



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

Edson Roberto Santana

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE ELETRODOS
QUIMICAMENTE MODIFICADOS COM PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO
PARA A DETERMINAÇÃO DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS**

Florianópolis

2021

Edson Roberto Santana

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE ELETRODOS
QUIMICAMENTE MODIFICADOS COM PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO
PARA A DETERMINAÇÃO DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Química da Universidade Federal de Santa Catarina
para a obtenção do título de Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Almir Spinelli

Florianópolis

2021

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 eletrodos quimicamente modificados com pontos quânticos de grafeno para a determinação de desreguladores endócrinos / Edson Roberto Santana ; orientador, Almir Spinelli, 2021.

125 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Química. 2. Eletrodos quimicamente modificados. 3. Pontos quânticos de grafeno. 4. Quitosana. 5. Desreguladores endócrinos. 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 eletrodos quimicamente modificados com pontos quânticos de grafeno para a determinação de desreguladores endócrinos

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Luiz Humberto Marcolino Junior, Dr.
Universidade Federal do Paraná

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

Prof. Gustavo Amadeu Micke, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Iolanda Cruz Vieira, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutor em Programa de Pós-Graduação em Química.

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

Prof. Almir Spinelli, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2021

*Aos meus pais, Edson e Juvenia,
e a minha irmã, Giovanna.*

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, e a minha irmã Giovanna, por sempre acreditarem em mim, e por todo o amor e esforços para que o meu sonho pudesse se concretizar;

Ao professor Dr. Almir Spinelli, pela orientação, confiança e amizade durante o meu crescimento profissional e a realização deste trabalho;

Aos meus amigos de laboratório: João, Rayane, Eduardo, Marília, Paola, Ricardo, Everton, Daniel, Giles, Caio, Tiago, Pãmyla, Franciele e Kelline, pela amizade e companheirismo durante essa jornada. E as minhas amigas que já deixaram o grupo, Camila, Jamille e Fernanda, que mesmo distantes fisicamente, continuaram me incentivando durante todo esse processo;

As grandes amizades que a Graduação em Química me proporcionou, Suéli, Franciane, Fiorella e Tainá; e aos meus amigos, Suzana, Ariadlis, Marina, Michele, Sindy, Tânia, Pâmela, Claiton, Rafael, Lucas e J. Guilherme, por todo apoio e companheirismo durante todos estes anos;

Aos meus amigos, João e Thuany, faço um agradecimento especial pelo suporte nas análises de espectroscopia de fluorescência e infravermelho;

À professora Dra. Iolanda Cruz Vieira, e aos antigos colegas do Laboratório de Biossensores, pelo incentivo nas minhas primeiras etapas da vida acadêmica;

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) pelo suporte financeiro.

**LISTA DE TRABALHOS PUBLICADOS DURANTE O
DOUTORADO (2017-2021)**

• **Artigos publicados em revistas científicas**

1. Santana, E.R.; Martins, E.C.; Spinelli A. Electrode modified with nitrogen-doped graphene quantum dots supported in chitosan for triclocarban monitoring. **Microchemical Journal**, 167, 106297, 2021.
2. Gerent, G.G.; Santana, E.R.; Martins, E.C.; Spinelli, A. A non-mercury electrode for the voltammetric determination of butralin in foods. **Food Chemistry**, 343, 128419, 2021.
3. Piovesan, J.V.; Santana, E.R.; Spinelli, A. A carbon paste electrode improved with poly(ethylene glycol) for tannic acid surveillance in beer samples. **Food Chemistry**, 326, 127055, 2020.
4. Antoniazzi, C.; Lima, C.A.; Marangoni, R.; Castro, E.G.; Santana, E.R.; Spinelli, A. Molybdenum trioxide incorporated in a carbon paste as a sensitive device for bisphenol A monitoring. **Microchemical Journal**, 159, 105528, 2020.
5. Santana, E.R.; Spinelli, A. Electrode modified with graphene quantum dots supported in chitosan for electrochemical methods and non-linear deconvolution of spectrum for spectrometric methods: approaches for simultaneous determination of triclosan and methylparaben. **Microchimica Acta**, 187, 250, 2020.
6. Pereira, D.F.; Santana, E.R.; Piovesan, J.V., Spinelli, A. A novel electrochemical strategy for determination of vitamin B₁₂ by Co(I/II) redox pair monitoring with boron-doped diamond electrode. **Diamond and Related Materials**, 105, 107793, 2020.
7. Moreira, F.; Santana, E.R.; Spinelli, A. Ionic liquid-supported magnetite nanoparticles as electrode modifier materials for estrogens sensing. **Scientific Reports**, 10, 1955, 2020.
8. Piovesan, J.V.; Santana, E.R.; Spinelli, A. Reduced graphene oxide/gold nanoparticles nanocomposite-modified glassy carbon electrode for determination of endocrine disruptor methylparaben. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 813, 163-170, 2018.
9. Ianesko, F.; Lima, C.A.; Antoniazzi, C.; Santana, E.R.; Piovesan, J.V.; Spinelli, A.; Galli, A.; Castro, E.G. Simultaneous electrochemical determination of hydroquinone and bisphenol A using a carbon paste electrode modified with silver nanoparticles. **Electroanalysis**, 30, 1946-1955, 2018.

• **Resumos publicados em anais de congressos**

1. Santana, E.R.; Spinelli, A. Nitrogen-doped graphene quantum dots based electrochemical device for endocrine disruptors sensing. In: **XVIII Brazilian Materials Research Society Meeting**, 2019, Balneário Camboriú, SC. Anais do XVIII Brazilian Materials Research Society Meeting – Resumo U.P6.26.
2. Santana, E.R.; Spinelli, A. Simultaneous determination of triclosan and methylparaben using a graphene quantum dots-modified electrode. In: **XXII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica**, 2019, Ribeirão Preto, SP. Anais do XXII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica – Resumo 01-07.
3. Pereira, D.F.; Santana, E.R.; Piovesan, J.V.; Spinelli, A. Boron-doped diamond electrode applied to electroanalytical determination of vitamin B₁₂. In: **XXII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica**, 2019, Ribeirão Preto, SP. Anais do XXII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica – Resumo 01-11.
4. Moreira, F.; Santana, E.R.; Spinelli, A. Sensing of 17 β -estradiol and estriol in pharmaceutical samples employing a magnetite nanoparticles/ionic liquid based electrode. In: **XXII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica**, 2019, Ribeirão Preto, SP. Anais do XXII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica – Resumo 01-28.
5. Santana, E.R.; Spinelli, A. Simultaneous determination of endocrine disruptors triclosan and methylparaben in personal care products by UV-vis spectroscopy. In: **42^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2019, Joinville, SC. Anais da 42^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – Resumo ANA-031.
6. Santana, E.R.; Piovesan, J.V.; Spinelli, A. Aplicação de um eletrodo modificado com nanocompósito de óxido de grafeno reduzido/nanopartículas de ouro para determinação voltamétrica de metilparabeno. In: **XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica**, 2017, Natal, RN. Anais do XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica – Resumo E01P-027.
7. Moreira, F.; Piovesan, J.V.; Gerent, G.G.; Santana, E.R.; Spinelli, A. Determinação eletroanalítica de 17 β -estradiol utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado com nanopartículas de Fe₃O₄ e BMI.PF₆. In: **XXIV Encontro de Química da Região Sul**, 2017, Florianópolis, SC. Anais do XXIV Encontro de Química da Região Sul – Resumo QA-051.
8. Santana, E.R.; Spinelli, A. Pontos quânticos de grafeno e quitosana aplicados à modificação de eletrodos para detecção de desreguladores endócrinos. In: **XXIV Encontro de Química da Região Sul**, 2017, Florianópolis, SC. Anais do XXIV Encontro de Química da Região Sul – Resumo QA-080.

“Pesquisar é acordar para o mundo”

Marcelo Lamy

RESUMO

Este trabalho relata o desenvolvimento de dois diferentes eletrodos quimicamente modificados à base de pontos quânticos de grafeno (dopados ou não) immobilizados em quitosana para a aplicação no monitoramento de desreguladores endócrinos em produtos de higiene. Os pontos quânticos de grafeno foram sintetizados pelo método de pirólise utilizando o ácido cítrico como precursor, na presença ou não de dopantes, e caracterizados por técnicas microscópicas e espectroscópicas. Os eletrodos modificados foram caracterizados por voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica, constatando que a presença dos pontos quânticos de grafeno proporcionou maiores respostas de corrente e facilitou a transferência de carga entre a superfície do eletrodo e a do analito, quando comparado a resposta do substrato de carbono vítreo. Nesse processo, a quitosana foi fundamental para a formação de um filme estável contendo os pontos quânticos de grafeno sobre o substrato, contribuindo também para a adsorção dos analitos, o que também proporcionou aumento nas intensidades de corrente. O primeiro eletrodo foi modificado com pontos quânticos de grafeno (diâmetro médio de 5,8 nm) e quitosana para a determinação simultânea de triclosan e metilparabeno. Com o método eletroanalítico otimizado utilizando solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) e voltametria de pulso diferencial, construiu-se as curvas de calibração na faixa de 0,10 a 10,0 µmol L⁻¹, obtendo simultaneamente os limites de detecção de 30,0 e 39,0 nmol L⁻¹, respectivamente para triclosan (+0,60 V) e metilparabeno (+0,81 V). Os limites obtidos de forma simultânea foram semelhantes aos valores obtidos individualmente, indicando que a presença de um composto não interferiu na análise do outro composto. Além disso, o eletrodo modificado demonstrou excelente repetibilidade e sensibilidade adequada para ser aplicado com sucesso na determinação simultânea de triclosan e metilparabeno em produtos de higiene como sabonete, xampu, creme dental e desodorante. O eletrodo modificado apresentou boa exatidão com resultados de recuperação de 92-110%, e concordância com resultados do método comparativo. Em relação a esse método, foi empregado a espectrometria UV-vis com procedimento matemático de deconvolução não-linear de espectros para solucionar a sobreposição das bandas de absorção do triclosan (282 nm) e metilparabeno (257 nm). O segundo eletrodo modificado desenvolvido foi construído com pontos quânticos de grafeno dopados com nitrogênio (diâmetro médio de 4,5 nm) e quitosana para a análise de triclocarban em sabonetes (em barra e líquido). A curva de calibração foi construída por voltametria de pulso diferencial na faixa de 0,05 a 8,0 µmol L⁻¹ utilizando como eletrólito de suporte uma mistura de solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) com etanol (95:5 v/v). O eletrodo modificado forneceu um limite de detecção de 17,0 nmol L⁻¹ para o triclocarban (+0,96 V) e uma excelente repetibilidade entre as medidas. Os dados fornecidos pelo método eletroanalítico mostraram adequada exatidão, com resultados de recuperação de 90-109%, e em conformidade com o método comparativo por espectrometria UV-vis (265 nm). Por fim, todas as concentrações de triclosan, metilparabeno e triclocarban quantificadas nas amostras de produtos de higiene e cuidado pessoal encontraram-se dentro dos limites permitidos pela legislação brasileira.

Palavras-chave: Pontos quânticos de grafeno. Quitosana. Triclosan. Metilparabeno. Triclocarban.

ABSTRACT

This study reports the development of two different chemically modified electrodes based on graphene quantum dots (doped or not) immobilized in chitosan for application in the monitoring of endocrine disruptors in personal care products. The graphene quantum dots were synthesized by the pyrolysis method using citric acid as precursor agent, in the presence or not of dopants, and were characterized by microscopic and spectroscopic techniques. The modified electrodes were characterized by cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy, noticing that the presence of the graphene quantum dots immobilized on the electrode surface provided greater current responses and facilitated the charge transfer between the electrode surface and analyte, when compared to the response of the glassy carbon substrate. In this process, the chitosan was essential for the formation of a stable film containing the graphene quantum dots on the substrate, also contributing to the adsorption of analytes, which also provided an increase in current intensities. The first electrode was modified with graphene quantum dots (mean diameter of 5.8 nm) and chitosan for the simultaneous determination of triclosan and methylparaben. With the optimized electroanalytical method using 0.1 mol L⁻¹ sodium phosphate buffer (pH 7.0) and differential pulse voltammetry, the calibration plots were constructed in the range of 0.10 to 10.0 μmol L⁻¹, obtaining simultaneously the detection limits of 30.0 and 39.0 nmol L⁻¹, respectively for triclosan (+0.60 V) and methylparaben (+0.81 V). The limits obtained simultaneously were similar to the values obtained individually, indicating that the presence of one compound did not interfere in the analysis of the other compound. In addition, the modified electrode demonstrated excellent repeatability and adequate sensitivity to be successfully applied in the simultaneous determination of triclosan and methylparaben in personal care products such as soap bar, shampoo, toothpaste and deodorant. The modified electrode showed good accuracy with recovery results of 92-110%, and agreement with the results of the comparative method. In relation to this method, UV-vis spectrometry was used with a mathematical procedure of non-linear deconvolution of spectra to solve the overlapping absorption bands of the triclosan (282 nm) and methylparaben (257 nm). The second modified electrode developed was built based on nitrogen-doped graphene quantum dots (average diameter of 4.5 nm) and chitosan for the analysis of triclocarban in soaps (in bar and liquid). The calibration plot was constructed by differential pulse voltammetry in the range of 0.05 to 8.0 μmol L⁻¹ using as a supporting electrolyte a mixture of 0.1 mol L⁻¹ sodium phosphate buffer (pH 7.0) with ethanol (95:5 v/v). The modified electrode provided a detection limit of 17.0 nmol L⁻¹ for triclocarban (+0.96 V) and excellent repeatability between measurements. The data provided by the electroanalytical method showed adequate accuracy, with recovery results of 90-109%, and in accordance with the comparative method by UV-vis spectrometry (265 nm). Finally, all concentrations of triclosan, methylparaben and triclocarban quantified in the samples of personal care products were within the limits allowed by Brazilian legislation.

Keywords: Graphene quantum dots. Chitosan. Triclosan. Methylparaben. Triclocarban.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama para a síntese dos GQDs e GO a partir da reação de pirólise do ácido cítrico. Os pontos pretos na representação do GO são átomos de oxigênio.....	28
Figura 2. Configurações de ligação para átomos de nitrogênio na matriz de grafeno.	31
Figura 3. Diagrama para a síntese de GQDs e N-GQDs a partir de ácido cítrico e amônia. ..	33
Figura 4. Representação das estruturas químicas da quitina e da quitosana.	36
Figura 5. Representação da estrutura química do triclosan (5-cloro-[2,4-diclorofenoxi] fenol).	40
Figura 6. Representação da estrutura química do metilparabeno (4-hidroxibenzoato de metila).	43
Figura 7. Representação da estrutura química do triclocarban (3,4,4'-triclorocarbanilida). ...	46
Figura 8. Espectros de infravermelho para (a) ácido cítrico, (b) GQDs e (c) N-GQDs.....	61
Figura 9. Espectros UV-vis para (a) ácido cítrico, (b) GQDs e (c) N-GQDs. Inserido: imagem das dispersões sob luz UV de 365 nm.	62
Figura 10. Espectros de fluorescência de excitação e emissão para (A) GQDs e (B) N-GQDs. Inserido: espectros de emissão obtidos a partir da variação do comprimento de onda de excitação: em (A) (a) 320, (b) 340, (c) 360, (d) 380 e (e) 400 nm; em (B): (a) 380, (b) 340, (c) 350, (d) 370 e (e) 360 nm.	63
Figura 11. Imagens de TEM para (A) GQDs e (B) N-GQDs. Inserido: histogramas de distribuição de tamanho dos pontos quânticos de grafeno.	64
Figura 12. (A) Voltamogramas cíclicos para $K_4[Fe(CN)_6]$ $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$) em diferentes eletrodos. (B) Gráficos de Nyquist obtidos por EIS usando uma mistura equimolar de $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes eletrodos: (a) GCE, (b) CS/GCE, (c) GQDs-CS/GCE e (d) N-GQDs-CS/GCE. Inserido em (B): Circuito de Randles, onde R_s representa a resistência da solução, R_{ct} é a resistência de transferência de carga, Z_w é a impedância de transferência de massa (impedância de Warburg) e C_{dl} é capacitância da dupla camada elétrica.	66
Figura 13. Voltamogramas cíclicos para TCS $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) sobre diferentes eletrodos: (a) GCE, (b) CS/GCE e (c) GQDs-CS/GCE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	68
Figura 14. Voltamogramas cíclicos para TCS $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em	

diferentes valores de pH (A) pH 2,0 a 7,0 e (B) pH 8,0 a 12,0; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Em (C) variação de I_{pa} em diferentes valores de pH ($n = 3$) e (D) variação de E_{po} em função do pH ($n = 3$). ... 70

Figura 15. Respostas de corrente anódica de TCS $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em função (A) do pH e da natureza do eletrólito de suporte ($n = 3$) e (B) em função da concentração do eletrólito de suporte solução tampão fosfato de sódio ($n = 3$)..... 72

Figura 16. (A) Voltamogramas cíclicos para TCS $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre GQDs-CS/GCE em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) 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. $\log v$ ($n = 3$). (C) Relação entre E_{po} vs. $\log v$ ($n = 3$). 73

Figura 17. Esquema de reação para a oxidação do (A) TCS e (B) MePa no GQDs-CS/GCE de acordo com os dados obtidos..... 75

Figura 18. Voltamogramas para TCS $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) em diferentes velocidades de variação de potencial: (A) $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$, (B) $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ obtidos com diferentes técnicas eletroanalíticas: (a) LSV, (b) SWV e (c) DPV. (C) Gráfico de barras de I_{pa} vs. v ($n = 3$). 76

Figura 19. Gráficos referentes a otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial para TCS $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0): (A) I_{pa} vs. v ; (B) I_{pa} vs. t_{pulso} e (C) I_{pa} vs. E_{pulso} ($n = 3$). 78

Figura 20. Voltamogramas de pulso diferencial para (A) TCS e MePa sobre o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE em diferentes concentrações: (a) branco; (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; (l) $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0); $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{pulso} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{pulso} = 7,0 \text{ ms}$. (B) Curvas de calibração para TCS e MePa ($n = 3$). 80

Figura 21. Voltamogramas de pulso diferencial para (A) TCS e (C) MePa sobre o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE em diferentes concentrações: (a) branco; (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; (l) $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0); $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{pulso} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{pulso} = 7,0 \text{ ms}$. Curvas de calibração para (B) TCS e (D) MePa ($n = 3$). 81

Figura 22. Espectros UV-vis para solução padrão de (A) TCS e (C) MePa: (a) branco em etanol; (b) 1,0; (c) 2,0; (d) 4,0; (e) 6,0; (f) 8,0; (g) 10,0; (h) 12,0; (i) $14,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. Curvas de calibração para (B) TCS e (D) MePa ($n = 3$)..... 83

Figura 23. (A) Espectros UV-vis para solução padrão de TCS e MePa: (a) branco em etanol; (b) 1,0; (c) 2,0; (d) 4,0; (e) 6,0; (f) 8,0; (g) 10,0; (h) 12,0; (i) 14,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$; (B) Espectros deconvolucionados para TCS; (C) Espectros deconvolucionados para MePa; (D) Curvas de calibração para TCS e MePa ($n = 3$). 85

Figura 24. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para: (a) branco, (b) 50,0 μL de amostra de desodorante, e (c-f) adições sucessivas de 100 μL de solução padrão de TCS e MePa 0,1 mmol L^{-1} em solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0), empregando o eletrodo GQDs-CS/GCE. (B) Curvas de adição de padrão (a) e calibração (b) do TCS. (C) Curvas de adição de padrão (a) e calibração (b) do MePa. Condições experimentais: $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 7,0 \text{ ms}$ 90

Figura 25. (A) Espectros UV-vis para: (a) branco, (b) 30,0 μL de amostra de desodorante, e (c-g) adições sucessivas de 30 μL de solução padrão de TCS e MePa 0,1 mmol L^{-1} em etanol; (B) Espectros deconvolucionados para o TCS; (C) Espectros deconvolucionados para o MePa (D) Curvas de adição de padrão (a) e de calibração (b) do TCS. (E) Curvas de adição de padrão (a) e de calibração (b) do MePa. 92

Figura 26. Voltamogramas cíclicos para TCC 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0):etanol (95:5 v/v) sobre diferentes eletrodos: (a) GCE, (b) CS/GCE e (c) N-GQDs-CS/GCE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ 96

Figura 27. (A) Voltamogramas cíclicos para TCC 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0):etanol (95:5 v/v) 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. $\log v$ (eixo a) e E_{po} vs. $\log v$ (eixo b) ($n = 3$). (C) Relação entre $I_{\text{pa}} v^{-1/2}$ vs. v ($n = 3$). 97

Figura 28. Voltamogramas cíclicos para TCC 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} :etanol (95:5 v/v) em diferentes valores de pH (A) pH 2,0 a 7,0 e (B) pH 8,0 a 12,0; $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$. Em (C) variação de I_{pa} (eixo a) e de E_{po} (eixo b) em função do pH ($n = 3$). 99

Figura 29. Respostas de corrente anódica de TCC 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em função (A) do pH e da natureza do eletrólito de suporte ($n = 3$), sendo usado o sistema solução tampão:etanol (95:5 v/v) sendo as soluções tampão utilizadas: (a) B-R, (b) fosfato de sódio e (c) McIlvaine. 100

Figura 30. Voltamogramas para TCC 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE em solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0):etanol (95:5 v/v) em diferentes velocidades de variação de potencial: (A) $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$, (B) $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$

obtidos com diferentes técnicas eletroanalíticas: (a) LSV, (b) SWV e (c) DPV. (C) Gráfico de barras de I_{pa} vs. v ($n = 3$).....	101
Figura 31. Gráficos referentes a otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial para TCC $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0):etanol (95:5 v/v): (A) I_{pa} vs. v ; (B) I_{pa} vs. t_{pulso} e (C) I_{pa} vs. E_{pulso} ($n = 3$).	102
Figura 32. Voltamogramas de pulso diferencial para (A) TCC sobre o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE em diferentes concentrações: (a) branco; (b) 0,05; (c) 0,1; (d) 0,2; (e) 0,4; (f) 0,6; (g) 0,8; (h) 1,0; (i) 2,0; (j) 4,0; (k) 6,0 e (l) $8,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0):etanol (95:5 v/v). Condições experimentais: $v = 30,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{pulso} = 40,0 \text{ mV}$ e $t_{pulso} = 5,0 \text{ ms}$. (B) Curva de calibração para TCC ($n = 3$).	104
Figura 33. (A) Espectros UV-vis para solução padrão de TCC: (a) branco em etanol; (b) 1,0; (c) 2,0; (d) 4,0; (e) 6,0; (f) 8,0; (g) 10,0; (h) 12,0; (i) 14,0; (j) 16,0; (k) 18,0 e (l) $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de calibração para TCC ($n = 3$).	105
Figura 34. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para: (a) branco, (b) $80,0 \mu\text{L}$ de amostra de sabonete em barra A, e (c-f) adições sucessivas de $100 \mu\text{L}$ de solução padrão de TCC $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0):etanol (95:5 v/v), empregando o eletrodo N-GQDs-CS/GCE. (B) Curvas de adição de padrão (a) e calibração (b) do TCC. Condições experimentais: $v = 30,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{pulso} = 40,0 \text{ mV}$ e $t_{pulso} = 5,0 \text{ ms}$	109
Figura 35. (A) Espectros UV-vis para: (a) branco, (b) $50,0 \mu\text{L}$ de amostra de sabonete em barra A, e (c-g) adições sucessivas de $30,0 \mu\text{L}$ de solução padrão de TCC $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em etanol; (B) Curvas de adição de padrão (a) e calibração (b) do TCC.....	110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Otimização dos parâmetros experimentais da voltametria de pulso diferencial para a determinação simultânea de TCS e MePa.	79
Tabela 2. Características analíticas obtidas a partir das curvas de calibração simultânea e individual para TCS e MePa empregando o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE.	82
Tabela 3. Características analíticas obtidas a partir das curvas de calibração simultânea e individual para TCS e MePa empregando a espectrometria UV-vis.	86
Tabela 4. Métodos analíticos relatados para a determinação de TCS e MePa.	87
Tabela 5. Determinação de TCS e MePa em diferentes amostras pelos métodos eletroquímico e espectrométrico.	93
Tabela 6. Testes estatísticos aplicados para a avaliação dos resultados da determinação de TCS e MePa em diferentes amostras pelos métodos eletroquímico e espectrométrico.	94
Tabela 7. Otimização dos parâmetros experimentais da voltametria de pulso diferencial para a determinação de TCC.	103
Tabela 8. Características analíticas obtidas a partir da curva de calibração para o TCC empregando o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE.	104
Tabela 9. Características analíticas obtidas a partir da curva de calibração para o TCC empregando a espectrometria UV-vis.	106
Tabela 10. Métodos analíticos relatados para a determinação de TCC.	107
Tabela 11. Determinação de TCC em diferentes amostras pelos métodos eletroquímico e espectrométrico.	111
Tabela 12. Testes estatísticos aplicados para a avaliação dos resultados da determinação de TCC em diferentes amostras pelos métodos eletroquímico e espectrométrico.	111

