, 2013) e são gerados por processos poluentes incluindo indústrias de tintas, petróleo, pesticidas e fármacos. Como consequência, ocorre a poluição do meio ambiente, principalmente ambientes aquáticos (TREMP *et al.*, 1993; KULKARNI, 2013). Assim, os nitrofenóis são compostos potencialmente perigosos tanto para a saúde humana quanto para o ecossistema, uma vez que são tóxicos para as plantas, peixes e outros organismos e podem se acumular na cadeia alimentar (DONLON *et al.*, 1993).

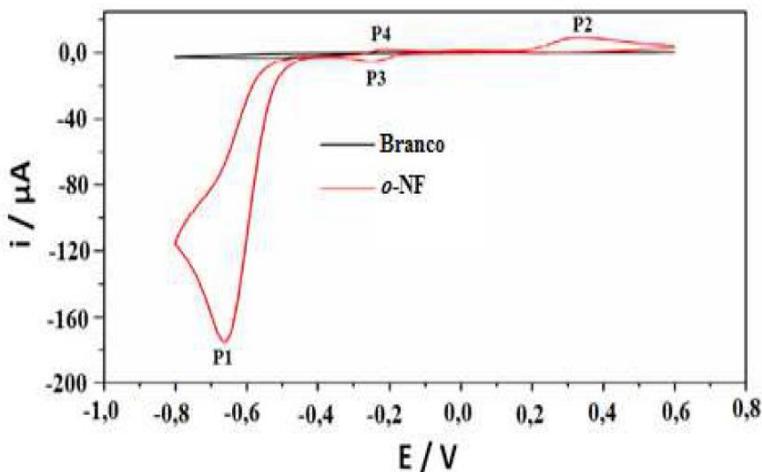
Há três isômeros do nitrofenol: *o*-nitrofenol (*o*-NF), *m*-nitrofenol (*m*-NF) e *p*-nitrofenol (*p*-NF) (Figura 8). O que muda de um isômero para o outro é a posição do grupo nitro no anel aromático. O grupo nitro é um grupo retirador de elétrons, ou seja, o grupo nitro diminui a densidade eletrônica do anel aromático, reduzindo sua reatividade (BHATTI *et al.*, 2002; TOMEI *et al.*, 2003).

Figura 8 - Isômeros do nitrofenol: a) *o*-nitrofenol (*o*-NF), b) *m*-nitrofenol (*m*-NF), c) *p*-nitrofenol (*p*-NF).



Os nitrofenóis podem ser determinados, usando técnicas eletroanalíticas, por dois processos redox diferentes. A Figura 9 mostra o comportamento eletroquímico do *o*-NF sobre GCE modificado com polipropileno imina (PPI) e nanopartículas de ouro sendo, assim, denominado de GCE/PPI-AuNPs. São observados quatro picos no voltamograma. O pico 1 (P1) é referente ao primeiro processo: redução irreversível do grupo nitro à hidroxilamina. Normalmente quatro elétrons e quatro prótons participam desta reação. Já o pico 2 (P2) faz referência a oxidação irreversível da hidroxila à cetona. Esta reação não é utilizada para determinar os isômeros dos nitrofenóis porque, devido aos potenciais, os picos de cada isômero se sobrepõem. Os picos 3 e 4 (P3 e P4) são o segundo processo, onde ocorre a reação reversível de oxidação do grupo hidroxilamina (-NHOH) para o grupo nitroso (-NO), nesta reação geralmente são envolvidos dois elétrons e dois prótons (LUO *et al.*, 2008; NDLOVU *et al.*, 2010; WEI *et al.*, 2011).

Figura 9 - Comportamento eletroquímico do *o*-nitrofenol sobre o GCE/PPI-AuNPs.

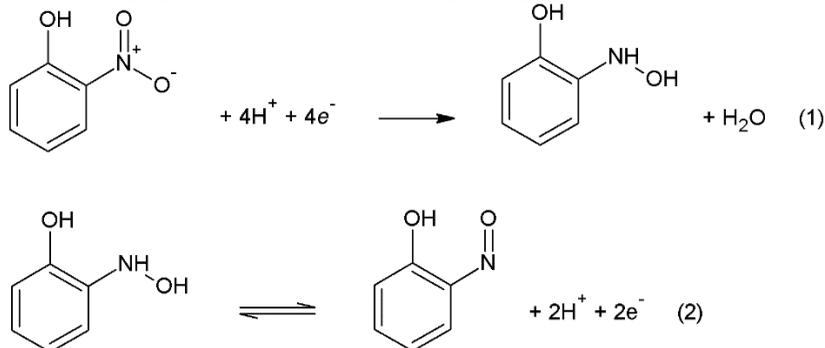


Fonte: Adaptado de NDLOVU *et al.*, 2010.

Os dois processos redox estão representados na Figura 10. Nesta está sendo utilizado como exemplo o *o*-NF, mas o mesmo ocorre para os isômeros *p*-NF e *m*-NF, diferenciando apenas na posição do grupo nitro no anel benzênico. O potencial de pico de cada processo varia de acordo com o isômero, com o eletrodo e o meio utilizados. Caso não haja a

sobreposição dos potenciais dos picos, a determinação simultânea se torna viável.

Figura 10 - Mecanismo das reações redox do *o*-NF. (1) Reação de redução irreversível do *o*-NF formando 2-(hidroxiamino)fenol. (2) Reação reversível de oxidação do grupo hidroxilamina (-NHOH) para o grupo nitroso (-NO).



2.5.1. Determinação eletroquímica dos nitrofenóis

Abaixo estão apresentados alguns trabalhos que determinaram eletroquimicamente os isômeros de nitrofenóis usando CMEs nos últimos 5 anos.

ARVINTE e colaboradores determinaram o *p*-NF por oxidação usando um eletrodo modificado com grafeno e compararam com um eletrodo modificado com nanotubos de carbono usando a voltametria de pulso diferencial. Foram usados eletrodos impressos como substrato. Com esses eletrodos, observaram um pico de oxidação irreversível em +0,96 V em meio ácido para o *p*-NF. O sinal deste aumentou com o aumento da concentração de *p*-NF. Com os parâmetros otimizados, os dois eletrodos mostraram uma resposta linear na faixa de 10,0 até 620,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de *p*-NF. Os limites de detecção foram de 0,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ usando o grafeno, e 1,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando os nanotubos de carbono (ARVINTE *et al.*, 2011).

LIU e colaboradores usaram a β -ciclodextrina modificada com óxido de grafeno para determinar simultaneamente os isômeros de nitrofenóis. Como substrato, usaram o eletrodo de carbono vítreo. Para determiná-los, os picos redox do *p*-NF (+0,3 V), *o*-NF (-0,2 V) e *m*-NF (+0,05 V) foram explorados. Com as condições otimizadas para a voltametria de pulso

diferencial, conseguiram uma resposta linear de 7,18 até 71,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *p*-NF, 7,18 até 64,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *o*-NF e 7,18 até 43,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *m*-NF. O limite de detecção foi de 0,35 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *p*-NF, 0,14 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *o*-NF e 0,72 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *m*-NF (LIU *et al.*, 2012).

ZHANG e colaboradores modificaram a superfície de um eletrodo de carbono vítreo com OMCs (do inglês, *ordered mesoporous carbons*) para determinar os três isômeros de nitrofenóis. Picos redox dos intermediários dos nitrofenóis foram encontrados em +0,209 V, +0,020 V e -0,201 V para o *p*-NF, *m*-NF e *o*-NF, respectivamente. Com o auxílio da voltametria de pulso diferencial, construíram curvas de calibração para os três isômeros nas faixas de 2,0 até 90,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *p*-NF, 1,0 até 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *m*-NF e 0,5 até 90,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *o*-NF. Com as curvas de calibração, calcularam os seguintes limites de detecção: 0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *p*-NF, 0,06 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *m*-NF e 0,08 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *o*-NF (ZHANG *et al.*, 2013).

DENG e colaboradores desenvolveram uma metodologia para determinar simultaneamente os isômeros para e orto com um eletrodo de pasta de acetileno preto modificado com o compósito grafeno-quitosana. Em pH 1,0, observaram os picos de redução em -0,252 V para o *o*-NF e -0,340 V para o *p*-NF. Para a determinação destes isômeros, construíram curvas de calibração na faixa de 0,4 até 80,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *o*-NF e de 0,1 até 80,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *p*-NF. Os limites de detecção calculados foram de 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *o*-NF e de 0,08 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o *p*-NF (DENG *et al.*, 2014).

DE LIMA e colaboradores modificaram a superfície do GCE com nanopartículas de prata estabilizadas em quitosana para determinar nitrofenóis. As nanopartículas obtidas, apresentaram um diâmetro médio de 3,4 nm. Com o sensor construído (nAg-chitosan/GCE sensor) e com o emprego da voltametria de onda quadrada, observaram um aumento linear na resposta de corrente do *p*-NF na faixa entre 0,07 – 2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Obtiveram um limite de detecção de 70,0 nmol L^{-1} . Para concentrações maiores que 0,05 mmol L^{-1} , esse sensor foi capaz de detectar os três isômeros de nitrofenóis (DE LIMA *et al.*, 2014).

DA SILVA e colaboradores construíram um sensor eletroquímico para a determinação de isômeros de nitrofenóis. Como substrato, usaram o GCE e o modificaram com nanopartículas de prata estabilizadas em 3-*n*-propil-4-picolina silsesquioxano ($\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$). O sensor foi denominado de nAu- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$. Empregaram a voltametria de pulso diferencial, com os seus parâmetros otimizados, para a construção da curva de calibração. Obtiveram uma respostas linear para a redução do *p*-NF e do

o-NF dentro da faixa de 0,1-1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os limites de detecção para o *p*-NF e para o *o*-NF foram de 55,0 nmol L^{-1} e 46,0 nmol L^{-1} respectivamente (DA SILVA *et al.*, 2014).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de um eletrodo quimicamente modificado com $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ e com PtNPs estabilizadas em $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$ para a determinação individual e simultânea dos isômeros de nitrofenóis.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar diferentes nanopartículas com diferentes metais usando como agente estabilizante o silsesquioxano juntamente com as $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$.
- Modificar a superfície do GCE com as diferentes nanopartículas metálicas.
- Selecionar o melhor metal para a detecção dos nitrofenóis a partir de teste de detecção para o *p*-NF.
- Otimizar a síntese das $(\text{Pt-Fe}_3\text{O}_4)\text{NPs}$.
- Caracterizar as nanopartículas através da técnica de TEM.
- Caracterizar morfológicamente e eletroquimicamente a superfície do GCE modificado através das técnicas de SEM e impedância.
- Investigar o comportamento eletroquímico dos isômeros de nitrofenóis usando diferentes eletrólitos de suporte em diferentes pH.
- Realizar estudos da variação da velocidade de varredura.
- Avaliar diferentes técnicas eletroanalíticas em diferentes velocidades de varredura.
- Construir curvas de calibração para soluções contendo isômeros de nitrofenóis.
- Construir curvas de adição de padrão usando amostras de interesse ambiental e biológico.
- Determinar individualmente e simultaneamente os isômeros de nitrofenóis em amostras de interesse ambiental e biológico.
- Avaliar a exatidão do método proposto usando o UV-vis como método comparativo.

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes e soluções usados são da marca Sigma-Aldrich e foram obtidos comercialmente. Soluções contendo *o*-NF, *m*-NF e *p*-NF 10,0 mmol L⁻¹ foram preparadas dissolvendo-os em etanol e estocadas sob refrigeração de 5 °C. Soluções com concentrações menores foram obtidas por simples diluição das mesmas. As soluções aquosas foram preparadas utilizando água ultrapura. Para os estudos de eletrólito de suporte foram utilizados os seguintes tampões: Britton-Robinson (B-R), fosfato e amoniaco. Para a obtenção destes tampões foram usados os seguintes reagentes: ácido acético (CH₃COOH), ácido bórico (H₃BO₃), ácido fosfórico (H₃PO₄), fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄), fosfato de potássio dibásico anidro (K₂HPO₄), solução aquosa de amônia (NH₃) e cloreto de amônio (NH₄Cl). Para ajustar o pH das soluções, foram utilizadas soluções de HCl e NaOH 1,0 mol L⁻¹. Soluções contendo Fe₃O₄NP foram obtidas com a dissolução da quantidade certa de massa de nanopartículas de Fe₃O₄ comercial em água. Para a síntese das diferentes nanopartículas, foram usadas Bi(NO₃)₃.5H₂O (nitrato de bismuto (III)), AgNO₃ (nitrato de prata), HAuCl₄.4H₂O (ácido tetracloreáurico), CuSO₄.5H₂O (sulfato de cobre) e H₂PtCl₆ (ácido hexacloroplatínico) como fontes de seus respectivos metais. Como estabilizante das nanopartículas metálicas, foi utilizado o Si₄Pic⁺Cl⁻ na forma solúvel em água. Para reduzir os metais, empregou-se o hidreto de boro e sódio (NaBH₄). Soluções de [Fe(CN)₆]³⁻/[Fe(CN)₆]⁴⁻ em KCl foram feitas com o propósito de caracterizar o eletrodo eletroquimicamente.

4.2. SÍNTESE DO Si₄Pic⁺Cl⁻

A forma solúvel em água do Si₄Pic⁺Cl⁻ utilizado nesta parte do trabalho foi cedida pela Professora Hérica A. Magosso. A síntese foi realizada a partir do método sol-gel de acordo com o seguinte procedimento: a pré-hidrólise de 82 mL de tetraetoxissilano (0,36 mol) foi feita em um balão de fundo redondo com três bocas contendo aproximadamente 150 mL de etanol e 32 mL de HCl 1,0 mol L⁻¹. Com o auxílio de um agitador magnético, a solução foi agitada por 2,5 h à temperatura ambiente. Depois disso, nessa solução foram adicionados 112 g de cloropropiltrimetoxissilano (0,56 mol) e a mistura resultante foi

agitada utilizando um agitador mecânico por mais 2 h. Após esse período, a temperatura foi elevada para 55 °C por 60 horas, para ocorrer o processo de gelatinização. O conteúdo do balão foi então transferido para um béquer e a temperatura elevada a 110 °C para promover a evaporação da maior parte do solvente residual. O sólido obtido foi triturado e lavado com 300 mL de etanol e o solvente residual eliminado sob vácuo (133×10^{-3} Pa). Na sequência, foi feita a reação do xerogel com o grupo funcional 4-picolina. Para isso, 30 g do sólido foi imerso em uma solução preparada pela mistura de 50 mL de 4-picolina pura com 150 mL de tolueno. O conteúdo do balão foi deixado sob refluxo por aproximadamente 8 h. O sólido obtido após esta etapa foi separado por filtração, lavado com etanol e seco sob vácuo a uma temperatura de 70 °C durante 2 h. A caracterização deste silsesquioxano está relatada na literatura (MAGOSSO *et al.*, 2006). A quantidade de grupos funcionais (4-picolina) foi estimada em 1,9 mmol por gramas de material analisado.

4.3. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS

As nanopartículas de Fe_3O_4 da marca Sigma-Aldrich foram obtidas comercialmente.

