



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

Edson Roberto Santana

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO
DE UM ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO COM
NANOPARTÍCULAS DE OURO E DE ÓXIDO DE FERRO PARA
A DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DE BISFENOL A**

**Florianópolis
2017**

Edson Roberto Santana

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO
DE UM ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO COM
NANOPARTÍCULAS DE OURO E DE ÓXIDO DE FERRO PARA
A DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DE BISFENOL A**

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
2017**

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

Santana, Edson Roberto

Desenvolvimento, caracterização e aplicação de um eletrodo quimicamente modificado com nanopartículas de ouro e de óxido de ferro para determinação eletroanalítica de bisfenol A / Edson Roberto Santana ; orientador, Almir Spinelli - Florianópolis, SC, 2017.

103 p.

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

Inclui referências

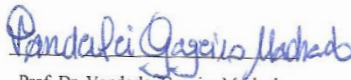
1. Química. 2. eletrodos quimicamente modificados. 3. nanopartículas de ouro. 4. nanopartículas de óxido de ferro. 5. bisfenol A. I. Spinelli, Almir. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Edson Roberto Santana

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE
UM ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO COM
NANOPARTÍCULAS DE OURO E DE ÓXIDO DE FERRO PARA A
DETERMINAÇÃO ELETRONALÍTICA DE BISFENOL A**

Esta 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

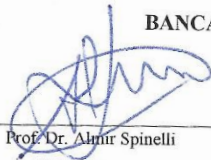
Florianópolis, 17 de fevereiro de 2017.



Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado

Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA



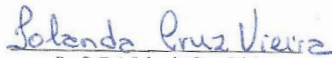
Prof. Dr. Almir Spinelli
(Orientador)



Prof. Dr. Luciano Vitali
(DQ/UFSC)



Prof.ª Dr.ª Daniela Brondani
(UFSC/Blumenau-SC)



Prof.ª Dr.ª Iolanda Cruz Vieira
(DQ/UFSC)

*Dedico aos meus pais,
Edson e Juvenia.*

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

AGRADECIMENTOS

Minha profunda gratidão aos meus pais, Edson e Juvenia, a minha irmã Giovanna, que sempre acreditaram em mim, e por todos seus esforços para que o meu sonho pudesse se concretizar;

Ao professor Dr. Almir Spinelli, por ter acreditado em mim desde o início e pela orientação e paciência durante a realização deste trabalho;

Aos colegas do Grupo de Estudos de Processos Eletroquímicos e Eletroanalíticos: Camila, Jamille, Fernanda, Cristiano, Lara, Giles, Vinícius, Schay, pela amizade e companheirismo e por tornarem essa jornada muito mais divertida;

Aos meus grandes amigos que participaram nesta etapa da minha vida, J. Guilherme, João, Marília, Sheila, Paola, Thuany, Willian, Giliandro, Thébny, Suéli e Fiorella.

A professora Dra. Hérica A. Magosso e ao Laboratório de Equilíbrios Químicos e Superfícies (LabEqS) por ceder o polímero cloreto de 3-*n*-propil-4-picolina silsesquioxano;

A todos os integrantes da banca, por aceitarem fazer parte da mesma;

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade de concluir este trabalho;

Ao CNPq, FAPESC e à CAPES pelo suporte financeiro;

TRABALHOS PUBLICADOS DURANTE O MESTRADO
(2015–2017)

♣ Artigos publicados em revistas científicas:

1. SANTANA, E. R.; LIMA, C. A.; PIOVESAN, J. V.; SPINELLI, A. An original ferroferric oxide and gold nanoparticles-modified glassy carbon electrode for the determination of bisphenol A. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 240, p. 487–496, 2017.
2. PIOVESAN, J. V.; LIMA, C. A.; SANTANA, E. R.; SPINELLI, A. Voltammetric determination of condensed tannins with a glassy carbon electrode chemically modified with gold nanoparticles stabilized in carboxymethylcellulose. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 240, p. 838–847, 2017.
3. LIMA, C. A.; SANTANA, E. R.; PIOVESAN, J. V.; SPINELLI, A. Silver nanoparticle-modified electrode for the determination of nitro compound-containing pesticides. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 10, p. 2595–2606, 2016.

♣ Resumos publicados em congressos:

1. SANTANA, E. R.; PIOVESAN, J. V.; SPINELLI, A. Eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de ouro para detecção de metilparabeno. In: **XXIII Encontro de Química da Região Sul**, 2016, Santa Maria, RS. Anais do XXIII Encontro de Química da Região Sul, 2016.
2. SANTANA, E. R.; SPINELLI, A. Determinação de bisfenol A empregando um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro e de óxido de ferro. In: **18º Encontro Nacional de Química Analítica**, 2016, Florianópolis, SC. Anais do 18º Encontro Nacional de Química Analítica, 2016.
3. SANTANA, E. R.; LIMA, C. A.; PIOVESAN, J. V.; SPINELLI, A. Estudo eletroquímico do bisfenol A sobre um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro e óxido de ferro. In: **XXII Encontro de Química da Região Sul**, 2015, Joinville, SC. Anais do XXII Encontro de Química da Região Sul, p. 339, 2015.

4. LIMA, C. A.; PIOVESAN, J. V.; SANTANA, E. R.; SPINELLI, A. Determinação eletroanalítica do organofosforado etil-paration em amostras de mel e alface. In: **XXII Encontro de Química da Região Sul**, 2015, Joinville, SC. Anais do XXII Encontro de Química da Região Sul, p. 359, 2015.

5. SILVA, G. C.; NOGUEIRA, A. L.; KOSKLOWSKI, L. A. D.; JOST, C. L.; SANTANA, E. R.; CARA, L. F. A. Incorporação em sílica de nanopartículas de prata funcionalizadas com aminosilanos. In: **XXII Encontro de Química da Região Sul**, 2015, Joinville, SC. Anais do XXII Encontro de Química da Região Sul, p. 302, 2015.

RESUMO

Este trabalho descreve o desenvolvimento de um novo eletrodo baseado na modificação de um substrato de carbono vítreo com um filme de nanopartículas de óxido de ferro depositado sobre um filme de nanopartículas de ouro com objetivo de detectar e quantificar bisfenol A em utensílios plásticos. Para isso, as dispersões de nanopartículas foram preparadas em solução aquosa de cloreto de 3-*n*-propil-4-picolina silsesquioxano e caracterizadas por microscopia eletrônica de transmissão. O eletrodo modificado foi caracterizado por microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de impedância eletroquímica e voltametria cíclica, apresentando uma maior área eletroativa e melhor condutividade em comparação com o substrato de carbono vítreo sem modificação. Para estudar o comportamento eletroquímico do bisfenol A sobre a superfície do eletrodo modificado e para otimizar algumas condições experimentais (preparação do filme, eletrólito, pH) foi utilizada a voltametria cíclica. Em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 9,0), variando o potencial de +0,2 a +1,2 V, observou-se um sinal analítico em +0,47 V, referente a oxidação do bisfenol A, que ocorreu através da transferência de dois mols de prótons e dois mols de elétrons. Nenhum sinal de redução foi detectado, caracterizando um processo irreversível. A corrente de pico de oxidação obtida foi cerca de quatro vezes maior que a obtida apenas com o substrato. Além de promover o aumento nas intensidades de corrente de pico, o eletrodo modificado ainda favoreceu a reação de oxidação do bisfenol A, deslocando em 30 mV o sinal analítico para valores de potencial menos positivos, indicando que a modificação com os filmes de nanopartículas melhoraram a transferência de elétrons sobre a superfície do eletrodo. Para realizar a determinação do bisfenol A, empregou-se a voltametria de pulso diferencial aplicando os seguintes parâmetros: velocidade de varredura de 40,0 mV s⁻¹, amplitude de pulso de 80,0 mV e tempo de duração de pulso de 8,0 ms. As correntes de pico variaram linearmente com a concentração de bisfenol A na faixa de 20,0–1400,0 nmol L⁻¹ (R² = 0,996) obtendo o limite de detecção de 7,0 nmol L⁻¹ e quantificação de 21,0 nmol L⁻¹. Estes valores permitiram a aplicação do eletrodo modificado para quantificação de bisfenol A em diferentes amostras de plásticos obtendo ensaios de recuperações no intervalo de 90 a 120% e estando de acordo com análises

realizadas por espectroscopia UV-vis. Para um nível de confiança de 95%, aplicou-se testes estatísticos concluindo que não houve diferenças significativas entre a exatidão e a precisão de ambos os métodos.

Palavras-chave: bisfenol A, nanopartículas de ouro, nanopartículas de óxido de ferro, voltametria

ABSTRACT

This work describes the development of a new electrode based on the modification of a glassy carbon substrate with a film of ferroferric oxide nanoparticles over a film of gold nanoparticles in order to detect and quantify bisphenol A in commercial plastics samples. The dispersions of nanoparticles were prepared in aqueous solution of 3-*n*-propyl-4-picoline silsesquioxane and characterized by transmission electron microscopy. The proposed chemically-modified electrode was characterized by scanning electron microscopy, electrochemical impedance spectroscopy and cyclic voltammetry, presenting higher conductivity and higher electroactive area compared to the unmodified glassy carbon substrate. To study bisphenol A behavior on the modified electrode surface and to optimize some experimental conditions (preparation of the film, electrolyte, pH) cyclic voltammetry technique was used. In B-R buffer solution 0.1 mol L⁻¹ (pH 9.0), by varying the potential of +0.2 to +1.2 V, there is an analytic signal +0.47 V concerning the oxidation of bisphenol A, that occurred due the transfer of two mols of protons and two mols of electrons. No reduction signal was detected. The obtained oxidation current peak was about four times greater than the one obtained with unmodified substrate. In addition to promote the increase in the currents intensities, the modified electrode also favored bisphenol A oxidation reaction by shifting the analytical signal in 30 mV for less positive potential values, indicating that the modification with the nanoparticles films improved electron transfer over electrode surface. To perform the determination of bisphenol A, differential pulse voltammetry was used by applying the following parameters: scan rate of 40.0 mV s⁻¹, pulse amplitude of 80.0 mV and pulse duration time of 8.0 ms. The peak currents vary linearly with the concentration of bisphenol A in the range of 20.0–1400.0 nmol L⁻¹ ($R^2 = 0.996$) getting the detection limit of 7.0 nmol L⁻¹ and the quantitation limit of 21.0 nmol L⁻¹. These values allowed the application of the modified electrode for quantification of bisphenol A on different samples of commercial plastics, obtaining satisfactory recoveries values in the range of 90 to 120% and being according to analysis by UV-vis spectroscopy. Finally, for a confidence

level of 95%, statistical tests were applied to evaluate the results of both methods and it was concluded that there were no significant differences between the accuracy and precision of both methods.

Keywords: bisphenol A, gold nanoparticles, ferroferric oxide nanoparticles, voltammetry.

LISTA DE FIGURAS

<p>Figura 1. Representação de (A) célula unitária espinélio de face centrada para Fe_3O_4 e (B) ampliação de um tetraedro e um octaedro adjacente compartilhando um átomo de oxigênio. As esferas maiores representam os átomos de ferro Fe^{tet} e Fe^{oct} sob sub-redes tetraédricas e octaédricas, respectivamente. Esferas menores são os átomos de oxigênio.....</p>	35
<p>Figura 2. Representação de (A) estabilização eletrostática e (B) estabilização estérica de nanopartículas.....</p>	39
<p>Figura 3. Representação da estabilização eletroestérica de nanopartículas metálicas.....</p>	39
<p>Figura 4. Estruturas químicas dos silsesquioxanos: (A) aleatória, (B) bidimensional e (C) poliédricas. Em que R pode ser um hidrogênio ou um substituinte orgânico.....</p>	40
<p>Figura 5. Representação da estrutura química do tipo aleatória do polímero $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$.....</p>	42
<p>Figura 6. Representação da estrutura química do bisfenol A.....</p>	44
<p>Figura 7. Representação do processo de modificação do eletrodo de carbono vítreo em: (a) GCE limpo, (b) uma alíquota da dispersão de Au NPs-$\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$ é gotejada sobre a superfície do GCE, (c) uma alíquota de 3,0 μL da dispersão de Fe_3O_4 NPs-$\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$ é gotejada sobre a superfície do Au NPs-$\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$ e (d) o eletrodo modificado Fe_3O_4 NPs-$\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-/\text{Au NPs-}\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$.....</p>	53
<p>Figura 8. Estudo da preparação de filmes de nanopartículas para a modificação do eletrodo. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 9,0) para BPA 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre: (a) GCE, (b) Au NPs-Fe_3O_4 NPs-$\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$, (c) Au NPs-$\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-/\text{Fe}_3\text{O}_4$ NPs-$\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$ e (d) Fe_3O_4 NPs-$\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-/\text{Au NPs-}\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$, mantendo a concentração de Au NPs em 0,04 g L^{-1} e Fe_3O_4 NPs em 1,0 g L^{-1}. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Em (B) gráfico de barras (n = 3).....</p>	58

Figura 9. Estudo da influência da variação de concentração de Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 9,0) para BPA 10,0 μmol L⁻¹ sobre: GCE e utilizando o eletrodo modificado Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE variando apenas a concentração de Au NPs em 0,02; 0,04; 0,06 e 0,08 g L⁻¹, mantendo a concentração de Fe₃O₄ NPs em 1,0 g L⁻¹. v = 100 mV s⁻¹. Em (B) gráfico de barras (n = 3)..... 59

Figura 10. Estudo da influência da variação de concentração de Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 9,0) para BPA 10,0 μmol L⁻¹ sobre: GCE e utilizando o eletrodo modificado Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE variando apenas a concentração de Fe₃O₄ NPs em 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g L⁻¹, mantendo a concentração de Au NPs em 0,04 g L⁻¹. v = 100 mV s⁻¹. Em (B) gráfico de barras (n = 3)..... 60

Figura 11. Coloração da solução (A) de HAuCl₄ e (B) após a formação das Au NPs estabilizadas em Si4Pic⁺Cl⁻..... 61

Figura 12. Espectros UV-vis da dispersão de Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻ em diferentes períodos após sua síntese: (a) 1 hora, (b) 1 dia, (c) 15 dias e (d) 30 dias..... 62

Figura 13. (A) Imagem de TEM e (B) distribuição do tamanho da Au NPs estabilizadas em Si4Pic⁺Cl⁻..... 63

Figura 14. (A) Imagem de TEM e (B) distribuição do tamanho da Fe₃O₄ NPs estabilizadas em Si4Pic⁺Cl⁻..... 64

Figura 15. Imagens de SEM-FEG para (A) GCE e (B) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE..... 65

Figura 16. Gráficos de Nyquist para diferentes eletrodos em [Fe(CN)₆]^{3-/4-} 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹: (a) GCE, (b) Si4Pic⁺Cl⁻/GCE, (c) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE, (d) Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE e (e) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE..... 66

Figura 17. Voltamogramas cíclicos para $K_3[Fe(CN)_6]$ 1,0 mmol L^{-1} em diferentes velocidades de varredura sobre (A) GCE, (C) Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE, (E) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE e (G) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE em KCl 0,1 mol L^{-1} sendo (a) branco, (b) 10, (c) 25, (d) 50, (e) 75, (f) 100, (g) 150, (h) 200, (i) 250 e (j) 300 $mV s^{-1}$. (B, D, F, H) gráficos de i_{pa} vs. $v^{1/2}$

67

Figura 18. Voltamogramas cíclicos em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 9,0) na ausência (a) e na presença de BPA 10,0 $\mu mol L^{-1}$: (b) GCE, (c) Si4Pic⁺Cl⁻/GCE, (d) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE, (e) Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE e (f) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE. $v = 100 mV s^{-1}$

70

Figura 19. Voltamogramas cíclicos sucessivos em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 9,0): (a) 1º ciclo, (b) 2º ciclo e (c) 3º ciclo na presença de BPA 10,0 $\mu mol L^{-1}$ empregando o eletrodo modificado Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE. $v = 100 mV s^{-1}$

71

Figura 20. Voltamogramas cíclicos para BPA 10,0 $\mu mol L^{-1}$ empregando o eletrodo modificado Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} em diferentes valores de pH (A) pH 2,0 a 7,0 e (B) pH 8,0 a 12,0; $v = 100 mV s^{-1}$. Em (C) variação de i_{pa} para BPA 10,0 $\mu mol L^{-1}$ em diferentes valores de pH ($n = 3$) e (D) variação de E_{po} em função do pH.....

72

Figura 21. Respostas de corrente anódica de BPA 10,0 $\mu mol L^{-1}$ em função do pH e da natureza do eletrólito suporte.....

73

Figura 22. (A) Voltamogramas cíclicos para BPA 10,0 $\mu mol L^{-1}$ sobre Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 9,0) em diferentes velocidades de variação de potencial: (a) 10, (b) 25, (c) 50, (d) 75, (e) 100, (f) 150, (g) 200, (h) 250 e (i) 300 $mV s^{-1}$. (B) Relação entre $\log i_{pa}$ vs. $\log v$. (C) Relação entre E_{po} vs. $\log v$

74

Figura 23. Esquema de reação para a oxidação do BPA no Fe_3O_4 NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE de acordo com os dados obtidos..... 75

Figura 24. Voltamogramas de BPA $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre Fe_3O_4 NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0) em diferentes técnicas eletroanalíticas e velocidades de variação de potencial: (A) $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$ e (B) $v = 100,0 \text{ mV s}^{-1}$ 76

Figura 25. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para BPA $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0) para diferentes velocidades de variação de potencial. Mantendo $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 5,0 \text{ ms}$. (B) Gráfico de i vs. v 78

Figura 26. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para BPA $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0) para diferentes tempos de duração do pulso. Mantendo $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$ e $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$. (B) Gráfico de i vs. t_{pulso} 78

Figura 27. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para BPA $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0) para diferentes amplitudes de pulso. Mantendo $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$ e $t_{\text{pulso}} = 8,0 \text{ ms}$. (B) Gráfico de i vs. E_{pulso} 79

Figura 28. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para diferentes concentrações de BPA sobre o eletrodo modificado: (a) branco; (b) 0,02; (c) 0,04; (d) 0,06; (e) 0,08; (f) 0,10; (g) 0,20; (h) 0,40; (i) 0,60; (j) 0,80; (k) 1,00; (l) 1,20 e (m) $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0); $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 8,0 \text{ ms}$. (B) Curva de calibração para BPA ($n = 3$)..... 80

Figura 29. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para diferentes concentrações de BPA sobre GCE: (a) branco; (b) 0,5; (c) 1,0; (d) 1,5; (e) 2,0; (f) 2,5; (g) 3,0; (h) 3,5; (i) 4,5; (j) 5,0; (k) 6,0; (l) 7,0; (m) 8,0; (n) 9,0 e (p) $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0); $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 8,0 \text{ ms}$. (B) Curva de calibração para BPA ($n = 3$) 82

Figura 30. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para: (a) branco, (b) amostra de PC, e (c-g) adições sucessivas (100 e 200 μL) de solução padrão de BPA $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0), empregando o eletrodo modificado. (B) Curva de adição de padrão para a amostra de PC (a) a curva de calibração (b). Condições experimentais: $\nu = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 8,0 \text{ ms}$ 84

Figura 31. (A) Espectros UV-vis para solução padrão de BPA: (a) branco em água; (b) 0,1; (c) 0,2; (d) 0,4; (e) 0,6; (f) 0,8; (g) 1,0; (h) 2,0; (i) 4,0; (j) 6,0; (k) 8,0 e (l) $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de calibração ($n = 3$) 85

Figura 32. (A) Espectros UV-vis para solução de BPA: (a) branco, (b) amostra de PC, e (c-g) adições sucessivas (30 e 60 μL) de solução padrão de BPA $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$. (B) Curva de adição de padrão para a amostra de PC (a) a curva de calibração (b)..... 86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Trabalhos utilizando eletrodos modificados com Au NPs para detecção de diferentes compostos.....	33
Tabela 2. Trabalhos utilizando eletrodos modificados com Fe ₃ O ₄ NPs para detecção de diferentes compostos.....	36
Tabela 3. Resultados dos estudos de caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados.....	69
Tabela 4. Características analíticas obtidas a partir da curva de calibração para BPA empregando o eletrodo modificado desenvolvido.....	81
Tabela 5. Comparação da performance de eletrodos modificados para determinação de BPA publicados recentemente.....	83
Tabela 6. Resultados obtidos para quantificação de BPA na amostra de PC pelos métodos voltamétrico e espectroscópico.....	86
Tabela 7. Determinação de BPA em diferentes amostras.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

a – coeficiente angular

Au NPs – nanopartículas de ouro

AMP – (do inglês, *amperometry*) – amperometria

BPA – (do inglês, *bisphenol A*) – bisfenol A

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

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

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

EDC – (do inglês, *endocrine disruptor chemicals*) – desreguladores endócrinos

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

E_{po} – potencial de pico de oxidação

E_{pulso} – amplitude de aplicação do pulso

Fe₃O₄ NPs – nanopartículas de óxido de ferro

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

i_{pa} – corrente de pico anódico

PC – (do inglês, *polycarbonate*) – policarbonato

PET – (do inglês, *polyethylene terephthalate*) – tereftalato de polietileno

PS – (do inglês, *polystyrene*) – poliestireno

PVC – (do inglês, *polyvinyl chloride*) – policloreto de vinila

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

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

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

Rct – (do inglês, *resistance to charge transfer*) – resistência a transferência de carga

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

SD – (do inglês, *standard deviation*) – desvio padrão

SEM-FEG – (do inglês, *scanning electron microscopy with field emission gun*) – microscopia eletrônica de varredura com campo de emissão

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

SPCE – (do inglês, *screen printed carbon electrode*) – eletrodo impresso de carbono

SWASV – (do inglês, *square wave anodic stripping voltammetry*) – voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada

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

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

t_{pulso} – tempo de duração do pulso

v – velocidade de variação de potencial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	27
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	29
2.1 Eletrodos quimicamente modificados.....	29
2.2 Nanopartículas metálicas.....	31
2.2.1 Nanopartículas de ouro.....	32
2.3 Nanopartículas magnéticas.....	34
2.3.1 Nanopartículas de óxido de ferro.....	34
2.4 Utilização de nanopartículas de ouro e óxido de ferro no desenvolvimento de eletrodos modificados.....	37
2.5 Estabilização das nanopartículas.....	38
2.6. Silsesquioxanos.....	40
2.6.1 Cloreto de 3-n-propil-4-picolina silsesquioxano.....	41
2.7 Desreguladores endócrinos.....	43
2.7.1 Bisfenol A.....	44
3. OBJETIVOS.....	49
3.1 Objetivo Geral.....	49
3.2 Objetivos Específicos.....	49
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	51
4.1 Reagentes e soluções.....	51
4.2 Preparação da dispersão de Au NPs-Si4Pic+Cl-.....	51
4.3 Preparação da dispersão de Fe3O4 NPs-Si4Pic+Cl-.....	51
4.4 Preparação da dispersão de Au NPs Si4Pic+Cl--Fe3O4 NPs-Si4Pic+Cl-.....	52
4.5 Preparação do eletrodo modificado.....	52
4.6 Preparação das amostras.....	53
4.7 Instrumentação.....	54
4.7.1 Medidas eletroquímicas.....	54
4.7.2 Medidas de microscopia eletrônica.....	55
4.7.3 Medidas de espectroscopia UV-vis.....	55

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
5.1 Otimização do preparo das dispersões de nanopartículas e do eletrodo modificado.....	57
5.2 Caracterização das dispersões de nanopartículas e do eletrodo modificado.....	60
5.2.1 Caracterização da dispersão de Au NPs-Si4Pic ⁺ Cl ⁻	60
5.2.2 Caracterização da dispersão de Fe ₃ O ₄ NPs-Si4Pic ⁺ Cl ⁻	63
5.2.3 Caracterização do eletrodo modificado Fe ₃ O ₄ NPs-Si4Pic ⁺ Cl ⁻ /Au NPs-Si4Pic ⁺ Cl ⁻ /GCE.....	64
5.3 Comportamento eletroquímico do BPA.....	69
5.3.1 Estudo do pH e natureza do eletrólito suporte.....	71
5.3.2 Estudo da velocidade de varredura.....	73
5.4 Seleção da técnica eletroanalítica.....	76
5.4.1 Otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial.....	77
5.5 Curva de calibração para o BPA.....	79
5.6 Determinação de BPA em amostras de plásticos comerciais.....	84
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	91
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

1. INTRODUÇÃO

A aplicação de técnicas eletroanalíticas na determinação dos mais diversos tipos de compostos vêm difundindo-se pela numerosa quantidade de vantagens que estas técnicas podem oferecer. O baixo custo, rapidez operacional, alta sensibilidade, e nos últimos anos, a miniaturização e portabilidade dos equipamentos são fatores que aumentaram ainda mais o interesse nesta área de pesquisa. Hoje, por exemplo, é possível se realizar determinações eletroanalíticas *in loco*.