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a – coeficiente angular

ATR FT-IR (do inglês, *attenuated total reflectance Fourier transform infrared*) – espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflectância total atenuada

AdSV (do inglês, *adsorptive stripping voltammetry*) – voltametria adsortiva de redissolução

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BePa – benzilparabeno

B-R – solução tampão Britton-Robinson

BuPa – butilparabeno

CS (do inglês, *chitosan*) – quitosana

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

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

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

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

ELISA (do inglês, *enzyme-linked immunosorbent assay*) – ensaio de imuno-adsorção enzimática

E – potencial

E_{po} – potencial de pico de oxidação

E_{pulso} – amplitude de pulso de potencial

ΔE_p – separação dos potenciais de pico de oxidação e redução

EtPa – etilparabeno

FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) – Agência de Controle de Alimentos e Medicamentos

FTO (do inglês, *fluorine-doped tin oxide*) – óxido de estanho dopado com flúor

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

GQDs (do inglês, *graphene quantum dots*) – pontos quânticos de grafeno

GO (do inglês, *graphene oxide*) – óxido de grafeno

I – corrente

I_{pa} – corrente de pico anódica

I_{pc} – corrente de pico catódica

ITO (do inglês, *indium-doped tin oxide*) – óxido de estanho dopado com índio

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

LbL (do inglês, *layer by layer*) – técnica de automontagem camada por camada

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

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

MePa – metilparabeno

MWCNTs (do inglês, *multi-walled carbon nanotubes*) – nanotubos de carbono de paredes múltiplas

N-GQDs (do inglês, *nitrogen-doped graphene quantum dots*) – pontos quânticos de grafeno dopados com nitrogênio

PrPa – propilparabeno

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

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

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

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

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

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

TCC – triclocarban

TCS – triclosan

t_{pulso} – tempo de duração do pulso

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

tris-HMA (do inglês, *tris(hydroxymethyl)amino-methane*) – tris(hidroximetil)aminometano

v – velocidade de varredura de potencial

$\bar{\nu}$ – número de onda

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	21
CAPÍTULO 1 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	22
1.1 ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS	22
1.2 PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO	24
1.2.1 Métodos sintéticos para preparação de QDs.....	26
1.2.2 Funcionalização dos pontos quânticos de grafeno.....	29
<i>1.2.2.1 Pontos quânticos de grafeno dopados com nitrogênio</i>	<i>30</i>
1.2.3 Aplicação dos pontos quânticos de grafeno.....	34
1.3 QUITOSANA	35
1.4 DESREGULADORES ENDÓCRINOS.....	38
1.4.1 Triclosan	39
1.4.2 Metilparabeno	41
<i>1.4.2.1 Determinação simultânea de TCS e MePa.....</i>	<i>44</i>
1.4.3 Triclocarban.....	45
CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS	49
2.1 OBJETIVO GERAL.....	49
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
2.2.1 Síntese e caracterização dos eletrodos modificados com QDs e N-QDs ...	49
2.2.2 Determinação simultânea de TCS e MePa usando um eletrodo à base de QDs.....	49
2.2.3 Determinação de TCC usando um eletrodo à base de N-QDs.....	50
CAPÍTULO 3 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	51
3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES.....	51
3.2 SÍNTESE DE QDS	51
3.3 SÍNTESE DOS N-QDS	52
3.4 PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS MODIFICADOS.....	52

3.5	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	52
3.6	CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES DE GQDS E N-GQDS.....	53
3.7	MEDIDAS ELETROQUÍMICAS	54
3.7.1	Célula eletroquímica e instrumentação	54
3.7.2	Caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados.....	54
3.7.3	Método eletroquímico para as análises de TCS, MePa e TCC.....	55
3.8	MÉTODO COMPARATIVO.....	55
3.9	AVALIAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO.....	56
3.9.1	Limites de detecção e quantificação	56
3.9.2	Seletividade e efeitos dos componentes da matriz	57
3.9.3	Precisão.....	58
3.9.4	Exatidão.....	58
CAPÍTULO 4 - CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES DE GQDS E N-GQDS E DOS ELETRODOS MODIFICADOS.....		60
4.1	CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES DE GQDS E N-GQDS.....	60
4.2	OTIMIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS ELETRODOS MODIFICADOS	64
4.2.1	Otimização do preparo do material modificador	64
4.2.2	Caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados.....	65
CAPÍTULO 5 – DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE TRICLOSAN E METILPARABENO USANDO UM ELETRODO MODIFICADO COM PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO		68
5.1	COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE TCS E MEPA.....	68
5.1.1	Estudo do pH e da natureza do eletrólito de suporte	70
5.1.2	Estudo da velocidade de varredura.....	72
5.2	SELEÇÃO DA TÉCNICA ELETROANALÍTICA.....	75
5.2.1	Otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial.....	77
5.3	CURVAS DE CALIBRAÇÃO PARA TCS E MEPA	79

5.3.1	Curvas de calibração para TCS e MePa usando o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE.....	79
5.3.2	Curvas de calibração para TCS e MePa usando o método comparativo	83
5.3.3	Avaliação dos limites de detecção obtidos pelos métodos desenvolvidos para a análise de TCS e MePa	86
5.4	REPETIBILIDADE, ESTABILIDADE E ESTUDO DOS INTERFERENTES ..	88
5.5	DETERMINAÇÃO DE TCS E MEPA EM PRODUTOS DE HIGIENE E CUIDADO PESSOAL	89
CAPÍTULO 6 – DETERMINAÇÃO DE TRICLOCARBAN USANDO UM ELETRODO MODIFICADO COM PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO DOPADOS COM NITROGÊNIO		
6.1	COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO TCC	95
6.1.1	Estudo da velocidade de varredura.....	96
6.1.2	Estudo do pH e da natureza do eletrólito de suporte	98
6.2	SELEÇÃO DA TÉCNICA ELETROANALÍTICA	100
6.2.1	Otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial.....	101
6.3	CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA O TCC.....	103
6.3.1	Curva de calibração para TCC usando o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE.....	103
6.3.2	Curva de calibração para TCC usando o método comparativo.....	105
6.3.3	Avaliação dos limites de detecção obtidos pelos métodos desenvolvidos para a análise de TCC	106
6.4	REPETIBILIDADE, ESTABILIDADE E ESTUDO DOS INTERFERENTES	107
6.5	DETERMINAÇÃO DE TCC EM PRODUTOS DE HIGIENE E CUIDADO PESSOAL.....	108
CONCLUSÕES.....		
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		
		112
		113

APRESENTAÇÃO

Neste trabalho de Tese são apresentados dois eletrodos quimicamente modificados desenvolvidos a partir da utilização de pontos quânticos de grafeno e pontos quânticos de grafeno dopados com nitrogênio, ambos immobilizados em quitosana, visando contribuir com o desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para a determinação de desreguladores endócrinos. Esta tese é composta de seis capítulos, sendo o **Capítulo 1**, uma fundamentação teórica sobre eletrodos quimicamente modificados, pontos quânticos de grafeno (síntese, funcionalização e aplicação), quitosana e desreguladores endócrinos (triclosan, metilparabeno e triclocarban). O **Capítulo 2** trata dos objetivos do trabalho e o **Capítulo 3** descreve o procedimento experimental. O **Capítulo 4** apresenta os resultados dos estudos de caracterização dos pontos quânticos de grafeno sintetizados e dos eletrodos modificados. O **Capítulo 5** descreve o desenvolvimento de um método eletroanalítico para a determinação simultânea de triclosan e metilparabeno em produtos de higiene e cuidado pessoal usando um eletrodo modificado com pontos quânticos de grafeno immobilizados em quitosana. No **Capítulo 6** é descrito o desenvolvimento de um método eletroanalítico para a determinação de triclocarban em produtos de higiene e cuidado pessoal usando um eletrodo modificado com pontos quânticos de grafeno dopados com nitrogênio immobilizados em quitosana. Por último, são apresentadas as conclusões e as referências citadas neste trabalho.

CAPÍTULO 1 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS

Os eletrodos quimicamente modificados continuam atraindo a atenção devido às suas potenciais aplicações, relativa facilidade de fabricação e regeneração. A composição de um eletrodo quimicamente modificado se dá a partir de um substrato condutor que é modificado com filmes finos eletroativos, monocamadas ou revestimentos espessos. Esta modificação pode aprimorar as propriedades termodinâmicas e cinéticas da superfície do eletrodo potencializando sua seletividade e sensibilidade em aplicações eletroanalíticas (BAIG; SAJID; SALEH, 2019; JADON et al., 2016; KAYA et al., 2020b; SAJID et al., 2016).

A modificação da superfície do eletrodo pode aprimorar o desempenho do eletrodo quimicamente modificado de algumas maneiras:

- melhorando a seletividade da análise, ao limitar o acesso de interferentes, como resultado de interações específicas entre o material modificador e o analito;
- apresentando atividade eletrocatalítica, quando o material modificador atua como um mediador para uma rápida transferência de elétrons entre o analito e o eletrodo, facilitando a reação redox;
- melhorando a sensibilidade da análise, quando o material modificador possuir uma grande e reativa área superficial;
- permitindo pré-concentração do analito na superfície do eletrodo (JADON et al., 2016; SAJID et al., 2016; SHARMA et al., 2018).

O desempenho dos eletrodos modificados depende de vários fatores tais como: natureza do agente modificador, método de revestimento ou imobilização do modificador no substrato, e também a escolha do substrato. Dentre os substratos convencionais mais empregados para modificação, destacam-se os eletrodos metálicos (eletrodo de platina, ouro, cobre) e eletrodos à base de carbono (carbono vítreo, grafite, fibra de carbono e diamante dopado com boro) (CHAUHAN, 2021; SAJID, 2018; SHARMA et al., 2018).

Eletrodos quimicamente modificados a partir de substratos de carbono são amplamente desenvolvidos, devido às propriedades do carbono, como boa cinética de transferência de elétrons, ampla janela de potencial, baixas correntes de fundo, estabilidade e biocompatibilidade, além do seu relativo baixo custo (SHARMA et al., 2018).

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 (KAYA et al., 2020b; SRIVASTAVA et al., 2019).

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 o modificador. A adsorção física (fisissorção) é um tipo de adsorção que ocorre com forças intermoleculares (Forças de van der Waals), enquanto que a adsorção química (quimissorção) surge das ligações químicas entre o adsorvente e o adsorbato na superfície. São consideradas técnicas fáceis de modificação, pois permitem a transferência do agente modificador para a superfície do eletrodo sem quaisquer reagentes especiais. Apesar desta característica vantajosa, o agente modificador pode não permanecer por muito tempo adsorvido e ser lixiviado para a solução. Como exemplo, agentes modificadores, como nanomateriais, e polímeros podem ser adsorvidos a superfícies de eletrodos de carbono vítreo (do inglês, *glassy carbon electrode* – GCE) e eletrodos impressos de carbono (do inglês, *screen-printed carbon electrode* – SPCE). Outro exemplo conhecido são as monocamadas auto-organizadas (do inglês, *self-assembled monolayer* – SAM) de tióis adsorvidas quimicamente sobre a superfície de um eletrodo de ouro (KAYA et al., 2020b; SRIVASTAVA et al., 2019).

II – Ligação covalente: nesta classe, o agente modificador é ligado covalentemente a superfície do substrato. Muitas vezes são usados grupos funcionais específicos. A superfície de eletrodos à 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 (KAYA et al., 2020b).

III – Filmes poliméricos: refere-se ao recobrimento da superfície do substrato com filmes de polímeros condutores, não condutores ou permeáveis ao eletrólito de suporte e a espécie de interesse. Em geral, existem três classes de filmes poliméricos utilizados para esta finalidade: (1) os filmes condutores são muito empregados em virtude de sua característica de facilitar a 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 permeseletiva, sendo muito empregados em biossensores para imobilização de biocomponentes e mediadores (KAYA et al., 2020b).

IV – Formação de compósitos: este método consiste na mistura do agente modificador diretamente no substrato. Por exemplo, modificações em eletrodos à base de carbono, como os eletrodos de pasta de carbono que basicamente consistem em grafite em pó (ou outros materiais de carbono), um agente aglutinante (como por exemplo, um óleo mineral) e o modificador. Desta forma, o eletrodo de pasta de carbono tem uma preparação fácil e barata, pois podem ser usados materiais de fácil obtenção (KARIMI-MALEH et al., 2019).

Uma variedade de materiais pode ser utilizada como agentes modificadores 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 e platina, entre outras, e materiais nanoestruturados de carbono (KAYA et al., 2020b; SRIVASTAVA et al., 2019).

Os nanomateriais de carbono estão entre os materiais mais discutidos, pesquisados e aplicados nas mais diversas áreas. Isso se deve às suas diversas propriedades eletrônicas, magnéticas e ópticas, versatilidade química, facilidade de manipulação, biocompatibilidade, bem como seu desempenho como uma plataforma quimicamente robusta. Esta última propriedade os diferencia de muitos outros nanomateriais cuja estabilidade pode ser comprometida por fatores como temperatura, alta força iônica e estabilidade no solvente. Os nanomateriais de carbono exibem enorme diversidade na estrutura, tais como: nanodiamantes, nanotubos de carbono de paredes simples e paredes múltiplas, grafeno e recentemente, os pontos quânticos de grafeno (SRIVASTAVA et al., 2019).

1.2 PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO

Pontos quânticos de grafeno (do inglês, *graphene quantum dots* – GQDs) consistem em folhas de grafeno menores que 100 nm, as quais apresentam excelentes propriedades ópticas e eletrônicas devido aos seus confinamentos quânticos e efeitos de borda. O confinamento quântico acontece quando o diâmetro da partícula é menor que o raio de

excitação de Bohr, e assim a movimentação dos elétrons fica restrita a regiões muito pequenas, influenciando as propriedades dos pontos quânticos, diferenciando-se dos materiais macroscópicos (SHEN et al., 2021; TIAN et al., 2018).

GQDs são considerados materiais semicondutores que possuem *band gap* diferente de zero, e assim, após uma excitação, no qual um elétron é promovido da banda de valência para a banda de condução deixando um buraco, e retornando a banda de valência, emitindo fotoluminescência. O par elétron-buraco formado após a excitação permanece atraído por meio de uma atração coulômbica, e essa quase-partícula (éxciton), pode ser considerado um sistema semelhante ao átomo de hidrogênio, podendo a distância entre o elétron e o buraco ser chamado de raio de excitação de Bohr. Efeitos quânticos ocorrem quando materiais são reduzidos à escala nanométrica, menor que o raio de excitação de Bohr, o qual é inferior a 100 nm. Quando atendida essa condição, o material fica sujeito ao regime de confinamento quântico. A maioria dos GQDs sintetizados reportados na literatura está dentro de uma faixa de 3-25 nm, todos sob regime de confinamento quântico. Nos GQDs, o confinamento ocorre nas três dimensões do espaço, assim são, também, conhecidos como estruturas 0-D (MURPHY, 2002; TIAN et al., 2018; WALTHER et al., 2020).

Além do confinamento quântico, grupos funcionais hidroxílicos, carboxílicos, carbonilas e epóxis presentes nas extremidades dos GQDs são responsáveis pelos chamados efeitos de borda que contribuem para suas propriedades. Em geral, os GQDs são considerados quimicamente e fisicamente estáveis. Propriedades como elevada área superficial, baixa citotoxicidade, excelente solubilidade em água, inércia química, fotoluminescência estável e condutividade apropriada são conhecidas. Além disso, quando comparado aos pontos quânticos inorgânicos, tais como dissulfeto de molibdênio (MoS_2), seleneto de cádmio (CdSe) e telureto de cádmio (CdTe), os GQDs apresentam a grande vantagem de serem biocompatíveis (BACON; BRADLEY; NANN, 2014; HAQUE et al., 2018; KAUR; KAUR; SHARMA, 2018; LI; CHEN; XING, 2017; TIAN et al., 2018).

No entanto, as propriedades eletrônicas e ópticas de GQDs, como por exemplo a fluorescência, são dependentes de seus tamanhos e formas. Por exemplo, sob regime de confinamento quântico, quanto menor o ponto quântico, maior será seu *band gap*, em termos de energia em elétrons volts. Assim um ponto quântico com *band gap* muito pequeno, irá emitir fluorescência na região do vermelho ou infravermelho, enquanto que um ponto quântico com um maior *band gap*, irá emitir na região do azul ou verde do espectro eletromagnético (MURPHY, 2002; TIAN et al., 2018).

Para o campo do desenvolvimento de eletrodos modificados, as propriedades atrativas dos GQDs são: a sua elevada área superficial, a qual fornecerá mais sítios ativos para a reação, e a sua boa condutividade, o que os torna um material transdutor relevante para facilitar ou controlar a transferência heterogênea de elétrons durante o processo eletroquímico. Além disso, as possibilidades de funcionalização com outros materiais orgânicos, inorgânicos ou biológicos podem aperfeiçoar suas propriedades. Contudo, há também entraves, como por exemplo, a excelente solubilidade destes materiais em meio aquoso, decorrente de seus grupos funcionais de borda, dificulta a formação de filmes estáveis sobre substratos sólidos. Para contornar essa dificuldade, os GQDs podem ser imobilizados em polímeros como quitosana e polipirrol, que atuarão para a formação de um filme estável. Outra alternativa é através do procedimento de eletrodeposição dos GQDs através da redução dos grupos oxigenados de borda, acarretando na formação de um filme fino sobre um substrato sólido (CAMPUZANO; YÁÑEZ-SEDEÑO; PINGARRÓN, 2019; FARIDBOD; SANATI, 2018; GEVAERD et al., 2019).

1.2.1 Métodos sintéticos para preparação de GQDs

As propriedades eletrônicas e ópticas de GQDs, como por exemplo a fluorescência, são dependentes de seus tamanhos e formas. Em razão disto, são reportados GQDs capazes de emitir luz que variam do azul-verde até laranja-vermelho, como consequência de diâmetros de que variam de 1,65 até 60 nm. Assim, mostra-se importante a escolha da rota sintética que melhor atenda às finalidades do tipo de GQDs desejado (LI et al., 2013; TIAN et al., 2018).

Os métodos sintéticos para produção dos GQDs podem ser divididos em dois grupos: *top down* e *bottom up*. Os métodos *top down* envolvem a decomposição e esfoliação de materiais base para grafeno, como por exemplo, grafite, fibras de carbono e negro de fumo. Assim, destaca-se as vantagens destes métodos: a abundância de matéria-prima, a possibilidade de produção em larga escala e a facilidade de sua solubilização e funcionalização devido aos grupos oxigenados gerados nas bordas das folhas. No entanto, estes métodos geralmente envolvem múltiplas etapas requerendo ácidos concentrados, agentes oxidantes fortes e altas temperaturas. Além de não serem precisas, não oferecem um controle da morfologia e uma boa distribuição de tamanho das partículas produzidas (BACON; BRADLEY; NANN, 2014; LI et al., 2013; TIAN et al., 2018).

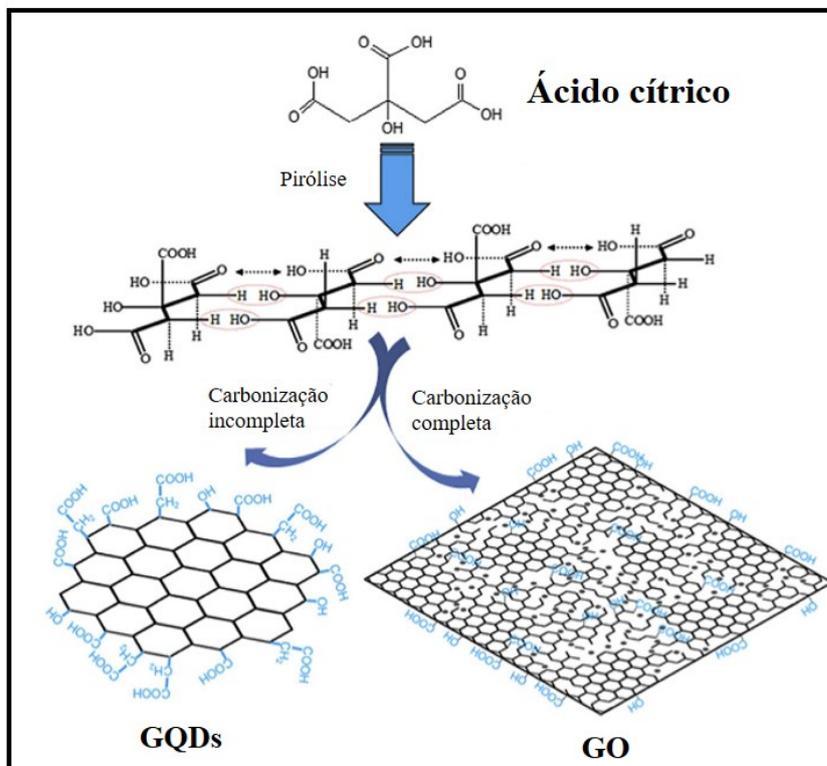
Como exemplo de um destes métodos, Luo e colaboradores (2016) sintetizaram GQDs de 2,5 nm de diâmetro para aplicação em diodos de emissão de luz branca a partir de grafite esfoliado em meio ácido sob ultrassonicação ($\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{SO}_4$ 1:3 por 2 h) e posterior irradiação de microondas a 100 °C por 4 h (LUO et al., 2016).

Por outro lado, os métodos do tipo *bottom up* oferecem oportunidades para controlar o tamanho, forma e assim, as propriedades dos GQDs produzidos. Estes métodos inserem menos defeitos na estrutura dos GQDs em relação aos métodos *top down*, e assim proporcionam uma composição química mais uniforme e um melhor controle de tamanho ao produto final. São empregados precursores moleculares, tais como o ácido cítrico, ácido húmico, ácido ascórbico, ácido L-glutâmico e glicose por processos de pirólise e carbonização (pirólise lenta) (BENÍTEZ-MARTÍNEZ; VALCÁRCEL, 2015; LI et al., 2013).