As nanopartículas metálicas foram obtidas usando o $\text{Si}4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$ como estabilizante e soluções aquosas contendo o metal de interesse. Em 5,0 mL de $\text{Si}4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$ $1,0 \text{ g L}^{-1}$ foram adicionados 5,0 μL da solução aquosa contendo o metal de interesse na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e em seguida esta solução ficou sob agitação durante 5 min em temperatura ambiente ($\approx 25 \text{ }^\circ\text{C}$). Depois deste tempo, foram adicionados à solução 200 μL de hidreto de boro e sódio (NaBH_4) $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$ recentemente preparada sob agitação constante. A solução que era inicialmente incolor passou a exibir uma outra coloração, indicando que houve a formação das nanopartículas. Os metais utilizados para esta síntese foram: Ag, Au, Bi, Cu e Pt.

O preparo da solução modificadora contendo as nanopartículas metálicas e as $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs}$ foi obtida da mesma maneira descrita acima, mas com a adição de 4,0 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NP}$ e agitação por 5 min antes da adição dos 5,0 μL da solução aquosa contendo o metal de interesse na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Gerando uma solução denominada, no caso da Pt, $(\text{Pt-Fe}_3\text{O}_4)\text{NPs}$.

4.4. CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

Para a caracterização das PtNPs e das Fe₃O₄NPs, foram feitas imagens de microscopia eletrônica de transmissão (do inglês, *transmission electronic microscopy* – TEM). Estas foram adquiridas com o auxílio do microscópio JEOL JEM-2100 operando em 100 kV. A distribuição e tamanho das NPs foi estimado usando o *software* ImageJ. A análise de TEM foi realizada no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME-UFSC).

4.5. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de chuva foram coletadas na região da Trindade / Florianópolis durante o mês de julho de 2015 e estocadas a 7 °C. Não precisou de nenhum pré-tratamento para analisar as amostras de água de chuva. As amostras de urina foram coletadas de pessoas saudáveis com idade entre 20-25 anos e depois estocadas a 7 °C. Para a análise, 10,0 mL da amostra de urina foram centrifugadas por 10,0 min a 2000 rpm. O sobrenadante foi filtrado usando um filtro com o tamanho do poro igual à 0,45 µm. Essa solução foi transferida para a célula eletroquímica sem nenhum outro tipo de pré-tratamento. Cada uma das amostras foi fortificada com uma certa concentração de nitrofenol para que, na célula eletroquímica, esta estivesse próximo ao LOQ. O método de adição de padrão foi usado para determinar os isômeros de nitrofenóis nas amostras de água da chuva e urina.

4.6. PREPARAÇÃO DO CME

Para a fabricação do CME, o GCE foi primeiramente polido com alumina (0,03 µm) e lavado com água destilada. Em seguida, gotejou-se 3,0 µL da solução modificadora contendo nanopartículas metálicas e Fe₃O₄NPs na superfície do GCE. Em seguida, o mesmo foi deixado em uma estufa com temperatura de 40 °C por 10 min a fim de evaporar todo o solvente.

4.7. CARACTERIZAÇÃO DO CME

A morfologia da superfície do GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs foi analisada através de imagens de microscopia eletrônica de varredura (do inglês, *scanning electronic microscopy* – SEM) com o auxílio do microscópio

JEOL JSM-6701F *field emission gun* (FEG). A análise de SEM foi realizada no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME-UFSC).

Para a caracterização eletroquímica dos eletrodos, testes de impedância foram realizados. As medidas foram feitas na presença de uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]/[\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}]$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os gráficos de Nyquist foram obtidos na faixa de frequência de 100.000 Hz até $0,01 \text{ Hz}$.

4.8. MÉTODO VOLTAMÉTRICO

As medidas voltamétricas foram realizadas usando uma célula eletroquímica com $10,0 \text{ mL}$ de eletrólito de suporte. Antes de cada experimento foi borbulhado nitrogênio por 10 min para a retirada do oxigênio dissolvido no eletrólito de suporte. A faixa de potencial para registrar os voltamogramas cíclicos foi de $-0,2$ a $-1,0 \text{ V}$. Os voltamogramas de pulso diferencial com seus parâmetros otimizados (depende do isômero analisado) foram registrados na mesma faixa de potencial utilizada na CV. Todos os experimentos foram realizados à temperatura ambiente ($\approx 25 \text{ }^\circ\text{C}$) sob atmosfera de nitrogênio.

4.9. MÉTODO COMPARATIVO

Para a quantificação dos isômeros de nitrofenóis usando espectroscopia UV-vis, realizou-se as leituras em um intervalo de comprimento de onda entre 300 a 600 nm . Utilizou-se soluções no intervalo de concentração de $1,0$ a $8,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ para construir as curvas de calibração. Para a determinação usou-se técnica de adição de padrão. As absorvâncias máximas registradas para o *o*-NF, *m*-NF e *p*-NF foram de 400 nm , 398 nm e 395 nm respectivamente. Estes valores de absorvância máxima são muito próximos, indicando que não é possível analisar simultaneamente os isômeros de nitrofenóis pelo método comparativo.

4.10. EQUIPAMENTOS

A água ultrapura foi preparada por um sistema Millipore (Bedford, MA, EUA), com resistividade de 18,2 M Ω cm. Para as medidas de pH foi usado um pHmetro da marca MARTE MB 10. Um agitador magnético IKA *lab disk* foi utilizado para agitar a solução na célula eletroquímica e também para a síntese das NPs. Um ultrassom UNIQUE *UltraCleaner* foi usado para ajudar no preparo de algumas soluções. A centrífuga Baby I modelo 206 BL foi empregada no preparo das amostras de urina. Para as medidas voltamétricas, foi usado o potenciostato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT 101 acoplado a um microcomputador com o *software* NOVA versão 1.10 para aquisição de dados. Para as medidas de impedância, foi usado o potenciostato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT 302N acoplado a um microcomputador com o *software* NOVA versão 1.10 para a aquisição de dados. Para as análises voltamétricas, foi utilizada uma célula eletroquímica constituída de três eletrodos: GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs como eletrodo de trabalho (área do GCE = 0,031 cm²), Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) como eletrodo de referência e um fio de platina como eletrodo auxiliar. As medidas espectroscópicas de UV-vis foram realizadas usando um espectrofotômetro *Agilent Carry 60* (Agilent Technologies, United States) e uma célula de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de se obter um CME que consiga ter uma ótima resposta para os isômeros de nitrofenóis, nanopartículas de diferentes metais foram avaliadas na presença de magnetita. Primeiramente foram sintetizadas nanopartículas de vários metais estabilizadas com o silsesquioxano para catalisar a reação de redução dos nitrofenóis. Com os metais que foram capazes de formar nanopartículas estáveis, preparou-se a solução modificadora contendo essas nanopartículas metálicas mais as nanopartículas de magnetita, originando a solução modificadora. Cada solução modificadora contendo as nanopartículas metálicas mais as nanopartículas de magnetita foi testada para a detecção do *p*-NF porque este analito possui o potencial de pico de redução (E_{pr}) mais negativo dos três isômeros, isso faz com que o *p*-NF seja mais suscetível à interferência da reação de redução do oxigênio dissolvido e também do desprendimento de hidrogênio. Comparações entre diferentes soluções modificadoras, contendo nanopartículas de magnetita mas com diferentes nanopartículas metálicas, foram realizadas para se obter a nanopartícula metálica que, juntamente com a nanopartícula de magnetita, fosse a melhor para a análise. Em seguida, com a nanopartícula metálica definida, variou-se a concentração deste e a quantidade de magnetita usada para se obter a modificação que acarreta a melhor resposta. Abaixo estão esses estudos realizados.

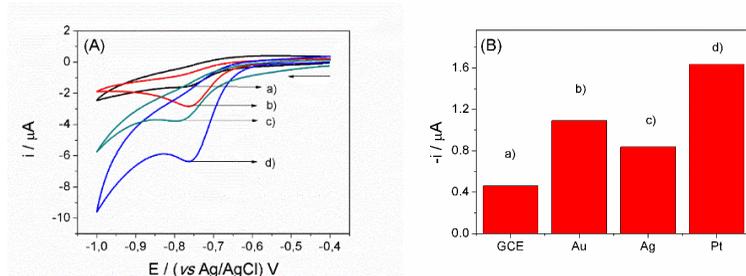
5.1. SÍNTESE DE DIFERENTES NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Os metais testados para este estudo foram: Ag, Au, Bi, Cu e Pt. A síntese das nanopartículas de todos metais é a mesma descrita na sessão 4.3., o que difere é a fonte do metal utilizada. Dos 5 metais estudados, Bi e Cu foram os metais que não formaram nanopartículas estáveis. Observou-se a mudança de cor da solução contendo esses metais (preto para o Bi e verde para o Cu), mas depois de aproximadamente 5,0 min, a cor da solução voltou para a sua cor original, evidenciando que as nanopartículas de Bi e de Cu não são estáveis. A solução de nanopartículas de Ag ficou estável por 1 mês, depois deste tempo se observou a precipitação da mesma. As soluções restantes, Au e Pt, também ficaram estáveis.

5.1.1. Preparação e comparação de diferentes soluções modificadoras

Com os três metais que formaram nanopartículas estáveis, foram preparadas as seguintes soluções modificadoras: (Au-Fe₃O₄)NPs, (Ag-Fe₃O₄)NPs, e (Pt-Fe₃O₄)NPs. A preparação dessas soluções modificadoras está descrita na sessão 4.3. A Figura 11 apresenta os voltamogramas cíclicos para o *p*-NF 50,0 μmol L⁻¹ sobre diferentes CME (GCE/(Au-Fe₃O₄)NPs, GCE/(Ag-Fe₃O₄)NPs, e GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs) e também um gráfico de barras que mostra as respostas para corrente de cada solução modificadora avaliada. No gráfico, notou-se que o *p*-NF apresentou a melhor resposta de corrente (1,62 μA) quando empregou-se o eletrodo modificado com PtNPs (Figura 11B-d). Assim a solução modificadora (Pt-Fe₃O₄)NPs foi escolhida como a melhor para este trabalho.

Figura 11 - Estudo da influência de diferentes soluções modificadoras. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para *p*-NF 50,0 μmol L⁻¹ em tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 sobre a) GCE; b) GCE/(Au-Fe₃O₄)NPs; c) GCE/(Ag-Fe₃O₄)NPs; d) GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs, (B) gráfico de barras para a) GCE; b) GCE/(Au-Fe₃O₄)NPs; c) GCE/(Ag-Fe₃O₄)NPs e d) GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs. $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$.



5.1.2. Otimização do preparo das (Pt-Fe₃O₄)NPs

Para melhorar a eficiência do detector, várias soluções modificadoras de (Pt-Fe₃O₄)NPs foram realizadas variando a concentração de Pt e de Fe₃O₄. Primeiramente variou-se a quantidade de magnetita utilizada e deixou-se a de Pt constante (20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$). As massas de magnetita usadas para este estudo foram: 1,0 mg; 2,0 mg; 4,0 mg; 10,0 mg. A Figura 12A mostra os voltamogramas obtidos para o *p*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ usando as diferentes massas de Fe₃O₄. Pela Figura 12B, observou-se que quando a concentração de Fe₃O₄ aumentou de 1,0 até 4,0 mg, o sinal do *p*-nitrofenol também aumentou. Quando se utilizou 10,0 mg de Fe₃O₄, o sinal diminuiu. Isso pode ser explicado pelo fato de que quando se usa pouca quantidade de Fe₃O₄, o aumento da área superficial não é significativo, mas à medida que essa quantidade aumenta, a área superficial também aumenta. Entretanto, quando é utilizado em muita quantidade, o Fe₃O₄ começa a bloquear o eletrodo, ou seja, o eletrodo não consegue mais captar o sinal, ou a presença, da espécie química de interesse devido a interferência espacial dessa quantidade em excesso.

Fixando-se 4,0 mg de Fe₃O₄, variou-se a concentração de Pt utilizada para a síntese da solução PtNPs-Fe₃O₄. Foram analisadas soluções contendo Pt nas seguintes concentrações: 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 30,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A Figura 13A apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para o *p*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ usando as diferentes concentrações de Pt, observou-se que a resolução do pico de redução é diferente para cada concentração de Pt utilizada. Pela Figura 13B, notou-se que a diferença do sinal entre as diferentes concentrações de Pt não é grande. Para fixar um valor de concentração de Pt, levou-se em conta a resolução do pico para que a análise simultânea dos isômeros tivesse uma maior probabilidade de ser viável. Sendo assim, o valor de 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi fixado por possuir tais pré-requisitos. Para fins de comparação, investigou-se o comportamento eletroquímico do *p*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ usando o GCE e o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs com a síntese otimizada (Figura 13C). Nesta comparação se observou que o sinal do *p*-NF aumentou em 310,9 % (de 0,46 μA para 1,89 μA) com o uso do GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs, que houve uma melhora na definição do pico de redução e que o E_{pr} deslocou-se para valores menos negativos (de -0,768 V para -0,744 V), ou seja, a reação de redução do nitrofenol foi catalisada.

Figura 12 - Estudo de diferentes quantidades de magnetita utilizada: (A) voltamogramas cíclicos para o *p*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão B-R 0,1 mol L^{-1} pH 7,0 usando diferentes quantidade de Fe_3O_4 (a) GCE, b) 1,0 mg, c) 2,0 mg, d) 4,0 mg, e) 10,0 mg), (B) gráfico de barras. $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$. $[\text{Pt}] = 20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$.