Nessa área, a busca por sensores cada vez mais sensíveis e seletivos através da modificação da superfície de eletrodos convencionais apresenta um grande crescimento. Nota-se na literatura, que modificadores contendo nanopartículas metálicas são amplamente utilizados. Isso se deve ao fato das nanopartículas metálicas apresentarem propriedades particularmente importantes em relação ao seu material em tamanho macroscópico.

Aliando as técnicas eletroanalíticas a um bom detector eletroquímico, diversos tipos de compostos podem ser detectados, estudados e quantificados em diferentes tipos de amostras. Há um interesse na determinação de compostos com a ação de desregulação endócrina, como o bisfenol A, que mesmo em níveis nanomolares pode vir a causar problemas a saúde humana.

Nesse sentido, este trabalho descreve o desenvolvimento de um eletrodo quimicamente modificado baseado na modificação de um substrato de carbono vítreo com um filme de nanopartículas de óxido de ferro depositado sobre um filme de nanopartículas de ouro, ambas estabilizadas em cloreto de 3-*n*-propil-4-picolina silsesquioxano para investigação do comportamento eletroquímico do bisfenol A e realizar a determinação quantitativa deste composto em amostras comerciais de embalagens de plástico.

Para fins de apresentação, esta dissertação foi dividida em seis seções, além desta introdutória. É apresentada na seção 2 uma revisão bibliográfica sobre os temas em estudo. Nas seções 3 e 4 são apresentados os objetivos e a parte experimental, respectivamente. Os resultados para a caracterização do detector proposto e da metodologia eletroanalítica para detecção do bisfenol A são apresentados na seção 5, juntamente com a discussão sobre eles. Na seção 6 são feitas as considerações finais do trabalho e, por fim, na seção 7 são exibidas as referências bibliográficas que foram utilizadas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Eletrodos quimicamente modificados

Em razão à crescente necessidade de identificação e quantificação de analitos de maneira rápida, específica e em concentrações cada vez menores, vem sendo desenvolvidos os eletrodos quimicamente modificados (do inglês, *chemically modified electrodes* – CMEs). Segundo a definição da IUPAC, um CME é um dispositivo feito de um material condutor ou semicondutor que é modificado com um componente químico monomolecular, multimolecular, iônico ou filme polimérico e que apresenta propriedades químicas, eletroquímicas e ópticas diferentes com relação a transferência de carga ou ao potencial de superfície (DURST *et al.*, 1997; CIUCU, 2014).

De maneira geral, o objetivo principal da modificação é controlar as propriedades físico-químicas da interface eletrodo-solução, como por exemplo, melhorar a transferência eletrônica entre o eletrodo e o analito em solução, aumentando a sensibilidade e a seletividade, diminuindo o potencial da reação, entre outras propriedades. Segundo Pereira e colaboradores (2002), a utilização de um CME deve ser justificada sempre pelo aumento da sensibilidade e/ou seletividade numa determinação eletroanalítica (SOUZA, 1997; PEREIRA, SANTOS e KUBOTA, 2002; EDWARDS, BERGREN e PORTER, 2007).

A escolha do método mais adequado para a modificação do eletrodo base (substrato) deve levar em consideração as características analíticas desejadas para o CME e principalmente o substrato, cuja superfície sofrerá a modificação. Além de propriedades eletroquímicas apropriadas o substrato deve ser adequado para o tipo de imobilização escolhida. Dentre os substratos convencionais mais empregados para modificação, destacam-se os eletrodos metálicos de ouro, platina e cobre; e os materiais carbonáceos, como o carbono vítreo e o carbono grafite (SOUZA, 1997; PEREIRA, SANTOS e KUBOTA, 2002; EDWARDS, BERGREN e PORTER, 2007).

Para a incorporação do agente modificador sobre o substrato são amplamente utilizados os métodos de: adsorção, ligação covalente, recobrimento com filmes poliméricos e preparação de compósitos (DURST *et al.*, 1997; PEREIRA, SANTOS e KUBOTA, 2002; ZEN, KUMAR e TSAI, 2003):

I – Adsorção: consiste na dissolução do agente modificador em um solvente apropriado seguida da exposição, geralmente por imersão, do

substrato na solução. Este método baseia-se nas interações físicas e/ou químicas entre a superfície do eletrodo e a solução modificadora. A monocamada auto-organizada de tióis (do inglês, *self-assembled monolayer* – SAM) adsorvida quimicamente sobre a superfície de eletrodo de ouro é um exemplo bastante conhecido. O método de adsorção foi o pioneiro no processo de modificação de superfície de eletrodos, sendo até hoje aplicado, devido a sua simplicidade (PEREIRA, SANTOS e KUBOTA, 2002; ZEN, KUMAR e TSAI, 2003).

II – Ligação covalente: nesta classe de modificação, o modificador é ligado covalentemente a superfície do substrato. Muitas vezes são usados grupos funcionais específicos para tal finalidade, como reações de silanização e presença de óxidos. Os silanos podem atuar com um tipo de ponte para imobilizar um grupo funcional específico. A superfície de eletrodos a base de carbono também pode ser modificada por este método devido à presença de grupos funcionais como ácidos carboxílicos, cetonas, anidridos e álcoois. Dessa forma, a modificação da superfície do substrato é fundamentada na manipulação de tais grupos funcionais frente a compostos como aminas, organosilanos, entre outros. Apesar disto, a limitação de apenas uma monocamada pode restringir a quantidade de espécies eletroativas na superfície do eletrodo. Esta desvantagem pode ser contornada com a utilização de filmes poliméricos (PEREIRA, SANTOS e KUBOTA, 2002; ZEN, KUMAR e TSAI, 2003).

III – Filmes poliméricos: refere-se ao recobrimento da superfície do substrato com filmes de polímeros condutores ou permeáveis ao eletrólito de suporte e a espécie de interesse. Em geral, existem quatro classes de filmes poliméricos utilizados para esta finalidade: (1) os filmes condutores são muito empregados em virtude a sua característica de aumentar a velocidade de transferência de elétrons; (2) os filmes de troca iônica, onde o componente redox ativo é um contra íon de um filme poli-iônico como Nafion ou polivinilpiridina; (3) os filmes não condutores, os quais possuem uma característica permisseletiva sendo muito empregados em biossensores para imobilização de biocomponentes e mediadores (PEREIRA, SANTOS e KUBOTA, 2002; ZEN, KUMAR e TSAI, 2003).

IV – Formação de compósitos: este método consiste na mistura do agente modificador diretamente com o substrato. Nesta classe, são empregados materiais como argila, zeólitas, polímeros, entre outros. Modificações em eletrodos a base de carbono, como por exemplo, em eletrodos de pasta de carbono (do inglês, *carbon paste electrode* – CPE). Basicamente um CPE consiste de grafite em pó (ou outros materiais de

carbono), um agente aglutinante (como por exemplo, um óleo mineral) e o modificador. Desta forma, o CPE tem uma preparação fácil e barata, pois podem ser usados materiais de fácil obtenção (DURST *et al.*, 1997; PEREIRA, SANTOS e KUBOTA, 2002; ZEN, KUMAR e TSAI, 2003).

Sendo assim, a modificação da superfície do eletrodo poderá proporcionar uma melhoria na capacidade de reconhecimento e/ou na amplificação de sinais de corrente, tornando as determinações mais seletivas e sensíveis. Além disso, destacam-se características vantajosas referentes ao uso desses detectores como à portabilidade, facilidade de automação e possibilidade de miniaturização dos aparelhos (PEREIRA, SANTOS e KUBOTA, 2002; LOWINSOHN e BERTOTTI, 2006).

Uma variedade de materiais pode ser utilizada como superfície eletroativa dependendo do tipo de substrato e da interação desejada, no qual as respostas obtidas dependem diretamente das condições da superfície. Neste contexto, o emprego de filmes sobre eletrodos representa uma maneira fácil e eficiente de se obter uma melhor interação entre o analito e a superfície eletroquimicamente ativa. Dentre os materiais aplicados para formação de filmes, destacam-se os polímeros, surfactantes, nanopartículas metálicas como de ouro, platina, entre outros, e recentemente, nanopartículas magnéticas como as de óxido de ferro (ZEN, KUMAR e TSAI, 2003; ZHANG *et al.*, 2013).

2.2 Nanopartículas metálicas

A nanotecnologia expande a ciência dos materiais para a esfera de partículas e interfaces com dimensões extremamente pequenas, da ordem de 1 a 100 nanômetros. Este tipo de tecnologia tem fascinado pesquisadores nos últimos anos, principalmente no desenvolvimento de novos eletrodos modificados, pela expectativa que estes compostos nanoestruturados possam causar na melhoria da performance desses dispositivos (sensibilidade, detectabilidade, estabilidade) (MERKOÇI, 2007; ZARBIN, 2007; CAMPBELL e COMPTON, 2010).

As nanopartículas metálicas apresentam uma grande área superficial e, devido ao seu tamanho, frequentemente exibem propriedades ópticas, eletrônicas, magnéticas ou químicas distintas de partículas macroscópicas de seus metais de origem. Metais nobres, tais como ouro, prata e platina estão entre os metais mais investigados, em particular, devido as suas propriedades eletrônicas e eletrocatalíticas (PINGARRON, YANEZ-SEDENO e GONZALEZ-CORTES, 2008; CAMPBELL e COMPTON, 2010; IOST e CRESPILO, 2012).

2.2.1 Nanopartículas de ouro

Os registros mais antigos da existência de partículas de ouro em pequenas dimensões são conhecidos desde 400 a.C. com a taça de Lycurgus. As primeiras observações relevantes a este artefato estão relacionadas com a alteração em sua coloração com diferentes formas de incidência de luz, exibindo uma coloração esverdeada quando iluminado por fora e vermelha quando iluminado por dentro. Este efeito ótico deve-se à presença de nanopartículas de ouro e prata, que se encontram dispersas no vidro do cálice, originando um vidro dicróico (MARTINS e TRINDADE, 2012).

Apenas em 1857, os primeiros relatos do ponto de vista científico para as nanopartículas de ouro (Au NPs) surgiram por Michael Faraday, que relacionou a cor vermelha com o tamanho das partículas de ouro. Faraday sugeriu que a interação da luz visível com as partículas de ouro finamente divididas e dispersas no solvente era responsável pela cor observada. Quase um século depois, John Turkevich, através do uso de um microscópio eletrônico, descobriu que o tamanho médio das partículas de ouro com intensa coloração vermelha era inferior a 10 nm (TOMA, BONIFÁCIO e ANAISSI, 2005; MARTINS e TRINDADE, 2012).

Atualmente, sabe-se que a dimensão das nanopartículas metálicas está diretamente relacionada com a sua coloração. Com dimensões entre 2 e 20 nm, as Au NPs apresentam uma coloração vermelha, devido às transições entre as bandas eletrônicas que acomodam os elétrons superficiais (plasmons), intitulada banda plasmônica. Com o aumento do tamanho, as Au NPs exibem uma coloração tendendo a violeta, em virtude do aumento na densidade de estados eletrônicos e consequente diminuição da energia de transição entre as bandas (TOMA, BONIFÁCIO e ANAISSI, 2005).

Um pico de absorção específico, atribuído à banda plasmônica, pode ser obtido em determinada região do espectro, permitindo assim, a caracterização de nanopartículas metálicas por espectroscopia UV-vis. No caso do ouro, nanopartículas com diâmetros médios inferiores a 10 nm apresentam um pico de absorção máximo, em meio aquoso, em torno de 517 nm, enquanto que diâmetros médios de 48 e 99 nm apresentam picos de absorção máximo em 533 e 575 nm, respectivamente (TOMA, BONIFÁCIO e ANAISSI, 2005; MARTINS e TRINDADE, 2012; MELO JR *et al.*, 2012).

A síntese de Au NPs é um procedimento relativamente simples. O método mais comum foi desenvolvido por John Turkevich em 1951,

empregando o íon citrato, em meio aquoso, como agente estabilizante e redutor do ácido tetracloroaurico (HAuCl_4) para formar Au NPs com diâmetros médios de 20 nm. Atualmente, outros métodos empregam o boro hidreto de sódio (NaBH_4) como agente redutor e assim podem ser fornecidas Au NPs com diâmetros médios inferiores a 10 nm (SAHA *et al.* 2012).

As Au NPs possuem distintos atributos químicos e físicos. Podem ser sintetizadas de maneira simples, podendo ser altamente estáveis, fornecendo alta área superficial, além de possuírem uma excelente biocompatibilidade. Propriedades como estas vem tornando as Au NPs excelentes bases para o desenvolvimento de novos dispositivos químicos e biológicos (SAHA *et al.*, 2012).

Na Tabela 1 foram resumidos alguns trabalhos recentes que empregaram Au NPs estabilizadas em diferentes materiais para o desenvolvimento de eletrodos modificados. São apresentadas também as técnicas eletroanalíticas aplicadas e os limites de detecção (do inglês, *limit of detection* – LOD) obtidos nas metodologias para a determinação eletroanalítica das espécies investigadas.

Tabela 1. Trabalhos utilizando eletrodos modificados com Au NPs para detecção de diferentes compostos.

Eletrodo modificado	Analito	Técnica	LOD (nM)	Referência
GCE ^a modificado com compósito de Au NPs e nanofibras de grafeno “empilhadas”	bisfenol A	LSV ^b	35,0	NIU <i>et al.</i> , 2013
GCE modificado com filme de Au NPs estabilizadas em hidrocloreto de polialilamina	vanilina	SWV ^c	55,0	SILVA <i>et al.</i> , 2015
GCE modificado com óxido de grafeno reduzido (rGO), Au NPs e um polímero impresso	carbofurano	DPV ^d	20,0	TAN <i>et al.</i> , 2015
GCE modificado com nanocompósito de Au NPs e <i>quantum dots</i> de grafeno	quercetina	DPV	2,0	LI <i>et al.</i> , 2016a

CPE ^c modificado com sílica mesoporosa e Au NPs	catecol hidroquinona	SWV	1100,0 1200,0	TASHKHOU RIN <i>et al.</i> , 2016
--	-------------------------	-----	------------------	---

^a GCE: eletrodo de carbono vítreo, ^b LSV: voltametria de varredura linear, ^c SWV: voltametria de onda quadrada, ^d DPV: voltametria de pulso diferencial, ^e CPE: eletrodo de pasta de carbono

2.3 Nanopartículas magnéticas

As nanopartículas magnéticas constituem uma classe de nanomateriais que direcionam sua movimentação na presença de campo magnético. Trata-se de compostos formados por elementos metálicos, dos quais se destacam ferro, níquel, cobalto, como também ligas metálicas e óxidos metálicos nanoparticulados (ARRUEBO *et al.*, 2007; LU, SALABAS e SCHÜTH, 2007).

Quando comparado aos materiais macroscópicos, os nanomateriais magnéticos apresentam propriedades magnéticas diferenciadas, normalmente exibindo fenômenos como superparamagnetismo e alta susceptibilidade magnética. Além destas características únicas, as nanopartículas magnéticas ainda apresentam biocompatibilidade, baixa toxicidade, alta área superficial, fácil separação sob campos magnéticos (XU *et al.*, 2014).

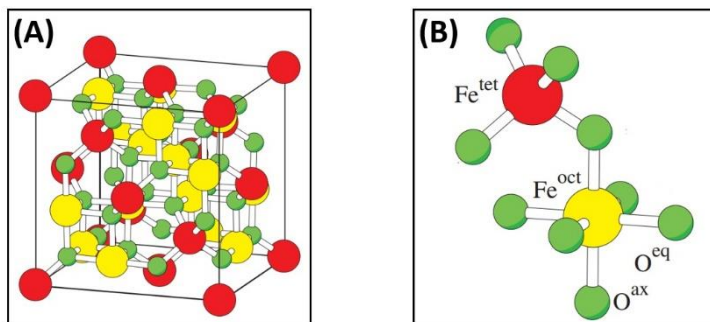
2.3.1 Nanopartículas de óxido de ferro

Dentre os óxidos metálicos nanoparticulados, as nanopartículas de óxido de ferro (Fe₃O₄ NPs), de nome usual magnetita, pode ser considerado seu principal representante. Isto acontece por este nanomaterial apresentar uma série de características que o tornam base para a construção de sistemas mais complexos e com aplicações nas mais diferentes vertentes científicas (HASANY *et al.*, 2013).

As partículas de Fe₃O₄, que também podem ser escritas como FeO.Fe₂O₃, possuem uma estrutura espinélio cúbico inversa, conforme ilustra a Figura 1. A temperatura ambiente, os íons Fe²⁺ ocupam metade dos sítios octaédricos, enquanto que os íons Fe³⁺ estão igualmente divididos entre os sítios octaédricos restantes e tetraédricos. O posicionamento antiparalelo dos spins dos elétrons de íons Fe²⁺ e Fe³⁺ e as diferentes intensidades dos momentos magnéticos, faz com que haja um fraco momento magnético resultante, o que ocasiona um magnetismo permanente nas partículas de Fe₃O₄, classificando-as como

ferrimagnéticas (MARTINS e TRINDADE, 2012; HASANY *et al.*, 2013).

Figura 1. Representação de (A) célula unitária espinélio de face centrada para Fe_3O_4 e (B) ampliação de um tetraedro e um octaedro adjacente compartilhando um átomo de oxigênio. As esferas maiores representam os átomos de ferro Fe^{tet} e Fe^{oct} sob sub-redes tetraédricas e octaédricas, respectivamente. Esferas menores são os átomos de oxigênio.



Adaptado de FRIÁK, SCHINDLMAYR e SCHEFFLER, 2007.

As Fe_3O_4 NPs podem ser sintetizadas através da mistura de sais de Fe^{2+} e Fe^{3+} em meio aquoso seguido de precipitação com hidróxido. O método é relativamente simples, porém o produto formado pode resultar num largo espectro de tamanho das partículas de óxido formadas. O controle de tamanho, forma e composição das partículas formadas depende do tipo de sal utilizado (cloretos, sulfatos, nitratos), razão entre os íons de ferro ($\text{Fe}^{2+}:\text{Fe}^{3+}$), pH e velocidade de agitação (WU *et al.*, 2015).

Assim como as demais nanopartículas metálicas, as Fe_3O_4 NPs possuem alta energia superficial o que as torna instáveis e susceptíveis a agregação. Além disso podem sofrer oxidação na presença de oxigênio. Para superar tais limitações, métodos de estabilização e modificação de superfície têm sido desenvolvidos para proteger as Fe_3O_4 NPs, aperfeiçoando não só sua estabilidade, como também biocompatibilidade, biodegradabilidade e dispersibilidade. Estes métodos incluem o emprego de moléculas orgânicas, surfactantes, polímeros, biomoléculas, como também revestimentos com agentes inorgânicos tais como sílica, carbono, ouro, prata, entre outros (LU, SALABAS e SCHÜTH, 2007; WU, HE e JIANG, 2008; XU *et al.*, 2014).