O processo de pirólise para produção de GQDs não necessita de equipamentos sofisticados e, portanto, tem sido amplamente explorado. Neste processo, as moléculas são aquecidas a uma alta temperatura causando sua degradação, com posterior condensação e nucleação para a formação das folhas de grafeno. Por exemplo, o ácido cítrico quando aquecido acima do seu ponto de fusão (153 °C) é degradado e se condensa formando núcleos com domínios sp^2 , com posteriores reações de reticulação que ocasionam o crescimento dos GQDs (WANG et al., 2015b; YOUNIS et al., 2020).

Neste sentido, Dong et al. (2012) prepararam óxido de grafeno (do inglês, *graphene oxide* – GO) e GQDs luminescentes azuis ajustando o grau de carbonização de ácido cítrico, conforme é apresentado na Figura 1. O produto da carbonização incompleta (200 °C por 30 min) do ácido cítrico foi lentamente gotejado em solução de NaOH 10 mg mL^{-1} obtendo assim, os GQDs. Através de análises de microscopia de força atômica e microscopia eletrônica de transmissão (do inglês, *transmission electron microscopy* – TEM), os GQDs analisados possuíam 15,0 nm de largura e 0,5-2,0 nm de espessura. Já para a carbonização completa do ácido cítrico (200 °C por 2 h) o produto final foi o GO, caracterizado pelos autores como folhas de centenas de nanômetros de dimensão. Tanto os GQDs como o GO possuíam abundantes estruturas sp^2 e grupos funcionais contendo oxigênio em suas bordas e, em solução, emitiram luz azul (460 nm) quando excitados com feixe UV (365 nm). No entanto, diferiram na intensidade da emissão e no fato de que o comprimento de onda de emissão dos GQDs ser quase independente da excitação, devido a uma estrutura com menos defeitos e uma distribuição de tamanho mais uniforme quando comparada ao GO (DONG et al., 2012).

Figura 1. Diagrama para a síntese dos GQDs e GO a partir da reação de pirólise do ácido cítrico. Os pontos pretos na representação do GO são átomos de oxigênio.



Fonte: Adaptado de DONG et al., 2012. Copyright 2021, Elsevier.

Para a síntese de GQDs, Tang e colaboradores (2012) utilizaram como único precursor a glicose. No processo de aquecimento por microondas, a solução aquosa de glicose mudou de cor de transparente a amarelo pálido, como resultado da formação de GQDs. No primeiro estágio, as moléculas de glicose foram desidratadas formando o núcleo dos GQDs com ligações C=C. Devido à alta pressão, as ligações C=C ficaram ordenadas, o que auxiliou o crescimento dos GQDs. Os grupos funcionais (O-H e C-O-R) localizados na superfície ajudaram a solubilidade de GQDs em água. Os autores mostraram que o diâmetro dos GQDs aumentou de 1,5 para 3,9 nm com o aumento do tempo de aquecimento (TANG et al., 2012).

Em um exemplo mais recente, Liu et al. (2021) sintetizaram GQDs por método hidrotermal usando como único precursor ácido húmico derivado da rocha sedimentar linhito. O preparo foi realizado dissolvendo o ácido húmico em solução alcalina de hidróxido de amônio e submetendo a 200 °C por 12 h em autoclave. Os GQDs apresentaram formato esférico com diâmetros na faixa de 3 a 10 nm. Análises de espectroscopia no infravermelho e de raio-X indicaram a presença de grupos hidroxilas, carbonilas e carboxilas nas estruturas

formadas. Quando excitados em luz UV (365 nm), a dispersão de GQDs emitiu uma forte luz ciano (470 nm). Os autores destacaram o fato de que foi utilizado um precursor obtido a partir de um material de baixo custo, abundante e ecologicamente correto como a linhito, e que poderia permitir uma produção em alta escala de GQDs (LIU et al., 2021).

1.2.2 Funcionalização dos pontos quânticos de grafeno

A funcionalização pode modificar as propriedades ópticas, químicas e eletrônicas dos GQDs. Assim, para expandir suas aplicações, diversos métodos de funcionalização estão sendo desenvolvidos a fim de personalizar suas propriedades para determinado campo de aplicação. A funcionalização pode ocorrer durante a síntese de GQDs usando precursores que contenham grupos funcionais desejados ou pós-síntese com os GQDs já preparados (KADIAN; SETHI; MANIK, 2021; TIAN et al., 2018).

Métodos de funcionalização para GQDs através da inserção de pequenas moléculas orgânicas, como álcoois, tióis, glutatona e amidas a partir de reações com os grupos funcionais nas bordas dos pontos quânticos têm sido relatados. Dada a abundância de grupos carboxílicos que decoram as bordas dos GQDs, reações de condensação com aminas para formação de amidas são um dos exemplos mais reportados para a funcionalização do material (SWEETMAN et al., 2019; TIAN et al., 2018).

Também são relatados trabalhos submetendo os grupos funcionais presentes nas bordas dos GQDs a reações de oxidação ou redução. O borohidreto de sódio tem sido usado para reduzir grupos carboxílicos e epóxi dos GQDs a grupos hidroxílicos. Por outro lado, reações de oxidação utilizando persulfato de potássio foram descritas para gerar grupos carboxílicos extras na superfície de GQDs (SWEETMAN et al., 2019).

A funcionalização dos GQDs através de sua imobilização em polímeros com base nas interações intermoleculares tem expandido seus campos de aplicação. Por exemplo, a natureza negativa dos GQDs, devido à presença de grupos carboxílicos, permite interações iônicas com polímeros carregados positivamente. Este tipo de funcionalização pode contornar a dificuldade de se formar um filme estável de GQDs em substratos sólidos. Neste sentido, são encontrados trabalhos utilizando polipirrol, polianilina e quitosana (SWEETMAN et al., 2019; TIAN et al., 2018).

Neste contexto, Chen e colaboradores (2013) funcionalizaram GQDs com polipirrol para ser usado como contra eletrodo em células solares sensibilizadas por corante, a fim de

aperfeiçoar seu funcionamento. O filme formado por GQDs e polipirrol através da eletrodeposição em uma placa de vidro de óxido de estanho dopado com flúor (do inglês, *fluorine-doped tin oxide* – FTO) possuía uma estrutura porosa, com mais sítios ativos, resultando em uma maior taxa de transferência de carga para a reação redox (CHEN et al., 2013).

Recentemente, Sun e coautores (2020) desenvolveram um imunossensor à base de GQDs imobilizados em polianilina para a determinação do biomarcador de depressão HSP70. A interação entre os grupos –OH e –COOH dos GQDs com a amina secundária (–NH–) foi responsável para a formação do material condutor, imobilizando os GQDs na estrutura da polianilina e evitando sua aglomeração. Sob condições otimizadas, o imunossensor forneceu um limite de detecção (do inglês, *limit of detection* – LOD) de $0,05 \text{ ng mL}^{-1}$, sendo aplicado na determinação de HSP70 em amostras de plasma sanguíneo (SUN et al., 2020).

A dopagem com heteroátomos é um processo essencial na indústria de semicondutores, sendo também uma importante estratégia para modular as propriedades químicas, físicas e eletrônicas dos GQDs. Para materiais de carbono, a dopagem também é um dos principais recursos para enriquecer a densidade eletrônica e melhorar a condutividade do material. Assim, a funcionalização dos GQDs por meio de dopagem pode modificar seus recursos ópticos, eletrônicos e químicos, viabilizando novas aplicações. São relatados trabalhos incluindo como dopantes: potássio, sódio, boro, nitrogênio, fósforo, oxigênio, enxofre, selênio, flúor e cloro (DU; GUO, 2016; TIAN et al., 2018).

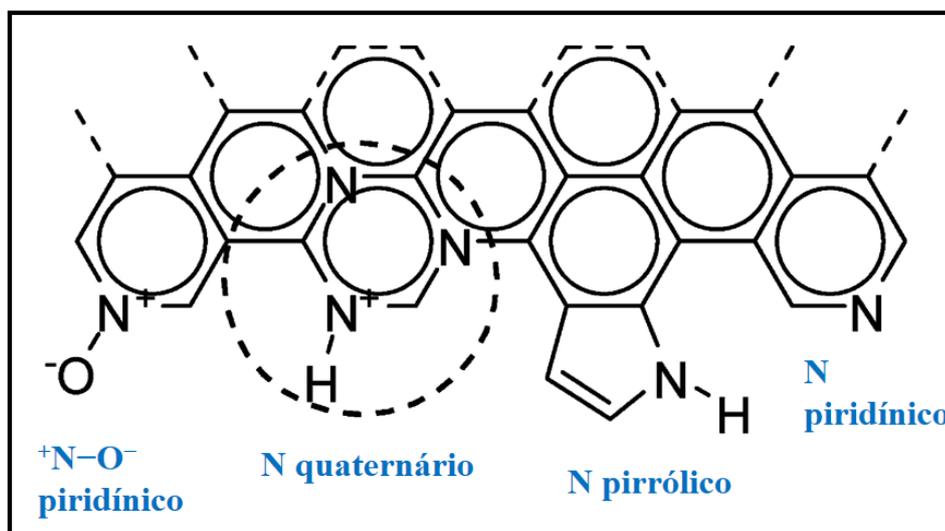
1.2.2.1 Pontos quânticos de grafeno dopados com nitrogênio

Dentre os elementos citados na literatura para a dopagem de GQDs, o nitrogênio é o mais reportado. O nitrogênio é adjacente ao carbono na tabela periódica, portanto, possui similaridade no raio atômico ($0,70 \text{ \AA}$) com o carbono ($0,77 \text{ \AA}$) e maior eletronegatividade ($\chi_{\text{N}} = 3,04$; $\chi_{\text{C}} = 2,55$), o que facilita sua incorporação na rede de carbono. Assim, os estados eletrônicos da matriz de grafeno podem ser intrinsecamente alterados com a adição do nitrogênio, o que reflete nas propriedades ópticas e eletrônicas do material, como uma melhoria na atividade catalítica e mudanças na fotoluminescência (DU; GUO, 2016; KAUR; KAUR; SHARMA, 2018; TIAN et al., 2018).

Quando um átomo de nitrogênio é inserido na matriz de grafeno, ele geralmente forma três configurações de ligações dentro da rede de carbono: N quaternário (ou N grafitico), N

piridínico e N pirrólico (Figura 2). A configuração de N quaternário (hibridização sp^2) refere-se a átomos de nitrogênio que substituem átomos de carbono no anel hexagonal, formando três ligações σ com os carbonos vizinhos, possuindo um elétron do par isolado envolvido em uma ligação π , e o outro, parcialmente envolvido no estado π^* da banda de condução. Por este motivo, cada N quaternário pode contribuir inserindo elétrons no sistema π da rede de carbono. Em contrapartida, os N pirrólico (hibridização sp^3) e piridínico (hibridização sp^2) se formam nos locais de defeitos das folhas, permanecendo com um par de elétrons não-ligantes, e impondo um efeito de dopagem através da retirada de elétrons da rede de carbono. Assim, a maior eletronegatividade do nitrogênio em relação ao carbono cria uma polarização na rede de carbono, somado com as diferentes naturezas de doação ou retirada de elétrons de cada configuração de nitrogênio inseridos nesta rede, influenciam as propriedades eletrônicas e ópticas dos N-GQDs (WANG; MAIYALAGAN; WANG, 2012; WANG et al., 2014).

Figura 2. Configurações de ligação para átomos de nitrogênio na matriz de grafeno.



Fonte: Adaptado de WANG; MAIYALAGAN; WANG, 2012. Copyright 2021, American Chemical Society.

Assim como nos GQDs, as rotas sintéticas para preparar pontos quânticos de grafeno dopados com nitrogênio (do inglês, *nitrogen-doped graphene quantum dots* – N-GQDs) podem ser divididas em métodos *top down* e *bottom up*, usando precursores à base de carbono e agentes dopantes. As rotas sintéticas via *top down* utilizam materiais maciços à base de carbono, seguido por processos de dopagem de nitrogênio por métodos eletroquímicos, hidrotérmicos ou plasma de nitrogênio. Essas abordagens também enfrentam as desvantagens

de fornecer pontos quânticos com má distribuição de tamanho e composição (KARIMZADEH et al., 2018a, 2018b).

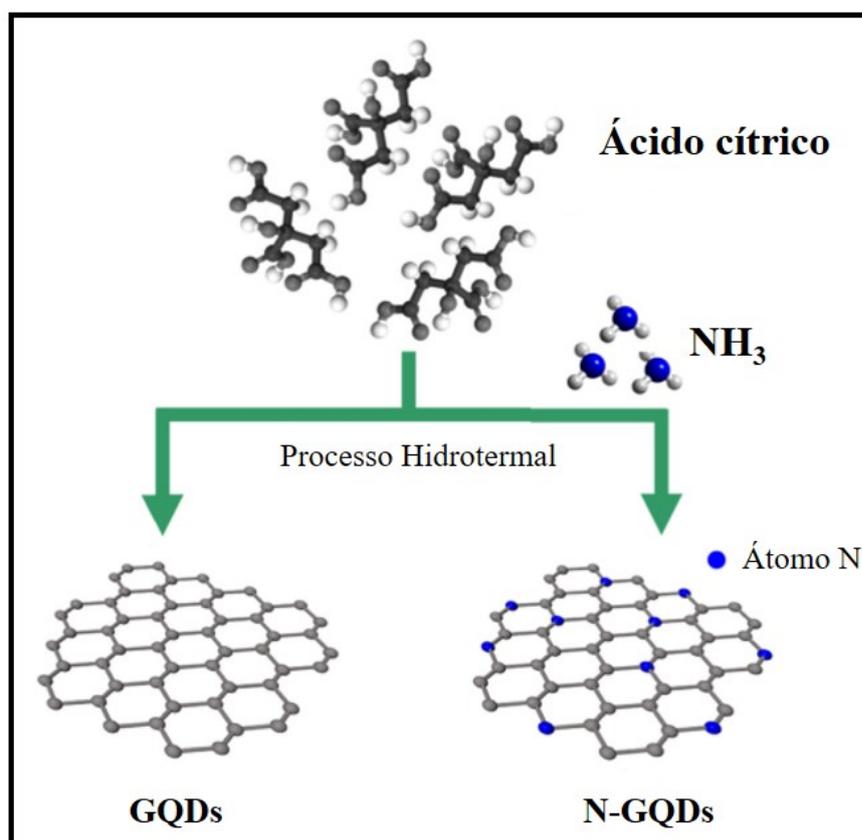
O primeiro relato de um processo de dopagem de nitrogênio em GQDs foi realizado por Li et al. em 2012, no qual foi usada uma abordagem *top down* por método eletroquímico. Os autores utilizaram como eletrodo de trabalho um filme de grafeno, e acetonitrila contendo perclorato de tetrabutylamônio como eletrólito de suporte. Os N-GQDs foram produzidos continuamente por voltametria cíclica (do inglês, *cyclic voltammetry* – CV) em uma janela de potencial de $-3,0$ a $+3,0$ V (vs. Ag/AgCl). Durante os sucessivos ciclos por CV, os N-GQDs produzidos na superfície do eletrodo de trabalho foram dissolvendo para o eletrólito de suporte, alterando a cor da solução de incolor para amarelo. O potencial aplicado foi suficiente para conduzir os íons presentes no eletrólito para as camadas de grafeno e oxidar as ligações C–C da matriz de grafeno, levando à quebra da matriz em pontos de grafeno. A presença de acetonitrila e perclorato de tetrabutylamônio no eletrólito de suporte serviram como fontes de nitrogênio para a dopagem dos GQDs (LI et al., 2012).

Os métodos *bottom up* para a síntese de N-GQDs consistem em usar precursores moleculares, tais como ácido cítrico e glicose, como fontes de carbono e adicionar ao processo, compostos que contenham nitrogênio em sua composição para efetivar a dopagem. Nestas abordagens diversas substâncias contendo nitrogênio como amônia, sais de amônio e aminoácidos podem ser usadas como fontes de nitrogênio em um procedimento hidrotérmico, por exemplo. A amônia é um dopante de nitrogênio amplamente utilizado devido à sua alta reatividade a temperaturas relativamente baixas (80 °C). Ureia, hexametilenotetramina, dicianodiamida e hidroxilamina também são empregados como dopantes, pois suas decomposições levam à liberação gradual de NH_3 durante o processo hidrotérmico. Nesse processo, é desejável uma liberação lenta de NH_3 para atingir altos níveis de dopagem no produto final (KAUR; KAUR; SHARMA, 2018; WANG et al., 2014).

Tam et al. (2014) sintetizaram tanto GQDs como também N-GQDs por método hidrotérmico, no qual o sistema trabalha em alta pressão, mantendo o solvente em estado líquido em temperaturas superiores ao seu ponto de ebulição. Como mostra a Figura 3, a síntese ocorreu a partir da mistura de soluções aquosas de ácido cítrico e amônia em autoclave a 200 °C por 3 h. GQDs também foram produzidos pelo mesmo método, mas na ausência de amônia. Quanto aos diâmetros médios estimados por TEM, os N-GQDs possuíram uma média de $3,5$ nm, enquanto os GQDs, $4,6$ nm. No entanto, os N-GQDs emitiram luz azul com mais intensidade que os GQDs, cerca de $1,5$ vezes mais intenso em razão da dopagem com

nitrogênio, que alterou a matriz de grafeno e conseqüentemente, mudou suas propriedades ópticas (TAM et al., 2014).

Figura 3. Diagrama para a síntese de GQDs e N-GQDs a partir de ácido cítrico e amônia.



Fonte: Adaptado de TAM et al., 2014. Copyright 2021, Elsevier.

Lin e colaboradores (2015) sintetizaram N-GQDs a partir de uma reação de pirólise de ácido cítrico com tris(hidroximetil)aminometano (do inglês, *tris(hydroxymethyl)aminomethane* – tris-HMA) em apenas uma etapa. Os autores misturaram 2,0 g de ácido cítrico com 0,5 g de tris-HMA em um frasco de fundo redondo e aqueceram a 225 °C por 15 min. Segundo os autores, a tecnologia utilizada foi de baixo custo, com o ácido cítrico servindo como fonte de carbono e o tris-HMA, como fonte de nitrogênio. Os N-GQDs preparados emitiram forte fluorescência azul sob excitação a luz UV (365 nm) com distribuição de tamanho de 0,5 a 4,0 nm (LIN et al., 2015).

1.2.3 Aplicação dos pontos quânticos de grafeno

Como já foi descrito, ao assumir novas propriedades químicas e físicas, os GQDs funcionalizados (ou não) chamaram a atenção da comunidade científica. Destaca-se ainda o fato dos GQDs serem materiais à base de carbono, e portanto, abundantemente disponíveis e de baixo custo. Recentes trabalhos de revisão da literatura abordam a aplicação dos GQDs como dispositivos optoeletrônicos e eletroquímicos, capacitores, células solares e a combustível e aplicações na bioimagem (KADIAN; SETHI; MANIK, 2021; TIAN et al., 2018).

A bioimagem é uma avançada técnica de monitoramento de eventos biológicos, como o rastreamento de células e a entrega direcionada de fármacos no organismo. Os GQDs têm sido aplicados neste campo devido a sua combinação excepcional de propriedades como controle de tamanho, boa fotoestabilidade, fotoluminescência ajustável e biocompatibilidade. Por exemplo, Peng et al. (2012) aplicaram GQDs verdes luminescentes preparados a partir de fibras de carbono para obter imagens de células de câncer de mama. Em outra aplicação, Al-Nahain et al. (2013) usaram GQDs funcionalizados com ácido hialurônico como carregador de doxorubicina, um fármaco utilizado habitualmente no tratamento de uma grande variedade de formas de cancro, em camundongos (AL-NAHAIN et al., 2013; KADIAN; SETHI; MANIK, 2021; PENG et al., 2012).

Outro campo no qual os GQDs têm sido aplicados é no desenvolvimento de sensores optoeletrônicos. A interação entre os GQDs com íons inorgânicos e pequenas substâncias orgânicas e biomoleculares pode extinguir a intensidade fluorescente dos GQDs e servir como base para o desenvolvimento de um sensor optoeletrônico. Um exemplo de trabalho nesta área é a pesquisa de Sun et al. (2013), no qual foi desenvolvido um sensor à base de GQDs amino funcionalizados para a determinação de íons Cu^{2+} em células vivas de adenocarcinoma de pulmão humano. Um outro exemplo, é a pesquisa de Shen e coautores (2017) para determinação de íons Fe^{3+} , Cu^{2+} e Ag^+ em soro humano e em amostras de água de rio usando um sensor à base de pontos quânticos de grafeno co-dopados com nitrogênio e enxofre, a qual teve sua fluorescência fortemente extinta ao interagir com estes íons (KADIAN; SETHI; MANIK, 2021; SHEN et al., 2017; SUN et al., 2013).

A transferência eletrônica eficiente dos GQDs é beneficiada em virtude de uma grande área superficial e grupos de borda abundantes na matriz de grafeno. A grande área de superfície significa que mais átomos são expostos para as interações e átomos da superfície

normalmente exibem mais reatividade em comparação com os átomos interiores. Estas propriedades justificam a crescente aplicação dos GQDs na área de dispositivos eletroquímicos (CAMPUZANO; YÁÑEZ-SEDEÑO; PINGARRÓN, 2019; TIAN et al., 2018).

Neste contexto, Ou e colaboradores (2015) desenvolveram um eletrodo modificado através da eletrodeposição sucessiva de GQDs e quitosana sobre a superfície de um GCE. Os autores explicaram que as fortes interações entre a quitosana e os GQDs resultaram na formação de um filme regular e uniforme, que pode ser aplicado no reconhecimento eletroquímico quiral de enantiômeros de triptofano. O filme de quitosana proporcionou um microambiente quiral, enquanto que os GQDs amplificaram os sinais eletroquímicos, melhorando a eficiência do reconhecimento. Assim, os autores concluíram que com o efeito sinérgico destes dois materiais foi possível realizar o reconhecimento quiral de enantiômeros de triptofano (OU et al., 2015).

Gondim e colaboradores (2018) desenvolveram um dispositivo eletroquímico à base de GQDs e Nafion® para detectar resíduos de sulfonamidas totais no leite. Para o preparo do dispositivo, 8,0 µL de uma dispersão contendo GQDs e 0,5% de Nafion®117 foi gotejada sobre a superfície de um GCE. O Nafion® foi utilizado para garantir a fixação dos GQDs na superfície do GCE na forma de um filme. Os GQDs proporcionaram uma melhora na sensibilidade do dispositivo para a reação de oxidação da sulfametazina, molécula representativa que os autores utilizaram para otimizar o método eletroanalítico. O LOD obtido para sulfametazina utilizando a voltametria de pulso diferencial (do inglês, *differential pulse voltammetry* – DPV) foi de 0,28 µmol L⁻¹. O dispositivo foi utilizado para realizar um controle de qualidade em amostras de leite quantificando resíduos de sulfonamida totais (GONDIM et al., 2018).