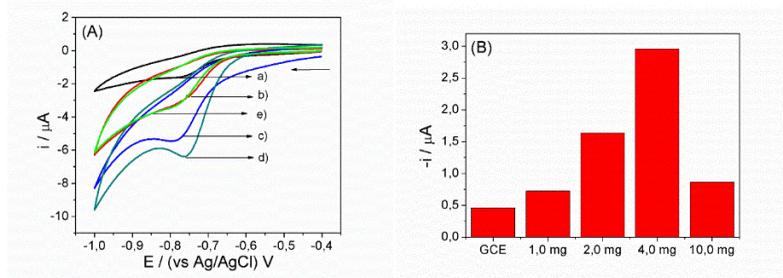
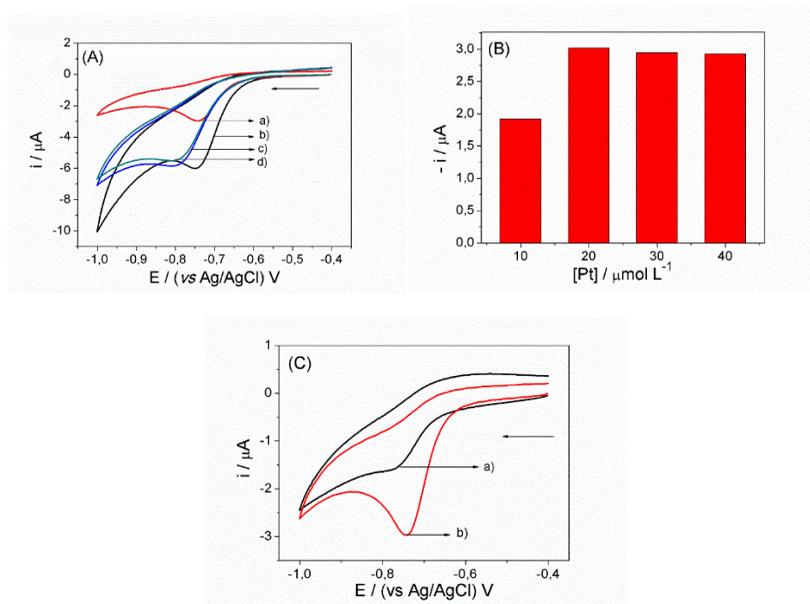


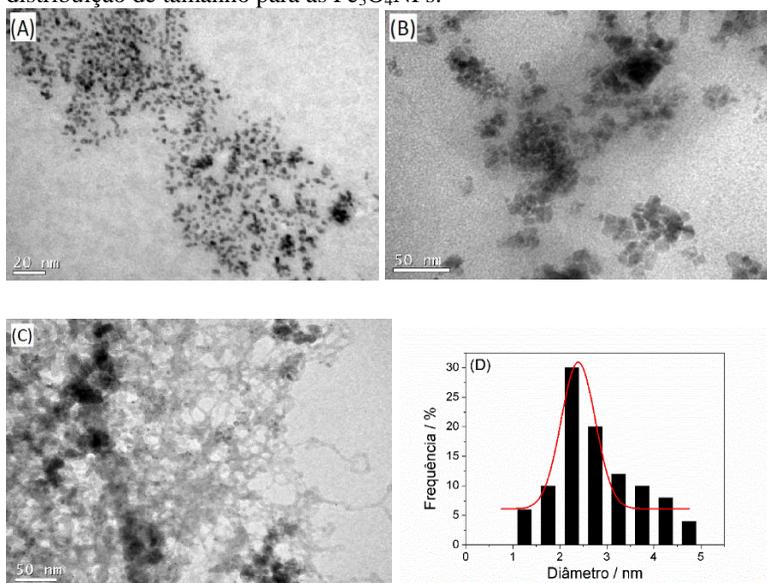
Figura 13 - Estudo do uso de diferentes concentrações de Pt utilizada: (A) voltamogramas cíclicos para o *p*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão B-R 0,1 mol L^{-1} pH 7,0 usando diferentes concentrações de Pt (a) 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, b) 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, c) 30,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, d) 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$), (B) gráfico de barras, (C) Comparação entre a) GCE e b) GCE/(Pt- Fe_3O_4)NPs. $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$. $m_{\text{magnetita}} = 4,0 \text{ mg}$.

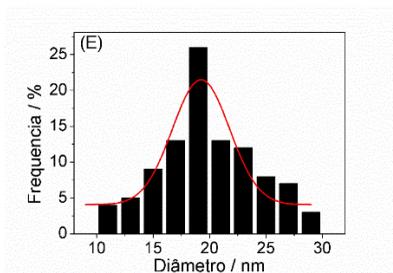


5.2. CARACTERIZAÇÃO DAS PtNPs E DAS Fe₃O₄NPs

Com a síntese da solução modificadora otimizada, realizou-se a caracterização das PtNPs e das Fe₃O₄NPs por TEM. Para o isso, foram feitas imagens das PtNPs, das Fe₃O₄NPs e os dois juntos ((Pt-Fe₃O₄)NPs). A Figura 14 mostra as imagens geradas por TEM, observa-se que na Figura 14A há várias PtNPs com formato esférico, mas pouco dispersos. A Figura 14B apresenta só as Fe₃O₄NPs, nota-se a formação de *clusters* de magnetita já que há muitas partículas de Fe₃O₄ agregadas. Na solução contendo ambas as espécies, é possível perceber os *clusters* de Fe₃O₄ juntamente com as PtNPs e que as PtNPs ficaram mais dispersas. Com o intuito de descobrir o tamanho das PtNPs e das Fe₃O₄NPs, usou-se o *software* ImageJ nas imagens de TEM de ambas as espécies. Com a ajuda deste *software*, foi possível gerar um histograma de distribuição de tamanho das PtNPs (Figura 14D) e das Fe₃O₄NPs (Figura 14E). Através destes histogramas, estimou-se um tamanho médio de 2,5 nm para as PtNPs e de 19,0 nm para as Fe₃O₄NPs.

Figura 14 - Imagens de TEM para (A) PtNPs, (B) Fe₃O₄NPs, (C) (Pt-Fe₃O₄)NPs. (D) Histograma de distribuição de tamanho para as PtNPs. (E) Histograma de distribuição de tamanho para as Fe₃O₄NPs.

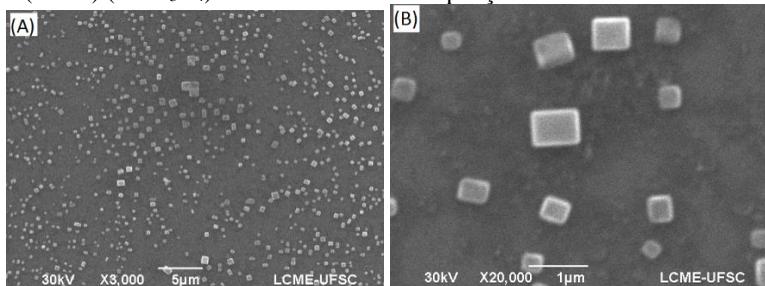


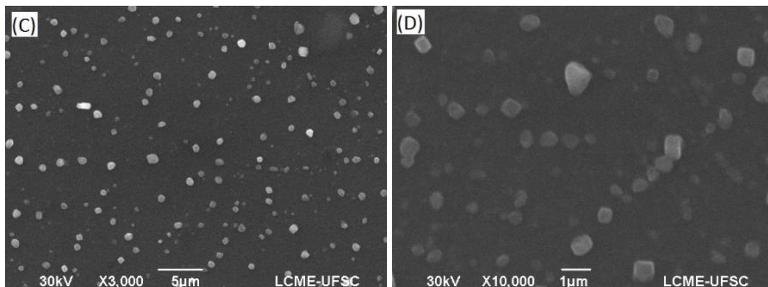


5.3. CARACTERIZAÇÃO DO CME

Depois de caracterizar as nanopartículas obtidas a partir da solução modificadora, foram empregadas as análises de SEM e de impedância para caracterizar a superfície do CME, no caso GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs. A Figura 15 apresenta as imagens feitas por SEM. Devido ao fato das PtNPs serem muito pequenas, não foi possível visualizá-las com a análise de SEM. A magnetita apresentou um formato cúbico (Figura 15A e 15B), o que era esperado devido a sua estrutura ser a espinélio cúbico de face centrada (FRIÁK *et al.*, 2007). Já as (Pt-Fe₃O₄)NPs (Figura 15C e 15D) apresentaram um formato mais esférico. Esse tipo de formato faz com que o eletrodo tenha uma maior área superficial, aumentando o sinal de corrente dos nitrofenóis.

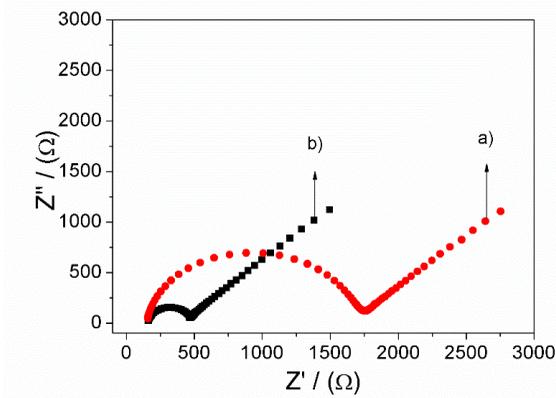
Figura 15 - Imagens de SEM para (A e B) Fe₃O₄NPs com diferentes ampliações e (C e D) (Pt-Fe₃O₄)NPs com diferentes ampliações.





Para uma caracterização eletroquímica, realizou-se experimentos de impedância eletroquímica que geraram gráficos de Nyquist do GCE e do GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs. Estes gráficos foram obtidos na faixa de frequência de 100 KHz até 10,0 mHz em uma solução de [Fe(CN)₆³⁻]/[Fe(CN)₆⁴⁻] em circuito aberto (Figura 16). Pode ser observado um semicírculo bem definido resultante das baixas frequências no GCE (curva a), isso ocorre por causa do processo de transferência de carga na interface eletrodo-solução ($R = 1593,5 \Omega$). Para o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs, o diâmetro do semicírculo diminuiu drasticamente (curva b), resultando em uma diminuição da resistência ($R = 312,4 \Omega$). Essa observação pode ser atribuída à propriedade condutora das Fe₃O₄NPs e das PtNPs que diminuem a resistência da interface eletrodo/solução e aumentam a velocidade da transferência de carga.

Figura 16 - Gráficos de Nyquist para a) GCE e para b) GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs em [Fe(CN)₆³⁻]/[Fe(CN)₆⁴⁻] 0,5 mmol L⁻¹.



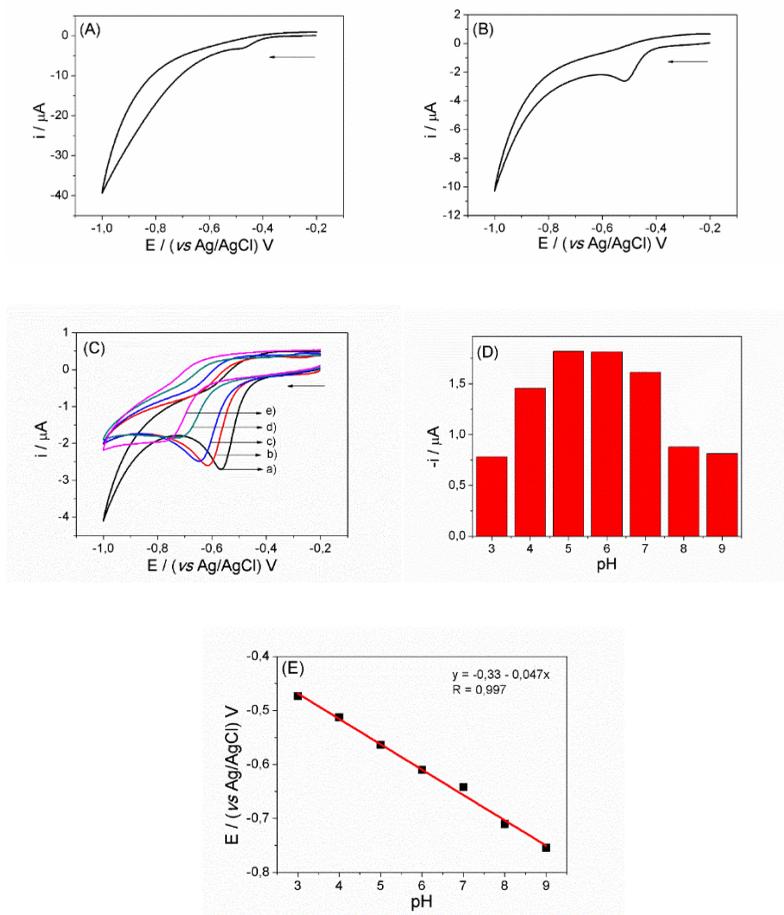
5.4. COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO *o*-NF

Anteriormente, foram feitos testes com o *p*-NF a fim de mostrar que o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs pode detectar esse isômero de nitrofenol, uma vez que este apresenta o E_{pr} mais negativo dos três isômeros. Como isso já foi provado, os estudos a seguir foram realizados com o *o*-NF para mostrar que o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs também pode detectar o isômero com o E_{pr} menos negativo (*o*-NF).

5.4.1. Estudo do eletrólito de suporte e de pH

Uma vez que a resposta dos CME depende do meio em que a espécie química de interesse está sendo analisada, realizou-se um estudo de pH na faixa de 3,0 até 9,0 utilizando tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ contendo *o*-NF 50,0 μmol L⁻¹ para avaliar o comportamento eletroquímico do mesmo (Figuras 17A, 17B e 17C). Notou-se que houve um aumento de corrente até o pH 6,0 e depois um decréscimo desta (Figura 17D), também foi observado que o potencial de pico de redução (E_{pr}) se deslocou para valores mais negativos a medida que o pH aumentou (Figura 17E), mostrando que na reação de redução do *o*-NF há prótons (H⁺) envolvidos. A equação da regressão linear foi: E_{pr} = -0,33 -0,047pH (V, R = 0,997). Pelo coeficiente angular da equação de Nernst (dE_p/dpH = 0,0592m/n, sendo m o coeficiente estequiométrico de prótons e n o de elétrons), a razão entre prótons e elétrons (H⁺/e⁻) foi calculada como sendo aproximadamente 1,0 (0,047/0,0592 = 0,80), assim a mesma quantidade de H⁺ e de e⁻ estão envolvidos na reação de redução do *o*-NF. O que está de acordo com a literatura, em que 4 H⁺ e 4 e⁻ são necessários para reduzir quaisquer dos isômeros do nitrofenol (NDLOVU *et al.*, 2010).

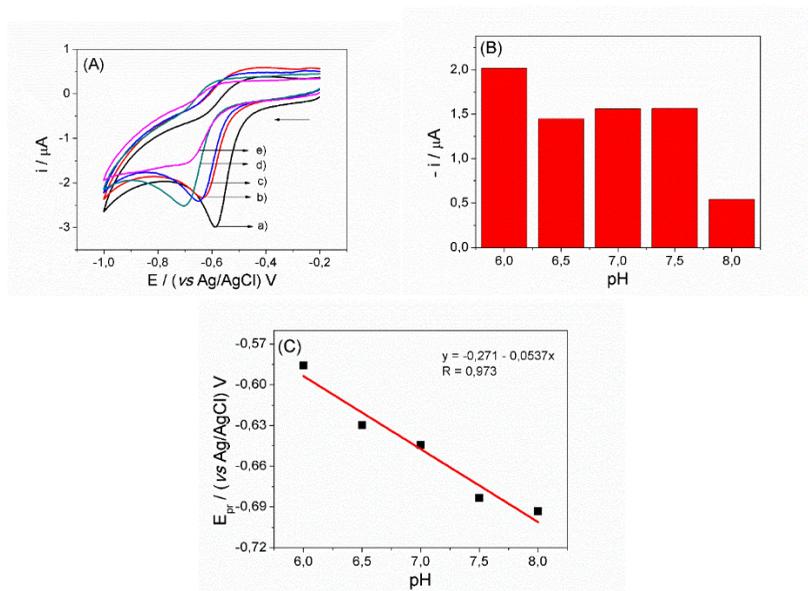
Figura 17 - Estudo do comportamento eletroquímico do *o*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs em tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ com pH (A) 3,0, (B) 4,0, (C) a) 5,0; b) 6,0; c) 7,0; d) 8,0; e) 9,0, (D) gráfico de barras i vs pH, (E) gráfico E_{pr} vs pH. $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$.



Como a melhor resposta encontrada foi em pH em torno de 6,0, outros eletrólitos de suporte que operam nesta faixa de pH foram testados. O tampão fosfato e o tampão amoniacal foram escolhidos para realizar esse estudo. A Figura 18A apresenta os voltamogramas obtidos para a *o*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ com diferentes valores

de pH. As mesmas características observadas no tampão B-R foram observadas no tampão fosfato: o E_{pr} desloca para valores mais negativos a medida que o pH aumenta, indicando que há prótons envolvidos na reação de redução. A equação da regressão linear para o tampão fosfato (Figura 18C) foi: $E_{pr} = -0,271 - 0,0537\text{pH}$ (V, $R = 0,973$). A H^+/e^- calculada teve um valor também aproximado de 1,0 (0,9). A melhor resposta de corrente foi obtida em pH 6,0 (Figura 18B).