Conforme apresentado, os métodos de estabilização e principalmente funcionalização das Fe₃O₄ NPs aperfeiçoam suas propriedades o que potencializa sua aplicação nas mais diversas áreas. Pode-se destacar seu uso na área de biomedicina, bioengenharia, farmacêutica, alimentos, tratamento ambiental, e recentemente, no desenvolvimento de novos sensores eletroquímicos (XU *et al.*, 2014).

Na Tabela 2 foram resumidos alguns trabalhos recentes que empregaram Fe₃O₄ NPs estabilizadas em diferentes materiais, bem como sua aplicação como modificadores de eletrodos para a determinação eletroanalítica de diversas espécies.

Tabela 2. Trabalhos utilizando eletrodos modificados com Fe₃O₄ NPs para detecção de diferentes compostos.

Eletrodo modificado	Analito	Técnica	LOD (nM)	Referência
EPC modificado com quitosana revestida com Fe ₃ O ₄ NPs	morfina	DPV	3,0	DEHDASHTI AN <i>et al.</i> , 2016
GCE modificado com folhas de grafeno e Fe ₃ O ₄ NPs funcionalizadas com grupo amino	dopamina		126,0	WU <i>et al.</i> , 2014
	ácido ascórbico	DPV	74,0	
	ácido úrico		56,0	
GCE modificado com nanocompósito de <i>quantum dots</i> de grafeno, Fe ₃ O ₄ NPs e nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado	progesterona	DPV	2,18	ARVAND e HEMMATI, 2017
GCE modificado com nanocompósito de óxido de grafeno reduzido com Fe ₃ O ₄ NPs	Hg ²⁺		4,0	XIONG <i>et al.</i> , 2015
	Pb ²⁺	SWASV ^a	6,0	
	Cd ²⁺		8,0	
GCE modificado com nanocompósito de Fe ₃ O ₄ NPs suportados em negro de fumo	bisfenol A	DPV	0,031	HOU <i>et al.</i> , 2014

^a SWASV: voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada

2.4 Utilização de nanopartículas de ouro e óxido de ferro no desenvolvimento de eletrodos modificados

São relatados também trabalhos utilizando Au NPs e Fe₃O₄ NPs juntas para o desenvolvimento de eletrodos modificados. A combinação destas nanopartículas gera um efeito sinérgico proporcionando maior sensibilidade para as metodologias eletroanalíticas.

Yu, Guo e Gu (2010) modificaram um GCE com nanocompósito de Fe₃O₄ NPs revestidas de Au NPs (Fe₃O₄@Au *core shell*) estabilizadas em aminoácido L-cisteína (Cys). Para fabricação do sensor, foram realizados dez ciclos por voltametria cíclica para imobilizar a Cys no GCE e então, o substrato foi imerso na dispersão de Fe₃O₄@Au NPs por 6 h a 4 °C. O sensor foi aplicado para determinação de nitrito em amostras de língua. Nas melhores condições experimentais, por DPV, os autores construíram a curva de calibração com faixa linear de $3,6 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de 0,82 µmol L⁻¹. O sensor foi aplicado com sucesso na quantificação de nitrito com ensaios de recuperação variando de 95,3 a 103,2% (YU, GUO e GU, 2010).

Erogul e colaboradores (2015) desenvolveram um eletrodo modificado a partir da eletrodeposição de Au NPs sobre a superfície de um GCE recoberto com óxido de grafeno funcionalizado com Fe₃O₄ NPs. Os autores relatam que a combinação entre as Au NPs e Fe₃O₄ NPs resulta em um efeito sinérgico que foi possível melhorar as intensidades de corrente e a reversibilidade dos compostos catecol e hidroquinona. A curva de calibração para o catecol foi 2,0 a 145,0 µmol L⁻¹ com limite de detecção de 0,8 µmol L⁻¹, e para a hidroquinona a faixa obtida foi de 3,0 a 137,0 µmol L⁻¹ obtendo 1,1 µmol L⁻¹ de limite de detecção. Com isto, foi possível realizar a determinação simultânea destes compostos em água de torneira, resultando em um intervalo de recuperação satisfatório (EROGUL *et al.*, 2015).

Sun e co-autores (2017) desenvolveram um imunossensor para determinação do hormônio cortisol. Empregando um GCE recoberto com náfon e óxido de grafeno reduzido funcionalizado com Fe₃O₄ NPs e posterior eletrodeposição de Au NPs, os autores justificaram o uso combinado das nanopartículas pela alta condutividade e biocompatibilidade proporcionados. O imunoenensaio envolveu a imobilização do cortisol na superfície do eletrodo modificado e a presença do anticorpo anti-cortisol marcado com enzima peroxidase (HRP), para o monitoramento da sonda redox o-fenilenodiamina com H₂O₂. Assim, por DPV, a curva de calibração obtida para o cortisol foi na faixa de 0,1 a

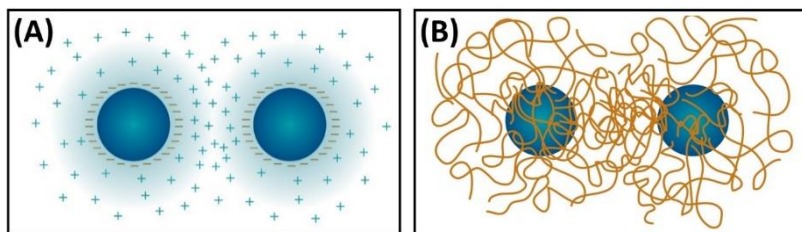
1000 ng mL⁻¹ com limite de detecção de 0,05 ng mL⁻¹. Sendo possível determinar com sucesso cortisol em amostras de soro humano (SUN *et al.*, 2017).

2.5 Estabilização das nanopartículas

A presença de agentes estabilizantes é um fator muito importante na síntese de nanopartículas, pois estas são termodinamicamente instáveis e tendem a se agregar. Isto acontece porque as nanopartículas apresentam uma área superficial elevada, o que ocasiona uma elevação da energia total do sistema. Assim, as partículas tendem a se aglomerarem e crescerem, para assim diminuir a energia total do sistema (KUMAR, 2005; HANG *et al.*, 2009).

Para estabilizar as nanopartículas, aplicam-se alterações que as impeçam de se aproximarem umas das outras o suficiente para se agregarem. Basicamente há dois métodos: repulsão eletrostática (estabilização eletrostática) e impedimento estérico (estabilização estérica) (HANG *et al.*, 2009; MITCHNICK, 2009). A estabilização eletrostática (Figura 2A) pode ser obtida empregando compostos iônicos, tais como, carboxilatos, haletos ou poliânions dissolvidos em água. Estes compostos, juntamente com seus contra-íons, podem se adsorver sobre a superfície das nanopartículas originando uma dupla camada elétrica ao seu redor, a qual gera uma repulsão Coulombica entre elas, evitando a agregação. Para uma estabilização estérica (Figura 2B) utilizam-se polímeros e oligômeros, no qual, podem recobrir as nanopartículas diminuindo o espaço entre elas e, assim, causar a diminuição da entropia do sistema. Este tipo de estabilização se baseia nas interações hidrofóbicas que predominam entre a cadeia polimérica e a superfície das nanopartículas (SILVA, 2014).

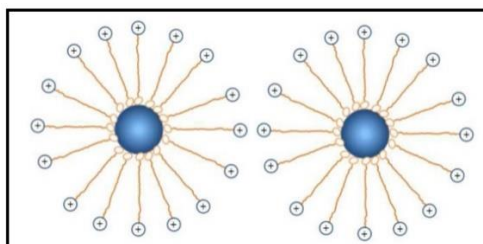
Figura 2. Representação de (A) estabilização eletrostática e (B) estabilização estérea de nanopartículas.



Adaptado de MITCHNICK, 2009.

Além do mais, as estabilizações eletrostática e estérea podem ser combinadas dando origem a uma estabilização do tipo eletroestérea (Figura 3). Esta estabilização pode ser obtida, por exemplo, utilizando surfactantes iônicos, em que a cabeça polar destes compostos pode gerar uma dupla camada elétrica, enquanto que a cadeia lipofílica pode gerar uma repulsão estérea (FRITZ *et al.*, 2002).

Figura 3. Representação da estabilização eletroestérea de nanopartículas metálicas.



Adaptado de MITCHNICK, 2009.

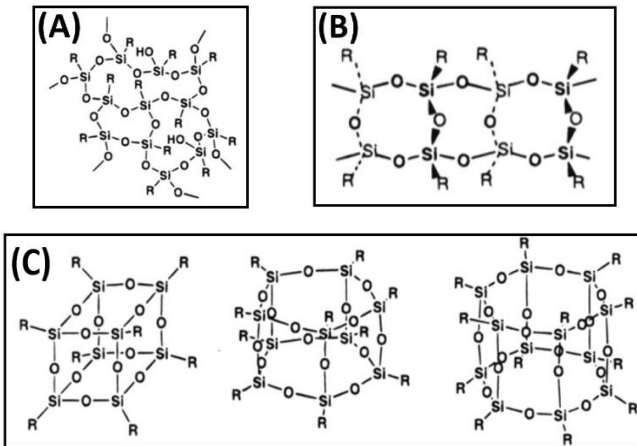
Recentemente, para estabilização eletroestérea, são relatados trabalhos empregando os silsesquioxanos como bons estabilizantes de nanopartículas em meio aquoso. Além disto, estes materiais ainda possuem a habilidade de formar filmes estáveis sob diversas superfícies, o que desperta a atenção para o desenvolvimento de novos dispositivos eletroquímicos (DE MENEZES *et al.*, 2012; SILVA, 2014).

2.6. Silsesquioxanos

Silsesquioxanos são materiais híbridos orgânico-inorgânicos preparados a partir da combinação de compostos orgânicos e inorgânicos dispondo de propriedades diferenciadas de seus precursores. Estas propriedades diferenciadas surgem da associação de características mecânicas e térmicas, como por exemplo, de materiais cerâmicos, com a processabilidade e a flexibilidade de compostos orgânicos (BANEY *et al.*, 1995; RO e SOLES, 2011).

O termo silsesquioxano se refere a estruturas com a fórmula empírica $(\text{RSiO}_{3/2})_n$, em que R pode ser um hidrogênio ou um substituinte orgânico como um alquil, vinil, aril, fenil ou um grupo organofuncional derivado de algum desses grupos. Assim, há três ligações silicatos para cada átomo de Si e um substituinte orgânico pendente, o que faz com que os silsesquioxanos sejam propensos a formar redes com ligações cruzadas. As unidades $\text{RSiO}_{3/2}$ podem se combinar formando diferentes estruturas como aleatórias, bidimensionais e inclusive poliedros, conforme apresenta a Figura 4 (BANEY *et al.*, 1995; CORDES, LICKISS e RATABOUL, 2010).

Figura 4. Estruturas químicas dos silsesquioxanos: (A) aleatória, (B) bidimensional e (C) poliédricas. Em que R pode ser um hidrogênio ou um substituinte orgânico.



Adaptado de BANEY *et al.*, 1995.

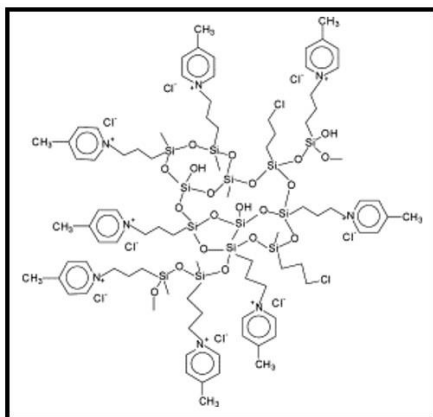
A síntese destes compostos ocorre pela incorporação de ligantes orgânicos à rede de sílica gerada *in situ*, através do processo sol-gel. Neste processo, os géis poliméricos são geralmente preparados a partir de soluções de compostos precursores como, por exemplo, o tetraetilortossilicato (TEOS) e o 3-cloropropiltrimetixissilano (CPTMS) para promover as reações de hidrólise e condensação. O ajuste da proporção desses compostos na síntese, assim como o tempo de reação, pode gerar silsesquioxanos solúveis ou insolúveis em água (GUSHIKEM, BENVENUTTI e KHOLIN, 2008; DE MENEZES *et al.*, 2012a).

As propriedades únicas dos silsesquioxanos oferecem uma grande potencialidade de aplicação em diversas áreas. Como, por exemplo, em dispositivos ópticos, dispositivos eletrônicos, em catálise homogênea e heterogênea, biomateriais, revestimentos, entre outras. Além disso, silsesquioxanos que apresentam carga em sua estrutura química podem atuar como excelentes adsorventes. Esta propriedade juntamente com sua solubilidade em água, tem tornado possível também o uso destes materiais como agentes estabilizantes de nanopartículas. (ARGUELLO *et al.*, 2010; MAGOSSO, LUZ e GUSHIKEM, 2010; SILVA *et al.*, 2014).

2.6.1 Cloreto de 3-*n*-propil-4-picolina silsesquioxano

O polímero cloreto de 3-*n*-propil-4-picolina silsesquioxano ($\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$) é um tipo de silsesquioxano que possui em sua estrutura cargas positivas devido à presença do grupo picolina. Magosso e colaboradores (2006) caracterizaram o polímero $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$ utilizando análise de ressonância magnética nuclear de ^{13}C e de espectroscopia de infravermelho. Eles concluíram que este silsesquioxano apresenta uma grande rede polimérica com estrutura do tipo aleatória, como mostrado na Figura 5 (MAGOSSO *et al.*, 2006).

Figura 5. Representação da estrutura química do tipo aleatória do polímero $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$.



Reproduzida de MAGOSSO *et al.*, 2006.

Dependendo da quantidade dos grupos catiônicos picolina, o $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$ pode ser sintetizado tanto na forma solúvel quanto insolúvel em água. A carga positiva destes grupos faz com que este composto seja capaz de imobilizar espécies aniônicas, tais como em estudos de adsorção para complexos do tipo MCl_4^{2-} e MCl_3^- (onde $\text{M} = \text{Zn}^{2+}$, Cd^{2+} , Hg^{2+}) em meio aquoso. Outras características atribuídas ao $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$ incluem a possibilidade de formar filmes em substratos sólidos e estabilização de nanopartículas (MAGOSSO *et al.*, 2006; DE MENEZES *et al.*, 2012b).

Silva e colaboradores (2013) utilizaram a forma insolúvel do $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$ para modificar um eletrodo de pasta de carbono. O dispositivo desenvolvido foi investigado na detecção seletiva de catecol e hidroquinona. Comparado com substrato, uma melhora na reversibilidade e um aumento nas correntes do processo redox envolvendo hidroquinona e catecol foram evidenciados, permitindo a detecção sequencial destes isômeros. Os autores atribuíram este fato ao desempenho do silsesquioxano presente na pasta de carbono. As curvas de calibração obtidas por DPV foram lineares na faixa de concentração de 10,0 a 450,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a hidroquinona e de 10,0 a 300,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o catecol, com um LOD de 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para os dois isômeros (SILVA *et al.*, 2013).

Silva e co-autores (2014) também determinaram isômeros de nitrofenóis empregando um GCE modificado com filme de Au NPs estabilizadas em solução aquosa de $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$ ($2,0 \text{ g L}^{-1}$). Através de resultados de DPV, os autores obtiveram uma separação de 144 mV entre os potenciais de pico de redução do *o*-nitrofenol e do *p*-nitrofenol. Com isso, puderam detectar os isômeros tanto individualmente, como simultaneamente. As curvas de calibração obtidas foram lineares tanto para o *p*-nitrofenol quanto para o *o*-nitrofenol na faixa de 0,1 a $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$. O LOD de ambos os isômeros foi na ordem de nmol L^{-1} (SILVA *et al.*, 2014).

2.7 Desreguladores endócrinos

Os desreguladores endócrinos (do inglês, *endocrine disruptor chemicals* – EDC), são substâncias químicas de origem natural ou sintética capazes de desregular o sistema endócrino animal. De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, um EDC é definido como um agente exógeno que interfere na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais do corpo, os quais são responsáveis pela manutenção, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento dos organismos (BILA e DEZOTTI, 2007).

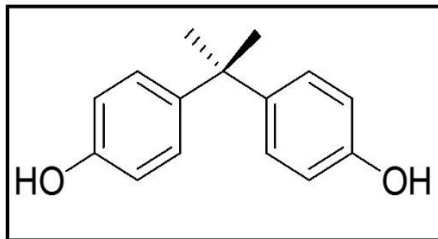
Os EDC incluem substâncias sintéticas e naturais, que são utilizadas e produzidas para diversas finalidades, podendo ser classificados em dois grupos. O primeiro inclui substâncias sintéticas usadas na agricultura (pesticidas, herbicidas, fungicidas), nas indústrias (dioxinas, bifenilas policloradas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, ftalatos, bisfenol A, etc.), compostos farmacêuticos (estrogênios sintéticos como dietilestilbestrol) entre outros. A segunda classe inclui substâncias naturais, como os fitoestrogênios (lignanós, isoflavonas e coumestanos) e estrogênios naturais (como por exemplo, 17β -estradiol, estrona e estriol) (BILA e DEZOTTI, 2007; GHISELLI e JARDIM, 2007).

As principais dificuldades encontradas na determinação destas substâncias estão relacionadas à complexidade das amostras de matrizes ambientais e nas baixas concentrações dos EDC (na ordem de ng L^{-1}), porém fisiologicamente ativas (BILA e DEZOTTI, 2007; GHISELLI e JARDIM, 2007).

2.7.1 Bisfenol A

O bisfenol A (do inglês, *bisphenol A* – BPA) é um composto fenólico, conforme mostrado na Figura 6, que vem despertando preocupação devido à atividade de desregulação endócrina. Podendo-se tornar um sério problema toxicológico e de saúde pública, principalmente pela sua ação em baixas concentrações e pela sua grande produção, aplicação industrial e fontes de exposição, o BPA tem recebido atenção da comunidade científica e de organizações relacionadas à segurança alimentar (BERNARDO *et al.*, 2015).

Figura 6. Representação da estrutura química do bisfenol A.



O BPA é um dos produtos químicos mais produzidos em quantidade em todo o mundo, mais de 3,8 milhões de toneladas produzidos em 2014, e projeções de mais de 5,4 milhões de toneladas produzidas em 2015 (STIEFEL *et al.*, 2016). É utilizado como monômero principalmente na síntese de policarbonato (PC) e de resinas epóxi, sendo também aplicado na síntese de poliácrlato, policloreto de vinila (PVC), resinas de poliéster insaturadas e retardadores de chama (RAGAVAN, RASTOGI e THAKUR, 2013; BERNARDO *et al.*, 2015).

A partir do PC e PVC, uma ampla variedade de embalagens de alimentos e utensílios pode ser produzida, tais como mamadeiras, garrafas de água, utensílios de mesa, entre outros. As resinas epóxi são também utilizadas como revestimento interno de latas de alimentos e bebidas, por exemplo, na estocagem de alimentos processados. A partir disso, o BPA pode lixiviar para os alimentos e água ao longo do tempo quando este tipo de embalagem é submetido a um aumento de temperatura (RAGAVAN, RASTOGI e THAKUR, 2013; MUHAMAD *et al.*, 2016).

Muitos efeitos prejudiciais à saúde têm sido atribuídos ao BPA. Considerado um desregulador endócrino, o BPA interfere no sistema hormonal, promovendo uma série de efeitos adversos tais como a proliferação de células de câncer de mama, hiperprolactinemia, além da diminuição do tamanho da próstata, testículos, epidídimos e vesícula seminal, e ainda, na diminuição dos níveis de testosterona e espermatozoides. Estudos demonstraram que concentrações de $0,23 \text{ ng L}^{-1}$ de BPA já são suficientes para afetar a saúde humana (RAGAVAN, RASTOGI e THAKUR, 2013; ROCHESTER, 2013).

Para garantir a saúde humana, vários países vêm tomando medidas de segurança e controle deste composto. Em 2006, a União Europeia estabeleceu uma ingestão diária aceitável para o BPA de $0,05 \text{ mg Kg}^{-1}$ de peso corpóreo por dia. E em 2011, ainda fixou um limite máximo de migração específica de BPA de $0,6 \text{ mg Kg}^{-1}$ de alimento em embalagens plásticas destinadas a entrar em contato com alimentos (BERNARDO *et al.*, 2015).

Já no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA, elaborou uma legislação que trata da migração em materiais, embalagens e equipamentos plásticos destinados a entrar em contato com alimentos. Na Resolução RDC nº 17/2008, a ANVISA estabelece o um limite de migração específica de BPA de $0,6 \text{ mg Kg}^{-1}$ de alimento em embalagens plásticas destinadas a entrar em contato com alimentos. E posteriormente pela Resolução RDC nº 41/2011, a ANVISA proibiu a fabricação e importação de mamadeiras para alimentação de lactentes que contenham o BPA na sua composição (BERNARDO *et al.*, 2015).

Uma recente publicação reúne diversos trabalhos com a finalidade de detecção de BPA em alimentos, amostras biológicas, amostras ambientais, entre outras matrizes. Empregando diferentes métodos de extração e técnicas de detecção, são relatados trabalhos principalmente de cromatografia líquida de alta performance e cromatografia gasosa, geralmente acopladas a espectrometria de massa. Também são mencionadas metodologias a partir da eletroforese capilar e técnicas eletroanalíticas com uma variedade de eletrodos de trabalho (SUN *et al.*, 2016).

Pereira e colaboradores (2012) desenvolveram uma metodologia para determinação de BPA empregando a DPV e o eletrodo de diamante dopado com boro sem modificação. A sensibilidade do método foi aumentada aplicando um pré-tratamento catódico (-250 mA cm^{-2} , 180 s) no eletrodo, em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, o que ocasionou em terminações de hidrogênio na superfície do eletrodo. A curva de

calibração para o BPA foi construída de 0,44 a 5,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com LOD de 0,21 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A metodologia foi aplicada com sucesso em estudos de adição e recuperação em diferentes amostras de água para determinação de BPA (PEREIRA *et al.*, 2012).