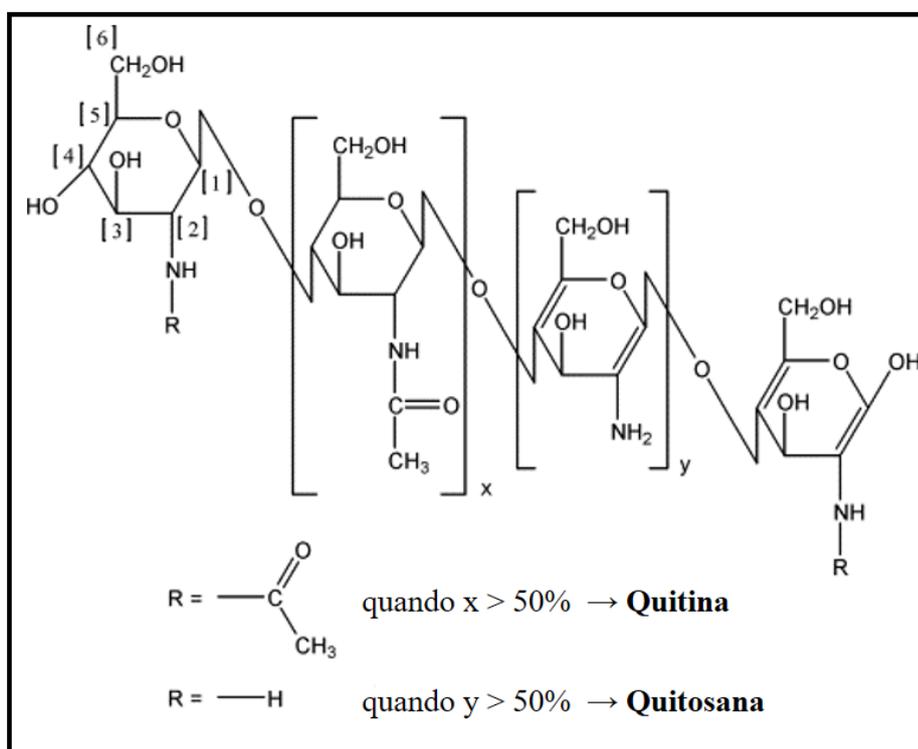
1.3 QUITOSANA

A quitosana (do inglês, *chitosan* – CS) é um biopolímero derivado da quitina. Na natureza, a quitina é conhecida como um dos polímeros mais abundantes, atrás apenas da celulose, já que constitui uma grande porção de exoesqueleto de insetos e crustáceos. A quitosana apresenta uma série de propriedades que justificam sua extensa gama de aplicações, como biocompatibilidade, biodegradabilidade, não-toxicidade, antioxidante e antimicrobiana, além de ser um material de baixo custo (MUJTABA et al., 2019; ZOUAOUI et al., 2020).

O método mais utilizado para obtenção da quitosana é a partir da reação de desacetilação da quitina por hidrólise alcalina usando solução de hidróxido de sódio. Tanto a quitina, quanto a quitosana apresentam em suas estruturas químicas unidades 2-acetamida-2-desoxi-D-glicose (GlcNAc) e 2-amino-2-desoxi-D-glicose (GLcN) unidas por ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$. O processo de desacetilação da quitina para quitosana envolve a remoção do grupo acetila $-\text{COCH}_3$, resultando na formação do grupo amino $-\text{NH}_2$ das unidades GlcNAc. Em geral, o produto desacetilado da quitina passa a ser considerado quitosana quando o grau de desacetilação é maior que 50%, valor a partir do qual o biopolímero se torna solúvel em soluções ácidas diluídas (GUERRERO et al., 2019; KOU; PETERS; MUCALO, 2021; MITTAL et al., 2018).

A Figura 4 apresenta as estruturas da quitina e da quitosana.

Figura 4. Representação das estruturas químicas da quitina e da quitosana.



Fonte: Adaptado de PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009. Copyright 2021, Elsevier.

Em relação a solubilidade, a quitosana é prontamente solúvel em soluções ácidas diluídas em pH abaixo de 6,0. Isto porque a quitosana possui grupos amino primários com um valor de pKa de 6,5. A presença dos grupos amino livres indica que o pH substancialmente

altera o estado carregado e as propriedades da quitosana. Assim, em pH ácido, essas amins são protonadas ($-\text{NH}_3^+$) e se tornam positivamente carregadas, o que faz a quitosana um polieletrólito catiônico solúvel em água. Por outro lado, à medida que o pH aumenta acima de 6,0, as amins da estrutura da quitosana tornam-se desprotonadas e o polímero torna-se neutro e insolúvel. A transição de solúvel para insolúvel ocorre próximo ao seu pKa entre os valores de pH 6,0 e 6,5 (ZOUAOUI et al., 2020).

A quitosana, além de possuir boa biocompatibilidade, tem o potencial para formar filmes e hidrogéis uniformes, podendo ainda ser quimicamente modificada a partir dos múltiplos grupos funcionais contendo oxigênio e nitrogênio presentes em sua estrutura. Assim, a quitosana apresenta uma ampla gama de aplicações nas mais diversas áreas. São relatadas aplicações nas áreas de agricultura, medicina, engenharia industrial, alimentícia, farmacêutica e desenvolvimento de sensores e biossensores (MUJTABA et al., 2019; SUGINTA; KHUNKAEWLA; SCHULTE, 2013).

Para a construção de sensores e biossensores, o uso da quitosana não é justificado somente como um bom formador de filme sobre um substrato sólido, ela também pode atuar como estabilizante de íons metálicos e nanopartículas metálicas, imobilizando enzimas e como agente redutor fraco na síntese de nanopartículas metálicas. Estas aplicações partem da presença de grupos amino livres e hidroxilas em toda a cadeia de quitosana (SUGINTA; KHUNKAEWLA; SCHULTE, 2013; WEI; QIAN, 2008).

Neste sentido, Shadjou e coautores (2016) desenvolveram um eletrodo modificado a partir da eletrodeposição sequencial de GQDs e quitosana sobre um GCE para ser aplicado na determinação de vitamina C. Inicialmente, foi realizada a eletrodeposição dos GQDs ($2,0 \text{ g L}^{-1}$) através de 60 ciclos na faixa de potencial de 0,0 a +1,0 V por CV a 100 mV s^{-1} . Em seguida, os autores realizaram uma eletrodeposição de quitosana ($2,0 \text{ g L}^{-1}$) através de 60 ciclos de -0,1 a +1,5 V a 100 mV s^{-1} . O eletrodo modificado forneceu as maiores intensidades de corrente para a oxidação da vitamina C em relação ao GCE não modificado, devido às propriedades dos GQDs como a condutividade elétrica e a elevada área superficial. A quitosana serviu para a formação de um filme estável sobre o GCE, já que os GQDs são solúveis em meio aquoso (SHADJOU et al., 2016).

A combinação de GQDs com quitosana também apresenta vantagens para o uso em liberação controlada de fármacos. Neste sentido, Justin e colaboradores (2015) desenvolveram microagulhas biodegradáveis a partir de um compósito de quitosana e GQDs para administração transdérmica do anestésico cloridrato de lidocaína. O anestésico foi

imobilizado na superfície dos GQDs através de ligações de hidrogênio com os grupos funcionais presentes nas bordas dos pontos quânticos. A inserção dos GQDs na matriz de quitosana aumentou a condutividade do sistema. Por fim, as microagulhas resistiram à força de inserção no corpo e liberaram o anestésico via estimulação elétrica mais substancialmente do que microagulhas de quitosana (JUSTIN et al., 2015).

O uso combinado de GQDs e quitosana também foi utilizado em outros trabalhos como no desenvolvimento de um sensor de umidade (QI et al., 2019), na redução catalítica de 4-nitrofenol (WEI et al., 2019) e em um estudo de encapsulação de GQDs (REN et al., 2020). Com isso, é de grande interesse explorar o uso combinado de GQDs e quitosana em novas aplicações, como o desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados.

1.4 DESREGULADORES ENDÓCRINOS

Os desreguladores endócrinos (do inglês, *endocrine disruptor chemicals* – EDCs) são substâncias químicas de origem natural ou sintética capazes de desregular o sistema endócrino. 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 (AZZOUZ et al., 2019; VIEIRA et al., 2021).

Um EDC pode imitar total ou parcialmente hormônios naturais do corpo, como estrógenos ou andrógenos, e hormônios da tireoide. Pode bloquear a interação de hormônios naturais com o seu receptor alterando seu metabolismo *in vivo*. Pode também se ligar a um receptor dentro de uma célula e bloquear o hormônio endógeno de ligação. Ao interferir com o sistema endócrino, produz efeitos adversos nos sistemas reprodutivo e neurológico em humanos e animais (KAYA et al., 2020a; MONNERET, 2017).

Atualmente, estima-se que mais de 1000 diferentes compostos são considerados potenciais EDCs, podendo ser encontrados no ar, terra, água potável, alimentos de origem vegetal e animal, produtos de higiene e cuidado pessoal, combustíveis e produtos farmacêuticos. (PRADHAN et al., 2021; SCOGNAMIGLIO et al., 2016; VIEIRA et al., 2021).

Os EDCs 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), retardantes de chama bromados, antimicrobianos (parabenos, triclosan e triclocarban) e em compostos farmacêuticos (estrogênios sintéticos como dietilestilbestrol) entre outros. A segunda classe inclui substâncias naturais, como os fitoestrogênios (lignanos, isoflavonas e coumestanos) e estrogênios naturais (17 β -estradiol, estrona e estriol) (BILA; DEZOTTI, 2007; KABIR; RAHMAN; RAHMAN, 2015).

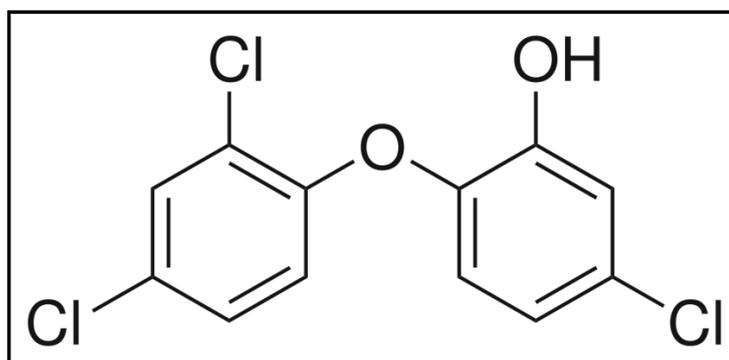
Os EDCs podem entrar no corpo humano por uma variedade de rotas, como por exemplo, por meio do consumo de alimentos e bebidas contaminadas. Nestes casos, a contaminação pode ser com bifenilas policloradas (PCBs), dioxinas, perfluorados, diclorodifeniltricloroetano (DDT), provenientes de resíduos industriais ou pesticidas, ou com bisfenol A e ftalatos, em decorrência do processo de lixiviação em embalagens plásticas (KABIR; RAHMAN; RAHMAN, 2015; VIEIRA et al., 2021).

Outras possibilidades de contaminação são a partir do contato com a pele e por inalação. Pesticidas comumente usados na agricultura, em casas, ou controle de doenças públicas (DDT, clorpirifós, vinclozolin, piretróides), assim como retardadores de chama bromados presentes em equipamentos eletrônicos, têxteis, e móveis de espuma são exemplos de EDCs que podem ser inalados ou absorvidos pela pele. Além de produtos de higiene e cuidado pessoal em que estão presentes parabenos, triclosan e triclocarban. Por fim, a contaminação também pode ocorrer a partir da placenta e da amamentação como nos casos de ftalatos e bisfenol A (GIULIVO et al., 2016; KABIR; RAHMAN; RAHMAN, 2015).

1.4.1 Triclosan

O triclosan (TCS) (Figura 5) é um agente antibacteriano de amplo espectro, comumente adicionado a uma variedade de produtos de higiene e cuidado pessoal, incluindo sabonetes, xampus, cremes dental e desodorantes. Para efetuar sua atividade antibacteriana, o TCS penetra nas células bacterianas, atinge a membrana citoplasmática e afeta a síntese do ácido ribonucléico (RNA), proteínas e ácidos graxos das bactérias. Mais especificamente, o TCS se liga a proteína carreadora enoil acil-redutase, contribuindo para deixar as células bacterianas sem capacidade de sintetizar os ácidos graxos fundamentais para a renovação das membranas celulares e, portanto, causando o rompimento celular (MARQUES et al., 2017; WANG; LIANG, 2021).

Figura 5. Representação da estrutura química do triclosan (5-cloro-[2,4-diclorofenoxi] fenol).



Nos Estados Unidos, a Agência de Controle de Alimentos e Medicamentos (do inglês, *Food and Drug Administration* – FDA) banuiu, em 2016, o uso de TCS em sabões (líquido, gel, espuma e barra), mas o agente continua sendo encontrado em produtos como creme dental, enxaguante bucal, creme para acne e desodorante. Já na Europa, o TCS foi banido em 2017 em produtos antibacterianos para humanos. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da RDC nº 29/2012 permite um máximo de 0,3% (m/m) de TCS em produtos de higiene e cuidado pessoal (BERGER et al., 2019; BRASIL, 2012a; LU et al., 2019; WANG; LIANG, 2021).

Devido ao uso generalizado dos produtos de higiene e cuidado pessoal, nos últimos 40 anos, o TCS tem sido cada vez mais detectado em amostras humanas, como plasma, urina e leite materno. Além disso, a degradação incompleta do TCS nas estações de tratamento de esgoto e o destino de águas residuais tratadas levam à contaminação do ecossistema terrestre e aquático. Assim, o TCS também tem sido detectado em matrizes hídricas como rios e riachos, e ambientes marítimos como águas subterrâneas (BILAL; BARCELÓ; IQBAL, 2020; JAGINI et al., 2019).

Esta preocupação foi motivada por vários estudos que permitiram verificar que o TCS é capaz de apresentar toxicidade a reprodução e ao desenvolvimento humano sendo reconhecido como um EDC, agindo especificamente na perturbação da homeostase dos hormônios produzidos na tireoide. Entre as consequências da exposição ao TCS, destaca-se a diminuição dos níveis de estrogênio na placenta durante a gestação e mudanças nos níveis de testosterona, causando uma redução na produção de esperma, além da diminuição da viabilidade e sobrevivência das células-tronco neurais (MARQUES et al., 2017; MONTASERI; FORBES, 2016; WANG; LIANG, 2021).

Assim, o desenvolvimento de métodos rápidos e sensíveis para detectar TCS são importantes para garantir a saúde humana e a segurança ambiental. Nos últimos anos, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos neste sentido.

Teixeira e coautores (2020) modificaram a superfície de um substrato de óxido de estanho dopado com índio (do inglês, *indium-doped tin oxide* – ITO) com nanocompósito de nanopartículas de ouro e poli(líquido iônico) poli(cloreto de 1-vinil-3-carboximetilimidazólio) para a determinação voltamétrica de TCS em amostras de creme dental e de água do Lago Paranoá, Brasília. A deposição dos filmes foi realizada pela técnica de automontagem camada por camada (do inglês, *layer by layer* – LbL), no qual, o substrato de ITO, negativamente carregado, foi imerso e uma solução de um polycation (cloridrato de poli(dialil dimetilamônio)). Em seguida, ele foi imerso na solução contendo o nanocompósito de nanopartículas de ouro com o poli(líquido iônico), repetindo o processo até se formarem 5 bicamadas. Em condições otimizadas, a curva de calibração para o TCS foi construída na faixa de concentração de 10,0 a 60,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com um LOD de 98,0 nmol L^{-1} . A determinação de TCS foi realizada em amostras fortificadas de água de lago apresentando uma faixa de recuperação de 91 a 103%, e em amostra de pasta de dente, fornecendo um teor de 0,28% (m/m) de TCS, muito próximo ao indicado na embalagem do produto (0,3% m/m) (TEIXEIRA et al., 2020).

Saljooqi e colaboradores (2020) determinaram TCS usando um GCE modificado com um nanocompósito composto por nanopartículas de ouro e nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) com polipirrol imobilizado em nanofolhas de GO. O nanocompósito forneceu uma melhor resposta para a reação de oxidação do TCS, possibilitando construir a curva de calibração por DPV na faixa de 0,01 a 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com um LOD de 2,5 nmol L^{-1} . O eletrodo modificado foi aplicado na determinação de TCS em amostras de urina, pasta de dente, xampu e sabonete líquido, não sendo detectado em nenhuma delas (SALJOOQI; SHAMSPUR; MOSTAFAVI, 2020).

1.4.2 Metilparabeno

Os parabenos são um grupo de ésteres formados por ácido p-hidroxibenzóico amplamente utilizados como conservantes em cosméticos, medicamentos, alimentos e produtos de higiene devido ao seu amplo espectro antimicrobiano, estabilidade e baixo custo. Dependendo do comprimento da cadeia de ésteres, parabenos são divididos: em parabenos de

cadeia curta, incluindo metilparabeno (MePa) e etilparabeno (EtPa), e parabenos de cadeia longa, compreendendo propilparabeno (PrPa), butilparabeno (BuPa) e benzilparabeno (BePa) (LU et al., 2019; NOWAK et al., 2018).

Os parabenos são mais eficientes como conservantes contra fungos do que contra bactérias. Sua ação é através da inibição do crescimento de microrganismos destruindo a membrana celular dos micróbios, o que causa a desnaturação da proteína intracelular e inibe a atividade de enzimas de células microbiais. As atividades antimicrobianas de parabenos aumentam com o comprimento da cadeia, que, no entanto, diminui sua solubilidade em água. Como a capacidade conservante de um parabeno é determinada a quantidade do produto químico dissolvido em água, o MePa é o mais utilizado pela indústria (CHEN; CHIOU; CHANG, 2017; LINCHO; MARTINS; GOMES, 2021; NOWAK; JABŁOŃSKA; RATAJCZAK-WRONA, 2021).

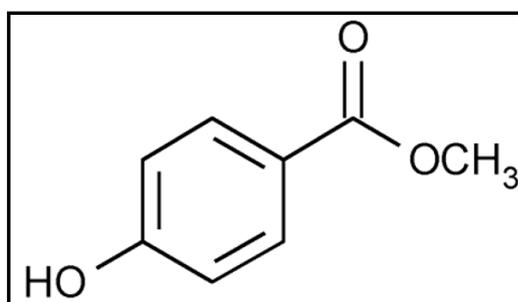
Os parabenos foram considerados conservantes seguros por anos, no entanto, estudos demonstraram que a exposição a estes compostos pode alterar ou perturbar o sistema endócrino, causando efeitos adversos à saúde humana. Os parabenos podem afetar o sistema endócrino por vários mecanismos, como (i) alterando o peso das glândulas hormonais, (ii) alterando os níveis de hormônios sexuais, (iii) ligando-se a receptores nucleares para hormônios naturais e (iv) modulando a atividade de enzimas que metabolizar hormônios naturais (aromatase, sulfotransferases). Neste sentido, pesquisas mostram que um alto nível de exposição a parabenos pode causar uma diminuição da qualidade do sêmen, desenvolvimento de obesidade e distúrbios imunológicos (JAKOPIN, 2021; NOWAK; JABŁOŃSKA; RATAJCZAK-WRONA, 2021).

A presença de parabenos foi relatada em tecidos mamários de pacientes com câncer de mama por Barr et al. (2012), confirmando e expandindo o trabalho publicado pelo mesmo grupo que, em 2004, relacionou a exposição a parabenos com o câncer de mama pela utilização de desodorantes antitranspirantes que, além de inibirem as glândulas sudoríparas, inibem também as glândulas mamárias, resultando na geração de cistos mamários. Em outro estudo, Majewska et al. (2017) observam uma diminuição na biossíntese do colágeno em células humanas expostas a doses de MePa. Recentemente, o estudo de Baker et al. (2020) associou o MePa a parto prematuro, diminuição da idade gestacional e de peso ao nascer, disfunção do hormônio tireoidiano materno e Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade infantil (BAKER et al., 2020; BARR et al., 2012; DARBRE et al., 2004; MAJEWSKA et al., 2017).

Os parabenos também são um risco ao meio ambiente. A presença desses compostos nos ecossistemas está principalmente relacionada ao descarte de águas residuais. Parabenos foram detectados em amostras de efluentes de estações de esgoto, lodo de esgoto, sedimentos, águas superficiais, água de torneira e de rios. Como consequência, há um aumento da exposição humana a estes compostos e também a contaminação em animais. Parabenos podem ter impactos negativos nos sistemas reprodutivos dos animais, causando desenvolvimentos anormais e diminuição na fecundidade das espécies (LINCHO; MARTINS; GOMES, 2021; WEI et al., 2021).

Considerado o menos tóxico entre os análogos da série, o MePa (Figura 6) é o parabeno mais encontrado em cosméticos e produtos de higiene. Pode ser adicionado sozinho ou como parte de uma mistura com PrPa, para aumentar o poder de conservação dos produtos. E assim como os demais parabenos, em virtude de sua alta estabilidade química, o MePa permanece no meio ambiente por um longo período de tempo, contaminando solos e rios (CHEN; CHIOU; CHANG, 2017; NOWAK; JABŁOŃSKA; RATAJCZAK-WRONA, 2021).

Figura 6. Representação da estrutura química do metilparabeno (4-hidroxibenzoato de metila).



Assim, a fim de diminuir o perigo destes compostos à saúde humana, o uso de parabenos na composição de produtos comerciais é regulado em vários países. No Brasil, a ANVISA (RDC nº 29/2012) permite um máximo de 0,4% (m/m) para um tipo de parabeno e 0,8% (m/m) para mais de um tipo de parabeno na composição final de produtos de higiene e cuidado pessoal. Os mesmos limites e condições são também dados pela FDA, nos Estados Unidos e pela União Europeia (BRASIL, 2012a; NOWAK et al., 2018).

Como o uso de parabenos continua sendo controverso e estando regulamentado para baixas concentrações em vários países, o desenvolvimento de métodos rápidos e sensíveis

para detectá-los, principalmente o MePa, por ser o mais comum, são importantes para garantir a saúde humana e a segurança ambiental.

Em nosso grupo de pesquisa, Piovesan e coautores (2018) desenvolveram um eletrodo modificado para a quantificação de MePa em amostras de produtos de higiene e cuidado pessoal. O eletrodo foi construído a partir de um compósito com nanopartículas de ouro e óxido de grafeno reduzido estabilizados em quitosana. A quitosana foi empregada para a estabilização e redução das nanopartículas de ouro e para a formação de um filme sobre o GCE. Sob as melhores condições experimentais, a curva de calibração para a oxidação do MePa foi de 0,03 a 1,30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com LOD de 13,77 nmol L^{-1} . O eletrodo foi aplicado na determinação de MePa em amostras de sabonete líquido, loção de limpeza de pele, repelente de insetos e enxaguante bucal (PIOVESAN; SANTANA; SPINELLI, 2018).

Recentemente, Javaid e coautores (2021) determinaram MePa em água de torneira usando um GCE modificado com nanofios de ZnO, negro de fumo e Nafion®. Os nanofios de ZnO proporcionaram maiores intensidades de corrente para a reação de oxidação do MePa em virtude de suas propriedades como a alta condutividade e elevada área superficial. Em condições otimizadas, por voltametria de onda quadrada (do inglês, *square wave voltammetry* – SWV), a curva de calibração para o MePa foi construída na faixa de concentração de 20,0 a 80,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com LOD de 7,25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (JAVAID et al., 2021).

1.4.2.1 Determinação simultânea de TCS e MePa

Triclosan e os parabenos receberam considerável atenção nos últimos anos devido às ações de desregulação endócrina e grande exposição em produtos do dia a dia até o meio ambiente. Os métodos desenvolvidos para detectá-los e quantificá-los baseiam-se nas técnicas de cromatografia e normalmente envolvem a análise de outros contaminantes de diversas classes.

Canosa et al. (2007) desenvolveram um método simples de preparação de amostras para a determinação de quatro parabenos (MePa, EtPa, PrPa e BuPa) e TCS em poeira interna de dez casas no noroeste da Espanha. Os analitos foram extraídos da amostra e isolados de espécies interferentes usando a técnica de dispersão de matriz em fase sólida. Depois disso, foram analisados e determinados por cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massa tandem (GC/MS/MS). As concentrações encontradas para os parabenos foram de 468,

108, 406 e 76 ng g⁻¹ para MePa, EtPa, PrPa e BuPa e de 702 ng g⁻¹ para o TCS (CANOSA et al., 2007).