Figura 18 - (A) Estudo do comportamento eletroquímico do *o*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ com pH a) 6,0; b) 6,5; c) 7,0; d) 7,5; e) 8,0, (B) gráfico de barras i vs pH, (C) gráfico E_{pr} vs pH. $v = 50,0$ mV s⁻¹.



Já o estudo em tampão amoniacal mostrou que este tampão não é o ideal para se realizar a análise, isto porque não se encontrou um pico de redução do *o*-NF (Figura 19). Com isso, a melhor condição encontrada foi em tampão fosfato pH 6,0 e esta condição foi fixada para os estudos posteriores. A Figura 20 compara o desempenho do GCE e do GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para o *o*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 6,0. Observa-se que o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs apresenta uma melhor resposta ($i = -2,03 \mu\text{A}$) e um melhor perfil voltamétrico para o *o*-NF do que o GCE ($i = -0,64 \mu\text{A}$), e que o E_{pr} da espécie química de interesse sobre o

GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs ($E_{pr} = -0,597$ V) possui um valor menos negativo do que para o GCE ($E_{pr} = -0,614$ V), indicando que a modificação catalisa a reação de redução do *o*-NF.

Figura 19 - Comportamento eletroquímico do *o*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs em tampão amoniacal 0,1 mol L⁻¹ em pH a) 7,5; b) 8,5, c) 9,5. $v = 50,0$ mV s⁻¹.

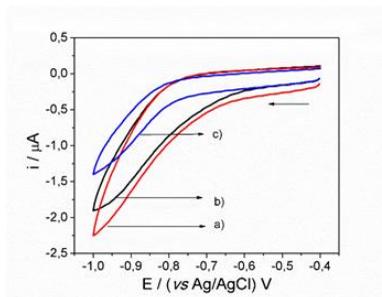
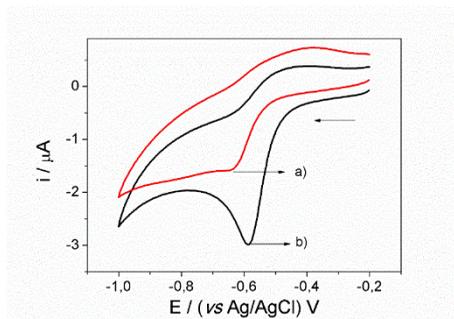


Figura 20 - Comportamento eletroquímico do *o*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 6,0 sobre a) GCE e b) GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs.



5.4.2. Estudo da variação da velocidade de varredura para o *o*-NF

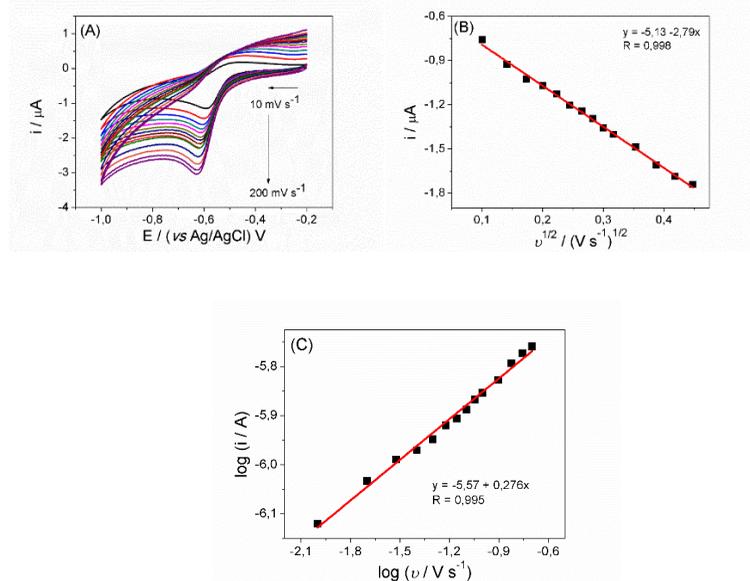
Para saber se a etapa determinante da reação é a difusão ou a adsorção, um estudo da influência da velocidade de varredura foi realizado. A Figura 21A apresenta os voltamogramas obtidos para o *o*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 6,0 variando a velocidade de varredura na faixa de 10,0 até 200,0 mV s^{-1} . Observa-se que a medida que se aumenta a velocidade, o E_{pr} desloca para valores mais negativos, o que é característico de processos irreversíveis (NICHOLSON e SHAIN, 1964; BARD e FAULKNER, 2001). Outra característica que se nota é que a corrente de pico catódico (i_{pc}) também aumenta com o aumento da velocidade, seguindo, assim, a equação de Randles-Sevcik (Equação 1).

$$i_{\text{pc}} = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde n é o número de mol de elétrons que participam da reação, A é a área do eletrodo (cm^2), C é a concentração do analito (mol cm^{-3}), D é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) e v é a velocidade de varredura (V s^{-1}). Segundo a Eq. 1, se a concentração é constante, i_{pc} torna-se diretamente proporcional a $v^{1/2}$. Se isso for observado no estudo da velocidade de varredura, pode-se afirmar que a etapa determinante da reação é a difusão (SCHOLZ, 2002; SHIH *et al.*, 2004). A Figura 21B mostra o gráfico i_{pc} vs $v^{1/2}$ e revela que o processo é controlado por difusão já que neste é notado que i_{pc} aumenta linearmente com o aumento de $v^{1/2}$.

Há outra maneira de saber se a etapa determinante da reação é a difusão ou a adsorção, e é através do gráfico $\log i$ vs $\log v$. Caso o coeficiente angular for 0,5, o processo é difusional, mas se for 1,0 o processo é adsortivo (BARD e FAULKNER, 2001; SCHOLZ, 2002, SHIH *et al.*, 2004). A Figura 21C mostra o gráfico $\log i$ vs $\log v$ com um coeficiente angular de aproximadamente 0,3. Como este valor está próximo de 0,5, isto reforça o fato de que o processo é difusional.

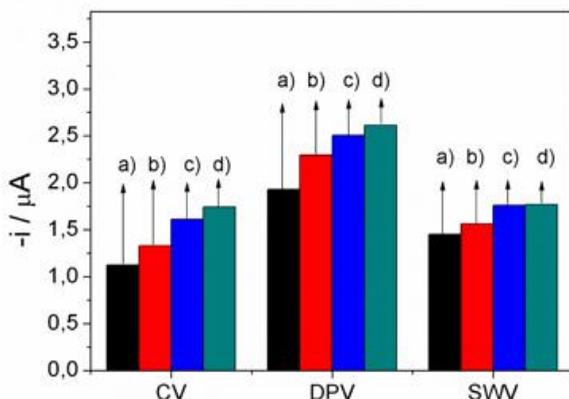
Figura 21 - Estudo da variação da velocidade de varredura com *o*-NF 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 6,0 sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs (A) voltamogramas obtidos para diferentes velocidade de varredura (10,0 – 200,0 mV s^{-1}), (B) gráfico i_{pc} vs $v^{1/2}$, (C) gráfico $\log i$ vs $\log v$.



5.4.3. Seleção da técnica eletroanalítica

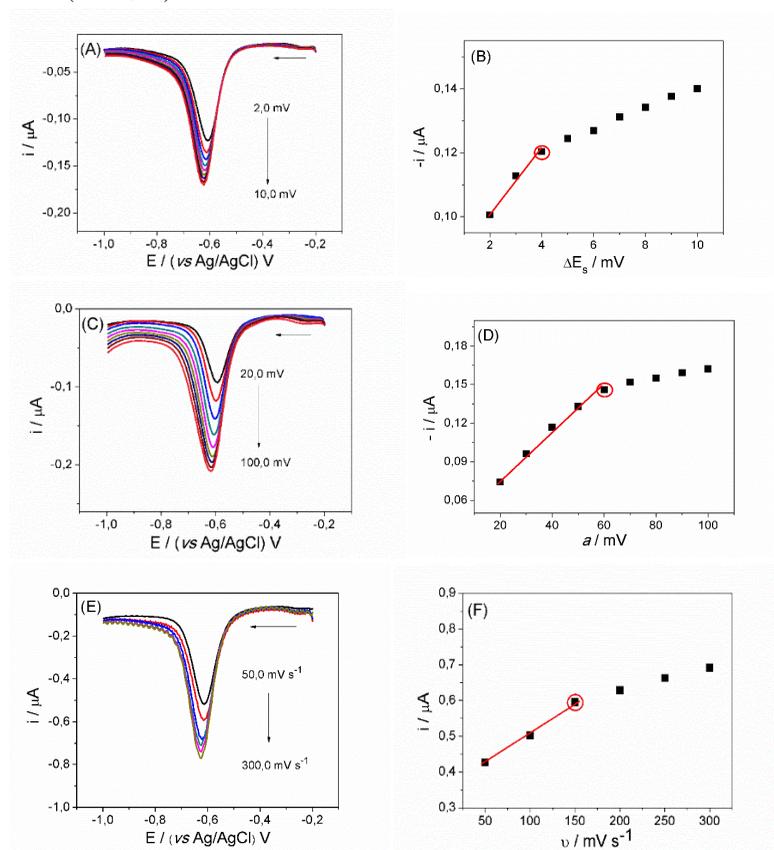
A fim de se obter uma metodologia sensível e rápida, foram testadas as seguintes técnicas eletroanalíticas em diferentes velocidades: voltametria cíclica (CV), voltametria de pulso diferencial (DPV) e a voltametria de onda quadrada (SWV). A Figura 22 mostra um gráfico de barras para as diferentes técnicas em diferentes velocidades. Nota-se que a DPV é a melhor técnica para a análise em qualquer das velocidades testadas porque tem a maior resposta de corrente. Assim foi escolhida a DPV como técnica eletroanalítica para construir a curva de calibração e fazer a determinação do *o*-NF em amostras reais.

Figura 22 - Gráfico de barras para as diferentes técnicas eletroanalíticas em diferentes velocidades (a) 50,0; b) 100,0; c) 150,0; d) 200,0 mV s^{-1} usando *o*-NF $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0 sobre o GCE/(Pt- Fe_3O_4)NPs.



Com a técnica escolhida, otimizou-se seus parâmetros para conseguir uma melhor resposta de corrente e um bom perfil voltamétrico. Os parâmetros otimizados foram: incremento de potencial (ΔE_s), amplitude de pulso (a) e velocidade de varredura (v). O ΔE_s foi variado na faixa entre 2,0 – 10,0 mV. Observou-se que a partir de 4,0 mV a corrente não aumentou significativamente a medida que se aumentava o ΔE_s . A a foi variada na faixa entre 20,0 – 100,0 mV, percebeu-se que para valores de a maiores que 60,0 mV, o aumento de corrente não foi significativo. Já a v foi variada na faixa entre 50,0 – 300,0 mV s^{-1} , sendo que valores maiores que 150,0 mV s^{-1} a resposta de corrente permaneceu quase constante. Como mostra a Figura 23, as melhores condições encontradas foram: $\Delta E_s = 4,0 \text{ mV}$, $a = 60,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$. Pode-se observar que a medida em que qualquer um dos parâmetros é aumentado, o E_{pr} desloca para valores mais negativos. Evidenciando, assim, um processo irreversível (AOKI e OSTERYOUNG, 1980).

Figura 23 - Otimização dos parâmetros da DPV: (A) voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo do ΔE_s , (B) gráfico i vs ΔE_s , (C) voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo da a , (D) gráfico i vs a , (E) voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo da v , (F) gráfico i vs v . Tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 6,0 *o*-NF 0,5 μ mol L⁻¹ sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs.



5.4.4. Curva de calibração para o *o*-NF

Para poder fazer a determinação do *o*-NF, primeiramente se construiu uma curva de calibração a fim de saber mais sobre a sensibilidade do CME, obter o limite de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*), o limite de quantificação (LOQ, do inglês *limit of quantification*) e a faixa de concentração onde não há perda da linearidade entre corrente e concentração. Usando a DPV com seus parâmetros otimizados, construiu-se a curva de calibração para o *o*-NF sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs dentro da faixa de 0,1 – 1,5 μmol L⁻¹, sendo que esta curva foi repetida 8 vezes (n = 8). A Figura 24A apresenta os voltamogramas obtidos, evidenciando que a corrente aumenta linearmente com a concentração (Figura 24B). A curva de calibração média construída (n = 8) apresenta a seguinte equação linear: $i_{pc} (A) = 4,17 \times 10^{-9} + 0,172[o\text{-NF}]/\text{mol L}^{-1}$ (R = 0,999).

O LOD, que é a menor concentração do analito que pode ser detectada, foi calculada usando a Eq. 2 (RIBANI *et al.*, 2004). Onde “σ” representa o valor do desvio padrão relativo do coeficiente linear e “s” representa o valor do coeficiente angular da curva de calibração. Calculou-se um LOD de 33,7 nmol L⁻¹. O LOQ, que é a menor concentração que pode ser quantificada em um procedimento experimental, foi calculada aplicando a Eq. 3 (RIBANI *et al.*, 2004). Encontrou-se um valor de LOQ igual a 102,2 nmol L⁻¹, bem próximo do primeiro ponto da curva de calibração. A repetibilidade da corrente proveniente do método usando o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs foi testada de duas formas: intra-dia, usando 8 soluções diferentes preparadas no mesmo dia com concentração 0,6 μmol L⁻¹, e inter-dia, onde durante 8 dias usando diferentes soluções de *o*-NF preparadas cada dia foram testadas na mesma concentração de 0,6 μmol L⁻¹. Os desvios padrões relativos (n=8) foram de 4,28% e 4,57% respectivamente. A Tabela 1 resume os resultados obtidos a partir da curva de calibração.

$$\text{LOD} = 3,3 (\sigma/s)$$

$$\text{Eq. (2)}$$

$$\text{LOQ} = 10 (\sigma/s)$$

$$\text{Eq. (3)}$$

Figura 24 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 6,0 sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para diferentes concentrações de *o*-NF (a) 0,1; b) 0,3; c) 0,5; d) 0,7; e) 0,9; f) 1,1; g) 1,3; h) 1,5 μmol L⁻¹), (B) curva de calibração média (n = 8) para o *o*-NF. ΔE_s = 4,0 mV, a = 60,0 mV e v = 150,0 mV s⁻¹.

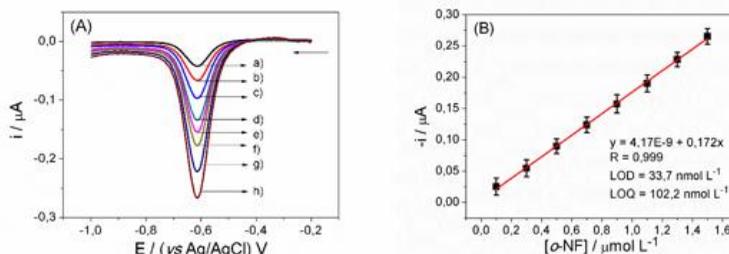


Tabela 1 - Dados obtidos a partir da curva de calibração para o *o*-NF.