Arabali e colaboradores (2016) modificaram um CPE com nanopartículas de óxido de cádmio e com líquido iônico hexafluorofosfato de n-hexil-3-metilimidazólio. A curva de calibração para o BPA apresentou comportamento linear de 0,3 a 650,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com LOD igual a 0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os autores aplicaram o sensor desenvolvido na quantificação de BPA em diferentes tipos de alimentos enlatados: extrato de tomate, atum e milho. Em todas as amostras foi detectada a presença de BPA: 1,45; 4,43 e 2,22 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente (ARABALI *et al.*, 2016).

Alkasir e co-autores (2010) desenvolveram biossensores a base de enzima tirosinase (Ti) e de eletrodos de carbono impresso (do inglês, *screen printed carbon electrode* – SPCE). Os autores imobilizaram a enzima Ti com três diferentes tipos de nanopartículas: Au NPs, Fe_3O_4 NPs e Ni NPs e a partir disso desenvolveram três metodologias eletroanalíticas para o quantificação de BPA. Por amperometria, foram construídas as curvas de calibração, os LOD obtidos foram de 7,1; 8,3; e 10,0 nmol L^{-1} para Ni NPs-Ti/SPCE; Fe_3O_4 NPs-Ti/SPCE e Au NPs-Ti/SPCE. Assim, os resultados indicam que as Ni NPs podem ser aplicadas com sucesso no desenvolvimentos de biossensores, proporcionando resultados próximos a de materiais já promissores como Au NPs e Fe_3O_4 NPs (ALKASIR *et al.*, 2010).

Muitos trabalhos utilizam como substrato o GCE, assim são relatados eletrodos modificados para detecção de BPA a base de nanotubos de carbono (GOULART, MORAES e MASCARO, 2016); óxido de grafeno (DADKHAH *et al.*, 2016); líquidos iônicos (ZHAN *et al.*, 2016); enzimas (REZA *et al.*, 2015) e nanopartículas metálicas e magnéticas.

Hou e colaboradores (2014) desenvolveram um GCE modificado com filme de Fe_3O_4 NPs suportadas em negro de fumo para determinação de BPA. Os autores relatam a atividade catalítica promovida pela modificação do substrato, deslocando os potenciais de oxidação do BPA para valores menos positivos, além um ganho de corrente anódica na ordem de 30 vezes em relação do GCE. Através da SWASV, os autores obtiveram duas faixas lineares para o BPA, a primeira de 0,0001 a 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e a segunda de 1,0 a 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O LOD foi calculado em 0,031 nmol L^{-1} . Por fim, o detector foi aplicado com sucesso na

determinação de BPA em amostras de água mineral com recuperações entre 93,2 a 104,1 % (HOU *et al.*, 2014).

Niu e colaboradores (2013) modificaram um GCE com compósito de nanofibras de grafeno empilhadas (*stacked*) e Au NPs eletro depositadas para determinar BPA. Através da técnica de LSV, os autores obtiveram uma faixa linear para o BPA de 0,8 a 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com LOD de 35,0 nmol L^{-1} . O detector foi aplicado com sucesso na determinação de BPA em amostras de mamadeira com recuperações entre 98,9 a 102,1% (NIU *et al.*, 2013).

Outros trabalhos podem ser encontrados em uma recente revisão elaborada por Ragavan, Rastogi e Thakur (2013) para sensores e biosensores aplicados a detecção de BPA (RAGAVAN, RASTOGI e THAKUR, 2013).

Neste contexto, o presente trabalho descreve o desenvolvimento e a caracterização de um novo eletrodo modificado à base de Au NPs e Fe_3O_4 NPs estabilizadas em $\text{Si}4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$ para aplicação na quantificação de BPA.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver um novo detector eletroquímico a partir da modificação de um substrato de carbono vítreo com um filme de nanopartículas de óxido de ferro depositado sobre um filme de nanopartículas de ouro, ambas estabilizadas em solução aquosa de cloreto de 3-*n*-propil-4-picolina silsesquioxano, para a determinação de bisfenol A em amostras de plásticos comerciais.

3.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar Au NPs em solução aquosa de $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$;
- Preparar a dispersão de Fe_3O_4 NPs em solução aquosa de $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$;
- Otimizar a modificação da superfície do GCE com as dispersões de nanopartículas;
- Caracterizar as dispersões de nanopartículas através da técnica de TEM;
- Caracterizar morfológicamente e eletroquimicamente a superfície do GCE modificado através das técnicas de SEM e EIS;
- Estudar o comportamento eletroquímico do BPA sobre a superfície do eletrodo modificado;
- Otimizar os parâmetros experimentais (pH, eletrólito suporte, concentração de nanopartículas, técnica voltamétrica) de modo a se obter a máxima resposta eletroanalítica para o BPA;
- Investigar a reação de oxirredução do BPA sobre a superfície do eletrodo modificado;
- Obter a curva de calibração para o BPA;
- Determinar os parâmetros analíticos como faixa linear, limite de detecção e limite de quantificação;
- Avaliar a precisão dos dados obtidos pelo eletrodo modificado através de ensaios de repetibilidade intradia e interdia;
- Quantificar a concentração de BPA em amostras de plásticos comerciais através do método de adição de padrão;
- Avaliar a exatidão dos dados obtido pelo eletrodo modificado através de testes de adição e recuperação e pela comparação dos resultados com os obtidos pelo método comparativo.

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados são de grau analítico, obtidos da Sigma-Aldrich. As soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura, obtidas com o sistema Milli-Q (Millipore, EUA) com resistividade de 18,2 M Ω cm. A solução estoque de BPA foi preparada na concentração de 1,0 mmol L⁻¹ em etanol. As soluções de menor concentração foram preparadas mediante diluição. Cinco soluções tampão (0,1 mol L⁻¹) foram testadas como eletrólito suporte, são elas: Britton-Robinson (B-R) (H₃BO₃/CH₃COOH/H₃PO₄), McIlvaine (ácido cítrico/Na₂PO₄), NH₃/NH₄Cl, e H₃BO₃.KCl/NaOH. O pH das soluções foi ajustado com soluções de HCl ou NaOH (1,0 mol L⁻¹).

A soluções estoque de K₃[Fe(CN)₆], K₄[Fe(CN)₆] e KCl foram preparadas na concentração de 0,1 mol L⁻¹ em água ultrapura.

A forma solúvel do polímero Si₄Pic⁺Cl⁻ foi cedida gentilmente pelo Laboratório de Equilíbrios Químicos e Superfícies (LabEqS – UFSC), sendo a descrição da síntese e a caracterização deste material encontradas na literatura (SILVA *et al.*, 2014). A solução aquosa de Si₄Pic⁺Cl⁻ foi preparada na concentração de 2,0 g L⁻¹ em banho ultrassônico por 30 min para total solubilização do material.

4.2 Preparação da dispersão de Au NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻

A dispersão de Au NPs estabilizadas em Si₄Pic⁺Cl⁻ foi preparada baseada no trabalho de Silva e colaboradores (2014): 5,0 μ L de solução de ácido tetracloroaurico (HAuCl₄.3H₂O) 0,1 mol L⁻¹ foram adicionados em 2,5 mL de solução aquosa de Si₄Pic⁺Cl⁻ (2,0 g L⁻¹). A mistura foi agitada durante 5 min a temperatura ambiente e 200,0 μ L de solução de borohidreto de sódio 20,0 mmol L⁻¹ recentemente preparada foi adicionada rapidamente, sob agitação contínua. A dispersão obtida foi armazenada a 4 °C (SILVA *et al.*, 2014).

4.3 Preparação da dispersão de Fe₃O₄ NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻

As Fe₃O₄ NPs comerciais com diâmetro médio de cerca de 30 nm utilizados neste estudo foram adquiridas da Sigma-Aldrich. A dispersão de nanopartículas foi preparada pela adição de 3,75 mg de Fe₃O₄ NPs em

2,5 mL de uma solução aquosa de $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$ ($2,0 \text{ g L}^{-1}$). A mistura foi agitada durante 5 min à temperatura ambiente e armazenada a 4°C .

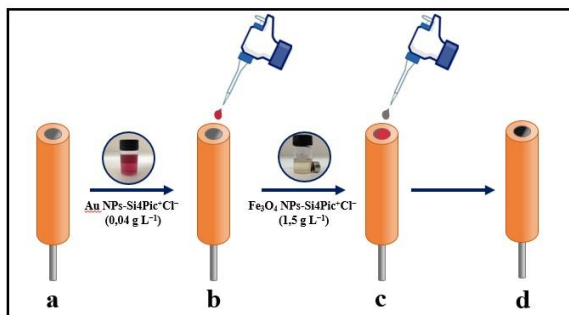
4.4 Preparação da dispersão de Au NPs $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$ - Fe_3O_4 NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$

Para fins de comparação, sintetizou-se Au NPs na presença de Fe_3O_4 NPs. Foi adotado o mesmo procedimento: $5,0 \mu\text{L}$ de solução de ácido tetracloroaurico ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionados em $2,5 \text{ mL}$ de solução aquosa de $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$ ($2,0 \text{ g L}^{-1}$) que já continha $2,5 \text{ mg}$ de Fe_3O_4 NPs. A mistura foi agitada durante 5 min a temperatura ambiente e $200,0 \mu\text{L}$ de solução de borohidreto de sódio $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foi adicionada rapidamente, sob agitação contínua.

4.5 Preparação do eletrodo modificado

O método *drop coating* foi utilizado para preparar o eletrodo modificado denominado Fe_3O_4 NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{Au}$ NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$, pelo seguinte procedimento representado na Figura 7: em (a) um substrato de GCE (diâmetro de 2 mm) foi cuidadosamente polido com óxido de alumínio ($0,05 \mu\text{m}$), lavado e transferido a um banho ultrassônico por 3 min em etanol. (b) Uma alíquota de $3,0 \mu\text{L}$ da dispersão de Au NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$ foi gotejada sobre a superfície do GCE e deixado secar numa estufa a 40°C durante 10 min. (c) Depois de seco, uma outra alíquota de $3,0 \mu\text{L}$, agora da dispersão de Fe_3O_4 NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-$, foi gotejada sobre a superfície do Au NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$ e novamente levado a estufa por 10 min para a total evaporação da água, formando o (d) eletrodo Fe_3O_4 NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{Au}$ NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$ que foi utilizado para desenvolvimento da metodologia.

Figura 7. Representação do processo de modificação do eletrodo de carbono vítreo em: (a) GCE limpo, (b) uma alíquota da dispersão de Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻ é gotejada sobre a superfície do GCE, (c) uma alíquota de 3,0 µL da dispersão de Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻ é gotejada sobre a superfície do Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE e (d) o eletrodo modificado Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE.



Para estudos de comparação, também foram construídos eletrodos modificados apenas com um filme de nanopartículas de ouro (Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE) ou somente com um filme de nanopartículas de Fe₃O₄ (Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE) através do gotejamento de uma alíquota de 3,0 µL das dispersões sobre a superfície do substrato de carbono vítreo.

4.6 Preparação das amostras

A fim de avaliar a performance do eletrodo modificado desenvolvido, adquiriu-se amostras de embalagens plásticas de diferentes matrizes poliméricas, tais como: copo de policarbonato (PC), copo descartável de poliestireno (PS), embalagem de alimento de cloreto de polivinila (PVC), garrafa de água de tereftalato de polietileno (PET) e embalagem plástica de alimento com o selo BPA *free*. Todas as amostras comerciais foram adquiridas de lojas em Florianópolis, SC. O tratamento das amostras comerciais foi baseado no trabalho publicado por Li e colaboradores (2012).

As amostras comerciais foram cortadas em pedaços de aproximadamente 1,0 × 1,0 cm, imersas em acetona (com exceção da amostra de PS, a qual foi imersa em etanol) e levadas a um banho de ultrassom para fazer uma limpeza prévia. Após isso, lavou-se os pedaços

sucessivamente com etanol e água ultrapura. Em seguida, pesou-se 1,0 g do material limpo e seco. Em um balão, acrescentou-se 30 mL de água ultrapura e o material plástico pesado e assim o sistema foi levado a aquecimento a 70 °C em banho de óleo por 48 h em refluxo. Após o resfriamento a temperatura ambiente, a solução foi filtrada, transferida a um balão volumétrico e avolumada com água ultrapura a 100 mL para as análises posteriores (LI *et al.*, 2012).

Para a análise voltamétrica, uma alíquota de 4,0 mL de amostra foi transferida para a célula eletroquímica juntamente com 6,0 mL de eletrólito suporte. O método de adição de padrão foi usado para avaliar o desempenho analítico do eletrodo modificado.

4.7 Instrumentação

4.7.1 Medidas eletroquímicas

A caracterização do eletrodo modificado Fe₃O₄ NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻/GCE por espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, do inglês, *electrochemical impedance spectroscopy*) foi realizada em um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT128N (Eco Chemie, Holanda) com módulo FRA de impedância, conectado a um *software* GPES (versão 4.9.007) para aquisição e processamento de dados. Os espectros de EIS foram obtidos em eletrólito suporte KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆] 5,0 mmol L⁻¹ em circuito aberto, amplitude de 5 mV e a faixa de frequência de 0,1 a 100 000 Hz. Tais medidas foram realizadas no Laboratório de Biossensores (LaBios – UFSC).

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato portátil PalmSens (Palm Instruments BV, Holanda) acoplado a um microcomputador com o *software* PSTrace (versão 4.6) para aquisição e processamento de dados. Para a realização das análises foi utilizada uma célula eletroquímica contendo três eletrodos: Fe₃O₄ NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻/GCE (ou somente GCE) como eletrodo de trabalho (área geométrica = 0,031 cm²), um eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl saturado) e um fio de platina como eletrodo auxiliar.

4.7.2 Medidas de microscopia eletrônica

Para a caracterização das dispersões de Au NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻ e Fe₃O₄ NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻ empregou-se a técnica de microscopia eletrônica de transmissão (TEM, do inglês, *transmission electron microscopy*) utilizando um microscópio eletrônico de transmissão de alta resolução modelo JEM-2100 (JEOL, Japão) operando a 100 kV. Para preparação das amostras, 5,0 µL das dispersões de Au NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻ e Fe₃O₄ NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻ foram gotejadas sobre uma rede milimétrica de cobre recoberta com carbono (300 *mesh*) que em seguida foi mantida sob temperatura ambiente por 24 h, para secagem completa. Por fim, estimou-se o tamanho médio (diâmetro) das nanopartículas, usando o *software* ImageJ, pela contagem de 200 partículas aleatoriamente escolhidas nas imagens que foram obtidas.

As caracterizações morfológicas do GCE e do eletrodo modificado foram realizadas através da técnica microscopia eletrônica de varredura com campo de emissão (SEM-FEG, do inglês, *scanning electron microscopy with field emission gun*) utilizando um microscópio JSM-6701F (JEOL, Japão) com voltagem de aceleração em 10 kV. Para isso, 5,0 µL das dispersões de Au NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻ e Fe₃O₄ NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻ foram gotejadas sobre uma placa de carbono vítreo com dimensões de 1,0 × 1,0 cm e espessura de 1,0 mm. Em seguida, as amostras foram mantidas em temperatura ambiente por 24 h para secagem total do solvente.

As análises de TEM e SEM-FEG foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME – UFSC).

4.7.3 Medidas de espectroscopia UV-vis

Para a caracterização da dispersão de Au NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻, o espectro foi registrado em uma faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm utilizando um espectrofotômetro ultravioleta-visível UV-1800 (Shimadzu, Japão) conectado a um *software* UVProbe (versão 2.50) para aquisição e processamento de dados. Utilizou-se uma célula de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

O mesmo espectrofotômetro foi utilizado para a realização do método comparativo aos dados obtidos pelo eletrodo modificado para a determinação de BPA. Os espectros foram registrados em uma faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm, e a curva de calibração foi

construída em água ultrapura utilizando o comprimento de onda máximo de absorbância em 279 nm através do método de adição de padrão.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

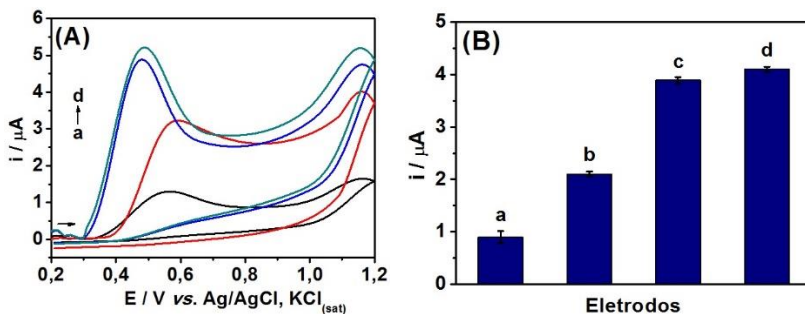
Publicado em: *Sensor. Actuat. B-Chem.*, 240, 487–496, 2017

5.1 Otimização do preparo das dispersões de nanopartículas e do eletrodo modificado

A fim de se obter um detector que consiga gerar um bom desempenho para a análise de BPA, foram avaliadas diferentes possibilidades de montagem do eletrodo modificado, bem como diferentes concentrações de Au NPs e Fe₃O₄ NPs estabilizadas em solução aquosa de Si₄Pic⁺Cl⁻ 2,0 g L⁻¹.

Primeiramente avaliou-se a preparação do eletrodo modificado com a possibilidade de realização de apenas um filme, como também, dois filmes separados e qual ordem estruturá-los. Para tal, sintetizou-se as Au NPs (0,04 g L⁻¹) em uma dispersão de Fe₃O₄ NPs (1,0 g L⁻¹) em solução de Si₄Pic⁺Cl⁻ 2,0 g L⁻¹ (Seção 4.4). Desta dispersão, 3,0 μL foram gotejados sobre a superfície do substrato para se obter o Au NPs-Fe₃O₄ NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻/GCE. Também foram preparadas dispersões separadas nas mesmas concentrações descritas e avaliada a ordem de preparo dos filmes, gotejando primeiro 3,0 μL de Au NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻ sobre o substrato e após a secagem, gotejados 3,0 μL de Fe₃O₄ NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻ e vice-versa. A Figura 8A apresenta os voltamogramas resultantes deste estudo em que se empregou uma solução de BPA 10,0 μmol L⁻¹ em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 9,0) e em B, os gráficos de barras obtidos a partir das correntes medidas.

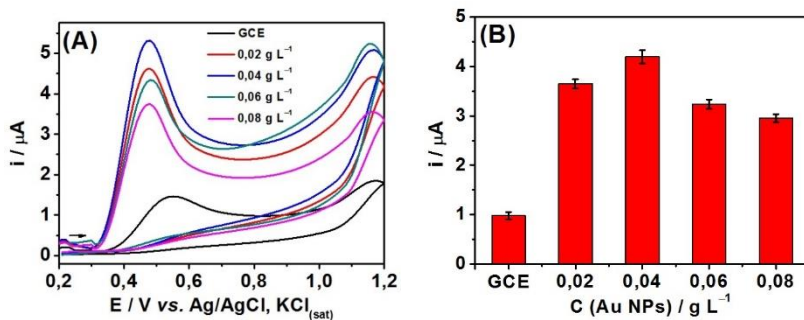
Figura 8. Estudo da preparação de filmes de nanopartículas para a modificação do eletrodo. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 9,0) para BPA 10,0 μmol L⁻¹ sobre: (a) GCE, (b) Au NPs-Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE, (c) Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE e (d) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE, mantendo a concentração de Au NPs em 0,04 g L⁻¹ e Fe₃O₄ NPs em 1,0 g L⁻¹. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Em (B) gráfico de barras ($n = 3$).



De acordo com os voltamogramas apresentados na Figura 8A, podemos destacar que os melhores resultados foram obtidos ao se optar por gotejar uma dispersão e após a secagem do filme, gotejar a outra dispersão. Nota-se que não só apenas as intensidades de corrente foram superiores, como também ocorreu um deslocamento do potencial de oxidação do BPA para valores menos positivos, proporcionado pelo efeito sinérgico gerado pela presença das nanopartículas. Sendo assim, optou-se por realizar dois filmes no preparo do eletrodo modificado, primeiro gotejando a dispersão de Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻ e após a secagem do filme, gotejando a dispersão de Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻.

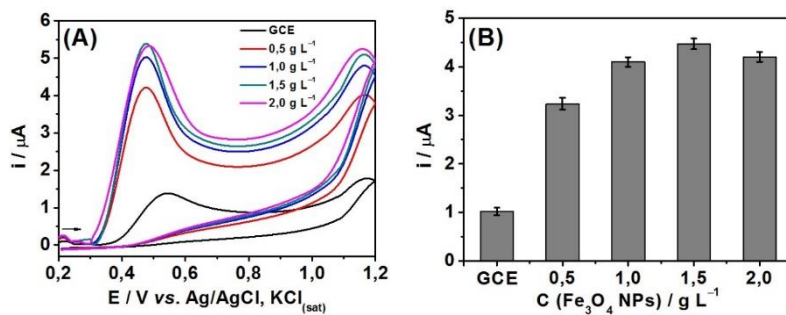
Determinado o procedimento para se modificar o GCE, avaliou-se a influência da concentração de Au NPs e Fe₃O₄ NPs sobre a reação de oxidação do BPA. Primeiro avaliou-se a concentração de Au NPs variando em 0,02; 0,04; 0,06 e 0,08 g L⁻¹ na solução aquosa de Si4Pic⁺Cl⁻ com base em dados da literatura (SILVA *et al.*, 2014). Os resultados são apresentados na Figura 9. Uma intensidade maior de corrente foi obtida ao se usar 0,04 g L⁻¹, acima desta concentração houve um decréscimo nos valores de corrente. Deste modo, selecionou-se a concentração de 0,04 g L⁻¹ de Au NPs para os estudos posteriores.