Wang et al. (2017) construíram um sistema para preparo de amostras por microextração por fase sólida com uma impressora 3D contendo um canal com polianilina modificada com nanopartículas de óxido de ferro (Fe₃O₄). Amostras de saliva e urina contendo parabenos (MePa, EtPa, PrPa, BuPa e BePa) e TCS passaram por esse sistema para pré-concentração dos analitos e eliminação da matriz antes da análise por HPLC com detector UV-vis. As amostras foram coletadas de voluntários que haviam usado creme dental e enxaguante bucal e, no caso da saliva, foram analisadas imediatamente. Na primeira amostra de saliva foram encontradas TCS, MePa e PrPa nas respectivas concentrações de 506, 134 e 79 ng mL⁻¹; já na segunda amostra somente MePa e TCS com concentrações de 221 e 27 ng mL⁻¹, respectivamente. Nas amostras de urina nada foi detectado (WANG et al., 2017).

Lu et al. (2019) determinaram a concentração de parabenos e TCS em moluscos de águas costeiras na cidade de Shenzhen, no sul da China. Para isso, desenvolveram um método de diluição isotópica para HPLC acoplado com espectrometria de massa tandem (HPLC/MS/MS). Foram analisadas 186 amostras de moluscos abrangendo oito espécies em busca de MePa, EtPa, PrPa, BuPa, BePa e TCS. As concentrações encontradas foram de 0,13 a 25,5 ng g⁻¹ para os parabenos totais e 6,51 ng g⁻¹ para TCS, indicando a contaminação das águas costeiras. Entre os parabenos, a maior concentração obtida foi de MePa, seguido de EtPa e PrPa, somando 95% da concentração total de parabenos. Mas os autores indicaram não haver riscos significativos a saúde humana pelo consumo destes moluscos, visto que as concentrações encontradas estavam abaixo do consumo diário permitido estimado pelos próprios autores que é de 1×10⁷ ng por quilo de massa corporal por dia (LU et al., 2019).

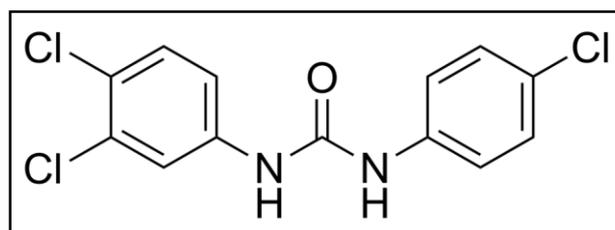
Nota-se que, nos trabalhos acima citados, as concentrações majoritárias determinadas são TCS e MePa. No entanto, não são encontrados trabalhos de eletroanalítica focados em uma determinação simultânea de TCS e MePa.

1.4.3 Triclocarban

Triclocarban (TCC) (Figura 7) é um agente antimicrobiano de amplo espectro usado em produtos de higiene e cuidado pessoal principalmente sabonetes líquidos e em barras, mas também em creme dental, desodorantes e cosméticos. O TCC age através da perturbação da síntese de ácidos graxos e formação da membrana celular das bactérias impedindo a infecção

e a deterioração do produto. Embora o TCC e o TCS sejam frequentemente discutidos e estudados em conjunto, o TCC é uma carbanilida (os dois anéis aromáticos são ligados pela ureia) (Figura 7), enquanto o TCS é um éter difenílico (com oxigênio ligando os anéis aromáticos) (Figura 5). Assim, eles podem ter diferentes atividades biológicas (IACOPETTA et al., 2021; ROCHESTER et al., 2017; YUN et al., 2020).

Figura 7. Representação da estrutura química do triclocarban (3,4,4'-triclorocarbanilida).



Embora o TCC tenha sido amplamente utilizado por mais de 50 anos, foi apenas em 2008, que se abordou pela primeira vez seu potencial de agir como um EDC. Chen et al. (2008) verificaram que a ação da testosterona é amplificada pelo TCC e produziu um aumento significativo no órgão sexual em ratos machos. Estudos em humanos por Wei et al. (2017) e Geer et al. (2017) mostraram que o TCC pode causar disfunção imunológica e influenciar os resultados reprodutivos humanos provocando má-formação fetal e diminuição da idade gestacional (CHEN et al., 2008; GEER et al., 2017; WANG et al., 2021; WEI et al., 2017).

O amplo uso de produtos de higiene e a remoção incompleta em estações de tratamento de esgoto ou descarga direta de águas residuais sem tratamento, fizeram com que o TCC fosse detectado em níveis nanomolares em ambientes aquáticos e terrestres, classificando-o entre os principais contaminantes emergentes de preocupação no mundo. Na China e nos Estados Unidos, o TCC foi detectado em amostras de águas superficiais e potável em concentrações que variam de 0,05 a 6,750 ng L⁻¹. Devido à sua lipofilicidade e estabilidade, o TCC pode se acumular em plantas e animais, como caramujos e peixes. Neste sentido, estudos mostram que o TCC também impacta na vida animal, como por exemplo, Dong et al. (2018) relataram que a exposição de peixes-zebra ao TCC resultou na diminuição da frequência cardíaca e atraso no desenvolvimento da bexiga natatória, sendo essas alterações acompanhadas por distúrbio endócrino da tireoide (DONG et al., 2018; IACOPETTA et al., 2021; ROCHESTER et al., 2017; VIMALKUMAR; SEETHAPPAN; PUGAZHENDHI, 2019; YUN et al., 2020).

Os riscos do TCC à saúde humana e ao meio ambiente mostram a necessidade do desenvolvimento de ferramentas analíticas capazes de monitorar este composto em diversas matrizes, como também capaz de realizar um controle de qualidade na fonte deste composto, os produtos de higiene e cuidado pessoal, no cumprimento da legislação.

Nos Estados Unidos, o FDA banuiu em 2016 o uso do TCC em sabões (líquido, gel, espuma e barra), assim como o TCS. No Brasil, a ANVISA através da RDC nº 29/2012 permite um máximo de 0,2% (m/m) de TCC na composição final de produtos de higiene e cuidados pessoais e permite uma concentração máxima de 1,5% (m/m) de TCC em produtos destinados ao enxágue (RDC nº 3/2012) (BRASIL, 2012a, 2012b; BROSE et al., 2019).

Muitos estudos têm sido realizados empregando métodos cromatográficos para quantificar o TCC em diferentes matrizes, carecendo, no entanto, de estudos que utilizem outros métodos analíticos. Neste sentido, apenas dois estudos foram encontrados na literatura não usando métodos cromatográficos, o de Anh e colaboradores (2012) visando quantificar o TCC por ensaio de imuno-adsorção enzimática (do inglês, *enzyme-linked immunosorbent assay* – ELISA) e a pesquisa de Lúcio e coautores (2015) usando um método eletroquímico (AHN et al., 2012; LI et al., 2020; LÚCIO et al., 2015).

Lúcio et al. (2015) apresentaram o primeiro relato da determinação de TCC por um método eletroquímico. Usando um GCE sem modificação, os autores determinaram TCC em produtos de higiene e amostras de água potável, utilizando a SWV e a voltametria adsortiva de redissolução (do inglês, *adsorptive stripping voltammetry* – AdSV). Devido à baixa solubilidade do TCC em água ($\sim 3,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a 20 °C), os autores utilizaram uma mistura de metanol e solução tampão acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,4) como eletrólito de suporte. No entanto, não foi informada a porcentagem de cada componente. Foi recomendado que as medidas voltamétricas fossem realizadas em até 20 min, tempo o qual a mistura permanece estável. A solubilidade do TCC é prejudicada com a evaporação do metanol e, conseqüentemente a solução pode ficar turva e bloquear a resposta do GCE. Sob condições otimizadas, a curva de calibração do TCC por SWV foi obtida na faixa de concentração de 0,7 a 8,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com LOD de 180 nmol L⁻¹. Usando a AdSV no modo onda quadrada, com um tempo de deposição de 120 s (circuito aberto) para a adsorção do TCC ao GCE, a curva de calibração foi obtida em 1,8 a 21,0 nmol L⁻¹ com LOD de 0,32 nmol L⁻¹. Os autores aplicaram o método em amostras de sabonete líquido e em barra, determinando o TCC em níveis de concentração que variaram entre 0,21 e 0,49% (m/m), estando de acordo com a regulamentação da ANVISA (RDC nº 8/2012), que estabelece um valor máximo de 1,5%

m/m de TCC em produtos de higiene destinados ao enxágue (BRASIL, 2012b). E por fim, nas amostras de água potável, não foi detectada a presença de TCC (LÚCIO et al., 2015).

Nesta revisão, mostrou-se que TCS, MePa e TCC são agentes antimicrobianos adicionados a uma variedade de produtos de higiene e cuidado pessoal e, portanto, amplamente presentes em nosso cotidiano. No entanto, estudos mostram que os três compostos apresentam atividade de desregulação endócrina, sendo prejudiciais não só à saúde humana, mas também uma ameaça ao meio ambiente. Mesmo sendo importante o monitoramento dessas substâncias, nota-se na literatura, uma carência de ferramentas analíticas simples e rápidas para tal finalidade, sendo encontrado majoritariamente métodos cromatográficos. Assim, esse trabalho descreve o desenvolvimento de dois novos eletrodos quimicamente modificados para a determinação destes EDCs em produtos de higiene e cuidado pessoal. O primeiro eletrodo foi desenvolvido à base de GQDs para a determinação simultânea de TCS e MePa, e o segundo construído com N-GQDs para a determinação de TCC. A quitosana foi utilizada em ambos os eletrodos, imobilizando os pontos quânticos em sua matriz e formando um filme estável sobre a superfície do GCE.

CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver novos eletrodos quimicamente modificados à base de pontos quânticos de grafeno imobilizados em quitosana para serem empregados na quantificação dos desreguladores endócrinos triclosan, metilparabeno e triclocarban em produtos de higiene e cuidado pessoal através de métodos eletroanalíticos sensíveis e de baixo custo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Síntese e caracterização dos eletrodos modificados com GQDs e N-GQDs

- Sintetizar GQDs usando como precursor o ácido cítrico;
- Sintetizar N-GQDs usando como precursores o ácido cítrico e o tris-HMA;
- Caracterizar morfológicamente os GQDs e N-GQDs por microscopia eletrônica de transmissão;
- Caracterizar os GQDs e N-GQDs por espectroscopia no UV-vis e de fluorescência;
- Preparar eletrodos modificados com GQDs e N-GQDs imobilizados em quitosana;
- Caracterizar eletroquimicamente a superfície do GCE modificado com GQDs e N-GQDs através da voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica.

2.2.2 Determinação simultânea de TCS e MePa usando um eletrodo à base de GQDs

- Avaliar o comportamento eletroquímico do TCS e MePa sobre a superfície do eletrodo modificado GQDs-CS/GCE;
- Otimizar os parâmetros experimentais (pH, eletrólito de suporte, técnica voltamétrica) de modo a se obter a máxima resposta eletroanalítica para a análise simultânea de TCS e MePa;
- Obter a curva de calibração para a determinação simultânea de TCS e MePa;
- Determinar os parâmetros analíticos como faixa linear, limite de detecção e limite de quantificação para a determinação simultânea de TCS e MePa;

- Avaliar a precisão dos dados obtidos pelo eletrodo modificado GQDs-CS/GCE através de ensaios de repetibilidade intradia e interdia;
- Quantificar o teor de TCS e MePa em amostras de produtos de higiene e cuidado pessoal 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.

2.2.3 Determinação de TCC usando um eletrodo à base de N-GQDs

- Avaliar o comportamento eletroquímico do TCC sobre a superfície do eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE;
- Otimizar os parâmetros experimentais (pH, eletrólito de suporte, técnica voltamétrica) de modo a se obter a máxima resposta eletroanalítica para a análise do TCC;
- Obter a curva de calibração para a determinação de TCC;
- Determinar os parâmetros analíticos como faixa linear, limite de detecção e limite de quantificação para a determinação de TCC;
- Avaliar a precisão dos dados obtidos pelo eletrodo N-GQDs-CS/GCE através de ensaios de repetibilidade intradia e interdia;
- Determinar o teor de TCC em amostras de produtos de higiene e cuidado pessoal 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.

CAPÍTULO 3 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Os reagentes utilizados eram de grau analítico, obtidos da Sigma-Aldrich/Merck (Alemanha). Foram utilizados ácido cítrico anidro ($\geq 99,5\%$), tris-HMA ($\geq 99,8\%$) e quitosana de baixa massa molar (75-85% desacetilada). As soluções estoque de TCS, MePa e TCC foram preparadas em etanol na concentração de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, e as de concentração inferior, mediante diluição.

As soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura, obtida com o sistema Milli-Q (Millipore, Estados Unidos) com resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$. A solução de quitosana foi preparada no teor de $0,25\%$ (m/v) em solução tampão de ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5). As soluções estoque de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e KCl foram preparadas na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em água ultrapura. Cinco soluções tampão ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) foram testadas como eletrólito de suporte, são elas: Britton-Robinson (B-R) ($\text{H}_3\text{BO}_3/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_3\text{PO}_4$), McIlvaine (ácido cítrico/ Na_2HPO_4), $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$, $\text{H}_3\text{BO}_3 \cdot \text{KCl}/\text{NaOH}$ e solução tampão fosfato de sódio ($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$). O pH destas soluções foi ajustado com HCl ou NaOH ($6,0 \text{ mol L}^{-1}$).

3.2 SÍNTESE DE GQDS

Os GQDs foram sintetizados a partir da reação de pirólise do ácido cítrico seguindo o método desenvolvido por Dong e colaboradores (2012). Em um béquer de $5,0 \text{ mL}$; $2,0 \text{ g}$ de ácido cítrico foram submetidos a um aquecimento de $200 \text{ }^\circ\text{C}$ por 30 min . Cerca de 5 min depois, o ácido cítrico foi fundido. Posteriormente, a cor do líquido foi alterada de incolor para amarelo pálido, e laranja em 30 min , indicando a formação de GQDs. Após este tempo, o ácido cítrico pirolisado foi gotejado lentamente em 100 mL de solução de NaOH $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ sob vigorosa agitação, com posterior neutralização para pH $7,0$ com HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Por fim, alíquotas foram deixadas em um saco de diálise (3 500 Da) por 12h , para completa remoção de sais restantes (DONG et al., 2012).

3.3 SÍNTESE DOS N-GQDS

Os N-GQDs foram obtidos seguindo os trabalhos de Lin et al. (2015) e Kashani et al. (2017). O procedimento de uma etapa envolveu a pirólise com ácido cítrico como fonte de carbono e tris-HMA como dopante de nitrogênio. Em um béquer de 5,0 mL, 1,0 g de ácido cítrico e 0,25 g de tris-HMA foram misturados e aquecidos a 160 °C por 15 min usando uma chapa de aquecimento. O ácido cítrico fundido foi observado após aproximadamente 3 min de aquecimento sendo transparente. A cor da substância fundida mudou para laranja, indicando a formação dos N-GQDs. Após resfriamento à temperatura ambiente, 5,0 mL de água ultrapura foram adicionados para dissolver o sólido laranja obtido. Para a neutralização, foi adicionado NaOH 1,0 mol L⁻¹ gota a gota, e posteriormente diluída para 50,0 mL com água ultrapura. Por fim, alíquotas foram então deixadas em um saco de diálise (3 500 Da) por 12h, para remover completamente os sais restantes (KASHANI; MADRAKIAN; AFKHAMI, 2017; LIN et al., 2015).

3.4 PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS MODIFICADOS

Para a preparação dos eletrodos modificados GQDs-CS/GCE e N-GQDs-CS/GCE foi adotado o método *drop coating*. Uma alíquota de 200 µL de GQDs (ou N-GQDs) foi adicionada sob agitação a 9,8 mL de solução de quitosana 0,25% (m/v) (pH 4,5). A dispersão foi aquecida a 60 °C por 30 min sob agitação contínua (MOLLARASOULI et al., 2017). Após isso, 2,0 µL da dispersão GQDs-CS (ou N-GQDs-CS) foram gotejados sob a superfície de um GCE previamente polido com óxido de alumínio (0,05 µm), lavado e submetido a um banho ultrassônico por 3 min em etanol. O eletrodo modificado foi deixado secar em uma estufa a 40 °C.

3.5 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

A fim de avaliar a performance dos eletrodos modificados desenvolvidos, adquiriu-se comercialmente amostras de produtos de higiene e cuidado pessoal em lojas em Florianópolis, SC. Para a análise simultânea de TCS e MePa foram adquiridos: desodorante, sabonete antibacteriano em barra, xampu e creme dental. Para a análise de TCC, foram utilizados

sabonetes em barra e líquidos de duas companhias (A e B). O tratamento das amostras foi baseado no trabalho publicado por Zheng e colaboradores (2018).

Para o preparo, 0,5 g de amostra foi pesado e submetido a um banho ultrassônico em 10,0 mL de etanol por 40 min. Depois disso, a suspensão foi filtrada (25 μ m) e diluída em etanol em um balão volumétrico de 25,0 mL para as análises posteriores (ZHENG et al., 2018).

Para a determinação simultânea de TCS e MePa foi preparada uma amostra extra através da junção de 0,5 g de sabonete antibacteriano e 0,5 g de xampu, totalizando 1,0 de amostra, e submetido ao mesmo tratamento.

3.6 CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES DE GQDS E N-GQDS

As dispersões de GQDs e N-GQDs foram caracterizadas por TEM, e pelas Espectroscopias de Fluorescência, no Infravermelho e no UV-vis. Para estes estudos, foi utilizada uma dispersão cem vezes diluída de GQDs (ou N-GQDs) em água ultrapura.

Para a caracterização das dispersões por espectroscopia UV-vis, os espectros foram registrados em uma faixa de comprimento de onda de 200 a 600 nm utilizando um espectrofotômetro ultravioleta-visível UV-1800 (Shimadzu, Japão) conectado a um *software* UVProbe (versão 2.50). Uma alíquota de 25,0 μ L de dispersão diluída de GQDs (ou N-GQDs) foi adicionada a 3,0 mL de água ultrapura presentes em uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

Os espectros de fluorescência foram obtidos em um fluorímetro Infinite M200 (Tecan, Áustria), com os dados sendo processados no *software* Magellan (versão 7.0). Os experimentos foram realizados adicionando 25,0 μ L de dispersão diluída de GQDs (ou N-GQDs) a 3,0 mL de água ultrapura presentes em uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm. Os espectros de emissão e excitação foram registrados na faixa de 330 a 600 nm. Primeiramente fixou-se o comprimento de onda de excitação para medir a emissão; e depois, fixou-se a emissão para medir a excitação. Variou-se também os comprimentos de onda da excitação de 300 a 400 nm para medir a variação dos espectros de emissão. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Catálise Biomimética (Lacbio – UFSC).

O ácido cítrico, os GQDs e os N-GQDs foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflectância total atenuada (do inglês, *attenuated total reflectance Fourier transform infrared* – ATR FT-IR) usando um

espectrômetro Spectrum-100 (Perkin-Elmer, Estados Unidos) na faixa de 550 a 4000 cm^{-1} . Para as análises, as dispersões de GQDs e N-GQDs foram congeladas e subsequentemente liofilizadas. Estes experimentos foram realizados no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC – UFSC).

Para a caracterização morfológica das dispersões de GQDs e N-GQDs, empregou-se a técnica de microscopia eletrônica de transmissão 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 diluídas de GQDs (ou N-GQDs) foram gotejadas sobre uma rede milimétrica de cobre recoberta com carbono (300 *mesh*) que, em seguida, foi mantida sob temperatura ambiente por 24h para secagem completa. Por fim, estimou-se o diâmetro médio dos pontos, usando o *software* ImageJ (National Institutes of Health, Estados Unidos) pela contagem de 200 partículas aleatoriamente escolhidas nas imagens que foram obtidas. As análises foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME – UFSC).

3.7 MEDIDAS ELETROQUÍMICAS

3.7.1 Célula eletroquímica e instrumentação

As medidas eletroquímicas para a determinação de TCS, MePa e TCC e caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados GQDs-CS/GCE e N-GQDs-CS/GCE foram realizadas utilizando um potenciostato portátil PalmSens 4 (Palm Instruments BV, Holanda) acoplado a um microcomputador com o *software* PSTrace (versão 5.8) para aquisição e processamento de dados. Para a realização das análises, foi utilizada uma célula eletroquímica contendo três eletrodos: GQDs-CS/GCE (ou N-GQDs-CS/GCE) como eletrodo de trabalho (área geométrica = 0,031 cm^2), um eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl saturado) e um fio de platina como eletrodo auxiliar.

3.7.2 Caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados

A caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados (e das diferentes etapas de modificação) por voltametria cíclica foi executada utilizando KCl 0,1 mol L^{-1} como eletrólito de suporte contendo $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ como sonda redox. A caracterização por

espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês, *electrochemical impedance spectroscopy* – EIS) foi realizada no mesmo equipamento. Os espectros de EIS foram obtidos em eletrólito de suporte KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo uma mistura equimolar de K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆] 5,0 mmol L⁻¹ em circuito aberto, amplitude de 5,0 mV e a faixa de frequência de 0,1 a 50 000 Hz.

3.7.3 Método eletroquímico para as análises de TCS, MePa e TCC

As medidas eletroquímicas para as análises de TCS e MePa foram realizadas à temperatura ambiente numa célula eletroquímica contendo 10,0 mL de eletrólito de suporte e alíquotas conhecidas de uma solução padrão do analito transferidas com auxílio de um micropipetador. Para as análises de TCC foi adotado um sistema eletrólito de suporte/etanol (95:5 v/v) para melhorar a solubilidade do TCC no meio aquoso. Foi selecionado um tempo de agitação de 20 segundos para homogeneizar o meio após a adição da alíquota de solução padrão, e mais 30 segundos sem agitação para a estabilização do sistema. Todas as medidas foram realizadas em triplicata, sendo o desvio padrão da média aritmética representado por barras de erro nos gráficos das análises.

Após cada medida eletroquímica, foi necessário limpar a superfície do eletrodo e preparar um novo filme. Este procedimento foi executado devido ao bloqueio parcial da superfície do eletrodo causado pelos produtos de oxidação dos analitos. Assim, todos os voltamogramas, tanto para as análises simultâneas de TCS e MePa, quanto para o TCC, são referentes ao primeiro ciclo.

3.8 MÉTODO COMPARATIVO

A espectrometria UV-vis foi utilizada como método comparativo para fornecer dados para a avaliação da exatidão na determinação de TCS, MePa e TCC obtida através do método eletroquímico usando os eletrodos modificados. O mesmo espectrofotômetro UV-1800 (Shimadzu, Japão) foi utilizado para as análises.

Curvas de calibração foram construídas individualmente para TCS e MePa em etanol. Os espectros foram registrados em uma faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm, e as curvas construídas utilizando os comprimentos de onda máximo de absorbância em 257 nm

para MePa e 282 nm para TCS (PIOVESAN; SANTANA; SPINELLI, 2018; WYLLIE, 2015).

Para a determinação simultânea de TCS e MePa por espectrometria UV-vis, a sobreposição das bandas de absorção exigiu o uso de um processo matemático de deconvolução não-linear. Os cálculos foram realizados automaticamente com o *software* comercial Origin Pro 8.5 (Originlab, Estados Unidos). Para a determinação da linha de base, dez pontos foram marcados ao longo do espectro, permitindo que o *software* calculasse automaticamente a linha de base. Os picos foram fornecidos ajustando o valor do comprimento de onda individual de cada espécie e usando um procedimento de regressão não-linear para ajustar os dados experimentais em uma resposta gaussiana.