Parâmetro	Valor
Potencial de Pico (V)	-0,612
Faixa linear (μmol L ⁻¹)	0,1 – 1,5
Coefficiente linear (A)	4,17 x 10 ⁻⁹
Desvio do coeficiente linear (A)	1,76 x 10 ⁻⁹
Coefficiente de Correlação (R)	0,999
Coefficiente Angular (A L mol ⁻¹)	0,172
Desvio do coeficiente angular (A L mol ⁻¹)	0,002
LOD (nmol L ⁻¹)	33,7
LOQ (nmol L ⁻¹)	102,2
Repetibilidade de i _{pc} (intra-dia)/% ^a	4,28
Repetibilidade de i _{pc} (inter-dia)/% ^a	4,57

^a n = 8

5.4.5. Determinação em amostras ambientais e biológicas

As amostras escolhidas para se fazer a determinação foram: água da chuva e urina. A água da chuva foi escolhida porque os nitrofenóis fazem parte dos compostos orgânicos mais abundantes em águas da chuva caso haja poluições oriundas de indústrias na atmosfera (SCHÜSSLER e NISCHKE, 2001). No caso da urina, é pelo fato de que os nitrofenóis podem ser excretados pela urina como um dos metabólitos de alguns compostos como a fenitrotiona (OKAMURA *et al.*, 2012) e o paration (ROCA *et al.*, 2014), e isso só pode ocorrer caso um desses compostos entre no organismo. Cada amostra foi fortificada com uma certa

concentração para que, na célula eletroquímica, esta estivesse próxima do LOQ.

A amostra da água da chuva inicialmente foi fortificada para ter *o*-NF 1,10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e, então, 100,0 μL desta foram adicionadas na célula eletroquímica contendo 10,0 mL de eletrólito de suporte, fazendo com que haja uma diluição de cem vezes. Para construir uma curva de adição de padrão, primeiramente foi feito o branco do eletrólito de suporte, em seguida a adição da amostra, e finalmente adições sucessivas de 50,0 μL de padrão de *o*-NF 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Esta curva foi repetida 8 vezes ($n = 8$) A Figura 25 mostra os resultados obtidos para a análise da água da chuva usando o método da adição de padrão. O gráfico da Figura 25B apresentou a seguinte equação linear: $i_{pc} \text{ (A)} = 2,15 \times 10^{-8} + 0,177[\textit{o}\text{-NF}]/\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0,998$). Comparando o coeficiente angular desta reta (0,177 A L mol^{-1}) com o da curva de calibração (0,172 A L mol^{-1}), observa-se que são bem próximos, indicando que não há interferência de matriz.

Para a amostra de urina, o mesmo procedimento foi adotado, mas deixou-se a concentração de *o*-NF na amostra original em 1,30 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A Figura 26A mostra os voltamogramas de pulso diferencial e a Figura 26B a curva média ($n = 8$) de adição de padrão obtida. A equação linear resultante da reta foi: $i_{pc} \text{ (A)} = 2,32 \times 10^{-8} + 0,188[\textit{o}\text{-NF}]/\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0,998$). Os coeficientes angulares, tanto desta reta (0,188 A L mol^{-1}) quanto a da curva de calibração (0,172 A L mol^{-1}), também são parecidos indicando que os componentes da urina não interferem na análise.

Figura 25 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} pH 6,0 sobre o GCE/(Pt- Fe_3O_4)NPs para a) branco, b) amostra da água da chuva, (c-f) adições sucessivas de 50, 0 μL de padrão de *o*-NF 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição de padrão média ($n = 8$). $\Delta E_s = 4,0 \text{ mV}$, $a = 60,0 \text{ mV s}^{-1}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$.

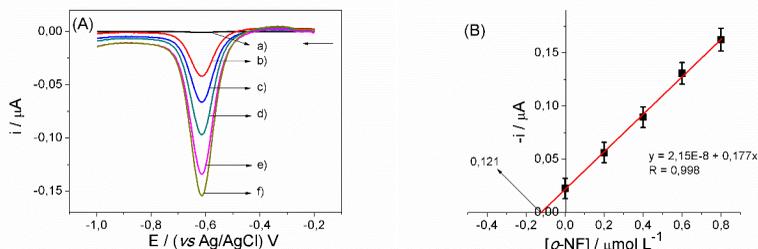
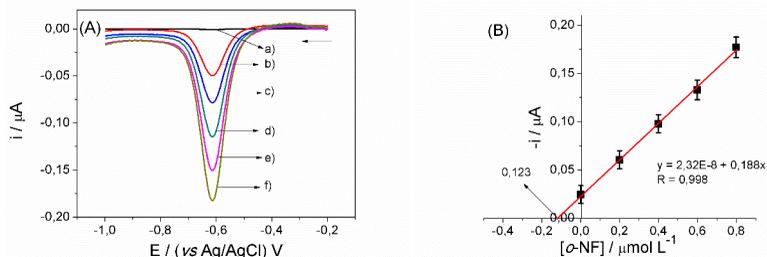


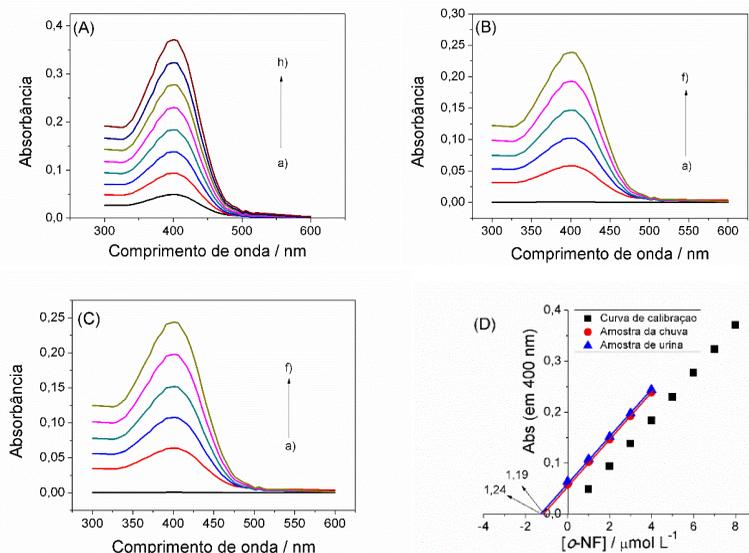
Figura 26 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0 sobre o GCE/(Pt- Fe_3O_4)NPs para a) branco, b) amostra de urina, (c-f) adições sucessivas de $50,0 \mu\text{L}$ de padrão de *o*-NF $40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição de padrão média ($n = 8$). $\Delta E_s = 4,0 \text{ mV}$, $a = 60,0 \text{ mV}$ e $\nu = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$.



5.4.6. Método comparativo

Escolheu-se a técnica UV-vis como método comparativo para avaliar a exatidão do método proposto. Primeiramente construiu-se a curva de calibração do *o*-NF. Os espectros de absorvância estão apresentados na Figura 27A. O *o*-NF apresentou uma banda com absorção máxima em 400 nm e este sinal foi usado para a quantificá-lo. Em seguida, utilizou-se o método de adição de padrão para determinar a concentração nas amostras e seus espectros de absorvância são mostrados na Figura 27B e 27C. As curvas de calibração médias ($n = 8$) e de adição de padrão médias ($n = 8$) estão apresentadas na Figura 27D. Pode-se observar que não há efeito de interferentes de matriz, já que a curva de calibração média e a curva de adição de padrão média apresentam quase a mesma inclinação. Portanto, pode-se realizar a determinação diretamente pela curva de calibração.

Figura 27 - (A) Espectros de absorção no UV-vis para a) 1,0; b) 2,0; c) 3,0; d) 4,0; e) 5,0; f) 6,0; g) 7,0 e h) 8,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, (B) Espectros de absorção no UV-vis para a) branco; b) amostra de chuva; c-f) adições sucessivas de *o*-NF 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, (C) Espectros de absorção no UV-vis para a) branco; b) amostra de urina; c-f) adições sucessivas de *o*-NF 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, (D) Comparação entre a curva de calibração média ($n = 8$) e as curvas de adição de padrão médias ($n = 8$).



A Tabela 2 compara os resultados obtidos usando o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs e o UV-vis. A concentração encontrada usando GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs ficou bem próxima à da encontrada com o UV-vis. Para avaliar a exatidão utilizou-se o teste t. Para comparar a precisão empregou-se o teste F, que compara a variância dos dois métodos. O tratamento estatístico aplicado aos resultados obtidos demonstram a confiabilidade dos dados fornecidos por ambas as técnicas, ou seja, não houve diferença quanto à exatidão e à precisão de ambos os métodos já que o $t_{\text{calculado}}$ é menor que o $t_{\text{crítico}}$ e o $F_{\text{calculado}}$ também é menor que o $F_{\text{crítico}}$. Assim pode-se concluir que o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs é um bom sensor para a detecção de *o*-NF em amostras de água de chuva e de urina.

Tabela 2 - Valores estatísticos na determinação de *o*-NF em amostras da água da chuva e de urina.

Amostra	Água da chuva		Urina	
	UV-vis	GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs	UV-vis	GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs
Valor verdadeiro ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	1,10	1,10	1,30	1,30
Valor encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$) ^a	1,19	1,21	1,24	1,23
RSD/%	3,07	3,30	2,74	2,93
E_{r1}/% ^b	8,18	10,0	-4,62	-5,38
E_{r2}/% ^c	-	1,68	-	-3,15
t_{calculado} ^d	0,20	0,24	0,12	0,15
F_{calculado} ^e	-	1,10	-	0,78

^a n = 8^b E_{r1} = erro relativo entre UV-vis ou GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs e o valor verdadeiro^c E_{r2} = erro relativo entre GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs e UV-vis^d t_{crítico} = 2,36^e F_{crítico} = 3,44

5.5. ANÁLISE DO *m*-NF E DO *p*-NF

Os mesmos estudos realizados para o *o*-NF também foram realizados para os isômeros *m*-NF e *p*-NF. A Tabela 3 resume todos os resultados obtidos para o estudo de eletrólito de suporte, pH, velocidade de varredura e otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial. Pode-se observar que o melhor eletrólito para a análise dos isômeros de nitrofenol é o tampão fosfato em pH quase neutro, a reação de redução para os isômeros tem a participação de 4 H⁺ e 4 e⁻ (H⁺/e⁻ = 1), o processo é difusional para os três isômeros e que a melhor técnica eletroanalítica é a voltametria de pulso diferencial.

Tabela 3 - Resumo dos resultados obtidos pelos estudos de eletrólito de suporte, pH, velocidade de varredura e pela otimização dos parâmetros do pulso diferencial usando $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ do isômero sobre o GCE/(Pt- Fe_3O_4)NPs.

Isômero	<i>m</i> -NF	<i>p</i> -NF
Melhor tampão	Fosfato	Fosfato
Melhor pH	6,5	7,0
H^+/e^-	1	1
Processo	Difusional	Difusional
ΔE_s (mV)	5,0	6,0
<i>a</i> (mV)	50,0	40,0
<i>v</i> (mV s^{-1})	150,0	150,0

Com os parâmetros do pulso diferencial otimizados, construiu-se a curva de calibração tanto para o *m*-NF quanto para o *p*-NF. A Figura 28A apresenta os voltamogramas de pulso diferencial para o *m*-NF e a Figura 28B a sua respectiva curva de calibração. A curva de calibração média ($n = 8$) construída apresenta a seguinte equação linear: $i_{\text{pc}} (\text{A}) = 9,65 \times 10^{-9} + 0,173[m\text{-NF}]/\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0,999$). Foi encontrado um valor de LOD de $45,3 \text{ nmol L}^{-1}$ e de LOQ de $137,5 \text{ nmol L}^{-1}$. Os testes de repetibilidade usados para o *o*-NF também foram aplicados ao *m*-NF, os desvios padrões relativos para a repetibilidade intra-dia e inter-dia foram de 4,11% e 4,60% respectivamente. A Tabela 4 mostra os resultados obtidos a partir da curva de calibração.

Figura 28 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,5 sobre o GCE/(Pt- Fe_3O_4)NPs para diferentes concentrações de *m*-NF (a) 0,1; b) 0,3; c) 0,5; d) 0,7; e) 0,9; f) 1,1; g) 1,3; h) $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$), (B) curva de calibração média ($n = 8$) para o *m*-NF. $\Delta E_s = 5,0 \text{ mV}$, $a = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$.

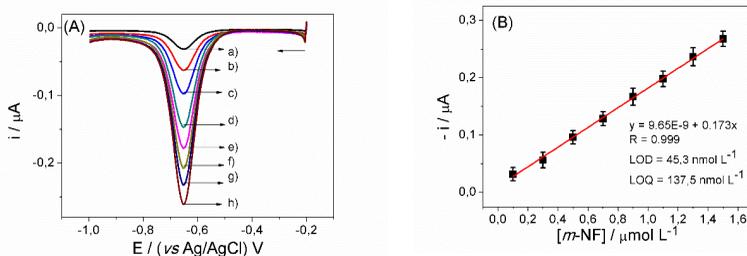


Tabela 4 - Dados obtidos a partir da curva de calibração para o *m*-NF.

Parâmetro	Valor
Potencial de Pico (V)	-0,653
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,1 – 1,5
Coefficiente linear (A)	$9,65 \times 10^{-9}$
Desvio do coeficiente linear (A)	$2,37 \times 10^{-9}$
Coefficiente de Correlação (R)	0,999
Coefficiente Angular (A L mol^{-1})	0,173
Desvio do coeficiente angular (A L mol^{-1})	0,002
LOD (nmol L^{-1})	45,3
LOQ (nmol L^{-1})	137,5
Repetibilidade de i_{pc} (intra-dia)/% ^a	4,11
Repetibilidade de i_{pc} (inter-dia)/% ^a	4,60

^a n = 8

O mesmo foi feito para o *p*-NF. A Figura 29A mostra os voltamogramas de pulso diferencial para o *p*-NF em diferentes concentrações, e a Figura 29B apresenta a curva de calibração média (n = 8) construída que apresentou a seguinte equação linear: $i_{pc} \text{ (A)} = 5,07 \times 10^{-9} + 0,169[p\text{-NF}] / \text{mol L}^{-1}$ (R = 0,999). Os valores encontrados para LOD e LOQ foram $48,2 \text{ nmol L}^{-1}$ e $146,1 \text{ nmol L}^{-1}$ respectivamente. Os desvios padrões relativos para a repetibilidade intra-dia e inter-dia foram 4,85 % e 5,02% respectivamente. A Tabela 5 resume os resultados obtidos a partir da curva de calibração para o *p*-NF.

Figura 29 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para diferentes concentrações de *p*-NF (a) 0,1; b) 0,3; c) 0,5; d) 0,7; e) 0,9; f) 1,1; g) 1,3; h) 1,5 μmol L⁻¹, (B) curva de calibração média (n = 8) para o *p*-NF. ΔE_s = 6,0 mV, a = 40,0 mV e v = 150,0 mV s⁻¹.