Figura 9. Estudo da influência da variação de concentração de Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 9,0) para BPA 10,0 μmol L⁻¹ sobre: GCE e utilizando o eletrodo modificado Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE variando apenas a concentração de Au NPs em 0,02; 0,04; 0,06 e 0,08 g L⁻¹, mantendo a concentração de Fe₃O₄ NPs em 1,0 g L⁻¹. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Em (B) gráfico de barras (n = 3).



A resposta da influência da concentração de Fe₃O₄ NPs sobre a oxidação do BPA foi estudada variando em 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g L⁻¹ a concentração de Fe₃O₄ NPs na solução polimérica e mantendo constante a concentração de Au NPs em 0,04 g L⁻¹. Os voltamogramas resultantes são apresentados na Figura 10A, e as respostas de corrente de oxidação do BPA estão destacadas na Figura 10B. Nota-se uma pequena diminuição na resposta de corrente para acima da concentração de 1,5 g L⁻¹ de Fe₃O₄ NPs. Assim, selecionou-se a concentração de 1,5 g L⁻¹ de Fe₃O₄ NPs para os estudos posteriores. Este resultado é próximo ao de demais trabalhos reportados em que se utilizou dispersões de 1,0 g L⁻¹ de Fe₃O₄ NPs para modificar GCE com o mesmo propósito de quantificar BPA (YIN *et al.*, 2011; HOU *et al.*, 2014).

Figura 10. Estudo da influência da variação de concentração de Fe_3O_4 NPs- $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0) para BPA $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre: GCE e utilizando o eletrodo modificado Fe_3O_4 NPs- $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-/\text{Au}$ NPs- $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$ variando apenas a concentração de Fe_3O_4 NPs em $0,5$; $1,0$; $1,5$ e $2,0 \text{ g L}^{-1}$, mantendo a concentração de Au NPs em $0,04 \text{ g L}^{-1}$. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Em (B) gráfico de barras ($n = 3$).

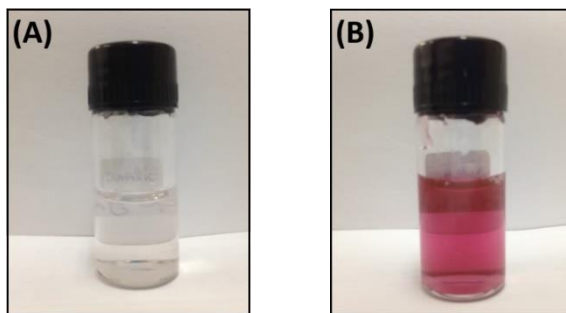


5.2 Caracterização das dispersões de nanopartículas e do eletrodo modificado

5.2.1 Caracterização da dispersão de Au NPs- $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$

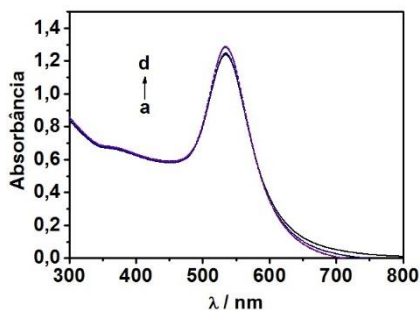
Conforme descrito no procedimento experimental (seção 4.2), a dispersão de Au NPs estabilizada em $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$ foi sintetizada utilizando HAuCl_4 e como agente redutor NaBH_4 . Imediatamente após a adição do agente redutor, a solução passou de transparente (Figura 11A) para uma coloração rosa (Figura 11B). A mudança na coloração inicial da solução foi o primeiro indício de que houve a formação de Au NPs. Esta coloração está relacionada com o tamanho das Au NPs formadas. Sabe-se que com dimensões entre 2 e 10 nm, as Au NPs apresentam intensa coloração vermelha, em tamanhos maiores passam a exibir uma coloração tendendo ao violeta (TOMA e BONIFÁCIO, 2005).

Figura 11. Coloração da solução (A) de HAuCl_4 e (B) após a formação das Au NPs estabilizadas em $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$.



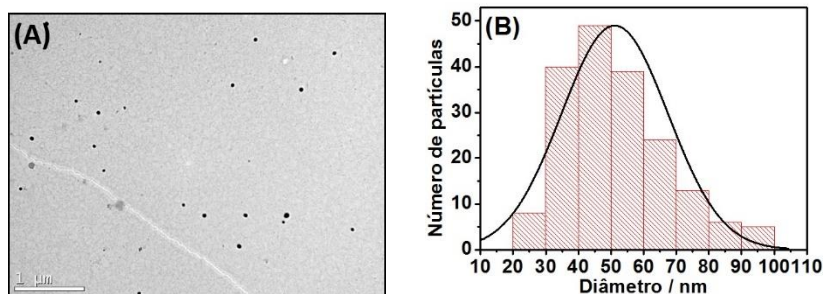
Além do método visual, a caracterização da dispersão de Au NPs também foi realizada por espectroscopia UV-vis, através da detecção de uma banda de absorção característica de ressonância plasmônica deste tipo de nanopartícula metálica. A Figura 12 mostra os espectros UV-vis da dispersão de Au NPs- $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$ obtidos em diferentes períodos após a síntese: 1 hora (curva a); 1 dia (curva b), 15 dias (curva c) e 30 dias (curva d), especificamente para verificar a presença das Au NPs na matriz polimérica e sua estabilidade. Pode se observar que uma banda com absorção máxima foi obtida em 533 nm, mantendo-se estável por pelo menos um mês, não ocorrendo formação de agregados, pois não houve deslocamento da banda para maiores comprimentos de onda. Um pico de absorção em 533 nm corresponde a partículas com diâmetro médio em torno de 50 nm, resultado que também corrobora com a cor da dispersão obtida: rosa (LINK e EL-SAYED, 1999; TOMA e BONIFÁCIO, 2005; ZENG *et al.*, 2011).

Figura 12. Espectros UV-vis da dispersão de Au NPs-Si⁴Pic⁺Cl⁻ em diferentes períodos após sua síntese: (a) 1 hora, (b) 1 dia, (c) 15 dias e (d) 30 dias.



Para alcançar um resultado mais exato em relação ao diâmetro médio das Au NPs, foi realizada uma análise de TEM, a qual é mostrada na Figura 13. A Figura 13A apresenta uma das imagens de TEM obtidas para as Au NPs estabilizadas no Si⁴Pic⁺Cl⁻ em que mostra que as nanopartículas apresentaram um formato esférico, além de uma boa distribuição na rede polimérica. Usando mais de uma imagem de TEM e contabilizando o diâmetro de aproximadamente duzentas partículas, construiu-se um histograma de distribuição do diâmetro das partículas (Figura 13B) em que foi estimado um tamanho médio de aproximadamente 50 nm. Estes resultados corroboraram com o resultado obtido pela análise de UV-vis.

Figura 13. (A) Imagem de TEM e (B) distribuição do tamanho da Au NPs estabilizadas em $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$.

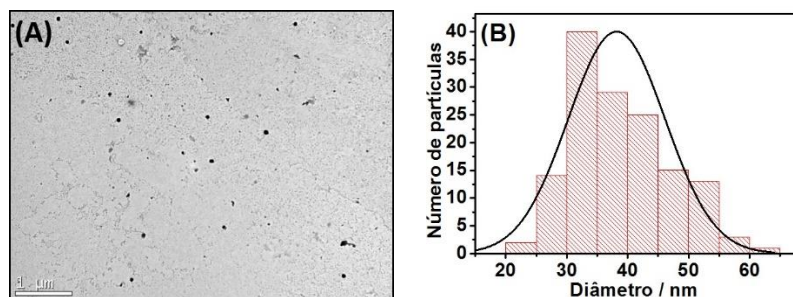


5.2.2 Caracterização da dispersão de Fe_3O_4 NPs- $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$

Conforme relatado no procedimento experimental (seção 4.3), a dispersão de Fe_3O_4 NPs estabilizada em $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$ foi preparada pela adição de Fe_3O_4 NPs obtidas comercialmente em uma solução aquosa do estabilizante. Assim, a caracterização da dispersão de Fe_3O_4 NPs- $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$ também foi realizada por análise de TEM.

A Figura 14A apresenta uma das imagens de TEM geradas para a dispersão de Fe_3O_4 NPs- $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-$ e a Figura 14B, o histograma com a distribuição de tamanho das partículas construído pela contagem de cerca de duzentas partículas escolhidas aleatoriamente a partir de mais de uma imagem de TEM. O diâmetro médio estimado das Fe_3O_4 NPs dispersas no polímero foi de cerca de 38 nm, se aproximando do tamanho médio certificado pelo fabricante (30 nm).

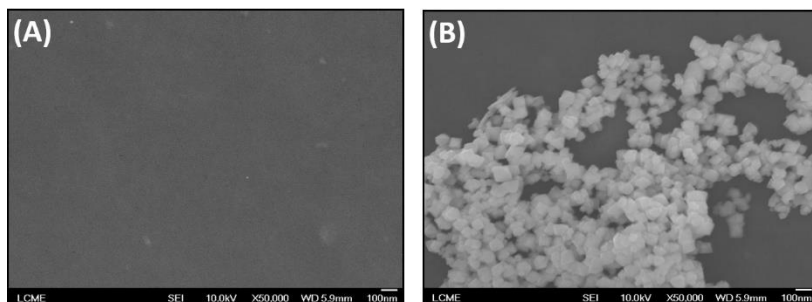
Figura 14. (A) Imagem de TEM e (B) distribuição do tamanho da Fe_3O_4 NPs estabilizadas em $Si_4Pic^+Cl^-$.



5.2.3 Caracterização do eletrodo modificado Fe_3O_4 NPs- $Si_4Pic^+Cl^-$ /Au NPs- $Si_4Pic^+Cl^-$ /GCE

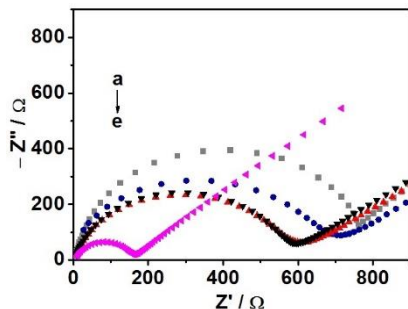
Após a caracterização das dispersões de Au NPs- $Si_4Pic^+Cl^-$ e Fe_3O_4 NPs- $Si_4Pic^+Cl^-$, foram empregadas as técnicas de SEM-FEG e EIS para caracterizar a superfície do eletrodo modificado com estas dispersões de nanopartículas. A Figura 15 apresenta as imagens de SEM-FEG geradas a partir da análise do GCE (Figura 15A) e do eletrodo modificado Fe_3O_4 NPs- $Si_4Pic^+Cl^-$ /Au NPs- $Si_4Pic^+Cl^-$ /GCE (Figura 15B), em que se observa uma clara diferença em termos de morfologia. A presença de nanopartículas depositadas sobre o substrato GCE é evidente, e apesar da formação de alguns agregados, as partículas estabilizadas no polímero permanecem em sua maioria em escala nanométrica, possuindo também uma boa aderência a superfície do substrato.

Figura 15. Imagens de SEM-FEG para (A) GCE e (B) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE.



Com o objetivo de obter mais informações com relação a interface eletrodo-solução e a resistência a transferência de carga (do inglês, *resistance to charge transfer* – R_{ct}) foram realizadas também medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica, nas quais utilizou-se $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ como espécies redox. Na EIS, o diâmetro do semicírculo fornecido pelos diagramas de Nyquist é equivalente a R_{ct} do par redox sobre a superfície do eletrodo (LI *et al.*, 2016). Sendo assim, a Figura 16 apresenta os gráficos de Nyquist ($-Z''$ vs. Z') para (a) GCE, (b) Si4Pic⁺Cl⁻/GCE, (c) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE, (d) Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE e (e) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE. Nota-se que para a análise empregando o GCE, um grande semicírculo foi obtido, correspondendo a $R_{ct} = 757 \Omega$, o que indica uma forte resistência a transferência de carga. A R_{ct} teve um leve decréscimo quando utilizado o GCE apenas modificado com o polímero Si4Pic⁺Cl⁻ ($R_{ct} = 713 \Omega$). Quando as dispersões de Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻ ou Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻ foram depositadas sobre a superfície do GCE, os valores de impedância diminuíram para $R_{ct} = 586 \Omega$ e $R_{ct} = 606 \Omega$, respectivamente, o que pode ser atribuído a maior condutividade elétrica das Au NPs e Fe₃O₄ NPs. E finalmente, quando as duas dispersões são gotejadas sobre a superfície do GCE, o valor da impedância obtido para Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻ /Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE foi ainda menor, atingindo $R_{ct} = 158 \Omega$. Indicando assim, uma menor resistência de transferência de carga, consequentemente, se apresentando como um dispositivo com boa condutividade elétrica, o que demonstra o êxito da preparação do GCE quimicamente modificado com Fe₃O₄ NPs combinadas com Au NPs para aplicações eletroanalíticas.

Figura 16. Gráficos de Nyquist para diferentes eletrodos em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 5,0 mmol L^{-1} em KCl 0,1 mol L^{-1} : (a) GCE, (b) $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$, (c) Fe_3O_4 NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$, (d) Au NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$ e (e) Fe_3O_4 NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{Au NPs-Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$.



A área eletroativa do eletrodo sem modificação de cada etapa de modificação foi estimada por voltametria cíclica empregando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1,0 mmol L^{-1} em KCl 0,1 mol L^{-1} . Os voltamogramas do $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ para o GCE e para cada etapa de modificação obtidos em diferentes velocidades de varredura são mostrados nas Figuras 17(A, C, E e G) e os gráficos de i_{pa} vs. $v^{1/2}$ são apresentados nas Figuras 17(B, D, F, H). A partir disto e de acordo com a equação de Randles-Sevcik, para $T = 25^\circ\text{C}$ (BARD e FAULKNER, 2001):

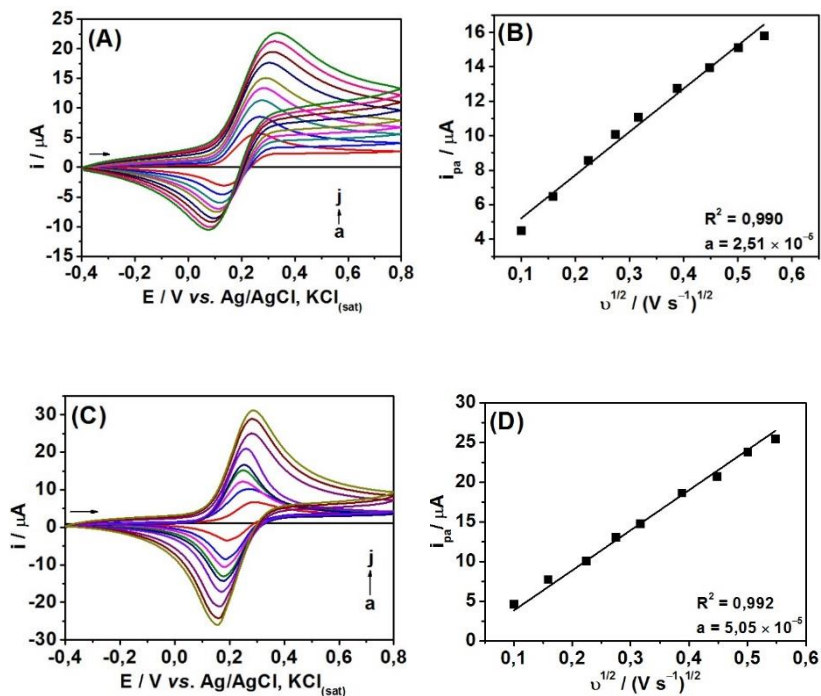
$$i_p = 2,69 \times 10^5 AD^{1/2} n^{3/2} cv^{1/2}$$

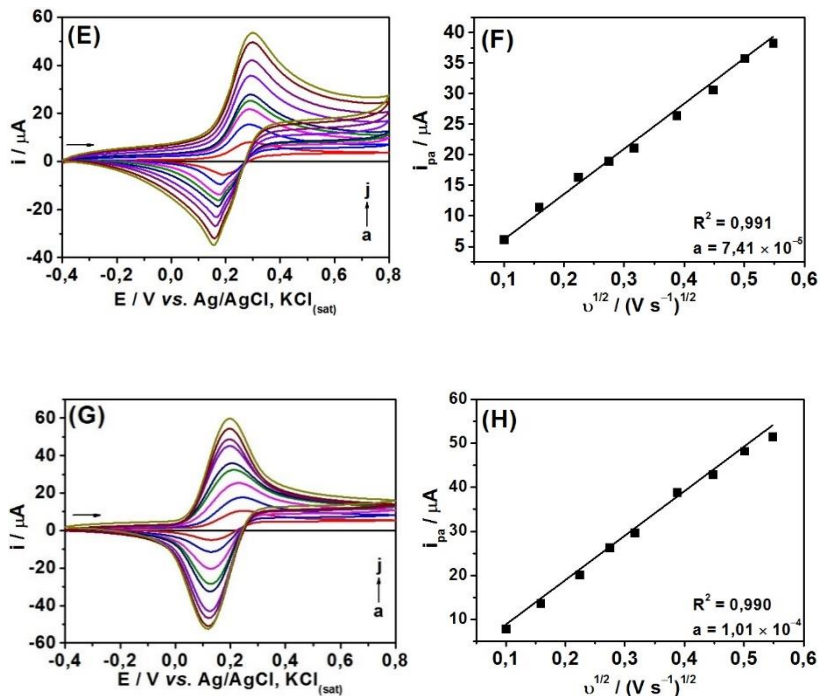
Onde: i_p é a corrente de pico (em amperes); A é a área eletroativa do eletrodo (em cm^2); D é o coeficiente de difusão da espécie $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em solução aquosa ($7,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) (LI *et al.*, 2016b), n é o número de mol de elétrons transferidos na reação redox ($n = 1$), c é a concentração da espécie $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (em mol cm^{-3}) e v é a velocidade de variação de potencial. Desta forma, a área eletroativa do eletrodo pode ser calculada a partir do coeficiente angular do gráfico i_{pa} vs. $v^{1/2}$.

Os valores obtidos para as áreas eletroativas foram de 0,034; 0,075; 0,101 e 0,137 cm^2 , respectivamente para GCE, Au NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$, Fe_3O_4 NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$, e Fe_3O_4 NPs- $\text{Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{Au NPs-Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$. Conforme os resultados obtidos, conclui-se que houve um aumento da área eletroativa com a modificação do substrato com as dispersões de nanopartículas. Comparando o valor de

área eletroativa do detector Fe_3O_4 NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE e com o substrato GCE o aumento obtido com a modificação foi de cerca de quatro vezes. Pela equação de Randles-Sevcik, uma maior área eletroativa proporciona maiores valores de corrente, o que viabiliza uma maior sensibilidade ao detector proposto.

Figura 17. Voltamogramas cíclicos para $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1,0 mmol L⁻¹ em diferentes velocidades de varredura sobre (A) GCE, (C) Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE, (E) Fe_3O_4 NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE e (G) Fe_3O_4 NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE em KCl 0,1 mol L⁻¹ sendo (a) branco, (b) 10, (c) 25, (d) 50, (e) 75, (f) 100, (g) 150, (h) 200, (i) 250 e (j) 300 mV s⁻¹. (B, D, F, H) gráficos de i_{pa} vs. $v^{1/2}$.





Além do aumento no valor da área eletroativa, o detector Fe₃O₄ NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻/GCE forneceu uma maior reversibilidade ao sistema redox. A separação dos potenciais de picos de oxidação e redução variou de 100 mV ($v \leq 50 \text{ mV s}^{-1}$) e 70 mV ($v > 50 \text{ mV s}^{-1}$), enquanto que para o GCE, a separação dos potenciais de pico variou de 150 mV ($v \leq 50 \text{ mV s}^{-1}$) e 200 mV ($v > 50 \text{ mV s}^{-1}$), demonstrando um efeito catalítico proporcionado pela presença das nanopartículas de ouro e óxido de ferro.

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos neste estudo de determinação da área eletroativa com os resultados da Rct retirados da EIS.

Tabela 3. Resultados dos estudos de caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados.

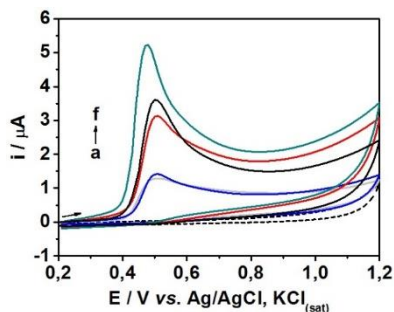
Eletrodo	Área Eletroativa (cm²)	Rct (Ω)
GCE	0,034	757
Au NPs-Si4Pic ⁺ Cl ⁻ /GCE	0,075	606
Fe ₃ O ₄ NPs-Si4Pic ⁺ Cl ⁻ /GCE	0,101	586
Fe ₃ O ₄ NPs-Si4Pic ⁺ Cl ⁻ /Au NPs-Si4Pic ⁺ Cl ⁻ /GCE	0,137	158

Conforme discutido, a presença das Au NPs e Fe₃O₄ NPs ofereceram ao novo detector eletroquímico uma maior área eletroativa e uma maior condutividade elétrica em relação ao substrato GCE. Esta combinação de propriedades indica que o novo detector irá fornecer maiores respostas de corrente e consequentemente uma maior sensibilidade, podendo ser aplicado a determinações eletroanalíticas.

5.3 Comportamento eletroquímico do BPA

O comportamento eletroquímico do BPA sobre diferentes eletrodos foi investigado por voltametria cíclica. Os voltamogramas cíclicos para BPA 10,0 μmol L⁻¹ em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 9,0) sobre cada um dos eletrodos foram obtidos aplicando-se uma variação de potencial de 0,2 a 1,2 V seguido da varredura reversa de 1,2 a 0,2 V, com $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$, conforme apresenta a Figura 18.