Por fim, a curva de calibração para o TCC foi construída em etanol registrando os espectros na faixa de comprimento de onda de 220 a 320 nm. O gráfico de calibração para o TCC foi construído usando o comprimento de onda de absorbância máxima de 265 nm.

3.9 AVALIAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

O objetivo da avaliação de um método analítico é certificar que este é adequado para tal propósito. Os parâmetros analíticos normalmente requeridos para a validação de métodos são: seletividade, sensibilidade, precisão, exatidão, limites de detecção e quantificação (MARSON et al., 2020).

3.9.1 Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (do inglês, *limit of detection* – LOD) e quantificação (do inglês, *limit of quantification* – LOQ) representam, respectivamente, a mais baixa concentração em que a substância possa ser detectada e quantificada com certa confiabilidade. Estes parâmetros foram calculados a partir de dados extraídos das curvas de calibração e utilizando as seguintes expressões (1) e (2) (GUMUSTAS; OZKAN, 2011):

$$LOD = 3 \frac{SD}{a} \quad (1) \qquad LOQ = 10 \frac{SD}{a} \quad (2)$$

Onde: SD (do inglês, *standard deviation*) corresponde ao desvio padrão do coeficiente linear e *a* se refere ao coeficiente angular da reta.

3.9.2 Seletividade e efeitos dos componentes da matriz

A seletividade demonstra a capacidade de um método analítico para identificar ou quantificar inequivocamente o analito na presença de outros componentes, tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz, bem como outros compostos de propriedades similares que possam estar por acaso, presentes. Em geral, a seletividade é avaliada comparando uma amostra contendo apenas o analito com uma amostra contendo os possíveis interferentes, que podem ser adicionados em quantidades adequadas (MARSON et al., 2020).

Neste sentido, a seletividade fornecida pelo GQDs-CS/GCE em relação a determinação simultânea de TCS e MePa foi avaliada com a possível interferência de algumas moléculas orgânicas e íons inorgânicos usando DPV em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo TCS $1,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $4,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. A concentração das moléculas orgânicos (ácido fúlvico, ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina, ácido cafeico, rutina, quercetina, catequina, ácido tânico e bisfenol A) foi 50 vezes maior do que a concentração de TCS e MePa. Os íons inorgânicos: Na^+ , Ca^{2+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} e NO_3^- foram avaliados como interferentes usando uma concentração 100 vezes maior que a dos analitos.

Com um procedimento semelhante, a avaliação da seletividade fornecida pelo eletrodo N-GQDs-CS/GCE sobre a determinação de TCC, foi realizada por DPV em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0):etanol (95:5 v/v) contendo TCC $1,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. A concentração de compostos orgânicos foi 50 vezes maior do que a do TCC, sendo avaliada a possível interferência da cumarina, ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina, rutina, catequina e do ácido tânico. Além disso, os íons inorgânicos: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , NO_3^- e SO_4^{2-} foram avaliados em uma concentração 100 vezes maior que a do TCC.

Outro estudo realizado para avaliar a performance dos eletrodos modificados foi sobre o efeito dos componentes da matriz das amostras. O efeito de matriz ocorre quando há um aumento ou diminuição na resposta do analito devido à interferência de um ou mais componentes da amostra. A avaliação dos efeitos da matriz envolve a comparação das inclinações da curva de adição de padrão, a qual é realizada sobre a amostra, com a inclinação da curva de calibração, obtida com o eletrólito de suporte. Se ambas as inclinações apresentarem um paralelismo significa que há ausência do efeito dos componentes da matriz na análise (GUMUSTAS; OZKAN, 2011; MARSON et al., 2020).

3.9.3 Precisão

A precisão de um método analítico representa o grau de concordância mútua entre as medidas individuais, ou seja, a repetibilidade da medida. Quanto maior a dispersão dos dados obtidos, menor é a precisão. Este parâmetro é geralmente expresso em desvio padrão relativo (do inglês, *relative standard deviation* – RSD), que é a razão entre o desvio padrão e a média, multiplicado por cem (GONZÁLEZ; HERRADOR, 2007; MARSON et al., 2020).

Neste trabalho, a precisão foi avaliada por repetibilidade intra-dia e inter-dia. Para a repetibilidade intra-dia, analisou-se cinco medidas de corrente no mesmo dia usando filmes feitos com a mesma dispersão do agente modificador. Para os estudos inter-dia, foram registradas respostas de corrente em cinco dias consecutivos, construindo filmes com diferentes dispersões do agente modificador preparadas no mesmo dia. Os estudos empregaram soluções contendo TCS $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ sendo avaliada a precisão do GQDs-CS/GCE. Neste caso, os experimentos foram realizados ambos os analitos presentes (determinação simultânea) quanto para analitos separados (determinação individual). Para avaliar a precisão das medidas do N-GQDs-CS/GCE, foi utilizada uma solução contendo TCC $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$.

3.9.4 Exatidão

A exatidão é o parâmetro responsável por avaliar a concordância entre o resultado encontrado pelo método analítico em avaliação e o valor que é aceito como verdadeiro ou de referência. Entre os procedimentos que podem ser usados para demonstrar a exatidão estão o ensaio de adição e recuperação e um método comparativo (MARSON et al., 2020).

O ensaio de adição e recuperação tem como resposta o percentual de recuperação do analito adicionado em uma amostra. Para amostras, nas quais não está disponível a matriz sem o analito, pode-se fortificar esta amostra com uma quantidade conhecida de analito e então, determiná-la através do método que está sendo avaliado. O percentual de recuperação deve ser idealmente 100%, e pode ser calculado seguindo a equação (3) (MARSON et al., 2020; PERIS-VICENTE; ESTEVE-ROMERO; CARDA-BROCH, 2015):

$$\% Rec = \left(\frac{\text{conc. determinada} - \text{conc. amostra}}{\text{valor adicionado}} \right) \times 100 \quad (3)$$

O outro método para avaliar a exatidão é através da comparação de dados obtidos por um método independente. Neste trabalho, a espectrometria UV-vis foi selecionada para avaliar a exatidão dos dados gerados pelo GQDs-CS/GCE para a determinação simultânea de TCS e MePa e dos dados obtidos com o N-GQDs-CS/GCE para a quantificação do TCC. O procedimento experimental executado para a realização do método comparativo está descrito na Seção 3.8. Para obter a comparação dos resultados com dois métodos diferentes, foram aplicados os testes estatísticos F e t de Student de acordo com as equações (4) e (5), respectivamente (MARSON et al., 2020; MILLER; MILLER, 2010).

$$F = \frac{SD_{maior}^2}{SD_{menor}^2} \quad (4)$$

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_a \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (5)$$

Onde: \bar{x}_1 é o valor médio das amostras obtido pelo método eletroquímico; \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 (do inglês, *standard deviation*) e n é o número de repetições.

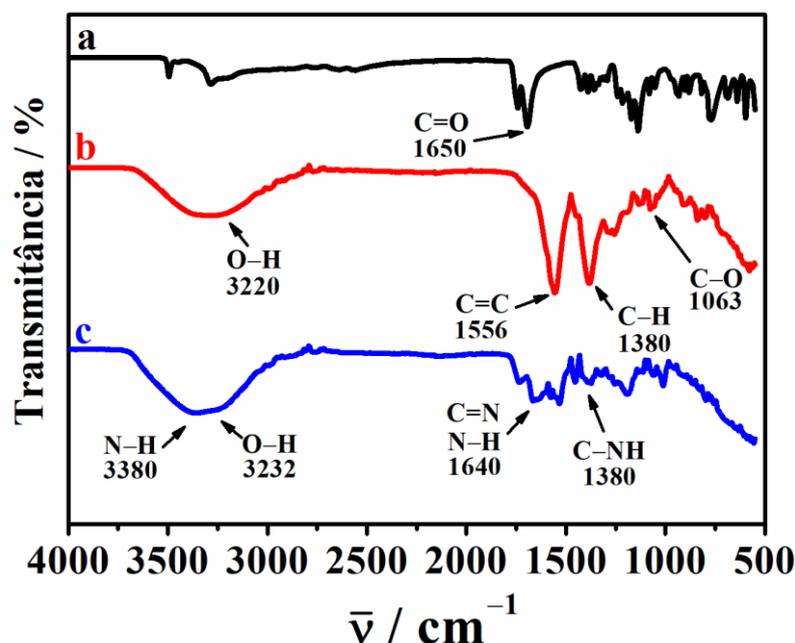
CAPÍTULO 4 - CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES DE GQDS E N-GQDS E DOS ELETRODOS MODIFICADOS

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados dos estudos de caracterização das dispersões de GQDs e N-GQDs por espectroscopias de fluorescência, no UV-vis e no infravermelho, o estudo morfológico por TEM e a caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados GQDs-CS/GCE e N-GQDs-CS/GCE.

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES DE GQDS E N-GQDS

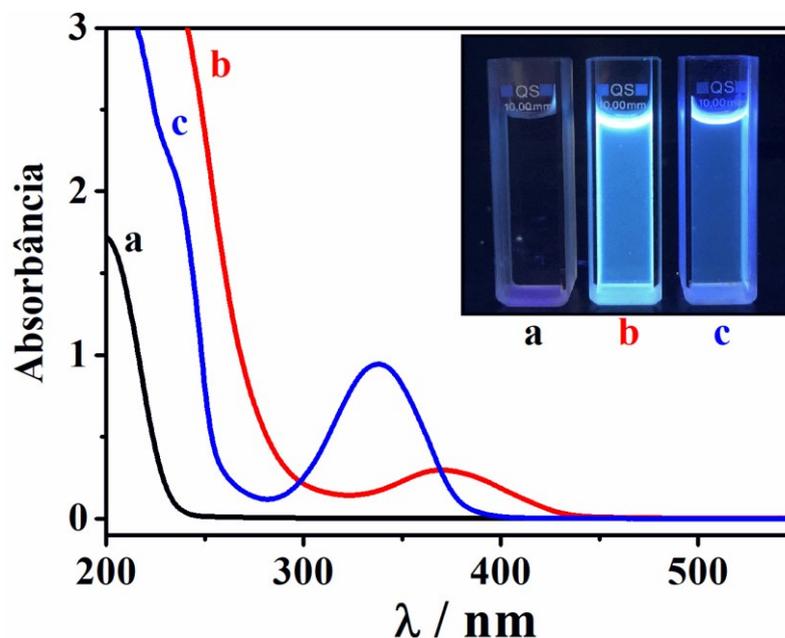
Os espectros de infravermelho obtidos por ATR-FTIR são apresentados na Figura 8. O espectro para o ácido cítrico (curva a), usado como precursor, apresenta uma banda principal em 1650 cm^{-1} correspondendo à vibração das ligações C=O (estiramento simétrico) dos grupos -COOH presentes na molécula. Já nos espectros referentes aos pontos quânticos (curvas b e c), mais bandas podem ser destacadas em virtude dos grupos funcionais presentes nas bordas dos pontos quânticos. O espectro dos GQDs (curva b) apresenta duas bandas de absorção: uma em 1380 cm^{-1} relacionada aos grupos -COO⁻ e outra em cerca de 3200 cm^{-1} associada aos grupos -OH. Além disso, uma vibração de estiramento em torno de 1550 cm^{-1} associada as ligações C=C, não presente no espectro do ácido cítrico, confirma a condensação causada pela reação de pirólise formando uma matriz de grafeno, base dos GQDs (LI et al., 2014). No espectro dos N-GQDs (curva c) são apresentadas bandas em 3380 e 3232 cm^{-1} , correspondente aos grupos -NH e -OH. A dopagem de nitrogênio na estrutura dos pontos quânticos com tris-HMA foi confirmada pela presença de bandas em 1640 e 1380 cm^{-1} , correspondendo a vibração de estiramento das ligações dos grupos C=N e C-NH, respectivamente (DAS et al., 2020; KASHANI; MADRAKIAN; AFKHAMI, 2017).

Figura 8. Espectros de infravermelho para (a) ácido cítrico, (b) GQDs e (c) N-GQDs.



As propriedades ópticas dos GQDs e N-GQDs foram estudadas por espectroscopia no UV-vis (Figura 9) e de fluorescência (Figura 10). Recém preparadas, as dispersões de GQDs e N-GQDs apresentaram cor amarelo claro sob a luz natural, mas quando irradiadas por uma lâmpada UV de 365 nm emitiram intensa luz azul (imagem inserida na Figura 9). Em relação aos espectros UV-vis, para o ácido cítrico (curva a), usado como precursor, nenhuma banda de absorção foi registrada. Para os GQDs (curva b), registrou-se uma banda de absorção em torno de 380 nm, atribuída às transições $n \rightarrow \pi^*$ das ligações C=O e transições $\pi \rightarrow \pi^*$ das ligações C=C conjugadas, o que indicou a formação dos GQDs, em acordo com a literatura (OU et al., 2015). Já para os N-GQDs (curva c), a banda mais definida registrada foi em 330 nm, resultante das transições $n \rightarrow \pi^*$ das ligações C=O, a qual se mostrou deslocada em relação a banda dos GQDs (curva b), indicando que a dopagem de nitrogênio na matriz de carbono influenciou suas propriedades ópticas (QU et al., 2018). Além disso, neste espectro também foi registrado uma banda pouco definida em 230 nm ao qual foi atribuída às transições $\pi - \pi^*$ das ligações C=C presentes na matriz de carbono (LIN et al., 2015).

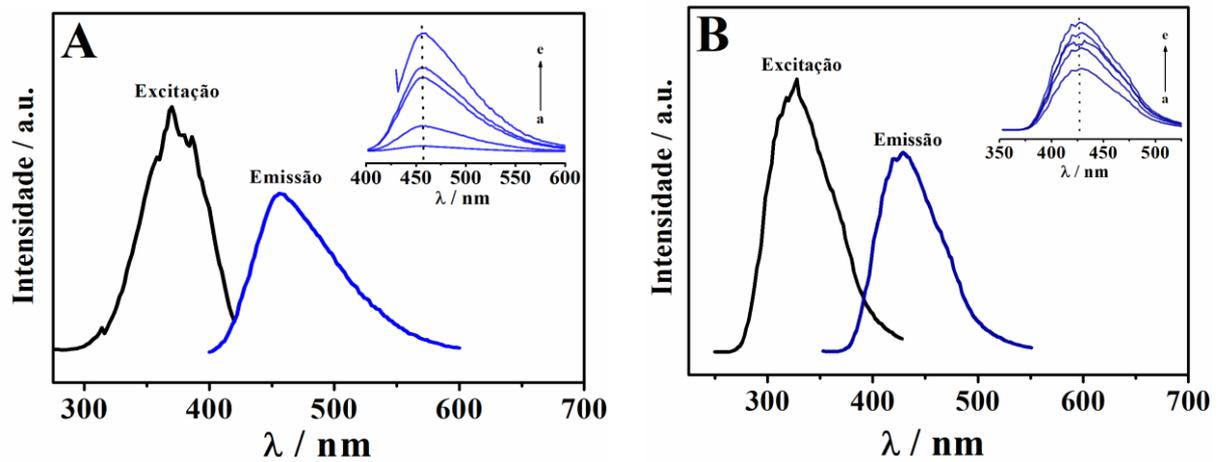
Figura 9. Espectros UV-vis para (a) ácido cítrico, (b) GQDs e (c) N-GQDs. Inserido: imagem das dispersões sob luz UV de 365 nm.



Nos espectros de fluorescência para a dispersão de GQDs (Figura 10A) são apresentados os comprimentos de onda máximo de excitação (370 nm) e emissão (460 nm), característicos dos GQDs. Enquanto que para a dispersão de N-GQDs (Figura 10B) é visto um pequeno deslocamento destes valores, registrando o comprimento de onda máximo de excitação em 340 nm e o de emissão em 420 nm. Comparado com o espectro de emissão dos GQDs, o comprimento de onda de emissão dos N-GQDs sofreu um deslocamento hipsocrômico em cerca de 40 nm, corroborando com a literatura, e indicando que a inserção de nitrogênio na matriz de grafeno alterou as propriedades ópticas do material (JIN et al., 2019). O deslocamento hipsocrômico da banda de emissão também pode ser observado na imagem inserida da Figura 9, que mostra a dispersão de N-GQDs (cubeta c) emitindo uma luz azul mais escura que a dispersão de GQDs (cubeta b).

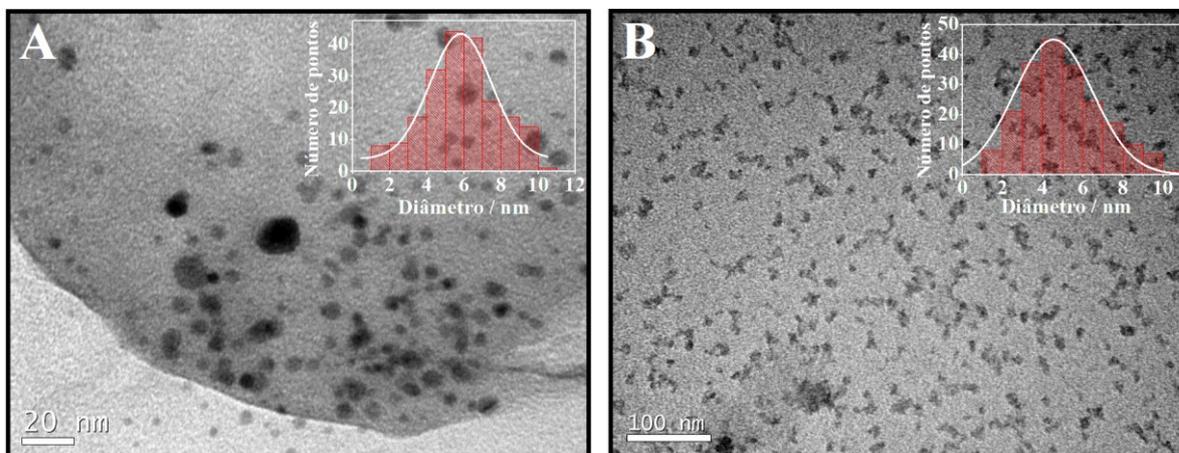
Outra propriedade característica deste tipo de material pode ser vista no gráfico inserido na Figura 10A para os GQDs e na Figura 10B para os N-GQDs, onde se variou o comprimento de onda de excitação obtendo como resposta uma emissão permanente em 460 nm para os GQDs e 420 nm para os N-GQDs. Segundo a literatura, este comportamento no qual a emissão independe da excitação é consequência da uniformidade de tamanho e da estrutura de superfície dos pontos quânticos de grafeno (DONG et al., 2012).

Figura 10. Espectros de fluorescência de excitação e emissão para (A) GQDs e (B) N-GQDs. Inserido: espectros de emissão obtidos a partir da variação do comprimento de onda de excitação: em (A) (a) 320, (b) 340, (c) 360, (d) 380 e (e) 400 nm; em (B): (a) 380, (b) 340, (c) 350, (d) 370 e (e) 360 nm.



A caracterização morfológica dos GQDs e N-GQDs foi realizada por TEM. As Figuras 11A e 11B mostram estruturas com diâmetros inferiores a 20 nm. Além disso, segundo a literatura, uma certa transparência dos pontos quânticos, como as registradas nas imagens, significa que o material é composto de poucas camadas de grafeno (ARVAND; HEMMATI, 2017). Histogramas com a distribuição de tamanho dos pontos foram construídos pela contagem de cerca de duzentos pontos escolhidos aleatoriamente a partir de mais de uma imagem de TEM. O diâmetro médio estimado dos GQDs foi de cerca de 5,8 nm (Figura 11A) e dos N-GQDs foi estimado em 4,5 nm (Figura 11B). Estes valores estão dentro da faixa de 3-25 nm que correspondem a maioria dos GQDs sintetizados reportados na literatura (WALTHER et al., 2020).

Figura 11. Imagens de TEM para (A) GQDs e (B) N-GQDs. Inserido: histogramas de distribuição de tamanho dos pontos quânticos de grafeno.



4.2 OTIMIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS ELETRODOS MODIFICADOS

4.2.1 Otimização do preparo do material modificador

A quantidade de GQDs usada no preparo do material modificador foi avaliada na faixa de 0,25 a 5,0% (v/v) de GQDs através da adição de 50, 100, 200, 300, 400, 500 e 1000 μL da dispersão de GQDs a solução de quitosana 0,25% (m/v) em solução tampão de ácido acético/acetato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5), até obter um volume final de 20,0 mL. Esta faixa de concentração foi selecionada a partir de dados publicados na literatura (CHEN et al., 2016). O estudo foi realizado por voltametria cíclica usando como sonda redox $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ analisando as intensidades de corrente (anódica e catódica) do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (dados não mostrados). As maiores intensidades de corrente foram obtidas com a solução contendo 200 μL da dispersão de GQDs (1,0% v/v), não ocorrendo mudanças significativas em concentrações superiores a esta. Assim, selecionou-se o eletrodo modificado contendo 1,0% (v/v) de GQDs com o propósito de se desenvolver uma ferramenta analítica sensível. Estes dados também serviram para selecionar a concentração de 1,0% (v/v) de N-GQDs no desenvolvimento do eletrodo N-GQDs-CS/GCE.

A partir dessas análises, os estudos posteriores de caracterização eletroquímica e desenvolvimento dos métodos analíticos para os desreguladores endócrinos foram realizados usando os eletrodos modificados contendo 1,0% (v/v) de GQDs e 1,0% (v/v) de N-GQDs.

4.2.2 Caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados

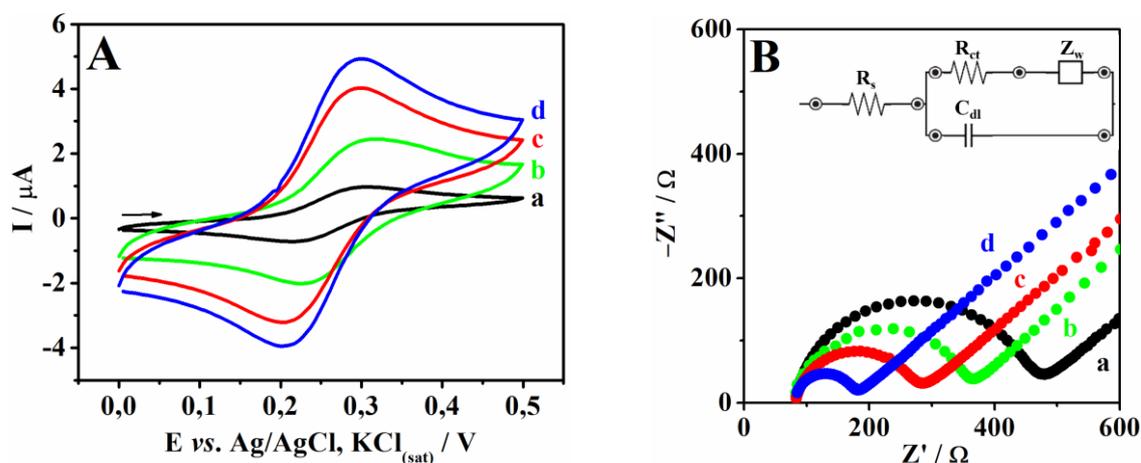
As técnicas eletroquímicas de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica podem ser aplicadas com o par redox $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ em um eletrodo recém desenvolvido com a finalidade de avaliar o quão promissor pode ser este novo dispositivo para aplicações eletroanalíticas.