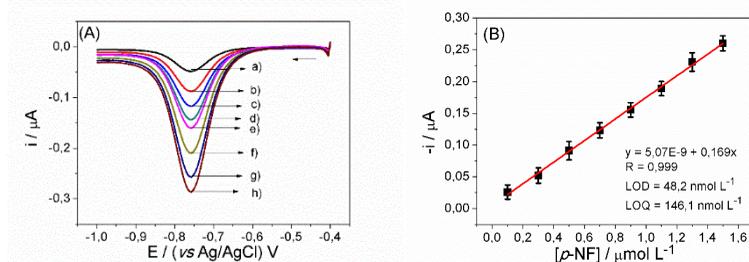


Tabela 5 - Dados obtidos a partir da curva de calibração para o *p*-NF.

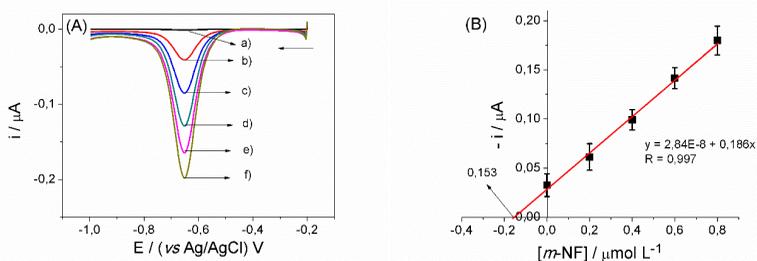
Parâmetro	Valor
Potencial de Pico (V)	-0,757
Faixa linear (μmol L ⁻¹)	0,1 – 1,5
Coefficiente linear (A)	5,07 x 10 ⁻⁹
Desvio do coeficiente linear (A)	2,48 x 10 ⁻⁹
Coefficiente de Correlação (R)	0,999
Coefficiente Angular (A L mol ⁻¹)	0,169
Desvio do coeficiente angular (A L mol ⁻¹)	0,003
LOD (nmol L ⁻¹)	48,2
LOQ (nmol L ⁻¹)	146,1
Repetibilidade de i _{pc} (intra-dia)/% ^a	4,85
Repetibilidade de i _{pc} (inter-dia)/% ^a	5,02

^a n = 8

Para finalizar as análises individuais do *m*-NF e do *p*-NF, foram feitas determinações dos mesmos em amostras de água de chuva e urina. Mas, com o intuito de resumir os resultados, serão apresentados os dados para a determinação do *m*-NF em água da chuva e para a determinação do *p*-NF em urina. Essas amostras foram fortificadas com padrão do respectivo isômero para que, na célula eletroquímica, estivessem em uma concentração perto do LOQ. A Figura 30 mostra os resultados para a análise da água da chuva para o *m*-NF, sendo que esta curva foi repetida 8 vezes (n = 8). A amostra original foi contaminada com *m*-NF 1,4 μmol L⁻¹. A equação linear obtida da reta foi: i_{pc} (A) = 2,84 x 10⁻⁸ + 0,186[m-

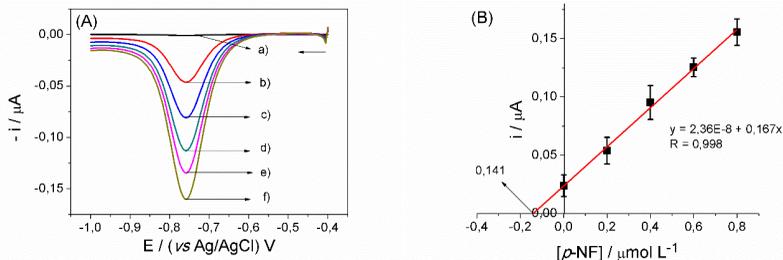
NF]/ mol L⁻¹ (R = 0,997). Comparando os coeficientes angulares da curva de calibração (0,173 A L mol⁻¹) e da curva de adição de padrão (0,186 A L mol⁻¹), pode-se afirmar que estão bem próximos, mostrando que não há interferência de matriz.

Figura 30 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 6,5 sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para a) branco, b) amostra da água da chuva, (c-f) adições sucessivas de 50,0 μL de padrão de *m*-NF 40,0 μmol L⁻¹. (B) Curva de adição de padrão média (n = 8). ΔE_s = 5,0 mV, *a* = 50,0 mV e *v* = 150,0 mV s⁻¹.



O *p*-NF foi determinado em amostra de urina contaminada com 1,50 μmol L⁻¹. A Figura 31 mostra os resultados obtidos para esta análise (n = 8). A equação linear obtida da reta foi: i_{pc} (A) = $2,36 \times 10^{-8} + 0,167[m\text{-NF}]/\text{mol L}^{-1}$ (R = 0,998). Ambos os coeficientes angulares, tanto o da curva de calibração quanto o da curva de adição de padrão, possuem um valor parecido, mostrando que os componentes da urina não interferem nessa análise.

Figura 31 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0 sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para a) branco, b) amostra de urina, (c-f) adições sucessivas de $50,0 \mu\text{L}$ de padrão de *p*-NF $40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição de padrão média ($n = 8$). $\Delta E_s = 6,0 \text{ mV}$, $a = 40,0 \text{ mV}$ e $\nu = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$.



Com o método comparativo, realizou-se o teste t e o teste F. Para avaliar a exatidão utilizou-se o teste t e para comparar a precisão empregou-se o teste F. Como o $t_{\text{calculado}}$ e o $F_{\text{calculado}}$ são menores que o $t_{\text{crítico}}$ e $F_{\text{crítico}}$, então não houve diferença quanto à exatidão e a precisão de ambos os métodos. A Tabela 6 compara os resultados apresentados pelo GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs e pelo UV-vis. Mostrando, assim, que o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs pode determinar qualquer um dos três isômeros individualmente em amostras de água da chuva e de urina.

Tabela 6 - Valores estatísticos na determinação de *m*-NF em amostras da água da chuva e de *p*-NF em urina.

Amostra	Água da chuva (<i>m</i>-NF)		Urina (<i>p</i>-NF)	
Técnica	UV-vis	GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs	UV-vis	GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs
Valor verdadeiro (µmol L⁻¹)	1,40	1,40	1,50	1,50
Valor encontrado (µmol L⁻¹)^a	1,49	1,53	1,43	1,41
RSD/%	2,25	2,26	1,74	1,58
E_{r1}/% ^b	6,43	9,28	-4,67	-6,00
E_{r2}/% ^c	-	2,68	-	-1,40
t_{calculado} ^d	0,17	0,22	0,12	0,16
F_{calculado} ^e	-	3,34	-	3,35

^a n = 8^b E_{r1} = erro relativo entre UV-vis ou GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs e o valor verdadeiro^c E_{r2} = erro relativo entre GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs e UV-vis^d t_{crítico} = 2,36^e F_{crítico} = 3,44

A seguir estão listados na tabela 7 alguns trabalhos que determinam os isômeros de nitrofenóis individualmente. Pode-se perceber que os limites de detecção apresentados pelo GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs são bem aceitáveis. Dos trabalhos comparados, apenas o de LI e colaboradores possui um LOD menor do que o obtido com o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs. A maioria dos trabalhos analisados também conseguiram um LOD na faixa de nmol L⁻¹ usando a DPV como técnica eletroanalítica. Somente o trabalho de KAFI e CHEN usou uma técnica não pulsada, a amperometria. Mas mesmo assim conseguiram um ótimo limite de detecção para o *m*-NF (90,0 nmol L⁻¹). Outra diferença é notada entre o presente trabalho e os trabalhos comparados: o presente trabalho determina 3 isômeros de nitrofenóis individualmente, enquanto que os trabalhos comparados apenas 1 isômero de nitrofenol.

Tabela 7 - Comparação do desempenho do GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs com os eletrodos de outros trabalhos da literatura para a determinação individual de nitrofenóis.

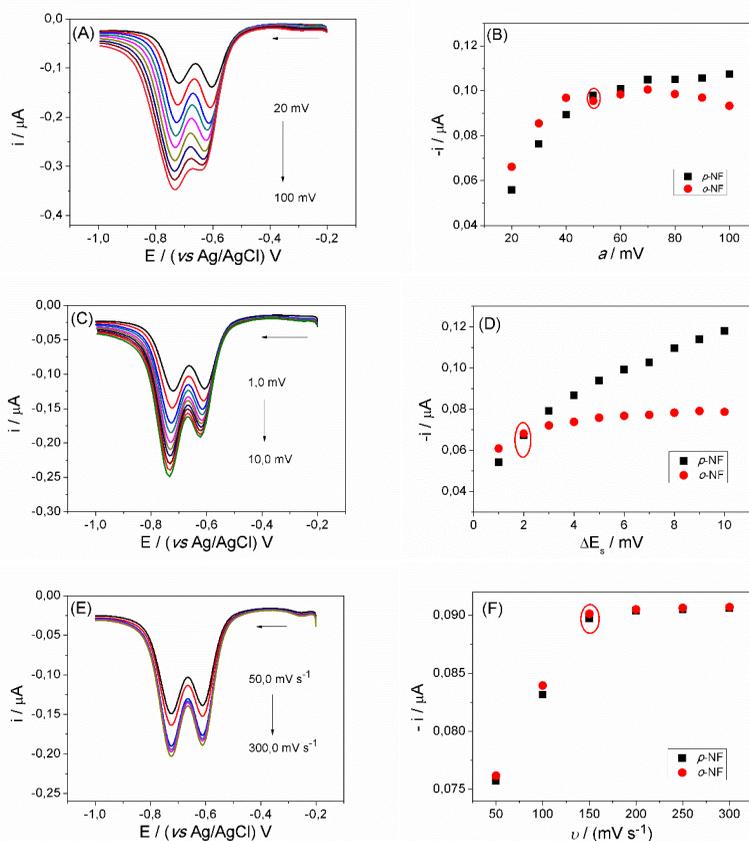
ELETRODO	MÉTODO DE DETECÇÃO	ISÔMEROS	LOD (nmol L ⁻¹)	REFERÊNCIA
GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPs	DPV	<i>o</i> -NF, <i>m</i> -NF e <i>p</i> -NF	33,7; 45,3 e 48,2	Este trabalho
CS/PTMS/Au NPs/GCE	DPV	<i>p</i> -NF	5,0	(LI <i>et al.</i> , 2013)
BEN/CPE	DPV	<i>o</i> -NF	144,0	(RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 1997)
Au/TiO ₂ NT/Ti	Amperometria	<i>m</i> -NF	90,0	(KAFI e CHEN, 2009)
GCE/UNFE	SWV	<i>p</i> -NF	230,0	(WANG <i>et al.</i> , 2015)
PCZ/N-GE/GCE	DPV	<i>p</i> -NF	62,0	(ZHANG <i>et al.</i> , 2014)
TMA-B	DPV	<i>p</i> -NF	1000,0	(RABI-STANKOVIC <i>et al.</i> , 2013)

5.6. DETERMINAÇÃO INDIVIDUAL DE NITROFENOL NA PRESENÇA DE OUTRO ISÔMERO

A análise individual de um nitrofenol na presença de outro isômero foi realizada somente com os isômeros orto e para porque o isômero meta possui um E_{pr} bem próximo dos outros dois isômeros, gerando apenas um pico de redução, o que interfere para determiná-los. Então, otimizou-se os parâmetros da DPV usando tampão fosfato pH 6,5 com concentração dos isômeros orto e para igual a 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A Figura 32A representa os voltamogramas de pulso diferencial para o estudo da amplitude. Percebe-se que a medida em que a amplitude aumenta, o perfil voltamétrico começa a piorar. O gráfico $-i$ vs a (Figura 32B) mostra que a resposta de corrente do *p*-NF aumenta com o aumento de a , mas já o *o*-NF não aumenta a resposta de corrente depois de 40,0 mV. Escolheu-se $a = 50,0$ mV porque neste valor ambos possuem quase o mesmo valor de corrente e porque tem um bom perfil voltamétrico. O estudo do ΔE_s mostrou que o *p*-NF tem seu sinal aumentado quando se aumenta o ΔE_s , mas o *o*-NF permanece quase constante quando se aumenta o ΔE_s (Figura 32C e 32D). Então foi escolhido $\Delta E_s = 2,0$ mV por este ter um bom perfil voltamétrico

e por ambos os isômeros terem a mesma intensidade de corrente. O último parâmetro otimizado foi a ν , o resultado foi o mesmo que os outros estudos envolvendo ν , ou seja, $\nu = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$ foi escolhida por ter a maior resposta de corrente.

Figura 32 - Otimização dos parâmetros da DPV: (A) voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo da a , (B) gráfico i vs a , (C) voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo do ΔE_s , (D) gráfico i vs ΔE_s , (E) voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o estudo da ν , (F) gráfico i vs ν . Tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,5 *o*-NF e *p*-NF $50,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs.



Com os parâmetros da DPV otimizados, construiu-se a curva de calibração para a determinação individual de um nitrofenol na presença de outro isômero, onde a concentração de um dos isômeros é mantida fixa e a do outro que é variada. A Figura 33A mostra os voltamogramas de pulso diferencial para o *p*-NF sendo que a concentração de *o*-NF está fixada em $0,6 \mu\text{mol L}^{-1}$. Observa-se que o sinal do *o*-NF ($-0,593 \text{ V}$) permanece constante a medida que o sinal do *p*-NF ($-0,731 \text{ V}$) aumenta linearmente com o aumento da sua concentração. A Figura 33B mostra a curva de calibração média ($n = 8$) para esta análise com a seguinte equação linear: $i_{\text{pc}} (\text{A}) = 3,78 \times 10^{-8} + 0,0918[\textit{p}\text{-NF}]/\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0,999$). O LOD e o LOQ calculados foram $52,9 \text{ nmol L}^{-1}$ e $160,4 \text{ nmol L}^{-1}$ respectivamente, valores um pouco maiores do que a aqueles encontrados para a análise individual do *p*-NF. A repetibilidade intra-dia e inter-dia resultaram em 4,53% e 4,98% respectivamente. A separação entre os picos foi de $0,138 \text{ V}$, que é suficiente para determinar um isômero na presença do outro. Na Tabela 8 estão resumidos os dados para a determinação do *p*-NF na presença do *o*-NF.

Figura 33 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o *p*-NF (0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1,1; 1,3; $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) na presença de *o*-NF ($0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$) sobre o GCE/(Pt- Fe_3O_4)NPs em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,5, (B) curva de calibração média ($n = 8$). $\Delta E_s = 2,0 \text{ mV}$, $a = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$.

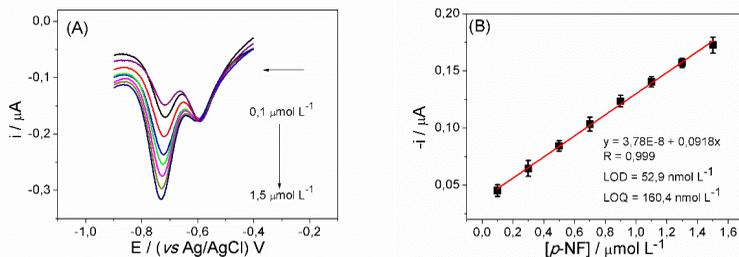


Tabela 8 - Dados obtidos a partir da curva de calibração para o *p*-NF na presença do *o*-NF.