Figura 18. Voltamogramas cíclicos em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 9,0) na ausência (a) e na presença de BPA 10,0 μmol L⁻¹: (b) GCE, (c) Si4Pic⁺Cl⁻/GCE, (d) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE, (e) Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE e (f) Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.



Conforme apresentado na Figura 18, os voltamogramas cíclicos para BPA em todos os eletrodos testados apresentam um único pico de oxidação e nenhum pico de redução. Isto indica que a reação de oxidação de BPA é um processo irreversível, comportamento este que está de acordo com demais trabalhos reportados na literatura (YIN *et al.*, 2011; YU *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2012; GAO *et al.*, 2012).

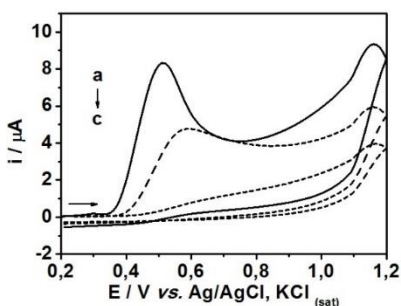
Em relação aos potenciais de pico de oxidação (E_{po}) e correntes de pico anódico (i_{pa}), a reação de oxidação de BPA sobre a superfície do GCE (curva b) ocorreu em 0,500 V com uma corrente anódica de 1,02 μA. Com a modificação do substrato, o pico de oxidação e as correntes foram, respectivamente 0,500 V e 1,12 μA para o Si4Pic⁺Cl⁻/GCE (curva c); 0,495 V e 2,45 μA para o Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE (curva d); 0,495 V e 3,12 μA para o Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE (curva e) e 0,470 V e 4,47 μA para o Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE (curva f).

Assim, verifica-se que a corrente de oxidação do BPA aumentou em cerca de 4,4 vezes para o Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE em relação a corrente gerada pelo GCE. Este aumento está associado com uma maior área superficial do eletrodo modificado como também por uma maior condutividade elétrica proporcionada pela presença das Fe₃O₄ NPs e Au NPs. Além disso, em relação aos potenciais de pico, para os eletrodos modificados o pico de oxidação do BPA foi deslocado em 30 mV para potenciais menos positivos em relação ao GCE, resultante do favorecimento da reação de oxidação. Estes resultados, então demonstram que a presença das Fe₃O₄ NPs e Au NPs também

aumentou a atividade catalítica do eletrodo modificado, verificando que este dispositivo é adequado para a determinação de BPA.

No entanto, observou-se que os valores de corrente anódica do BPA diminuíram significativamente com o número de ciclos sucessivos, conforme apresenta a Figura 19. Isso acontece porque a oxidação do BPA forma um produto polimérico que bloqueia a superfície do eletrodo, produto que é eletroquimicamente inativo e impede o acesso do analito a superfície do eletrodo para que seja oxidado (YU *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2012; ZHENG *et al.*, 2013; YI *et al.*, 2015). Sendo assim, após cada medida, optou-se por uma limpeza mecânica do GCE e a preparação de novos filmes de nanopartículas e os resultados apresentados posteriormente são referentes ao primeiro ciclo.

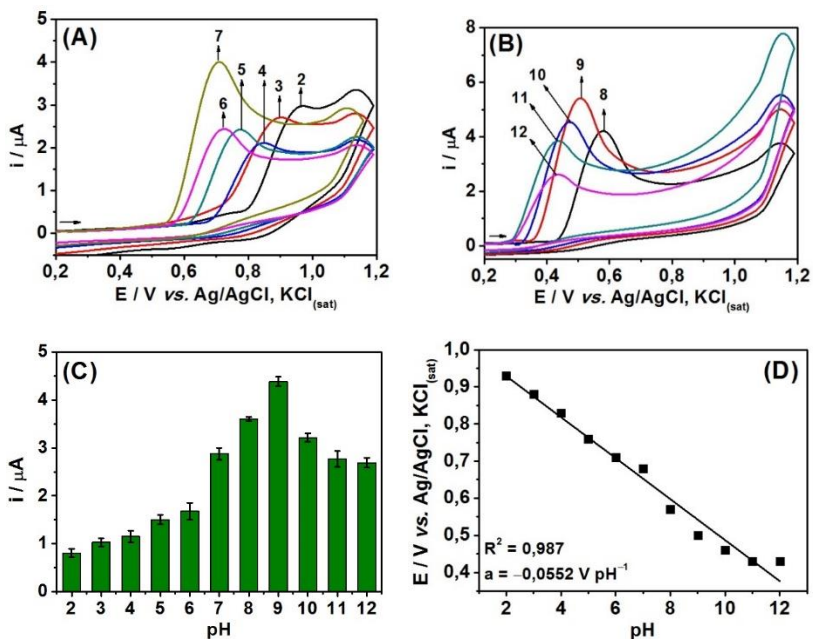
Figura 19. Voltamogramas cíclicos sucessivos em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 9,0): (a) 1º ciclo, (b) 2º ciclo e (c) 3º ciclo na presença de BPA 10,0 μmol L⁻¹ empregando o eletrodo modificado Fe₃O₄ NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻/GCE. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.



5.3.1 Estudo do pH e natureza do eletrólito suporte

A influência da natureza e do pH do eletrólito suporte sobre a resposta eletroquímica do BPA foram também investigados. Primeiramente, as respostas de corrente e potencial de pico foram avaliadas no intervalo de pH de 2,0 a 12,0, utilizando solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹, com pH ajustado previamente. Os voltamogramas obtidos para BPA 10,0 μmol L⁻¹ sobre o Fe₃O₄ NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si₄Pic⁺Cl⁻/GCE em cada um dos valores de pH são apresentados na Figura 20A e 20B.

Figura 20. Voltamogramas cíclicos para BPA 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo modificado Fe_3O_4 NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} em diferentes valores de pH (A) pH 2,0 a 7,0 e (B) pH 8,0 a 12,0; $\nu = 100$ mV s^{-1} . Em (C) variação de i_{pa} para BPA 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH ($n = 3$) e (D) variação de E_{po} em função do pH.



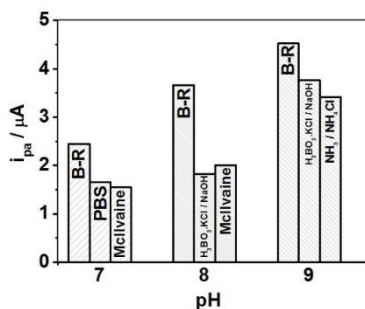
A Figura 20C destaca como as correntes de pico anódico variam em função do pH do eletrólito suporte. Observa-se que os valores de corrente aumentam do pH 2,0 ao 9,0 e para valores acima deste, descresem. Sendo assim, buscando uma melhor sensibilidade para determinação de BPA adotou-se o pH 9,0 para as análises posteriores.

A relação entre o potencial de pico de oxidação (E_{po}) e o pH é mostrado na Figura 20D. Uma variação linear de E_{po} , com valores que se deslocam no sentido negativo de potencial com o aumento do valor de pH, indica que há prótons diretamente envolvidos na reação de oxidação do BPA. Esta variação obedeceu a seguinte equação: $E_{\text{po}} (\text{V}) = -0,0552 \text{ pH} + 1,039$ ($R^2 = 0,987$). Uma inclinação de $-55,2 \text{ mV pH}^{-1}$ foi

encontrada, sendo um valor próximo do valor teórico de $-59,2 \text{ mV pH}^{-1}$ da equação de Nernst, indicando que há o mesmo número de elétrons e prótons transferidos na reação de oxidação do BPA sobre a superfície do eletrodo modificado (YIN *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2012; WANG, COKELILER e GUNASEKARAN, 2015; LI *et al.*, 2016).

Diferentes soluções tampão foram testadas como eletrólitos suporte nos pH 7,0; 8,0 e 9,0, conforme apresenta a Figura 21. A escolha de cada eletrólito adequado foi baseada na faixa tamponante de cada uma das soluções tampão. Foram testadas as seguintes soluções: PBS (pH 7,0); McIlvaine (pH 7,0 e 8,0), B-R (pH 7,0; 8,0 e 9,0), $\text{H}_3\text{BO}_3\cdot\text{KCl}/\text{NaOH}$ (pH 8,0 e pH 9,0) e $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ (pH 9,0). Todas as soluções estavam na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A maior intensidade de corrente foi obtida ao se usar a solução tampão B-R em pH 9,0, por este motivo esta solução foi selecionada para as análises posteriores.

Figura 21. Respostas de corrente anódica de BPA $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em função do pH e da natureza do eletrólito suporte.

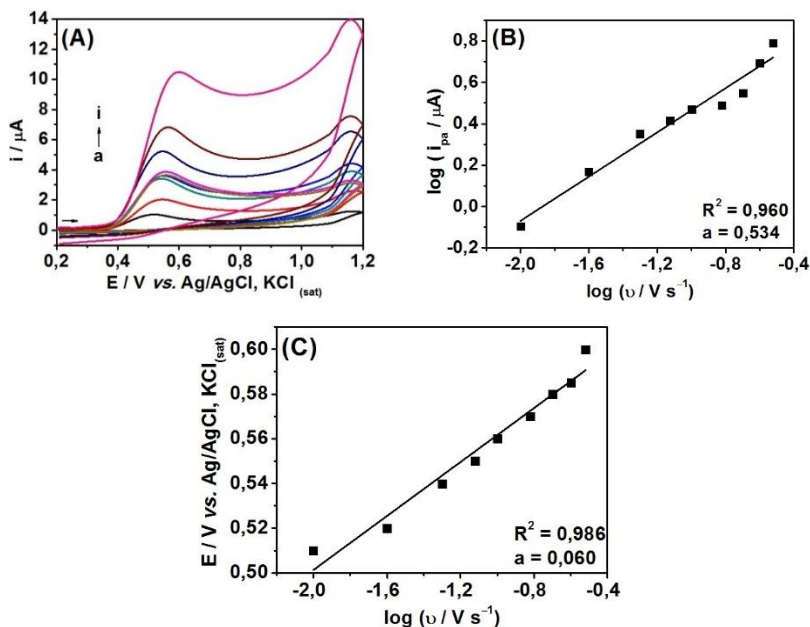


5.3.2 Estudo da velocidade de varredura

O comportamento eletroquímico do BPA sobre a superfície do eletrodo modificado foi estudado em diferentes velocidades de variação de potencial. Os voltamogramas correspondentes são apresentados na Figura 22A, onde pode ser visto que as correntes de pico de oxidação aumentam com a velocidade na faixa de 10 a 300 mV s^{-1} . A partir destes estudos, a representação gráfica (Figura 22B) do logaritmo da corrente de pico ($\log i_{pa}$) versus o logaritmo da velocidade de variação de potencial ($\log v$) apresentou comportamento linear ($R^2 = 0,960$), obedecendo a equação $\log i_{pa} = 0,534 \log v - 0,999$. De acordo com a literatura, um

coeficiente angular igual (ou próximo) ao valor de 0,5 indica que o processo redox é controlado por difusão (GOSSER, 1993). Assim, com o coeficiente obtido igual a 0,534, podemos concluir que a etapa limitante da velocidade da reação de oxidação do BPA sobre a superfície do eletrodo proposto é a difusão.

Figura 22. (A) Voltamogramas cíclicos para BPA $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre Fe_3O_4 NPs- $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-/\text{Au}$ NPs- $\text{Si}_4\text{Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0) em diferentes velocidades de variação de potencial: (a) 10, (b) 25, (c) 50, (d) 75, (e) 100, (f) 150, (g) 200, (h) 250 e (i) 300 mV s^{-1} . (B) Relação entre $\log i_{\text{pa}}$ vs. $\log v$. (C) Relação entre E_{po} vs. $\log v$.



Ainda com os dados obtidos pelo estudo da velocidade, a relação entre o potencial de pico de oxidação (E_{po}) e o logaritmo da velocidade é apresentada na Figura 22C. Como pode ser visto, o E_{po} se desloca linearmente com $\log v$ ($R^2 = 0,986$), obedecendo a regressão linear de $\log E_{\text{po}} = 0,621 + 0,060 \log v$. De acordo com a equação de Laviron, para uma reação eletroquímica irreversível, a relação entre o E_{po}

e $\log v$ pode ser expressa como se segue (LAVIRON, 1974; HOU *et al.*, 2014):

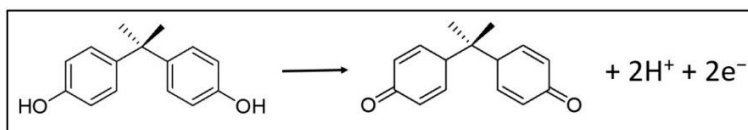
$$E_{po} = E^{\circ} + \left(\frac{2,303RT}{\alpha nF}\right) \log \left(\frac{RTk^{\circ}}{\alpha nF}\right) + \left(\frac{2,303RT}{\alpha nF}\right) \log v$$

Onde: E° é o potencial redox formal; k° é a constante de velocidade heterogênea da reação; α é o coeficiente de transferência de elétrons; n é o número de mol de elétrons transferidos no processo; R , T e F são as notações usuais ($R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, $T = 298 \text{ K}$, $F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$).

De acordo com a regressão linear de E_{po} versus $\log v$, como mencionado acima, o coeficiente angular pela equação é equivalente a $2,303RT/\alpha nF$, por conseguinte, com o coeficiente obtido pelos estudos, obteve-se o valor de $0,985\alpha n$. Geralmente, atribui-se a α o valor de 0,5 para processos irreversíveis (BARD e FAULKNER, 2001). Deste modo, calculou-se o número de mols de elétrons transferidos n para a oxidação do BPA igual a 2. Em conclusão, verificou-se que a reação de oxidação BPA sobre a superfície do eletrodo $\text{Fe}_3\text{O}_4 \text{ NPs-Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{Au NPs-Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$ é um processo irreversível, controlado por difusão envolvendo a participação de dois mols de elétrons.

Com os resultados obtidos na Seção 5.3.1, conclui-se que a reação envolvia também a transferência de dois mols de prótons. Assim, pode-se dizer que a reação envolve dois mols de prótons e dois mols de elétrons, conforme apresenta a Figura 23.

Figura 23. Esquema de reação para a oxidação do BPA no $\text{Fe}_3\text{O}_4 \text{ NPs-Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{Au NPs-Si4Pic}^+\text{Cl}^-/\text{GCE}$ de acordo com os dados obtidos.



Este mecanismo de reação está de acordo com outros trabalhos recentes reportados na literatura (GAO *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2013; HOU *et al.*, 2014; WANG, COKELILER e GUNASEKARAN, 2015; LI *et al.*, 2016).

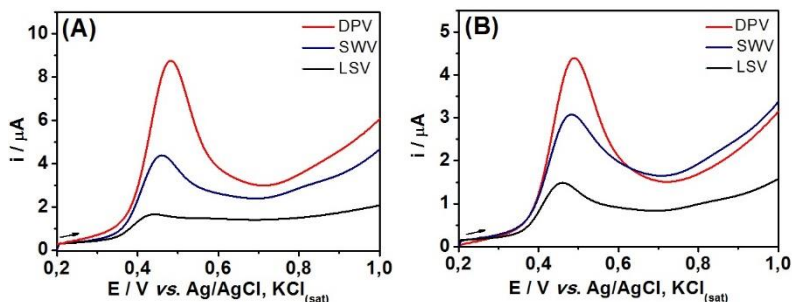
5.4 Seleção da técnica eletroanalítica

Com o objetivo de desenvolver uma metodologia sensível para a determinação de BPA, foram investigadas diferentes técnicas eletroanalíticas e a magnitude do sinal eletroquímico oferecida por elas para a oxidação do BPA. Avaliou-se as respostas das voltametrias linear, de pulso diferencial e de onda quadrada. Os parâmetros de cada técnica foram ajustados de modo a se obter a mesma velocidade de variação de potencial para as medidas.

A Figura 24 apresenta os voltamogramas obtidos utilizando as três técnicas e diferentes velocidades. Observa-se que os voltamogramas obtidos em velocidade mais baixa (Figura 24A) obtiveram valores de corrente superiores do que em velocidade maior (Figura 24B), justificando o uso de uma velocidade de variação de potencial mais baixa para acompanhar a reação de oxidação do BPA. Assim como a SWV, a DPV minimiza os efeitos da corrente capacitiva ao registrar a corrente em dois momentos da aplicação do pulso, oferecendo uma maior sensibilidade em relação as demais técnicas voltamétricas, como a LSV. Entretanto, a DPV apresenta maior eficiência em relação a SWV quando operada em velocidades mais baixas, o que possibilita acompanhar melhor reações de cinética lenta (BARD, STRATMANN e URWIN, 2003).

Sendo assim, por uma maior sensibilidade, selecionou-se a técnica de DPV para os estudos posteriores.

Figura 24. Voltamogramas de BPA $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre Fe_3O_4 NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0) em diferentes técnicas eletroanalíticas e velocidades de variação de potencial: (A) $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$ e (B) $v = 100,0 \text{ mV s}^{-1}$.



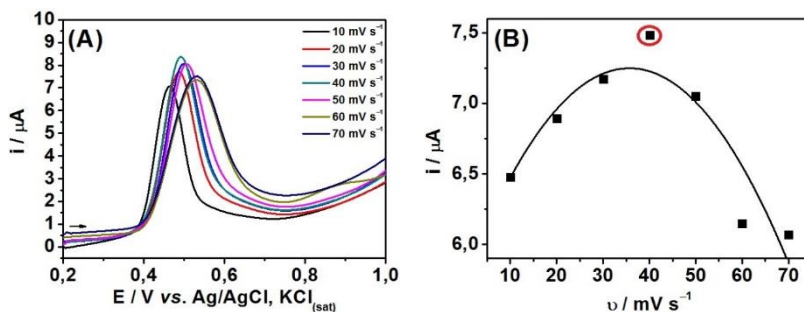
5.4.1 Otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial

A otimização da técnica eletroanalítica selecionada garante uma melhor resposta para a intensidade da corrente, assim como um melhor perfil voltamétrico. Estas características podem resultar em uma metodologia com maior sensibilidade e seletividade.

A voltametria de pulso diferencial é caracterizada pela aplicação de potenciais de mesma intensidade (mesma amplitude) sobrepostos a uma rampa linear de potencial, medindo a corrente antes e após a aplicação do pulso. Estas correntes são subtraídas, o que resulta em uma minimização da contribuição da corrente capacitiva no sinal obtido, tornando a DPV, uma técnica mais sensível. Para o desenvolvimento da metodologia, os parâmetros experimentais estudados desta técnica foram: velocidade de variação de potencial (v), amplitude de potencial dos pulsos (E_{pulso}) e tempo de duração do pulso (t_{pulso}) (SOUZA, MACHADO e AVACA, 2003).

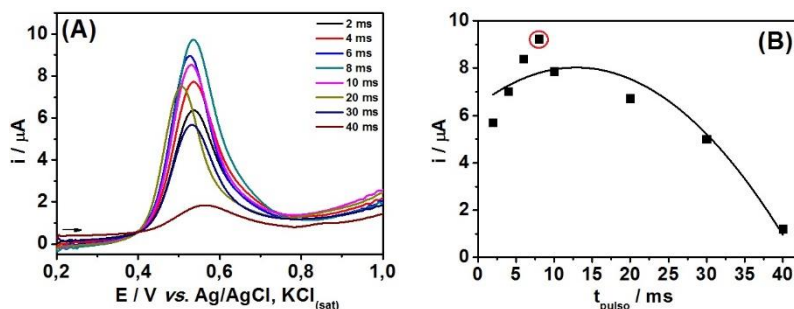
A velocidade de variação de potencial é um parâmetro importante que afeta tanto o formato quanto o registro dos picos voltamétricos. Na DPV, este parâmetro assume valores baixos, se comparada com a CV e a SWV, pois é necessário impedir que a rampa de potencial sofra variações drásticas durante o tempo de aplicação do pulso (WANG, 1985). Sendo assim, variou-se a velocidade de 10,0 a 70,0 mV s^{-1} mantendo fixos os demais parâmetros em $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 5,0 \text{ ms}$. Os resultados são apresentados na Figura 25. O maior valor de corrente foi obtido para na velocidade de 40,0 mV s^{-1} . Com o objetivo de conseguir a maior sensibilidade para esta metodologia, utilizou-se esta velocidade para os demais experimentos.

Figura 25. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para BPA $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0) para diferentes velocidades de variação de potencial. Mantendo $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 5,0 \text{ ms}$. (B) Gráfico de i vs. v .



As intensidades das correntes de pico também são dependentes da amplitude de pulso e do tempo em que o pulso é aplicado. A Figura 26 apresenta os resultados para o estudo da variação do tempo de duração do pulso aplicado, em que foi mantido $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$. Selecionou-se o tempo de 8,0 ms para os estudos posteriores, por ter apresentado a melhor resposta de corrente.

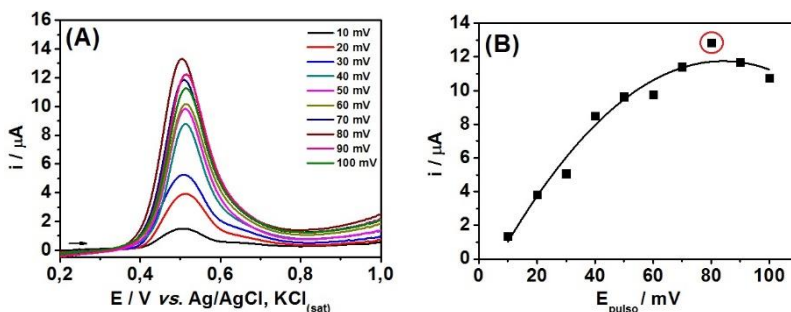
Figura 26. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para BPA $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0) para diferentes tempos de duração do pulso. Mantendo $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$ e $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$. (B) Gráfico de i vs. t_{pulso} .