A Figura 12A apresenta os voltamogramas cíclicos para $K_4[Fe(CN)_6]$ $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre diferentes eletrodos: GCE (a), CS/GCE (b), GQDs-CS/GCE (c) e N-GQDs-CS/GCE (d). Eletrodos modificados apenas com GQDs e N-GQDs não foram possíveis de serem construídos, já que não ocorreu a formação de um filme estável sobre o substrato, visto que os pontos quânticos de grafeno são solúveis em água. As menores intensidades de correntes de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}) foram obtidas pelo eletrodo sem modificação GCE ($I_{pa} = 0,71 \mu\text{A}$ e $I_{pc} = -0,72 \mu\text{A}$, $\Delta E_p = 63 \text{ mV}$) (curva a). Após a modificação com o filme de quitosana, o CS/GCE (curva b) dobrou as intensidades de corrente para $I_{pa} = 1,50 \mu\text{A}$ e $I_{pc} = -1,80 \mu\text{A}$ ($\Delta E_p = 90 \text{ mV}$), o que pode ser atribuído à afinidade da quitosana carregada positivamente com as cargas negativas do par $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ contribuindo para a adsorção das espécies na superfície do eletrodo (TASHKHOURIAN; NAMI-ANA; SHAMSIPUR, 2018). Usando o eletrodo GQDs-CS/GCE (curva c) foram obtidas as correntes $I_{pa} = 3,0 \mu\text{A}$ e $I_{pc} = -2,8 \mu\text{A}$ ($\Delta E_p = 80 \text{ mV}$), aproximadamente quatro vezes superiores as correntes obtidas pelo GCE. A presença de grupos funcionais com oxigênio nas bordas dos GQDs é benéfica para a combinação com a quitosana do ponto de vista eletrostático, já que a quitosana está dissolvida em solução tampão ácida, permanecendo positivamente carregada. Assim, este aumento pode ser correlacionado ao aprimoramento da condutividade elétrica e maior área eletroativa proporcionada ao eletrodo devido à presença dos GQDs imobilizados na quitosana (OU et al., 2015). Por fim, usando o N-GQDs-CS/GCE, houve um novo aumento nas intensidades de corrente para $I_{pa} = 3,9 \mu\text{A}$ e $I_{pc} = -3,6 \mu\text{A}$ ($\Delta E_p = 76 \text{ mV}$), o qual foi também associado a maior área eletroativa e melhora na condutividade elétrica obtida ao se usar pontos quânticos na modificação de eletrodos, mas com uma

condutividade superior ao uso de GQDs, devido ao efeito de dopagem de nitrogênio na matriz de grafeno que aperfeiçoa as propriedades do N-GQDs (SAISREE et al., 2021).

Em relação a separação dos potenciais de pico de oxidação e redução (ΔE_p), foram registradas pequenas variações com as diferentes etapas de modificação do eletrodo. Para o par redox Fe^{2+}/Fe^{3+} , o valor teórico de ΔE_p é 59 mV, o que caracteriza uma reação eletroquímica reversível com a transferência de 1 elétron (BARD; FAULKNER, 2001). Com o GCE (curva a), o valor obtido para ΔE_p foi 63 mV, bastante próximo ao valor teórico. Com o CS/GCE (curva b), o valor foi igual a 90 mV, indicando que a presença da quitosana, um polímero não condutor, na superfície do eletrodo proporcionou uma cinética de transferência de elétrons um pouco mais lenta comparada a resposta do GCE. Para os eletrodos GQDs-CS/GCE (curva c) e N-GQDs-CS/GCE (curva d), os valores de ΔE_p indicaram uma melhora na cinética de transferência de elétrons, sendo iguais a 80 e 76 mV, respectivamente, o que pode ser atribuído a condutividade dos pontos quânticos. Esses resultados indicam que os eletrodos modificados com pontos quânticos responderam adequadamente e podem ser utilizados em experimentos eletroquímicos.

Figura 12. (A) Voltamogramas cíclicos para $K_4[Fe(CN)_6]$ $5,0 \mu mol L^{-1}$ em KCl $0,1 mol L^{-1}$ ($v = 50 mV s^{-1}$) em diferentes eletrodos. (B) Gráficos de Nyquist obtidos por EIS usando uma mistura equimolar de $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ $5,0 mmol L^{-1}$ em KCl $0,1 mol L^{-1}$ em diferentes eletrodos: (a) GCE, (b) CS/GCE, (c) GQDs-CS/GCE e (d) N-GQDs-CS/GCE. Inserido em (B): Circuito de Randles, onde R_s representa a resistência da solução, R_{ct} é a resistência de transferência de carga, Z_w é a impedância de transferência de massa (impedância de Warburg) e C_{dl} é capacitância da dupla camada elétrica.



Com o propósito de se 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 uma mistura equimolar de $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ 5,0 mmol L⁻¹ 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 (MUÑOZ; MONTES; BAEZA, 2017).

Sendo assim, a Figura 12B expõe os gráficos de Nyquist ($-Z''$ vs. Z') para GCE, CS/GCE, GQDs-CS/GCE e N-GQDs-CS/GCE. Novamente, não foi possível testar eletrodos modificados somente com GQDs ou N-GQDs, visto que não há formação de um filme estável sobre a superfície do eletrodo, já que os pontos quânticos são solúveis em água. Assim, para a análise empregando o GCE (curva a), um semicírculo foi obtido, correspondendo a $R_{ct} = 356 \Omega$, sendo a maior resistência a transferência de carga registrada neste estudo. A R_{ct} teve um decréscimo quando utilizado o GCE apenas modificado com o filme de quitosana (curva b) ($R_{ct} = 237 \Omega$), mesmo a quitosana sendo um polímero não condutor. Este resultado pode ser atribuído à interação eletrostática entre a quitosana carregada positivamente e a sonda redox $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ carregada negativamente e à alta afinidade da quitosana aos íons de ferro (TASHKHOURIAN; NAMI-ANA; SHAMSIPUR, 2018).

Quando foi testado o eletrodo com GQDs-CS/GCE (curva c), os valores de impedância diminuíram para $R_{ct} = 185 \Omega$, o que pode ser atribuído a condutividade elétrica dos GQDs, facilitando a transferência de carga. Por fim, a contribuição mais efetiva para a melhoria na transferência de elétrons no sistema foi na presença de N-GQDs. O valor R_{ct} fornecido pelo N-GQDs-CS/GCE (curva d) foi o mais baixo entre os eletrodos testados ($R_{ct} = 98 \Omega$), indicando que a presença de N-GQDs pode melhorar significativamente a condutividade, facilitando a transferência de elétrons entre a sonda e a interface do eletrodo. Os resultados deste estudo corroboram com os dados obtidos por voltametria cíclica (Figura 12A) e também com outros estudos na literatura (SAISREE et al., 2021).

Fornecendo menores resistências a transferência de carga e também maiores intensidades de corrente, os eletrodos modificados GQDs-CS/GCE e N-GQDs-CS/GCE se apresentaram como dispositivos com uma melhor eletroatividade que o GCE, sendo assim promissores para aplicações eletroanalíticas.

CAPÍTULO 5 – DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE TRICLOSAN E METILPARABENO USANDO UM ELETRODO MODIFICADO COM PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO

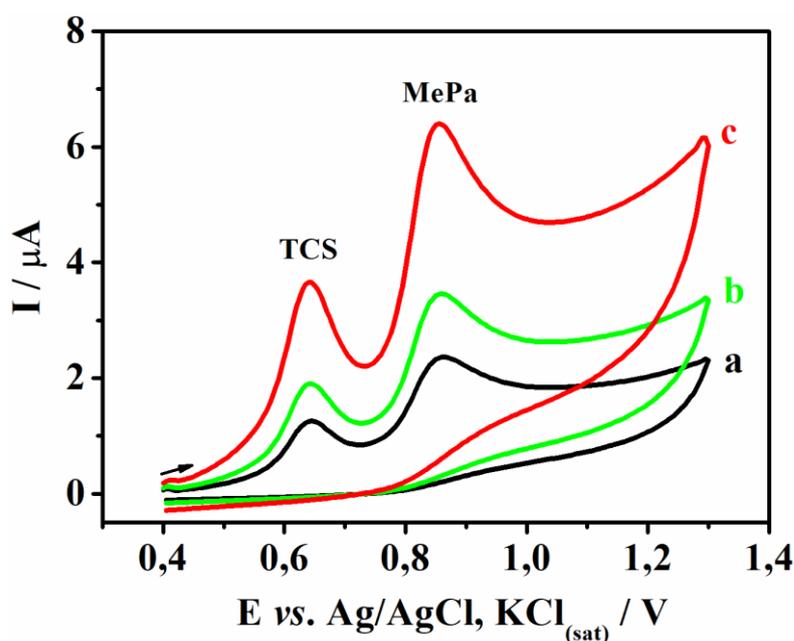
Publicado em: *Microchimica Acta*, 187, 250, 2020

Neste capítulo, serão apresentados e discutidos os resultados do método eletroanalítico desenvolvido para a determinação simultânea de TCS e MePa em produtos de higiene e cuidado pessoal usando o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE.

5.1 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE TCS E MEPA

O comportamento eletroquímico dos compostos TCS e MePa sobre diferentes etapas de modificação de eletrodo foi investigado simultaneamente por voltametria cíclica. Os voltamogramas cíclicos para TCS $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) sobre cada um dos eletrodos foram obtidos aplicando uma variação de potencial de +0,4 a +1,3 V, seguido da varredura reversa de +1,3 a +0,4 V, com $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, conforme apresenta a Figura 13.

Figura 13. Voltamogramas cíclicos para TCS $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $40,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) sobre diferentes eletrodos: (a) GCE, (b) CS/GCE e (c) GQDs-CS/GCE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Conforme a Figura 13, os voltamogramas cíclicos para TCS e MePa em todos os eletrodos testados apresentaram somente picos de oxidação para as duas espécies. Isto indicou que as reações de oxidação de ambos são processos eletroquímicos irreversíveis, comportamento que está de acordo com demais trabalhos reportados na literatura (JAVAID et al., 2021; TEIXEIRA et al., 2020).

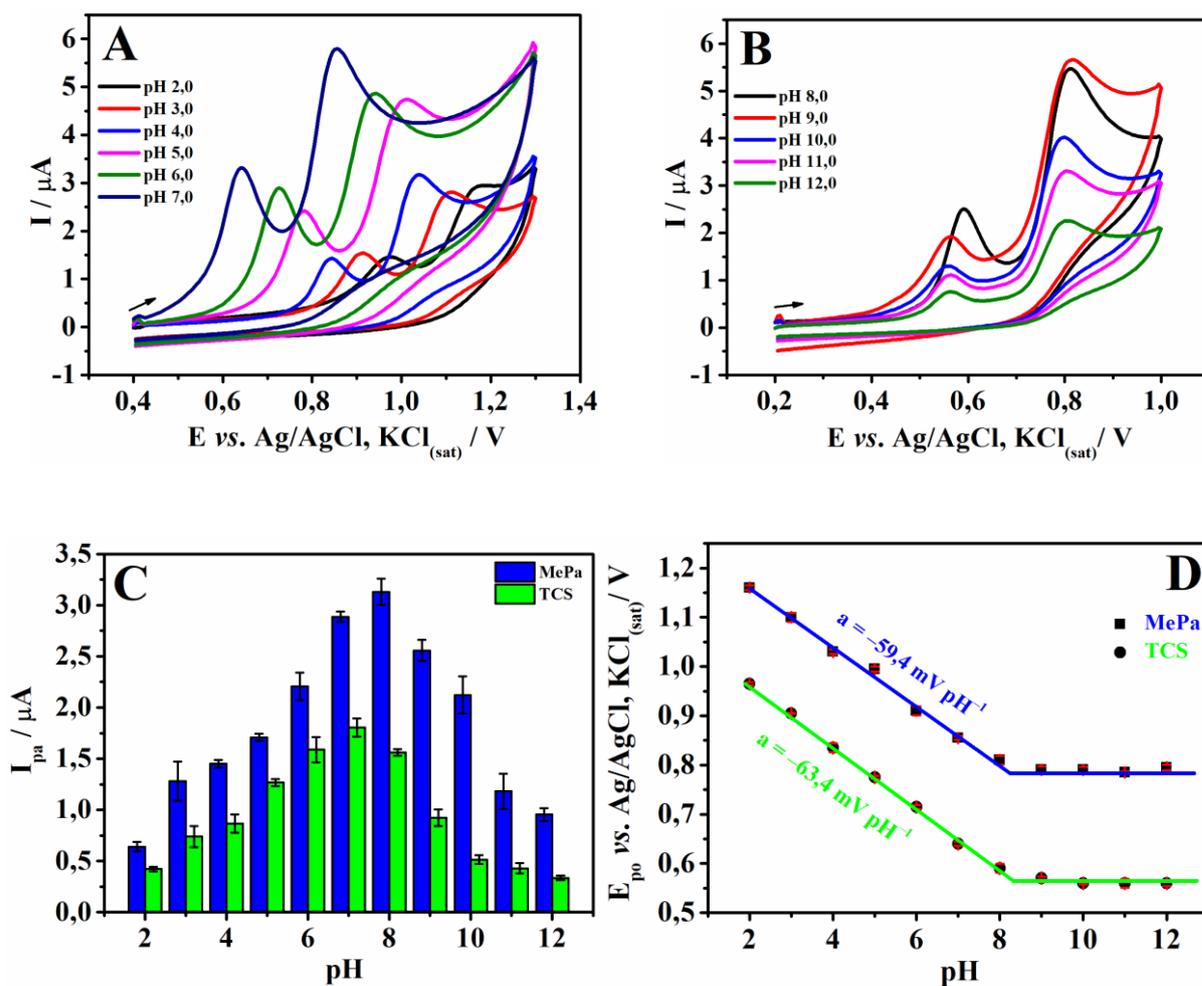
Em relação aos potenciais de pico de oxidação (E_{po}) e as correntes de pico anódico (I_{pa}), para o TCS, a reação de oxidação sobre a superfície do GCE (curva a) ocorreu em +0,64 V com $I_{pa} = 0,67 \mu A$, e para o MePa, $I_{pa} = 1,20 \mu A$ e $E_{po} = +0,85$ V. Com a modificação do substrato com um filme de quitosana, sobre o CS/GCE (curva b), ambas as correntes dobraram de intensidade, não sendo registrada nenhuma variação significativa de potencial. Este aumento de corrente pode ser atribuído à capacidade da quitosana de adsorver compostos orgânicos, através de interações intermoleculares com seus abundantes grupos funcionais aminos e hidroxílicos presentes em sua cadeia polimérica (ANNU; RAJA, 2020). Por fim, com o eletrodo GQDs-CS/GCE (curva c), as intensidades de corrente aumentaram na ordem de três vezes, quando comparadas ao GCE (curva a). Este aumento está associado com uma maior área eletroativa do eletrodo modificado, como também, por uma maior condutividade elétrica, proporcionadas pela presença dos GQDs. Em relação aos valores de E_{po} , quando comparado ao GCE, o eletrodo modificado não promoveu nenhum deslocamento significativo de potencial para os dois analitos.

No entanto, observou-se que os valores de I_{pa} tanto para o TCS e MePa diminuíram significativamente com o número de ciclos sucessivos (dados não mostrados). Isso aconteceu porque a oxidação de compostos fenólicos na superfície de eletrodos produz radicais fenóxi ativos que podem reagir entre si para formar dímeros e compostos poliaromáticos. A formação destes compostos poliméricos insolúveis resulta na desativação e incrustação da superfície do eletrodo, pois impedem o acesso de novas moléculas a superfície do eletrodo para que sejam oxidadas (GHANEM et al., 2007). Este fenômeno ocorreu nas reações de oxidação do TCS e do MePa, sendo também registrado por outros trabalhos na literatura (JAVAID et al., 2021; REGIART et al., 2016). Sendo assim, após cada medida, optou-se por uma limpeza mecânica do GCE com etanol, e a subsequente preparação de novos filmes. Assim, os resultados apresentados posteriormente são referentes ao primeiro ciclo voltamétrico.

5.1.1 Estudo do pH e da natureza do eletrólito de suporte

A influência da composição e do pH do eletrólito de suporte sobre a resposta eletroquímica do TCS e MePa foram também examinadas. 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 TCS 10,0 μmol L⁻¹ e MePa 40,0 μmol L⁻¹ sobre o GQDs-CS/GCE em cada um dos valores de pH são apresentados nas Figuras 14A e 14B.

Figura 14. Voltamogramas cíclicos para TCS 10,0 μmol L⁻¹ e MePa 40,0 μmol L⁻¹ empregando o eletrodo modificado GQDs-CS/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; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Em (C) variação de I_{pa} em diferentes valores de pH ($n = 3$) e (D) variação de E_{po} em função do pH ($n = 3$).



O gráfico de barras (Figura 14C) destaca como as correntes de pico anódico variaram em função do pH do eletrólito de suporte. Observa-se que os valores de corrente aumentaram do pH 2,0 ao 7,0 para o TCS e de 2,0 a 8,0 para o MePa, acima destes valores, as correntes de ambos decresceram. Este comportamento pode ser associado a adsorção dos analitos ao filme de quitosana, sendo mais efetivo em pH neutro e assim, proporcionando maiores respostas de correntes, quando comparado com os resultados em valores de pH ácidos e básicos. Os grupos amino ($-\text{NH}_2$) e hidroxilas ($-\text{OH}$) presentes nas cadeias de quitosana servem como locais de adsorção (KARIMI-MALEH et al., 2021). Em condições ácidas, a adsorção dos analitos pode não ser tão eficiente, dada a protonação dos grupos amina ($\text{pK}_a = 6,5$) e a ocupação dos sítios de adsorção por H_3O^+ (CHEN et al., 2017). Por outro lado, em condições básicas, a desprotonação do TCS ($\text{pK}_a = 7,9$) e MePa ($\text{pK}_a = 8,2$), diminuem a hidrofobicidade e reduzem o processo de adsorção a superfície do eletrodo (CHEN et al., 2017; KHALID et al., 2019). Sendo assim, buscando uma melhor sensibilidade para determinação dos dois analitos, adotou-se o pH 7,0 para as análises subsequentes.

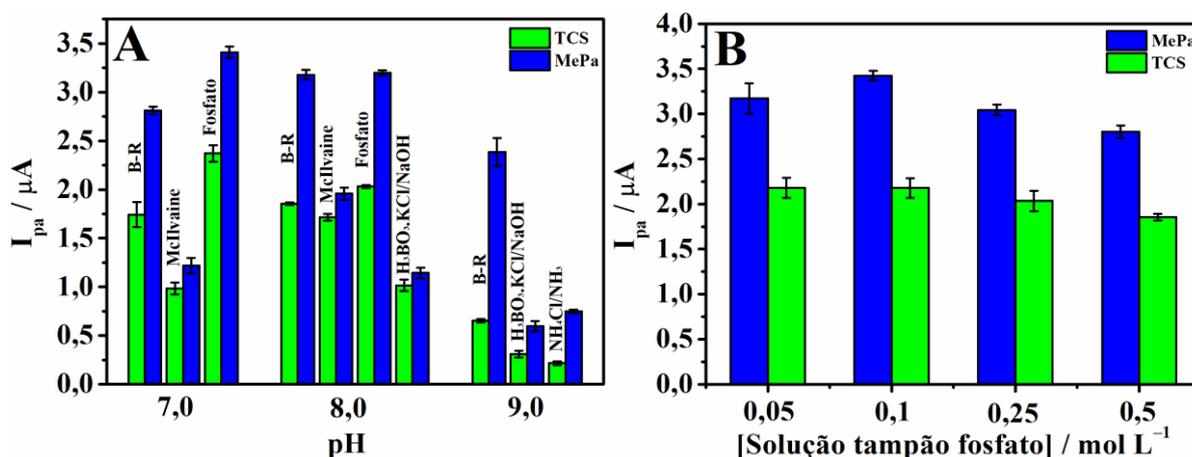
A relação entre o E_{po} e o pH é mostrada na Figura 14D. Uma variação linear de E_{po} , com valores que se deslocam no sentido negativo de potencial com o aumento do valor de pH, indica o envolvimento direto de prótons na reação de oxidação. Este fenômeno ocorreu tanto para o TCS, quanto para o MePa. Ao se avaliar as inclinações das retas: $-63,4 \text{ mV pH}^{-1}$ para TCS e para $-59,4 \text{ mV pH}^{-1}$ o MePa, constatou-se que ambos os valores foram próximos ao valor teórico de $-59,2 \text{ mV pH}^{-1}$ da equação de Nernst, indicando que o mesmo número de mols de elétrons e prótons foi transferido em cada uma das reações de oxidação do TCS e MePa sobre a superfície do eletrodo modificado, corroborando com demais trabalhos publicados na literatura (KHALID et al., 2019; SALJOOQI; SHAMSPUR; MOSTAFAVI, 2020). Outro dado possível de ser extraído da Figura 14D são os valores de pK_a para cada espécie a partir da interseção das retas. Ambas as intersecções ocorreram próximo ao pH 8,0; corroborando com os valores teóricos de pK_a de 7,9 para TCS e 8,2 para MePa, quando as espécies sofrem desprotonação (NGUYEN et al., 2021; WANG; LIANG, 2021).

Diferentes soluções tampão foram testadas como eletrólitos de suporte nos valores de pH 7,0; 8,0 e 9,0, conforme apresenta a Figura 15A. A escolha de cada eletrólito foi baseada na faixa tamponante de cada uma das soluções tampão. Foram testadas as seguintes soluções tampão: fosfato de sódio (pH 7,0 e 8,0); 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 foram preparadas na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. As maiores intensidades de corrente foram

obtidas ao se usar a solução tampão fosfato de sódio em pH 7,0; por este motivo esta solução foi selecionada para as análises posteriores buscando uma maior sensibilidade para o método.

Após a seleção da solução tampão fosfato de sódio pH 7,0 como eletrólito de suporte, variou-se a concentração do eletrólito de 0,05 a 0,5 mol L⁻¹. Houve pouca variação nas intensidades de corrente para ambos os analitos, sendo os maiores valores ainda obtidos ao se optar pela concentração de 0,1 mol L⁻¹ (Figura 15B). Com isto, manteve-se a concentração de 0,1 mol L⁻¹ para as análises seguintes.

Figura 15. Respostas de corrente anódica de TCS 10,0 μmol L⁻¹ e MePa 40,0 μmol L⁻¹ em função (A) do pH e da natureza do eletrólito de suporte (n = 3) e (B) em função da concentração do eletrólito de suporte solução tampão fosfato de sódio (n = 3).