Parâmetro	Valor
Potencial de Pico (V)	-0,731
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,1 – 1,5
Coefficiente linear (A)	$3,78 \times 10^{-8}$
Desvio do coeficiente linear (A)	$1,47 \times 10^{-9}$
Coefficiente de Correlação (R)	0,999
Coefficiente Angular (A L mol ⁻¹)	0,0918
Desvio do coeficiente angular (A L mol ⁻¹)	0,002
LOD (nmol L ⁻¹)	52,9
LOQ (nmol L ⁻¹)	160,4
Repetibilidade de i_{pc} (intra-dia)/% ^a	4,53
Repetibilidade de i_{pc} (inter-dia)/% ^a	4,98

^a n = 8

Agora a concentração de *p*-NF foi fixada em $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ e variou-se a concentração de *o*-NF na faixa de 0,1 até $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$. A Figura 34A mostra os voltamogramas de pulso diferencial para esta análise. Percebe-se que o sinal do *p*-NF fica constante e que a do *o*-NF aumenta linearmente com o aumento da concentração deste. A Figura 34B representa a curva de calibração média (n = 8) com a seguinte equação linear: $i_{pc} \text{ (A)} = 4,15 \times 10^{-8} + 0,0898[o\text{-NF}]/\text{mol L}^{-1}$ (R = 0,998). LOD = $55,1 \text{ nmol L}^{-1}$ e LOQ = $167,0 \text{ nmol L}^{-1}$ foram calculados. Também valores acima daqueles encontrados na análise individual do *o*-NF. A repetibilidade intra-dia e inter-dia resultaram em 4,77% e 5,13% respectivamente. A Tabela 9 resume os dados obtidos para esta análise.

Figura 34 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o *o*-NF (a) 0,1; b) 0,3; c) 0,5; d) 0,7; e) 0,9; f) 1,1; g) 1,3; h) 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de *p*-NF ($0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$) sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,5, (B) curva de calibração média (n = 8). $\Delta E_s = 2,0 \text{ mV}$, $a = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$.

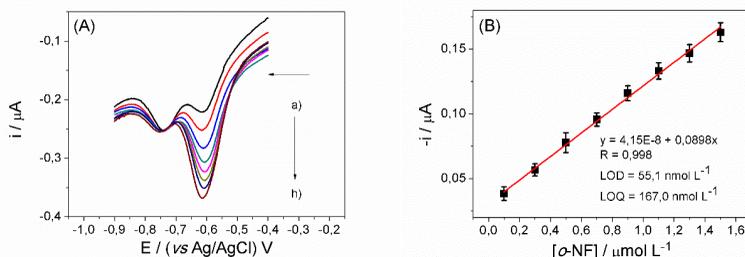


Tabela 9 - Dados obtidos a partir da curva de calibração para o *o*-NF na presença do *p*-NF.

Parâmetro	Valor
Potencial de Pico (V)	-0,593
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,1 – 1,5
Coefficiente linear (A)	$4,15 \times 10^{-8}$
Desvio do coeficiente linear (A)	$1,51 \times 10^{-9}$
Coefficiente de Correlação (R)	0,998
Coefficiente Angular (A L mol^{-1})	0,0898
Desvio do coeficiente angular (A L mol^{-1})	0,002
LOD (nmol L^{-1})	55,1
LOQ (nmol L^{-1})	167,0
Repetibilidade de i_{pc} (intra-dia)/% ^a	4,77
Repetibilidade de i_{pc} (inter-dia)/% ^a	5,13

^a n = 8

5.7. DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS ISÔMEROS ORTO E PARA

Para a determinação simultânea, a concentração dos isômeros orto e para foi variada na faixa de 0,1 até 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A Figura 35A mostra os voltamogramas de pulso diferencial para essa análise. Verifica-se que ambos os i_{pc} aumentam a medida que a concentração destes aumenta. A Figura 35B apresenta a curva de calibração média (n = 8) obtida com a

seguinte equação linear para o *o*-NF: $i_{pc} \text{ (A)} = 4,16 \times 10^{-8} + 0,0899[o\text{-NF}]/\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0,998$). E para o *p*-NF a seguinte equação: $i_{pc} \text{ (A)} = 3,78 \times 10^{-8} + 0,0918[p\text{-NF}]/\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0,999$). LOD e LOQ calculados foram $69,6 \text{ nmol L}^{-1}$ e $210,7 \text{ nmol L}^{-1}$ para o *o*-NF e, $58,0 \text{ nmol L}^{-1}$ e $175,7 \text{ nmol L}^{-1}$ para o *p*-NF, respectivamente. Esses valores indicam que a sensibilidade do GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs não muda significativamente durante a detecção simultânea dos isômeros, quando comparado com a detecção individual destes compostos. A repetibilidade intra-dia e inter-dia resultaram em 4,88% e 5,02% para o *o*-NF e 4,76% e 4,95% para o *p*-NF. Não foi possível usar a técnica de UV-vis para comparação de dados nas análises sequenciais e simultâneas pois os isômeros possuem um λ_{max} bem próximos, gerando um sinal apenas. A Tabela 10 resume os resultados obtidos para a análise simultânea.

Figura 35 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o *o*-NF e *p*-NF (0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1,1; 1,3; 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$) sobre o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 6,5, (B) curva de calibração para o *o*-NF, (C) curva de calibração para o *p*-NF. $\Delta E_s = 2,0 \text{ mV}$, $a = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 150,0 \text{ mV s}^{-1}$.

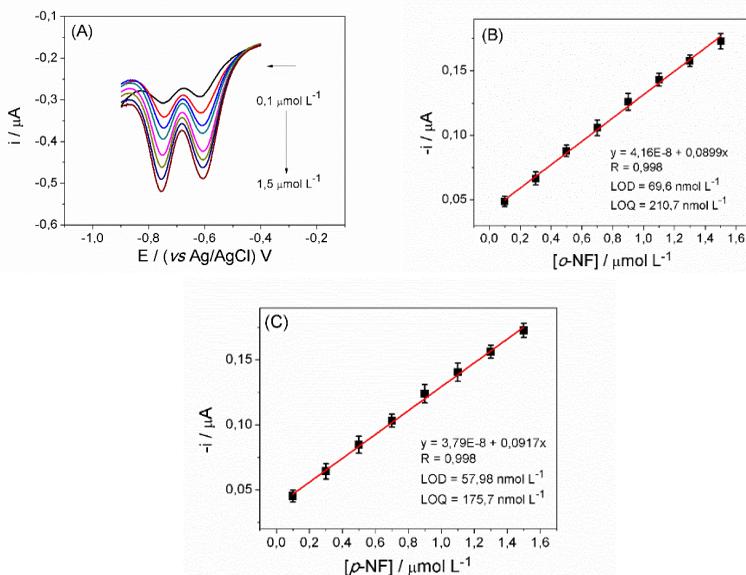


Tabela 10 - Dados obtidos a partir da curva de calibração para a análise simultânea do *o*-NF e *p*-NF.

Parâmetro	Valor (<i>o</i>-NF)	Valor (<i>p</i>-NF)
Potencial de Pico (V)	-0,593	-0,731
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,1 – 1,5	0,1 – 1,5
Coefficiente linear (A)	$4,16 \times 10^{-8}$	$3,79 \times 10^{-8}$
Desvio do coeficiente linear (A)	$1,89 \times 10^{-9}$	$1,61 \times 10^{-9}$
Coefficiente de Correlação (R)	0,998	0,998
Coefficiente Angular (A L mol ⁻¹)	0,0898	0,0918
Desvio do coeficiente angular (A L mol ⁻¹)	0,002	0,002
LOD (nmol L ⁻¹)	69,6	58,0
LOQ (nmol L ⁻¹)	210,7	175,7
Repetibilidade de i_{pc} (intra-dia)/% ^a	4,88	4,76
Repetibilidade de i_{pc} (inter-dia)/% ^a	5,02	4,95

^a n = 8

A seguir, foi comparado o desempenho do GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs para a determinação simultânea com outros trabalhos da literatura (Tabela 11). Pode-se observar que o LOD dos trabalhos analisados é maior do que o apresentado neste trabalho, mas os mesmos conseguem determinar simultaneamente os três isômeros, enquanto que este trabalho consegue apenas dois.

Tabela 11 - Comparação do desempenho do GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs com os eletrodos de outros trabalhos da literatura para a determinação simultânea de nitrofenóis.

ELETRODO	MÉTODO DE DETECÇÃO	ISÔMEROS	LIMITE DE DETECÇÃO (nmol L ⁻¹)	REFERÊNCIA
GCE/(Pt-Fe ₃ O ₄)NPS	DPV	<i>o</i> -NF e <i>p</i> -NF	69,9 e 58,0	Este trabalho
CD-SBA/CPE	DPV	<i>o</i> -NF, <i>m</i> -NF e <i>p</i> -NF	100,0; 50,0 e 100,0	(XU <i>et al.</i> , 2011)
OMCs/GCE	DPV	<i>o</i> -NF, <i>m</i> -NF e <i>p</i> -NF	80,0; 60,0 e 100,0	(ZHANG <i>et al.</i> , 2013)
MWNTs/GCE	LSV	<i>o</i> -NF, <i>m</i> -NF e <i>p</i> -NF	500,0; 6000,0 e 400,0	(LUO <i>et al.</i> , 2008)
nAu-Si ₄ Pic ⁺ Cl ⁻ /GCE	DPV	<i>o</i> -NF e <i>p</i> -NF	93,5 e 59,2	(DA SILVA <i>et al.</i> , 2014)
Nano-Au/GCE	SDV	<i>o</i> -NF, <i>m</i> -NF e <i>p</i> -NF	8000,0; 5000,0 e 8000,0	(CHU <i>et al.</i> , 2011)

Com base nos resultados apresentados, pode-se concluir que o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs é um sensor promissor para a detecção individual de todos os três isômeros de nitrofenóis. Mas para a detecção simultânea, apenas pode ser aplicada para os isômeros para e orto.

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi apresentado o desenvolvimento de um CME para detecção e determinação individual e simultânea de isômeros de nitrofenóis. Dos metais testados para servirem como nanopartículas metálicas, a platina, juntamente com a magnetita, demonstrou ser a mais eficaz para a determinação dos isômeros de nitrofenóis.

O CME denominado GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs foi utilizado para a detecção individual e simultânea de isômeros de nitrofenóis. Os três isômeros foram determinados individualmente em amostras de interesse ambiental e biológico. As curvas de calibração obtidas foram lineares para os três isômeros na faixa de 0,1 a 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O LOD de cada isômero foi na ordem de nmol L^{-1} . Realizou-se a determinação simultânea dos isômeros *o*-NF e *p*-NF devido a sua separação de potencial de pico de redução ser 0,138 V.

Estes resultados indicaram que o GCE/(Pt-Fe₃O₄)NPs pode ser utilizado como um excelente sensor eletroquímico na determinação dos isômeros de nitrofenóis.

7. REFERÊNCIAS

AGUILAR-ARTEAGA, K.; RODRIGEZ, J. A.; BARRADO, E. Magnetic solids in analytical chemistry: a review. **Analytica Chimica Acta**, 674, 157-165, 2010.

ALKIRE, R. C.; KOLB, D. M.; LIPKOWSKI, J.; ROSS, P. N. Advances in electrochemical sciences and engineering. **Chemically modified electrodes**, V. 11. Wiley-VCH, 2009.

AOKI, K.; OSTERYOUNG, J. Theory of differential pulse polarography at expanding or stationary planar electrodes for quasi-reversible or totally irreversible reactions. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, 110, 19-36, 1980.

ARVINE, A.; MAHOSENAHO, M.; PINTEALA, M.; SESAY, A. M.; VIRTANEN, V. Electrochemical oxidation of p-nitrophenol using graphene-modified electrodes, and a comparison to the performance of MWNT-based electrodes. **Microchimica Acta**, 174, 337-343, 2011.

BABES, L.; DENIZOT, B.; TANGUY, G.; LE JEUNE, J. J.; JALLET, P. Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles Used as MRI Contrast Agents: A Paramedic Study. **Journal of Colloid and Interface Science**, 212, 474-482, 1999.

BANEY, R. H.; ITOH, M.; SAKAKIBARA, A.; SUZUKI, T. Silsesquioxanes. **Chemical Reviews**, 95, 1409-1430, 1995.

BARD, A.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2nd Edition. New York: John Wiley & Sons Inc, 2001.

BHATTI, Z. I.; TODA, H.; FURUKAWA, K. *P*-Nitrophenol degradation by activated sludge attached on nonwovens. **Water Research**, 36, 1135-1142, 2002.

BUXBAUM, G.; PFAFF, G. Black Pigments. **Industrial Inorganic Pigments**, 3rd Edition., Wiley-VCH, 2005.

CAMPBELL, F. W.; COMPTON, R. G. The use of nanoparticles in electroanalysis: an update review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 396, 241-259, 2010.

CHEN, C. H.; HUTCHISON, J. E.; POSTLETHWAITE, T. A.; RICHARDSON, J. N.; MURRAY, R. W. Chemically-modified electrodes by nucleophilic-substitution of chlorosilylated platinum oxide surfaces. **Langmuir**, 10, 3332-3337, 1994.

CHERKASOV, N.; IBHADON, A. O.; FITZPATRICK, P. A review of the existing and alternative methods for greener nitrogen fixation. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, 90, 24-33, 2015.

CHU, L.; HAN, L.; ZHANG, X. Electrochemical simultaneous determination of nitrophenol isomers at nano-gold modified glassy carbon electrode. **Journal of Applied Electrochemistry**, 41, 687-694, 2011.

CORDES, D. B.; LICKISS, P. D.; RATABOUL, F. Recent Developments in the Chemistry of Cubic Polyhedral Oligosilsesquioxanes. **Chemical Reviews**, 110, 2081-2173, 2010.

CRESPILHO, F. N.; HUGUENIN, F.; ZUCOLOTTO, V.; OLIVI, P.; NART, F. C.; OLIVEIRA Jr., O. N. Dendrimers as nanoreactors to produce platinum nanoparticles embedded in layer-by-layer films for metanol-tolerant cathodes. **Electrochemistry Communications**, 8, 348-352, 2006.

DA SILVA, P. S.; GASPARINI, B. C.; MAGOSSO, H. A.; SPINELLI, A. Gold nanoparticles hosted in a water-soluble silsesquioxane polymer applied as a catalytic material onto an electrochemical sensor for detection of nitrophenol isomers. **Journal of Hazardous Materials**, 273, 70-77, 2014.

DALMORO, V.; DOS SANTOS, J. H. Z.; ARMELIMB, E.; ALEMÁM, C.; AZAMBUJA, D. S. Phosphonic acid/silica-based films: A potential treatment for corrosion protection. **Corrosion Science**, 60, 173-180, 2012.

DE LIMA, C. A.; DA SILVA, P. S.; SPINELLI, A. Chitosan-stabilized silver nanoparticles for voltammetric detection of nitrocompounds. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 196, 39-45, 2014.

DENG, P.; XU, Z.; LI, J. Simultaneous voltammetric determination of 2-nitrophenol and 4-nitrophenol based on an acetylene black paste electrode modified with a graphene-chitosan composite. **Microchimica Acta**, 181, 1077-1084, 2014.

DEY, N.; SAMANTA, S. K.; BHATTACHARYA, S. Selective and Efficient Detection of Nitro-Aromatics Explosives in Multiple Media including Water, Micelles, Organogel, and Solid Support. **ACS Applied Materials & Interfaces**, 5, 8394-8400, 2013.