Por fim, otimizou-se o valor da amplitude de pulso. Um aumento da amplitude acarreta em um aumento da corrente de pico, como também,

em um alargamento do pico, o que é indesejável. Sendo assim, deve haver um compromisso entre a intensidade de corrente e o perfil voltamétrico quando se escolhe a melhor amplitude de pulso (THOMAS e HENZE, 2001). A Figura 27 apresenta os resultados, em que se selecionou $E_{\text{pulso}} = 80,0$ mV para os estudos posteriores por oferecer a maior intensidade de corrente como também um bom perfil voltamétrico.

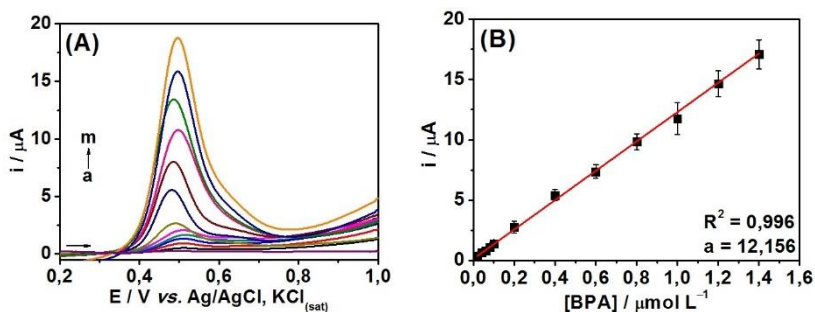
Figura 27. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para BPA $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0) para diferentes amplitudes de pulso. Mantendo $\nu = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$ e $t_{\text{pulso}} = 8,0$ ms. (B) Gráfico de i vs. E_{pulso} .



5.5 Curva de calibração para o BPA

Empregando as condições experimentais otimizadas, construiu-se a curva de calibração mediante adições de alíquotas de solução padrão de BPA ao eletrólito suporte. A Figura 28A apresenta os voltamogramas de pulso diferencial para diferentes concentrações de BPA. É observado um pico definido em $+0,470$ V, cuja intensidade da corrente aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração de BPA no intervalo de $0,02$ a $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ com coeficiente de determinação de $0,996$. Este valor deve estar o mais próximo de $1,0$ para mostrar que os resultados são realmente proporcionais à concentração do analito dentro de um dado intervalo (RIBEIRO *et al.*, 2008). Para concentrações superiores a $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$ não foi observado um aumento significativo nas respostas de corrente, indicando a saturação da superfície do eletrodo acima desta concentração. A regressão linear pode ser expressa de acordo com a função: $i = 12,156 [\text{BPA}] (\pm 0,139) + 0,137 (\pm 0,025)$, onde i é a corrente de pico em μA , e $[\text{BPA}]$ é a concentração de BPA em $\mu\text{mol L}^{-1}$ sendo apresentada na Figura 28B.

Figura 28. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para diferentes concentrações de BPA sobre o eletrodo modificado: (a) branco; (b) 0,02; (c) 0,04; (d) 0,06; (e) 0,08; (f) 0,10; (g) 0,20; (h) 0,40; (i) 0,60; (j) 0,80; (k) 1,00; (l) 1,20 e (m) 1,40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 9,0); $\nu = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 8,0 \text{ ms}$. (B) Curva de calibração para BPA ($n = 3$).



Os limites de detecção (do inglês, *limit of detection* – LOD) e quantificação (do inglês, *limit of quantitation* – LOQ) representam a mais baixa concentração em que a substância possa ser detectada e quantificada com certa confiabilidade, respectivamente. Estes parâmetros foram calculados a partir da curva de calibração e utilizando as seguintes expressões, que correspondem ao nível de confiança de 95% (RIBANI *et al.*, 2004; RIBEIRO *et al.*, 2008).

$$LOD = 3,3 \frac{SD}{a}$$

$$LOQ = 10 \frac{SD}{a}$$

Onde: SD (do inglês, *standard deviation*) corresponde ao desvio padrão do coeficiente linear e a se refere ao coeficiente angular da reta. Os valores obtidos para LOD e LOQ empregando o eletrodo modificado foram 7,0 e 21,0 nmol L^{-1} , respectivamente. As características analíticas extraídas da curva de calibração são mostradas na Tabela 4.

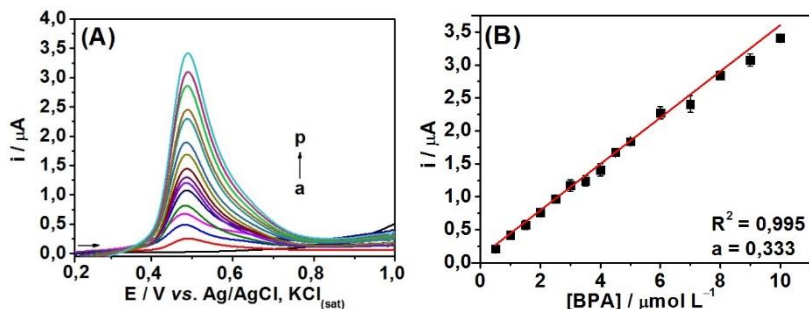
Tabela 4. Características analíticas obtidas a partir da curva de calibração para BPA empregando o eletrodo modificado desenvolvido.

Características Analíticas	Valor
Potencial de pico (V)	+ 0,470
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,02–1,40
Coefficiente de determinação – R^2	0,996
Coefficiente angular ($\mu\text{A L mol}^{-1}$)	12,156
Desvio padrão do coeficiente angular ($\mu\text{A L mol}^{-1}$)	0,139
Coefficiente linear (μA)	0,137
Desvio padrão do coeficiente linear (μA)	0,025
Limite de detecção (nmol L^{-1})	7,0
Limite de quantificação (nmol L^{-1})	21,0
Repetibilidade da corrente (intra-dia) (%) ^{a,b}	4,17
Repetibilidade da corrente (inter-dia) (%) ^{a,b}	6,79

^a Desvio padrão relativo ^b n = 5

Para fins de comparação, foi construída uma curva de calibração para BPA somente empregando o GCE (Figura 29) em que se obteve uma faixa linear de 0,5 a 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,995$) com regressão linear de $i = 0,333 (\pm 7,83 \times 10^{-3})[\text{BPA}] + 0,0748(\pm 0,0352)$. O LOD e LOQ também foram calculados, resultando em 349,0 e 1075,0 nmol L^{-1} , cerca de cinquenta vezes maior do que os limites obtidos pelo eletrodo modificado. Com este resultado, é possível reafirmar que o eletrodo modificado neste trabalho é muito mais sensível para análise de BPA do que o substrato de carbono vítreo.

Figura 29. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para diferentes concentrações de BPA sobre GCE: (a) branco; (b) 0,5; (c) 1,0; (d) 1,5; (e) 2,0; (f) 2,5; (g) 3,0; (h) 3,5; (i) 4,5; (j) 5,0; (k) 6,0; (l) 7,0; (m) 8,0; (n) 9,0 e (p) 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 9,0); $\nu = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 8,0 \text{ ms}$. (B) Curva de calibração para BPA ($n = 3$).



A precisão das medidas pode ser avaliada por meio de análises de repetibilidade, em que se avalia o quanto duas ou mais medidas estão em concordância quando repetidas sob condições definidas (RIBANI *et al.*, 2004). A repetibilidade da corrente medida para a oxidação do BPA sobre o Fe_3O_4 NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE foi estimada a partir de solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 9,0) contendo BPA 0,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em condições otimizadas. O desvio padrão relativo (RSD) das medições sucessivas no mesmo dia (intra-dia) foi de 4,17% ($n = 5$), indicando boa repetibilidade dos dados fornecidos pelo eletrodo modificado. Para a avaliação inter-dia, a repetibilidade foi avaliada em cinco dias consecutivos, utilizando os mesmos parâmetros e um RSD de 6,79% foi obtido ($n = 5$).

As dispersões de Fe_3O_4 NPs-Si4Pic⁺Cl⁻ e Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻ foram armazenadas a 4°C na geladeira durante cerca de três meses. Durante este tempo, os novos filmes foram preparados utilizando as mesmas dispersões. O RSD da resposta analítica (corrente de pico) para BPA 0,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ usando filmes diferentes foi menor que 9,0% ($n = 5$), indicando boa repetibilidade para o procedimento de preparação do eletrodo modificado. Assim, podemos concluir que o Fe_3O_4 NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/ Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE fornece dados com alta repetibilidade e, como consequência, pode ser aplicado para a detecção de BPA.

Para fins comparativos, a Tabela 5 lista uma série de trabalhos publicados recentemente relatando o desempenho analítico de eletrodos modificados à base de nanomateriais para análise de BPA. Pode-se averiguar que o LOD obtido pelo eletrodo modificado proposto é um dos menores fornecidos nesta relação, demonstrando a capacidade deste dispositivo para detectar BPA em níveis nanomolares.

Tabela 5. Comparação da performance de eletrodos modificados para determinação de BPA publicados recentemente.

Eletrodo modificado	Técnica	Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD (nM)	Referência
Fe ₃ O ₄ NPs-CS ^a /GCE	DPV	0,05–30,0	8,0	YU <i>et al.</i> , 2011
CMK-3/nano-CILPE ^b	LSV	0,2–150	50,0	LI <i>et al.</i> , 2016b
Fe ₃ O ₄ NPs-CB ^c /GCE	DPV	0,0001–50,0	0,031	HOU <i>et al.</i> , 2014
Au NPs/SGNF ^d /GCE	LSV	0,08–250,0	35,0	NIU <i>et al.</i> , 2013
Au NPs-GR ^e /GCE	DPV	0,0001–100	50,0	ZHOU <i>et al.</i> , 2014
Fe ₃ O ₄ NPs-PANAM ^f /GCE	AMP ^g	0,01–3,07	5,0	YIN <i>et al.</i> , 2011
rGO ^h /CNT ⁱ /Au NPs/SPCE	DPV	0,00145–1,49	0,8	WANG <i>et al.</i> , 2015
Fe ₃ O ₄ NPs-Si4Pic ⁺ Cl ⁻ / Au NPs-Si4Pic ⁺ Cl ⁻ /GCE	DPV	0,02–1,40	7,0	Este trabalho

^aCS: quitosana, ^bCMK-3/nano-CILPE: eletrodo de pasta de nano-carbono modificado com líquido iônico hexafluorofosfato de 1-butilpiridínio (BPPF₆) e carbono ordenado mesoporoso do tipo CMK-3, ^cCB: negro de fumo, ^dSGNF: nanofibras de grafeno “empilhadas” (*stacked*), ^eAu NPs-GR: grafeno dopado com Au NPs, ^fPANAM: poli(amidoamina), ^gAMP: amperometria, ^hrGO: óxido de grafeno reduzido, ⁱCNT: nanotubos de carbono.

5.6 Determinação de BPA em amostras de plásticos comerciais

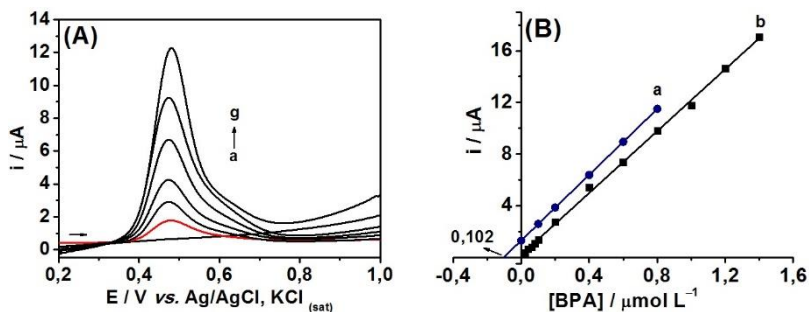
Com objetivo de testar a aplicabilidade do eletrodo modificado, empregou-se o detector Fe₃O₄ NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/ Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE para a análise de BPA em cinco amostras de plásticos comerciais: copo de policarbonato (PC), copo descartável de poliestireno (PS), embalagem de alimento de cloreto de polivinila (PVC), garrafa de água de tereftalato de polietileno (PET) e embalagem plástica de alimento com o selo BPA *free*. O tratamento destas amostras foi descrito no procedimento experimental (Seção 4.5). E para determinação eletroanalítica de BPA foi

utilizado o método de adição de padrão, comumente empregado por minimizar o efeito de matriz.

Os resultados de uma das replicatas para a determinação de BPA em amostra de copo de PC são apresentados na Figura 30. A Figura 30A mostra os voltamogramas de pulso diferencial para: branco (curva a), amostra (curva b), e a amostra com adições sucessivas de solução padrão de BPA (curvas c-g). Para a amostra, o voltamograma exibiu um pico de oxidação de BPA bem definido, em aproximadamente +0,475 V, e a corrente de pico aumentou linearmente com as adições de solução padrão de BPA na célula eletroquímica. Com isto, a curva de adição de padrão é mostrada na Figura 30B junto com a curva de calibração construída anteriormente (Seção 5.5) para efeito de comparação. Pela extrapolação da curva de adição de padrão encontrou-se um valor de $0,102 \mu\text{mol L}^{-1}$ na célula eletroquímica o que representa uma concentração de $0,260 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BPA na amostra.

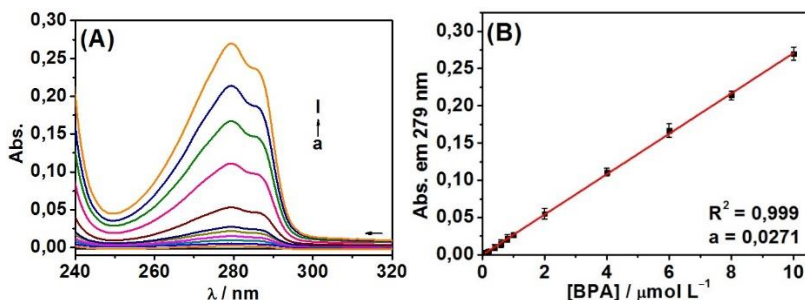
Pode-se observar também que as inclinações de ambas as retas são bastante semelhantes. A inclinação da curva de calibração é $12,156 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$, enquanto que a inclinação da curva adição de padrão é $12,730 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$. Isso significa que o método proposto utilizando o eletrodo modificado apresenta ausência de interferência dos componentes da matriz na determinação.

Figura 30. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para: (a) branco, (b) amostra de PC, e (c-g) adições sucessivas (100 e 200 μL) de solução padrão de BPA $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0), empregando o eletrodo modificado. (B) Curva de adição de padrão para a amostra de PC (a) a curva de calibração (b). Condições experimentais: $\nu = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 8,0 \text{ ms}$.



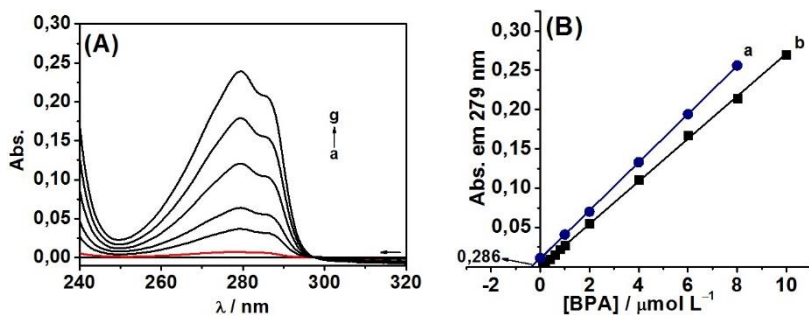
Para verificar a exatidão da metodologia proposta comparou-se os resultados com os obtidos por um segundo método, a espectroscopia UV-vis. Inicialmente, construiu-se uma curva de calibração para o BPA por meio de adições sucessivas de solução padrão em água. Os espectros são apresentados na Figura 31A em que se observa que o BPA apresentou uma banda com um máximo de absorção em 279 nm, a qual aumentou linearmente com o aumento da concentração de BPA. A curva de calibração exibida na Figura 31B foi linear na faixa de concentração de 0,1 a 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,999$) com equação de $\text{Abs} = 0,0271 (\pm 1,85 \times 10^{-4})[\text{BPA}] + 2,049 \times 10^{-4} (\pm 8,329 \times 10^{-4})$ obtendo LOD e LOQ de 78,0 e 237,0 nmol L^{-1} , respectivamente.

Figura 31. (A) Espectros UV-vis para solução padrão de BPA: (a) branco em água; (b) 0,1; (c) 0,2; (d) 0,4; (e) 0,6; (f) 0,8; (g) 1,0; (h) 2,0; (i) 4,0; (j) 6,0; (k) 8,0 e (l) 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de calibração ($n = 3$).



Os resultados de uma das replicatas para quantificação de BPA na amostra de PC pelo método UV-vis são mostrados na Figura 32. Pode-se dizer que também não houve efeito de interferência de matriz, pois as inclinações da curva de adição de padrão e da curva de calibração (Figura 32B) foram bastante semelhantes. Pela extrapolação da curva de adição de padrão, foi encontrado uma concentração de 0,286 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BPA na amostra.

Figura 32. (A) Espectros UV-vis para solução de BPA: (a) branco, (b) amostra de PC, e (c-g) adições sucessivas (30 e 60 μL) de solução padrão de BPA 0,1 mmol L^{-1} . (B) Curva de adição de padrão para a amostra de PC (a) a curva de calibração (b).



A Tabela 6 apresenta os resultados de cinco replicatas feitas na amostra de PC pelo método voltamétrico e pelo método espectroscópico, bem como o valor médio e o RSD das medidas.

Tabela 6. Resultados obtidos para quantificação de BPA na amostra de PC pelo método voltamétrico e pelo espectroscópico.

Método	Valor encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Média ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	RSD (%)
Voltamétrico	0,260	0,290	6,63
	0,300		
	0,280		
	0,290		
	0,310		
Espectroscópico	0,286	0,275	3,72
	0,275		
	0,270		
	0,282		
	0,260		

Sendo assim, para a amostra de PC a concentração de BPA determinada pelo método voltamétrico foi de 0,290 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 5$, RSD = 6,63%), enquanto que de acordo com o método espectroscópico foi de

0,275 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 5$, RSD = 3,72%). A análise estatística foi aplicada para comparar os conjuntos de dados obtidos pelos dois métodos.

Os testes t de Student e F são bastante utilizados para se comparar resultados obtidos com métodos diferentes com objetivo de se avaliar a precisão. As equações utilizadas para se calcular os testes t e F são (LEITE, 2002; RIBEIRO *et al.*, 2008):

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_a \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \qquad F = \frac{SD_{maior}^2}{SD_{menor}^2}$$

Onde: \bar{x}_1 é o valor médio das amostras obtido pelo método voltamétrico; \bar{x}_2 é o valor médio das amostras obtido pelo método comparativo; S_a é a estimativa do desvio padrão agregado; SD é o desvio padrão amostral e n é o número de repetições.

O teste F foi aplicado para comparar a precisão entre os resultados obtidos pela técnica voltamétrica e pela técnica UV-vis. O valor de F calculado foi igual a 3,68, valor inferior ao $F_{teórico} = 6,38$ ($n - 1$, para quatro graus de liberdade), indicando que não há diferença entre a precisão dos dados obtidos pelos dois métodos.

Assim, o teste t foi aplicado para comparar as médias fornecidas pelos dois métodos. O valor de t tabelado é obtido a partir da tabela da distribuição de Student para ($n_1 + n_2 - 2$) graus de liberdade e nível de confiança de 95%. Quando o valor de t calculado for menor que o t tabelado pode-se concluir que não há diferença significativa entre as médias (LEITE, 2002; BRITO *et al.*, 2003). Assim, empregando $\bar{x}_1 = 0,290$; $\bar{x}_2 = 0,275$; $S_a = 0,0153$ e $n_1 = n_2 = 5$, calculou-se $t = 1,551$. Este valor é inferior ao $t_{teórico} = 2,306$ (para oito graus de liberdade), indicando que não houve diferença significativa entre as médias obtidas pelos dois métodos.

Era esperado conseguir detectar certa concentração de BPA nas amostras de PC, visto que os policarbonatos são sintetizados a partir de uma reação de transesterificação entre o BPA e carbonato de difenila ou cloreto de carbonila. Diversos estudos demonstram a migração de BPA de recipientes deste tipo polímero para água quando submetidos a um aumento de temperatura por um certo tempo (BERNARDO *et al.*, 2015).

Na China, Zhang e colaboradores (2013) quantificaram BPA em embalagens feitas de PC empregando um GCE modificado com Fe_3O_4 NPs decoradas com rGO estabilizados em quitosana. Em solução tampão PBS 0,1 mol L^{-1} (pH 8,0) e empregando a técnica de DPV, os autores detectaram uma concentração de 0,82 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BPA em amostra de

garrafa de água e $0,77 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BPA em embalagem para sorvete. Em outras amostras constituídas de PS, PP e PET, os autores não detectaram BPA (ZHANG *et al.*, 2013).

Também na China, Gao e co-autores (2012) empregaram um GCE modificado com nanotubos de carbono de parede simples e β -ciclodextrina para análise de BPA. As amostras permaneceram em refluxo a 70°C por 48 h. Assim, em solução tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0), por amperometria, os autores obtiveram as seguintes concentração em $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BPA: 0,026 em garrafa de PC; 0,036 em balde de PC; 0,013 em mamadeira de PC; 0,053 em embalagem de alimento de PVC e 0,029 em garrafa de PVC (GAO *et al.*, 2012).

Deste modo, o detector Fe_3O_4 NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE também foi aplicado para a análise de BPA nas demais amostras selecionadas, mas assim como o método espectroscópico, não foi possível detectar a presença do BPA. Assim aplicou-se em todas as amostras os ensaios de adição e recuperação. Os resultados são apresentados na Tabela 7.

O ensaio de adição e recuperação constitui o método mais utilizado para avaliação de processos analíticos. Consiste na adição de solução padrão a amostra, seguida pela determinação desta concentração. A recuperação está relacionada com a exatidão, pois reflete a quantidade de determinada solução padrão que é recuperada no processo, em relação à quantidade adicionada a amostra. A exatidão é expressa como erro sistemático percentual, inerente ao processo. O erro sistemático ocorre pela perda da substância devido à baixa recuperação da extração, medidas voltamétricas imprecisas, substâncias interferentes na amostra, entre outros problemas (BRITO *et al.*, 2003).

Tabela 7. Determinação de BPA em diferentes amostras.

Amostras	Determinado ^a		Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Encontrado ^a		Recuperado (%)	
	($\mu\text{mol L}^{-1}$)			($\mu\text{mol L}^{-1}$)			
	DPV ^b	UV-vis		DPV ^b	UV-vis	DPV ^b	UV-vis
PC	0,290	0,275	1,00	1,287	1,272	99–104	97–109
PS	----	----	1,00	1,080	0,989	106–112	98–110
PVC	----	----	1,00	1,130	1,083	106–120	98–108
PET	----	----	1,00	1,010	1,021	90–110	101–104
BPA-free	----	----	1,00	1,050	1,011	97–105	93–101

^a Média de cinco medidas sob as mesmas condições experimentais.

^b DPV empregando Fe_3O_4 NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/Au NPs-Si4Pic⁺Cl⁻/GCE.

Os ensaios de recuperação foram realizados em todas amostras e os resultados obtidos encontraram-se na faixa de 90% e 120% de recuperação, o que são valores aceitáveis para o nível de concentração estudada, justificando assim, o bom desempenho na aplicação do detector desenvolvido para a quantificação de BPA nas amostras de plásticos comerciais.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um novo detector eletroquímico foi desenvolvido através da modificação de um substrato de carbono vítreo com um filme de nanopartículas de óxido de ferro depositado sobre um filme de nanopartículas de ouro. O detector foi caracterizado e aplicado para a quantificação de bisfenol A em amostras de plásticos comerciais.

As dispersões de Fe₃O₄ NPs e Au NPs foram estabilizadas em solução aquosa de cloreto de 3-*n*-propil-4-picolina silsesquioxano, foram caracterizadas e os diâmetros médios de 38 e 50 nm, respectivamente, estimados a partir das imagens de TEM.

A superfície do eletrodo modificado foi caracterizada por SEM-FEG, EIS e voltametria cíclica comprovando que a modificação do substrato de carbono vítreo foi realizada, oferecendo ao novo detector, uma maior área eletroativa bem como uma maior condutividade elétrica em relação ao seu substrato.

A oxidação do BPA sobre a superfície do eletrodo modificado foi estudada ocorrendo através da transferência de dois mols de prótons e dois mols de elétrons. Quando comparado ao substrato, foi evidenciado que o novo detector aumentou os valores de corrente e deslocou o potencial de oxidação do BPA para valores menos positivos, comprovando a atividade catalítica das nanopartículas utilizadas.

Para a quantificação de BPA, desenvolveu-se uma metodologia eletroanalítica através do uso da técnica de voltametria de pulso diferencial aplicando os parâmetros: $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 8,0 \text{ ms}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,0). A curva de calibração foi construída na faixa de concentração de BPA de $20,0$ a $1400,0 \text{ nmol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,996$) obtendo um limite de detecção de $7,0 \text{ nmol L}^{-1}$ e quantificação de $21,0 \text{ nmol L}^{-1}$.

Estes valores permitiram a aplicação do eletrodo modificado para quantificação de BPA em diferentes amostras de plásticos obtendo ensaios de recuperações satisfatórios no intervalo de 90 a 120% e estando de acordo com análises realizadas pela técnica UV-vis. Garantindo assim uma análise com boa precisão e exatidão nas amostras estudadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALKASIR, R. S. J.; GANESANA, M.; WON, Y.; STANCIU, L.; ANDREESCU, S. Enzyme functionalized nanoparticles for electrochemical biosensor: A comparative study with applications for the detection of bisphenol A. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, p. 43–49, 2010.

ARABALI, V.; EBRAHIMI, M.; GHEIBI, S.; KHALEGHI, F.; BIJAH, M.; RUDBARAKI, M.; ABBASGHORBANI, M.; GANJALI, M. R. Bisphenol A analysis in food samples using modified nanostructure carbon paste electrode as a sensor. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 6, p. 1763–1769, 2016.

ARGUELLO, J.; MAGOSSO, H. A.; LANDERS, R.; PIMENTEL, V. L.; GUSHIKEM, Y. Synthesis, characterization and electroanalytical application of a new $\text{SiO}_2/\text{SnO}_2$ carbon ceramic electrode. **Electrochimica Acta**, v. 56, n. 1, p. 340–345, 2010.

ARRUEBO, M.; PACHECO, R. F.; IBARRA, M. R.; SANTAMARIA, J. Magnetic nanoparticles for drug delivery. **Nanotoday**, v. 2, n. 3, p. 22–32, 2007.

ARVAND, M.; HEMMATI, S. Magnetic nanoparticles embedded with graphene quantum dots and multiwalled carbon nanotubes as a sensing platform for electrochemical detection of progesterone. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 238, p. 346–356, 2017.

BANEY, R. H.; ITOH, M.; SAKAKIBARA, A.; SUZUKI, T. Silsesquioxanes. **Chemical Reviews**, v. 95, n. 5, p. 1409–1430, 1995.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**, 2^a ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2001.

BARD, A. J.; STRATMANN, M.; URWIN, P. R. **Encyclopedia of Electrochemistry - vol 3: Instrumentation and Electroanalytical Chemistry**. Coventry: Wiley, 2003.

BERNARDO, P. E. M.; NAVAS, S. A.; MURATA, L. T. F.; ALCÂNTARA, M. R. S. Bisfenol A: o uso em embalagens para alimentos, exposição e toxicidade – uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 74, n. 1, p. 1–11, 2015.

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

BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129–146, 2003.

CAMPBELL, F. W.; COMPTON, R. G. The use of nanoparticles in electroanalysis: an updated review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 396, n. 1, p. 241–269, 2010.

CIUCU, A. A. Chemically modified electrodes in biosensing. **Journal of Biosensors and Bioelectronics**, v. 5, n. 3, p. 154–164, 2014.

CORDES, D. B.; LICKISS, P. D.; RATABOUL, F. Recent developments in the chemistry of cubic polyhedral oligosilsesquioxanes. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 4, p. 2081–2173, 2010.

DADKHAH, S.; ZIACI, E.; MEHDINIA, A.; KAYYAL, T. B.; JABBARI, A. A glassy carbon electrode modified with amino-functionalized graphene oxide and molecularly imprinted polymer for electrochemical sensing of bisphenol A. **Microchimica Acta**, v. 183, p. 1933–1941, 2016.

DEHDASHTIAN, S.; GHOLIVAND, M. B.; SHAMSIPUR, M.; KARIMINIA, S. Construction of a sensitive and selective sensor for morphine using chitosan coated Fe₃O₄ magnetic nanoparticle as a modifier. **Materials Science and Engineering C**, v. 56, p. 53–59, 2016.

DE MENEZES, E. W.; LIMA, E. C.; ROYER, B.; SOUZA, B. D.; GREGÓRIO, J. R.; COSTA, M. H.; GUSHIKEM, Y.; BENVENUTTI, E. V. Ionic silica based hybrid material containing the pyridinium group used as an adsorbent for textile dye. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 378, n. 1, p. 10–20, 2012a.

DE MENEZES, E. W.; NUNES, M. R.; ARENAS, L. T.; DIAS, S. L. P.; GARCIA, I. T. S.; GUSHIKEM, Y.; COSTA, T. M. H.; BENVENUTTI, E. V. Gold nanoparticle/charged silsesquioxane films immobilized onto Al/SiO₂ surface applied on the electrooxidation of nitrite. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 16, n. 12, p. 3703–3713, 2012b.

DURST, R. A.; BAUMER, A. J.; MURRAY, R. W.; BUCK, R. P.; ANDRIEUX, C. P. Chemically modified electrodes: recommended terminology and definitions (IUPAC recommendation 1997). **Pure and Applied Chemistry**, v. 57, n. 6, p. 1491–1505, 1997.

EDWARDS, G. A.; BERGREN, A. J.; PORTER, M. D. Chemically modified electrodes. **Handbook of Electrochemistry**, p. 295–327, 2007.

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**, v. 186, p. 302–313, 2015.

FRIÁK, M.; SCHINDLMAYR, A.; SCHEFFLER, M. *Ab initio* study of the half-metal to metal transition in strained magnetite. **New Journal of Physics**, v. 9, n. 5, p. 1–15, 2007.

FRITZ, G.; SCHDLER, V.; WILLENBACHER, N.; WAGNER, N. J.; SCHA, V. Electrostatic stabilization of colloidal dispersion. **Macromolecules**, v.18, n. 16, p. 6381–6390, 2002.

GAO, Y.; CAO, Y.; YANG, D.; LUO, X.; TANG, Y.; LI, H. Sensitivity and selectivity determination of bisphenol A using SWCNT-CD conjugate modified glassy carbon electrode. **Journal of Hazardous Materials**, v. 199–200, p. 111–118, 2012.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 695–706, 2007.

GOSSER, K. D. **Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms**. Nova York: VCH Publishers, 1993.

GOULART, L. A.; MORAES, F. C.; MASCARO, L. H. Influence of the different carbon nanotubes on the development of electrochemical sensors for bisphenol A. **Materials Science and Engineering C**, v. 58, p. 768–773, 2016.

GUSHIKEM, Y.; BENVENUTTI, E. V.; KHOLIN, Y. V. Synthesis and applications of functionalized silsesquioxane polymers attached to organic and inorganic matrices. **Pure and Applied Chemistry**, v. 80, n. 7, p. 1593–1611, 2008.

HANG, J.; SHI, L.; FENG, X.; XIAO, L. Electrostatic and electrosteric stabilization of aqueous suspensions of barite nanoparticles. **Powder Technology**, v. 192, n. 2, p. 166–170, 2009.

HASANY, S. F.; ABDURAHMAN, N. H.; SUNARTY, A. R.; JOSE, R. Magnetic iron oxide nanoparticles: chemical synthesis and application review. **Current Nanoscience**, v. 9, p. 561–575, 2013.

HOU, C.; TANG, W.; ZHANG, C.; WANG, Y.; ZHU, N. A novel and sensitive electrochemical sensor for bisphenol A determination based on carbon black supporting ferroferric oxide nanoparticles. **Electrochimica Acta**, v. 144, p. 324–331, 2014.

IOST, R. M.; CRESPILO, F. N. Layer-by-layer self-assembly and electrochemistry: Applications in biosensing and bioelectronics. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 31, n. 1, p. 1–10, 2012.

KUMAR, C. S. S. R. **Biofunctionalization of Nanomaterials**, 1. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.

LAVIRON, E. Adsorption, autoinhibition and autocatalysis in polarography and in linear potential sweep voltammetry. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 52, n. 3, p. 355–393, 1974.

LEITE, F. **Validação em análise química**, 4. ed. Campinas: Editora Átomo, 2002.

LI, J.; QU, J.; YANG, R.; QU, L. HARRINGTON, P. B. A sensitive and selective electrochemical sensor based on graphene quantum dots/gold

nanoparticle nanocomposite modified electrode for the determination of quercetin in biological samples. **Electroanalysis**, v. 28, p. 1–10, 2016a.

LI, Y.; ZHAI, X.; LIU, X.; WANG, L.; LIU, H.; WANG, H. Electrochemical determination of bisphenol A at ordered mesoporous carbon modified nano-carbon ionic liquid paste electrode. **Talanta**, v. 148, p. 362–369, 2016b.

LI, Y.; GAO, Y.; CAO, Y.; LI, H. Electrochemical sensor for bisphenol A determination based on MWCNT/melamine complex modified GCE. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 171–172, p. 726–733, 2012.

LINK, S.; EL-SAYED, M. A. Size and temperature dependence of the plasmon absorption of colloidal gold nanoparticles. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 103, n. 21, p. 4212–4217, 1999.

LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318–1325, 2006.

LU, A. H.; SALABAS, E. L.; SCHÜTH, F. Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization and application. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, p. 1222–1244, 2007.

MARTINS, M. A.; TRINDADE, T. Os nanomateriais e a descoberta de novos mundos na bancada do químico. **Química Nova**, v. 35, n. 7, p. 1434–1446, 2012.

MAGOSSO, H. A.; LUZ, R. C. S.; GUSHIKEM, Y. Preparation and properties of the hybrid material *n*-propyl(3-methylpyridinium)silsesquioxane chloride. Application in electrochemical determination of nitrite. **Electroanalysis**, v. 22, n. 2, p. 216–222, 2010.

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) silsesquioxane chloride. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 303, n. 1, p. 18–24, 2006.

MELO JR., M. A.; SANTOS, L. S. S.; GONÇALVES, M. C.; NOGUEIRA, A. F. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1872–1878, 2012.

MERKOÇI, A. Nanobiomaterials in electroanalysis. **Electroanalysis**, v.19, n. 7–8, p. 739–741, 2007.

MITCHNICK, M. Physical stability of disperse systems. **Particle Science – Technical Brief**, v. 1, 2009.

MUHAMAD, M. S.; SALIM, M. R.; LAU, W. J.; YUSOP, Z. A review on bisphenol A occurrences, health effects and treatment process via membrane technology for drinking water. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 12, p. 11549–11567, 2016.

NIU, X.; YANG, W.; WANG, G.; REN, J.; GUO, H.; GAO, J. A novel electrochemical sensor of bisphenol A based on stacked graphene nanofibers/gold nanoparticles composite modified glassy carbon electrode. **Electrochimica Acta**, v. 98, p. 167–175, 2013.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1012–1021, 2002.

PEREIRA, G. F.; ANDRADE, L. S.; ROCHA-FILHO, R. C.; BOCCHI, N.; BIAGGIO, S. R. Electrochemical determination of bisphenol A using a boron-doped diamond electrode. **Electrochimica Acta**, v. 82, p. 3–8, 2012.

PINGARRON, J. M.; YANEZ-SEDENO, P.; GONZALEZ-CORTES, A. Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors. **Electrochimica Acta**, v. 53, n. 19, p. 5848–5866, 2008.

RAGAVAN, K. V.; RASTOGI, N. K.; THAKUR, M. S. Sensors and biosensors for analysis of bisphenol A. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 52, p. 248–260, 2013.

REZA, K. K.; ALI, A.; SRIVASTAVA, S.; AGRAWAL, V. V.; BIRADAR, A. M. Tyrosinase conjugated reduced graphene oxide based

biointerface for bisphenol A sensor. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 74, p. 644–651, 2015.

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**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RIBEIRO, F. A. L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA, L. R.; SCHNEIDER, R. P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 164–171, 2008.

RO, H. W.; SOLES, C. L. Silsesquioxanes in nanoscale patterning applications. **Materials Today**, v. 14, n. 1–2, p. 20–33, 2011.

ROCHESTER, J. R. Bisphenol A and human health: a review of the literature. **Reproductive Toxicology**, v. 42, p. 132–155, 2013.

SAHA, K.; AGASTI, S. S.; KIM, C.; LI, X.; ROTELLO, V. M. Gold nanoparticles in chemical and biological sensing. **Chemical Reviews**, v. 112, n. 5, p. 2739–2779, 2012.

SILVA, P. S. **Desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados com silsesquioxano para detecção seletiva de isômeros de compostos fenólicos**. Tese (Doutorado em Química). Florianópolis, 2014. Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina.

SILVA, P. S.; GASPARINI, B. C.; MAGOSSO, H. A.; SPINELLI, A. Electrochemical behavior of hydroquinone and catechol at a silsesquioxane-modified carbon paste electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 4, p. 695–699, 2013.

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**, v. 273, p. 70–77, 2014.

SILVA, T. R.; BRONDANI, D.; ZAPP, E.; VIEIRA, I. C. Electrochemical sensor based on gold nanoparticles stabilized in poly(allyamine hydrochloride) for determination of vanillin. **Electroanalysis**, v. 27, n. 2, p. 465–472, 2015.

SOUZA, D. de; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81–89, 2003.

SOUZA, M. F. B. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Química Nova**, v. 20, n. 2, p. 191–195, 1997.

STIEFEL, F.; PAUL, A. J.; JACOPO, T.; SGUEGLIA, A.; STÜTZLE, M.; HEROLD, E. M.; HESSE, F. The influence of bisphenol A on mammalian cell cultivation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 1, p. 113–124, 2016.

SUN, B.; GOU, Y.; MA, Y.; ZHENG, X.; BAI, R.; ABDELMOATY, A. A. A.; HU, F. Investigate electrochemical immunosensor of cortisol based on gold nanoparticles/magnetic functionalized reduced graphene oxide. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 88, p. 55–62, 2017.

SUN, F.; KANG, L.; XIANG, X.; LI, H.; LUO, X.; LUO, R.; LU, C.; PENG, X. Recent advances and progress in the detection of bisphenol A. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 25, p. 6913–6927, 2016.

TAN, X.; HU, Q.; WU, J.; LI, X.; LI, P.; YU, H.; LI, X.; LEI, F. Electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer reduced graphene oxide and gold nanoparticles modified electrode for detection of carbofuran. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 220, p. 216–221, 2015.

TASHKHLOURIAN, J.; DANESHI, M.; NAMI-ANA F.; BEHBAHANI, M.; BAGHERI, A. Simultaneous determination of hydroquinone and catechol at gold nanoparticles mesoporous silica modified carbon paste electrode. **Journal of Hazardous Materials**, v. 318, p. 117–124, 2016.

THOMAS, F. G.; HENZE, G. **Introduction to voltammetric analysis: theory and practice**. Collingwood: CSIRO Publishing, 2001.

TOMA, H. E.; BONIFÁCIO, L. S.; ANAISSI, F. J. Da cor à cor inexistente: uma reflexão sobre espectros eletrônicos e efeitos cromáticos. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 897–900, 2005.

WANG, J. **Stripping analysis: principles, instrumentation and applications**. Deerfield Beach: VCH Publishers, 1985.

WANG, Y.; COKELILER, D.; GUNASEKARAN, S. Reduced graphene oxide/carbon nanotube/gold nanoparticles nanocomposite functionalized screen-printed electrode for sensitive electrochemical detection of endocrine disruptor bisphenol A. **Electroanalysis**, v. 27, n. 11, p. 2527–2536, 2015.

WU, W.; HE, Q.; JIANG, C. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and surface functionalization strategies. **Nanoscale Research Letters**, v. 3, n. 11, p. 397–415, 2008.

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**, v. 116, p. 244–249, 2014.

WU, W.; WU, Z.; YU, T.; JIANG, C.; KIM, W. S. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 6, n. 2, p. 23501–23544, 2015.

XIONG, S.; YANG, B.; CAI, D.; QIU, G.; WU, Z. Individual and simultaneous stripping voltammetric and mutual interference analysis of Cd²⁺, Pb²⁺ and Hg²⁺ with reduced graphene oxide-Fe₃O₄ nanocomposites. **Electrochimica Acta**, v. 185, p. 52–61, 2015.

XU, J. K.; ZHANG, F. F.; SUN, J. J.; SHENG, J.; WANG, F. SUN, M. Bio and nanomaterials based on Fe₃O₄. **Molecules**, v. 19, p. 21506–21528, 2014.

YI, J.; TANG, S.; WANG, Z.; YIN, Y.; YANG, S.; ZHANG, B.; SHU, S.; LIU, T.; XU, L. Electrochemical determination of bisphenol A based on PHD/MWCNTs modified glassy carbon electrode. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 95, n. 2, p. 158–174, 2015.

YIN, H.; CUI, L.; CHEN, Q.; SHI, W.; AI, S.; ZHU, L.; LU, L. Amperometric determination of bisphenol A in milk using PAMAM-Fe₃O₄ modified glassy carbon electrode. **Food Chemistry**, v. 125, n. 3, p. 1097–1103, 2011.

YU, C.; GOU, L.; ZHOU, X.; BAO, N.; GU, H. Chitosan-Fe₃O₄ nanocomposite based electrochemical sensors for the determination of bisphenol A. **Electrochimica Acta**, v. 56, n. 25, p. 9056–9063, 2011.

YU, C.; GUO, J.; GU, H. Electrocatalytic oxidation of nitrite and its determination based on Au@Fe₃O₄ nanoparticles. **Electroanalysis**, v. 22, n. 9, p. 1005–1011, 2010.

ZARBIN, A. Química de (nano)materiais. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p. 1469–1479, 2007.

ZEN, J.-M.; KUMAR, A. S.; TSAI, D.-M. Recent updates of chemically modified electrodes in Analytical Chemistry. **Electroanalysis**, v. 15, n. 13, p. 1073–1087, 2003.

ZENG, S.; YONG, K. T.; ROY, I.; DINH, X. Q.; YU, X.; LUAN, F. A review on functionalized gold nanoparticles for biosensing applications. **Plasmonics**, v. 6, p. 491–506, 2011.

ZHANG, T.; SONG, Y.; LI, X.; HOU, W. Electrochemical sensor for bisphenol A based on liquid functionalized Zn-Al layered double hydroxide modified electrode. **Materials Science and Engineering: C**, v. 64, p. 354–361, 2016.

ZHANG, Y.; CHENG, Y.; ZHOU, Y.; LI, B.; GU, W.; SHI, X.; XIAN, Y. Electrochemical sensor for bisphenol A based on magnetic nanoparticles decorated reduced graphene oxide. **Talanta**, v. 107, p. 211–218, 2013.

ZHENG, Z.; DU, Y.; WANG, Z.; FENG, Q.; WANG, C. Pt/graphene-CNTs nanocomposite based electrochemical sensors for the determination of endocrine disruptor bisphenol A in thermal printing papers. **Analyst**, v. 138, n. 2, p. 693–701, 2013.

ZHOU, L.; WANG, J.; LI, D.; LI, Y. An electrochemical aptasensor based on gold nanoparticles dotted graphene modified glassy carbon electrode for label-free detection of bisphenol A in milk samples. **Food Chemistry**, v. 162, p. 34–40, 2014.