DONLON, B. A.; RAZO-FLARES, E.; LETTIGA, G.; FIELD, J. A. Continuous detoxification, transformation and degradation of nitrofenol in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. **Biotechnology and Bioengineering**, 51, 439-449, 1996.

DUMUR, F.; GUERLIN, A.; DUMAS, E.; BERTIN, D. GIGMES D.; MAYER C. R. Controlled Spontaneous Generation of Gold Nanoparticles Assisted by Dual Reducing and Capping Agents. **Gold Bulletin**, 44, 119-137, 2011.

ENSAFI, A. A.; ABARGHOUI, M.M.; REZAEI, B. Simultaneous determination of morphine and codeine using Pt nanoparticles supported on porous silicon flour modified ionic liquid carbon paste electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 219, 1-9, 2015.

EROGUL, S.; BAS, S. Z.; OZMEN, M.; YILDIZ, S. A new electrochemical sensor based on Fe₃O₄ functionalized graphene oxide-gold nanoparticle composite film for simultaneous determination of catechol and hydroquinone. **Electrochimica Acta**, 186, 302-313, 2015.

FENG, T.; QIAO, X.; WANG, H.; SUN, Z.; HONG, C. A sandwich-type electrochemical immunosensor for carcinoembryonic antigen based on signal amplification strategy of optimized ferrocene functionalized Fe₃O₄@SiO₂ as labels. **Biosensors and Bioelectronics**, 79, 48-54, 2016.

FRIÁK, M.; SCHINDLMAYR, A.; SCHEFFLER, M. *Ab initio* study of the half-metal to metal transition in strained magnetite. **New Journal of Physics**, 9, 5, 2007.

GREENWOOD, N.; EARNSHAW, A. Iron, Ruthenium and Osmium. **Chemistry of the Elements**, 2nd ed., Butterworth-Heinemann, 1997.

HANG, J.; SHI, L. FENG, X.; XIAO, L. Electrostatic and electrosteric stabilization of aqueous suspensions of barite nanoparticles. **Powder Technology**, 192, 166-170, 2009.

HEWAKURUPPU, Y. L.; DOMBROSVSKY, L. A.; CHEN, C.; TIMCHENKO, V. JIANG, X.; BAEK, S.; TAYLOR, R. A. Plasmonic “pump-probe” method to study semi-transparent nanofluids. **Applied Optics**, 52, 6041-6050, 2013.

INABA, M.; ANDO, M.; HATANAKA, A.; NOMOTO, A.; MATSUZAWA, K.; TASAKA, A.; KILNUMOTO, T.; IRIYAMA, Y.; OGUMI, Z. Controlled growth and shape formation of platinum nanoparticles and their electrochemical properties. **Electrochimica Acta**, 52, 1632-1638, 2006.

JOSÉ, N. M.; PRADO, L. A. S. A. Materiais híbridos orgânico-inorgânicos: preparação e algumas aplicações. **Química Nova**, 28, 281-288, 2005.

KAFI, A. K. M.; CHEN, A. A novel amperometric biosensor for the detection of nitrophenol. **Talanta**, 79, 97-102, 2009.

KANG, H.; WANG, L.; O'DONOGHUE, M.; CAO, Y. C.; TAN, W. Nanoparticles for biosensors. **Optical Biosensors: Today and Tomorrow**, 2nd edition, Elsevier, 2008.

KULKARNI, P. Nitrophenol removal by simultaneous nitrification denitrification (SND) using *T. pantotropha* in sequencing batch reactors (SBR). **Bioresource Technology**, 128, 273-280, 2013.

KUMAR, S.; ZOU, S. Electroreduction of O₂ on uniform arrays of Pt and PtCo nanoparticles. **Electrochemistry Communations**, 8, 1151-1157, 2006.

LAINE, R. M. Nanobuilding blocks based on the $[\text{OSiO}_{1.5}]_x$ ($x = 6, 8, 10$) octasilsesquioxanes. **Journal of Materials Chemistry**, 15, 3725-3744, 2005.

LI, S.; DU, D.; HUANG, J.; TU, H.; YANG, Y.; ZHANG, A. One-step electrodeposition of a molecularly imprinting chitosan/phenyltrimethoxysilane/AuNPs hybrid film and its application in the selective determination of *p*-nitrophenol. **Analyst**, 138, 2761-278, 2013.

LIU, Z.; MA, X.; ZHANG, H.; LU, W.; MA, H.; HOU, S. Simultaneous determination of nitrophenol isomers based on β -cyclodextrin functionalized reduced graphene oxide. **Electroanalysis**, 24, 1178-1185, 2012.

LU, F.; POPA, A.; ZHOU, S.; ZHU, J. J.; SAMIA, A. C. S. Iron oxide-loaded hollow mesoporous silica nanocapsules for controlled drug released and hyperthermia. **Chemical Communications**, 49, 11436-11438, 2013.

LUO, L. -Q.; ZOU, X. -I.; DING, Y. -P.; WU, Q. -S. Derivative voltammetric direct simultaneous determination of nitrophenol isomers at a carbon nanotube modified electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 135, 61-65, 2008.

LUCHO, A. M. S.; PISSETTI, F. L.; GUSHIKEM, Y. Al_2O_3 -coated 3-*N*-propylpyridinium chloride silsesquioxane polymer film: preparation and electrochemical property study of adsorbed cobalto tetrasulfophthalocyanine. **Journal of Colloid and Interface Science**, 275, 251-256, 2004.

LUO, L. Q.; ZOU, X. L.; DING, Y. P.; WU, Q. S. Derivative voltammetric direct simultaneous determination of nitrophenols isomers at a carbon nanotube modified electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 135, 61-65, 2008.

MAGOSSO, H. A.; PANTELEIMONOV, A. V.; KHOLIN, Y. V.; GUSHIKEM, Y. Synthesis characterization and metal adsorption properties of the new ion exchanger polymer 3-n-propyl(4-methylpyridinium), **Journal of Colloid and Interface Science**, 303, 18-24, 2006.

MULVANEY, P. Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles, **Langmuir**, 12, 788-800, 1996.

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

NICHOLSON, R. S.; SHAIN, I. Theory of stationary electrode polarography – single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems. **Analytical Chemistry**, 36, 706-723, 1964.

NDVOLU, T.; AROTIBA, O. A.; KRAUSE, R. W.; MAMBA, B. B. Electrochemical Detection of *o*-nitrophenol on a Poly(propyleneimine)-gold Nanocomposite Modified Glassy Carbon Electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, 5, 1179-1186, 2010.

PAUL, G.; HEIMINK, J.; KOLLER, H. Controlling Drug Release of Sol-Gel Encapsulated Persantin and Propranolol by Surface Interactions. **Chemistry Matters**, 20, 5083-5089, 2008.

PAULA, F. R.; SERRANO, S. H. P.; TAVARES, L. C. Aspectos Mecanísticos da Bioatividade e Toxicidade de Nitrocompostos. **Química Nova**, 32, 1013-1020, 2009.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, 25, 1012-1021, 2002.

OKAMURA, A.; SAITO, I.; UYAMA, J.; ITO, Y.; NAKAJIMA, T.; KAMIJIMA, M. New analytical method for sensitive quantification of urinary 3-methyl-4-nitrophenol to assess fenitrothion exposure in general population and occupational sprayers. **Toxicology Letters**, 210, 220-224, 2012.

OMDIFAR, K.; DARZIANIAZIZI, M.; AHMADI, A.; DANESHPOUR, M. A sensitive electrochemical nanoimmunosensor based on Fe₃O₄/TMC/Au nanocomposite and PT-modified electrode for the detection of cancer biomarker epidermal growth factor receptor. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 220, 1311-1319, 2015.

OZIN, G. A. Nanochemistry: Synthesis in diminishing dimensions. **Advanced Materials**, 4, 612-649, 1992.

RABI-STANCOVIC, A. A.; MOJOVIC, Z.; MILUTINOVIC-NICOLIC, A.; JOVIC-JOVICIC, N.; BANKOVIC, P.; ZUNIC, M.; JONAVONIC, D. Electrooxidation of *p*-nitrophenol on organobentonite modified electrodes **Applied Clay Science**, 77, 61-67, 2013.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, 27, 771-780, 2004.

RODRÍGUEZ, I. N.; LEYVA, J. A. M.; HIDALGO, J. L. Use of a carbon paste modified electrode for the determination of 2-nitrophenol in a flow system by differential pulse voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, 344, 167-173, 1997.

RO, H. W.; SOLES, C. L. Sissesquioxanes in nanoscale patterning applications. **Materials Today**, 14, 20-33, 2011.

ROCA, M.; LEON, N.; PASTOR, A.; YUSÀ, V. Comprehensive analytical strategy for biomonitoring of pesticides in urine by liquid chromatography-orbtrap high resolution mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1374, 66-76, 2014.

SCHOLZ, F. **Electroanalytical Methods, Guide to Experiments and Applications**. 2^a Edition. Berlin: Springer, 2002.

SCHÜSSLER, W.; NISCHKE, L. Nitrophenols in precipitation. **Chemosphere**, 42, 277-283, 2001.

SHENG, S.; WANG, S. Energy analyses and optimization of methanol generating hydrogen system for PEMFC. **International Journal of Hydrogen Energy**, 31, 1747-1755, 2006.

SHIH, Y.; ZEN, J. -M.; KUMAR, A. S.; CHEN, P. -Y. Flow injection analysis of zinc pyrithione in hair care products on a cobalto phthalocyanine modified screen-printed carbon electrode. **Talanta**, 62, 912-917,2004.

SHIPWAY, A. N.; KATZ, E.; WILLNER, I. Nanoparticles Arrays on Surfaces fo Electronic, Optical, and Sensor Applications. **ChemPhysChem**, 1, 18-52, 2000.

SOH, M. S.; SELLINGER, A.; YAP, A. U. Dental Nanocomposites. **Current Nanoscience**, 2, 373-381, 2006.

SOUZA, M. F. B. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Química Nova**, 20, 191-195, 1997.

TAHMASEBI, E.; YAMINI, Y.; SEIDI, S.; REZAZADEH, M. Extraction of three nitrophenols using polypyrrolle-coated magnetic nanoparticles based on anion exchange process. **Journal of Chromatography A**, 1314, 15-23, 2013.

TAYLOR, R.; COULOMBE, S.; OTANICAR, T.; PHELAN, P.; GUNAWAN, A.; LV, W.; ROSENGARTEN, G.; PRASHER, R.; TYAGI, H. Small particles, big impacts: A review of the diverse applications of nanofluids. **Journal of Applied Physics**, 113, 011301, 2013.

THOMAS, K. G.; IPE, B.I.; SUDEEP, P.K. Photocheistry of Cromophere-Funcionalized Gold Nanoparticles. **Pure and Applied Chemistry**, 74, 1731-1738, 2002.

TOMEI, M. C.; ANNESINI, M. C.; LUBERTI, R.; CENTO, G.; SENIA, A. Kinetics of 4-nitrophenol biodegradation in a sequencing bath reactor. **Water Research**, 37, 3803-3814, 2003.

TREMP, J.; MATTREL, P.; FINGLER, S.; GINGER, W. Phenols and nitrophenols as tropospheric pollutants: Emissions from automobile exhausts and phase transfer in the atmosphere. **Water, Air, & Soil Pollution**, 68, 113-123, 1993.

WANG, P.; XIAO, J.; LIAO, A. LI, P.; GUO, M.; XIA, Y.; LI, Z.; JIANG, X.; HUANG, W. Electrochemical determination of 4-nitrophenol using uniform nanoparticle film electrode of glass carbon fabricated facilely by square wave potential pulses. **Electrochimica Acta**, 176, 448-455, 2015.

WEI, Y.; KONG, L. T.; YANG, R.; WANG, L.; LIU, J. H.; HUANG, X. J. Single-Walled Carbon Nanotube/Pyrenecyclodextrin Nanohybrids for Ultrahighly Sensitive and Selective Detection of *p*-Nitrophenol. **Langmuir**, 27, 10295-10301, 2011.

WU, D., LI, Y., ZHANG, Y., WANG, P., WEI, Q., DU, B. Sensitive Electrochemical Sensor for Simultaneous Determination of Dopamine, Ascorbic Acid, and Uric Acid Enhanced by Amino-group Functionalized Mesoporous Fe₃O₄@Graphene Sheets. **Electrochimica Acta**, 116, 244-249, 2014.

XIN, Y.; FU-BING, X.; HONG-WEI, L.; FENG, W., DI-ZHAO, C.; ZHAO-YANG, W. A novel H₂O₂ biosensor based on Fe₃O₄-Au magnetic nanoparticles coated horseradish peroxidase and graphene sheets-Nafion film modified screen-printed carbon electrode. **Electrochimica Acta**, 109, 750-755, 2013.

XU, X.; LIU, Z.; ZHANG, X.; DUAN, S.; XU, S.; ZHOU, C. β -Cyclodextrin functionalized mesoporous silica for electrochemical selective sensor: simultaneous determination of nitrophenol isomers, **Electrochimica Acta**, 58, 142-149, 2011.

XU, M.; ZHANG, A.; HAN, S.; WANG, L. Studies of 3D-quantitative of structure-activity relationships on a set of nitroaromatics compounds: CoMFA, advanced CoMFA and CoMSIA. **Chemosphere**, 48, 707-715, 2002.

YARI, A.; DERKI, S. New MWCNT-Fe₃O₄@PDA-Ag nanocomposite as a novel sensing element of an electrochemical sensor for determination of guanine and adenine contents of DNA. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 227, 456-466, 2016.

YE, H.; CROOKS, R. M. Electrocatalytic O₂ Reduction at Glassy Carbon Electrodes Modified with Dendrimer-Encapsulated Pt Nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, 127, 4930-4934, 2005.

YIN, T.; QIN, W. Applications of nanomaterials in potentiometric sensors. **Trends in Analytical Chemistry**, 51, 79-86, 2013.

YU, A. M.; ZHANG, X.; ZHANG, H. L.; HAN, D. Y.; KNIGHT, A. R. Preparation and electrochemical properties of gold nanoparticles containing carbon nanotubes-polyelectrolyte multilayer thin films. **Electrochimica Acta**, 56, 9015-9019, 2011.

YU, S.; WEI, Q.; DU, B.; WU, D.; LI, H.; YAN, L.; MA, H.; ZHANG, Y. Label-free immunosensor for the detection of kanamycin using Ag@Fe₃O₄ nanoparticles and thionine mixed graphene sheet. **Biosensors and Bioelectronics**, 48, 224-229, 2013.

ZHANG, Y.; WU, L.; LEI, W.; XIA, X.; XIA, M.; HAO, Q. Electrochemical determination of 4-nitrophenol at polycarbazole/N-doped graphene modified glassy carbon electrode. **Electrochimica Acta**, 146, 568-576, 2014.

ZHANG, T.; LANG, Q.; YANG, D.; LIANG, L.; ZENG, L.; ZHENG, C.; LI, T.; WEI, M.; LIU, A. Simultaneous voltammetric determination of nitrophenol isomers at ordered mesoporous carbon modified electrode. **Electrochimica Acta**, 106, 127-134, 2013.

ZEN, J. -M.; SENTHIL KUMAR, A.; TSAI, D. -M. Recent Updates of Chemically Modified Electrodes in Analytical Chemistry. **Electroanalysis**, 15, 1073-1087, 2003.