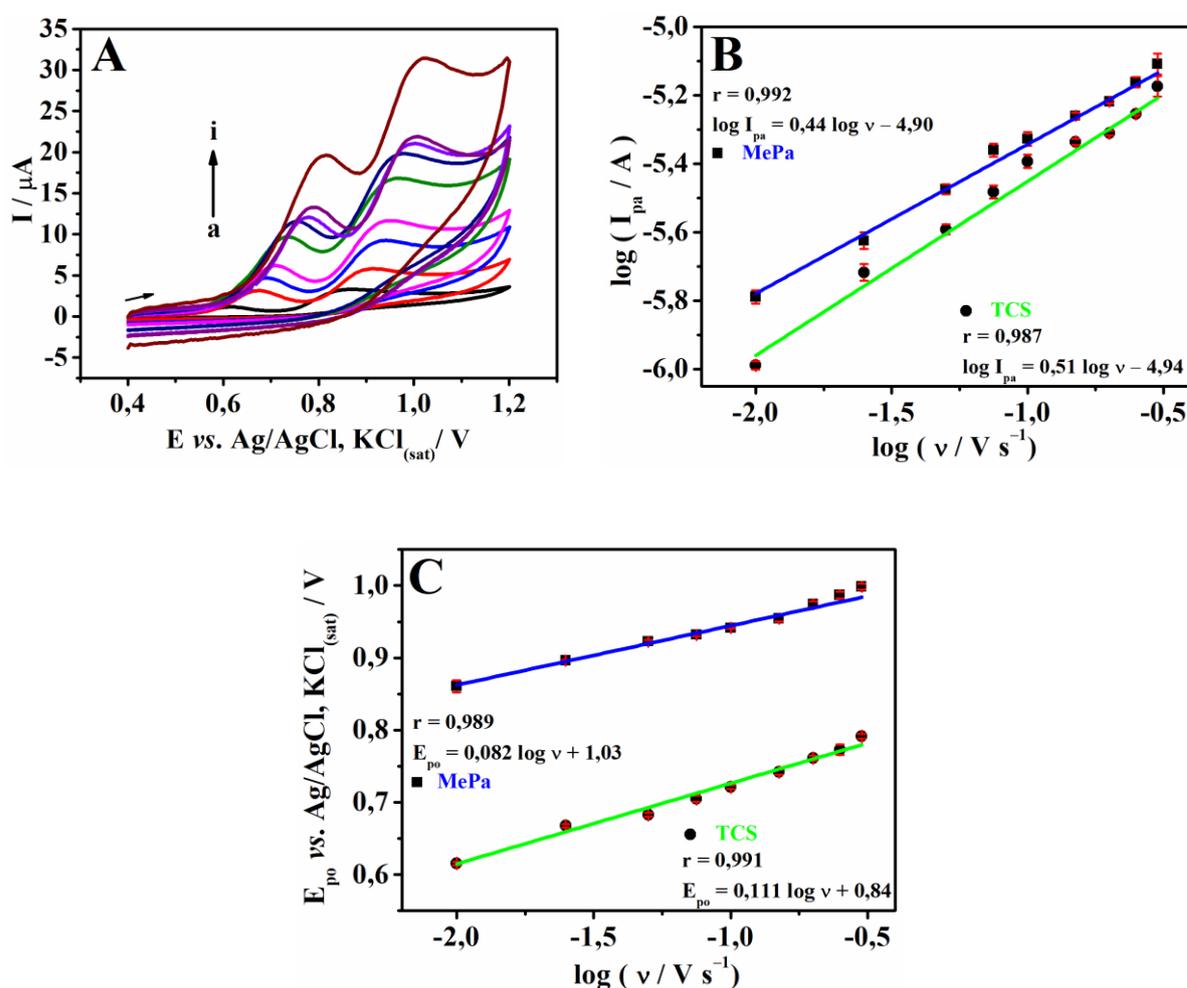
5.1.2 Estudo da velocidade de varredura

O comportamento eletroquímico do TCS e do MePa sobre a superfície do eletrodo modificado foi estudado simultaneamente em diferentes velocidades de variação de potencial. Os voltamogramas correspondentes são apresentados na Figura 16A, onde pode ser visto que as intensidades de correntes de pico de oxidação aumentaram com a velocidade na faixa de 10 a 300 mV s⁻¹.

A partir destes estudos, a representação gráfica (Figura 16B) do logaritmo da corrente de pico anódica ($\log I_{pa}$) *versus* o logaritmo da velocidade de varredura de potencial ($\log v$) apresentou comportamento linear para ambos os analitos. Para o TCS, obteve-se a equação $\log I_{pa} = 0,51 \log v - 4,94$ ($r = 0,987$) e, para o MePa, a equação $\log I_{pa} = 0,44 \log v - 4,90$ ($r = 0,992$). 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 (SHIH et al., 2004). Assim, com os coeficientes obtidos iguais a 0,51 e 0,44 para TCS e MePa, respectivamente, concluiu-se que a etapa limitante da velocidade da reação de oxidação tanto do TCS como do MePa sobre a superfície do eletrodo foi a difusão.

Figura 16. (A) Voltamogramas cíclicos para TCS 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre GQDs-CS/GCE em solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0) 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. $\log v$ ($n = 3$). (C) Relação entre E_{po} vs. $\log v$ ($n = 3$).



Ainda com os dados obtidos pelo estudo da velocidade, a relação entre o E_{po} e o $\log v$ é apresentado na Figura 16C. Como pode ser visto, o E_{po} deslocou linearmente com $\log v$ para ambos os analitos obedecendo a regressão linear de $E_{\text{po}} = 0,111 \log v + 0,84$ ($r = 0,991$) para o TCS e $E_{\text{po}} = 0,082 \log v + 1,03$ ($r = 0,989$) para o MePa. De acordo com a equação de

Laviron (6), para uma reação eletroquímica irreversível, a relação entre o E_{po} e $\log v$ pode ser expressa como se segue (LAVIRON, 1979):

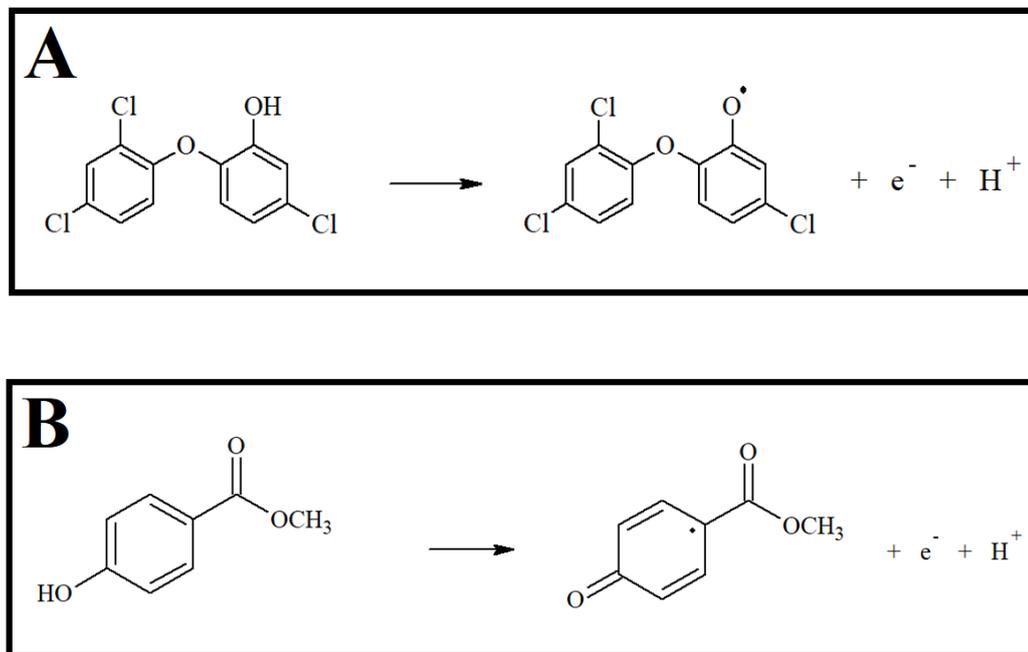
$$E_{po} = E^{\circ} + \left(\frac{2,303RT}{(1-\alpha)zF} \right) \log \left(\frac{RTk^{\circ}}{(1-\alpha)zF} \right) + \left(\frac{2,303RT}{(1-\alpha)zF} \right) \log v \quad (6)$$

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

De acordo com as regressões lineares de E_{po} versus $\log v$, conforme mencionado acima, os coeficientes angulares das equações são equivalentes a $2,303RT/(1-\alpha)zF$. Comumente, atribui-se a α o valor de 0,5 para processos irreversíveis (BARD; FAULKNER, 2001). Deste modo, calculou-se o número de elétrons transferidos z para cada reação de oxidação igual a 1.

Como os resultados obtidos na Seção 5.1.1 mostraram que o mesmo número de mols de prótons e elétrons foram envolvidos na reação de oxidação de cada espécie química de interesse, pode-se afirmar que as reações envolveram um mol de prótons e um mol de elétrons para cada mol de substância, conforme apresenta a Figura 17. Essas propostas de reações corroboram com demais estudos encontrados na literatura (LIMA et al., 2020; TEIXEIRA et al., 2020).

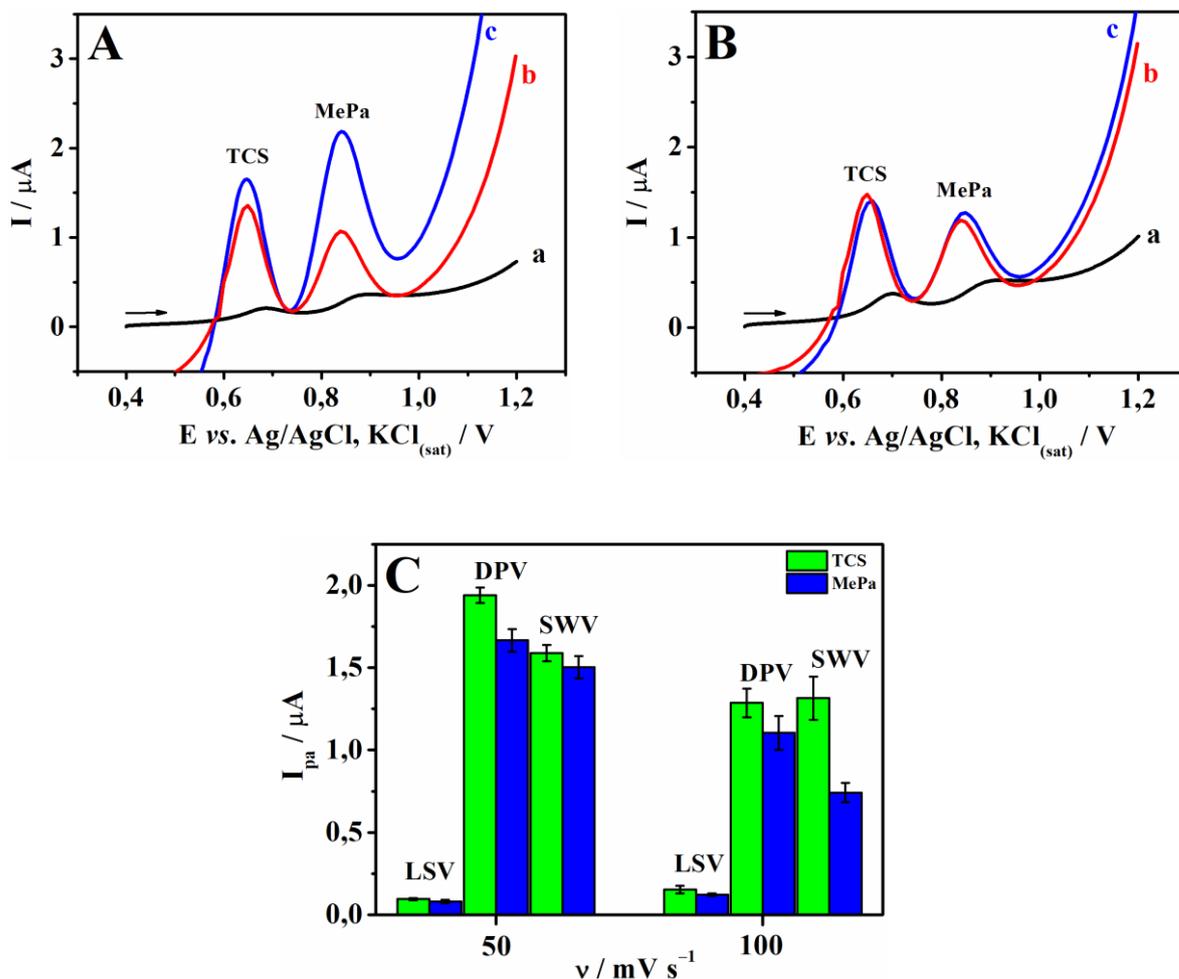
Figura 17. Esquema de reação para a oxidação do (A) TCS e (B) MePa no GQDs-CS/GCE de acordo com os dados obtidos.



5.2 SELEÇÃO DA TÉCNICA ELETROANALÍTICA

Com o propósito de desenvolver um método sensível para a quantificação simultânea de TCS e MePa, foram investigadas três diferentes técnicas eletroanalíticas e a magnitude do sinal analítico fornecido por elas. Avaliou-se a performance das voltametrias linear (do inglês, *linear sweep voltammetry* – LSV), pulso diferencial (do inglês, *differential pulse voltammetry* – DPV) e onda quadrada (do inglês, *square wave voltammetry* – SWV). Os parâmetros de cada técnica foram ajustados de modo a se obter a mesma velocidade de varredura de potencial para as medidas. A Figura 18 apresenta os resultados obtidos utilizando as três técnicas voltamétricas em diferentes velocidades.

Figura 18. Voltamogramas para TCS $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) em diferentes velocidades de variação de potencial: (A) $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$, (B) $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ obtidos com diferentes técnicas eletroanalíticas: (a) LSV, (b) SWV e (c) DPV. (C) Gráfico de barras de I_{pa} vs. v ($n = 3$).



Observa-se que os voltamogramas gerados em velocidade mais baixa (Figura 18A) obtiveram valores de corrente superiores do que em velocidade mais alta (Figura 18B). Este comportamento é melhor visualizado pelo gráfico de barras das médias de corrente (Figura 18C). Desta forma, justifica-se o uso de uma velocidade de varredura de potencial mais baixa para melhor acompanhar a reação de oxidação de ambos os analitos. 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, o que não acontece na 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; UNWIN, 2003).

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

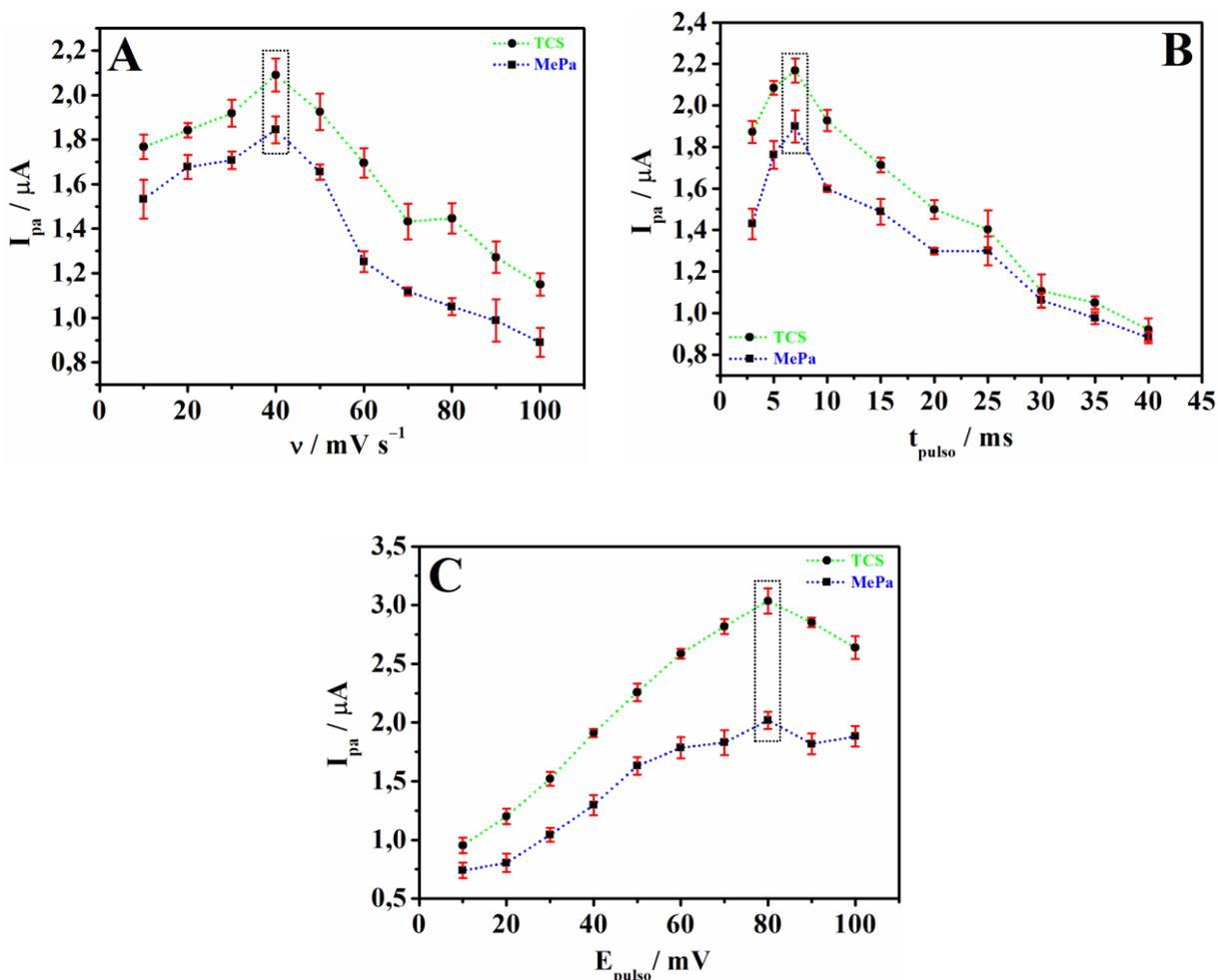
5.2.1 Otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial

A otimização dos parâmetros de uma técnica voltamétrica pode garantir maiores intensidades de corrente, assim como melhores perfis voltamétricos para uma análise. Estas características são capazes de tornar um método analítico mais seletivo e sensível.

A voltametria de pulso diferencial é definida 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 participação da corrente capacitiva no sinal obtido, tornando a DPV, uma técnica mais sensível que a LSV. Para a otimização da técnica, os parâmetros experimentais avaliados foram: velocidade de varredura de potencial (v), amplitude de pulso de potencial (E_{pulso}) e tempo de duração do pulso (t_{pulso}) (SCHOLZ, 2015).

A velocidade de varredura de potencial é um parâmetro fundamental que afeta a intensidade dos picos voltamétricos. Sendo assim, variou-se a velocidade de 10,0 a 100 mV s^{-1} , mantendo fixos os demais parâmetros em $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 5,0 \text{ ms}$. A maior média de corrente foi obtida na velocidade de 40,0 mV s^{-1} (Figura 19A). Isso significa que neste valor, a velocidade de varredura de potencial acompanha a cinética das reações de oxidação e assim, é possível se fazer um registro sensível de todo o processo. Com o objetivo de conseguir uma maior sensibilidade para este método, utilizou-se velocidade de 40,0 mV s^{-1} para os demais experimentos.

Figura 19. Gráficos referentes a otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial para TCS 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0): (A) I_{pa} vs. v ; (B) I_{pa} vs. t_{pulso} e (C) I_{pa} vs. E_{pulso} ($n = 3$).



As intensidades das correntes de pico também são dependentes do tempo que o pulso permanece sendo aplicado, sendo que este tem uma relação inversamente proporcional a velocidade de varredura de pulso. Uma velocidade de varredura de potencial muito alta não irá comportar um tempo de pulso longo. Assim, o t_{pulso} foi avaliado de 3,0 a 40,0 ms, enquanto que se manteve fixo $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$. Selecionou-se o tempo de 7,0 ms para os estudos posteriores por ter apresentado a melhor resposta de corrente (Figura 19B).

Por último, avaliou-se o valor da amplitude de pulso, variando de 10,0 a 100 mV. Um aumento da amplitude promove um aumento das intensidades de corrente de pico, mas também causa um alargamento dos picos, o que é indesejável, ainda mais quando o propósito

for uma análise simultânea. Desta forma, deve-se haver um compromisso entre as intensidades de corrente e o perfil voltamétrico quando se escolhe a melhor amplitude de pulso (THOMAS; HENZE, 2001). Para atender esse compromisso, selecionou-se $E_{\text{pulso}} = 80,0$ mV para os estudos posteriores (Figura 19C).

A Tabela 1 apresenta os parâmetros de pulso diferencial avaliados, a faixa analisada e os valores selecionados para a construção da curva de calibração para a determinação simultânea de TCS e MePa.

Tabela 1. Otimização dos parâmetros experimentais da voltametria de pulso diferencial para a determinação simultânea de TCS e MePa.

Parâmetro da técnica	Faixa avaliada	Valor selecionado
Velocidade (mV s^{-1})	10 – 100	40,0
Tempo de duração do pulso (ms)	3,0 – 40	7,0
Amplitude do pulso (mV)	10 – 100	80,0

5.3 CURVAS DE CALIBRAÇÃO PARA TCS E MEPA

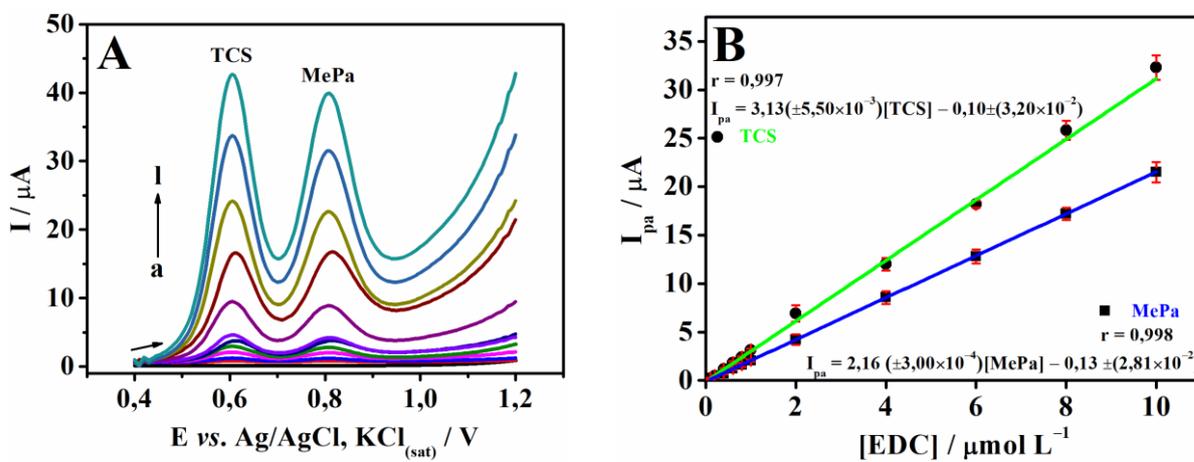
5.3.1 Curvas de calibração para TCS e MePa usando o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE

Empregando as condições experimentais otimizadas, construiu-se as curvas de calibração individuais e simultânea para TCS e MePa mediante adições de alíquotas de solução padrão ao eletrólito de suporte. A Figura 20A apresenta os voltamogramas de pulso diferencial da curva de calibração simultânea de TCS e MePa. Foram observados picos definidos em +0,60 e +0,81 V correspondentes as reações de oxidação de TCS e MePa, respectivamente, cujas intensidades de corrente aumentaram proporcionalmente com o aumento da concentração de ambos os analitos no intervalo de 0,1 a 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. As curvas de calibração para análise simultânea de TCS e MePa são mostradas na Figura 20B.

Para o TCS, a regressão linear pode ser expressa de acordo com a função: $I_{\text{pa}} = 3,13(\pm 5,50 \times 10^{-3})[\text{TCS}] - 0,10 (\pm 3,20 \times 10^{-2})$ ($r = 0,997$), onde I_{pa} é a corrente de pico anódico em μA , e $[\text{TCS}]$ é a concentração de TCS em $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os valores de LOD e LOQ obtidos para o TCS foram 30,0 e 102 nmol L^{-1} , respectivamente. Similarmente, para o MePa, a

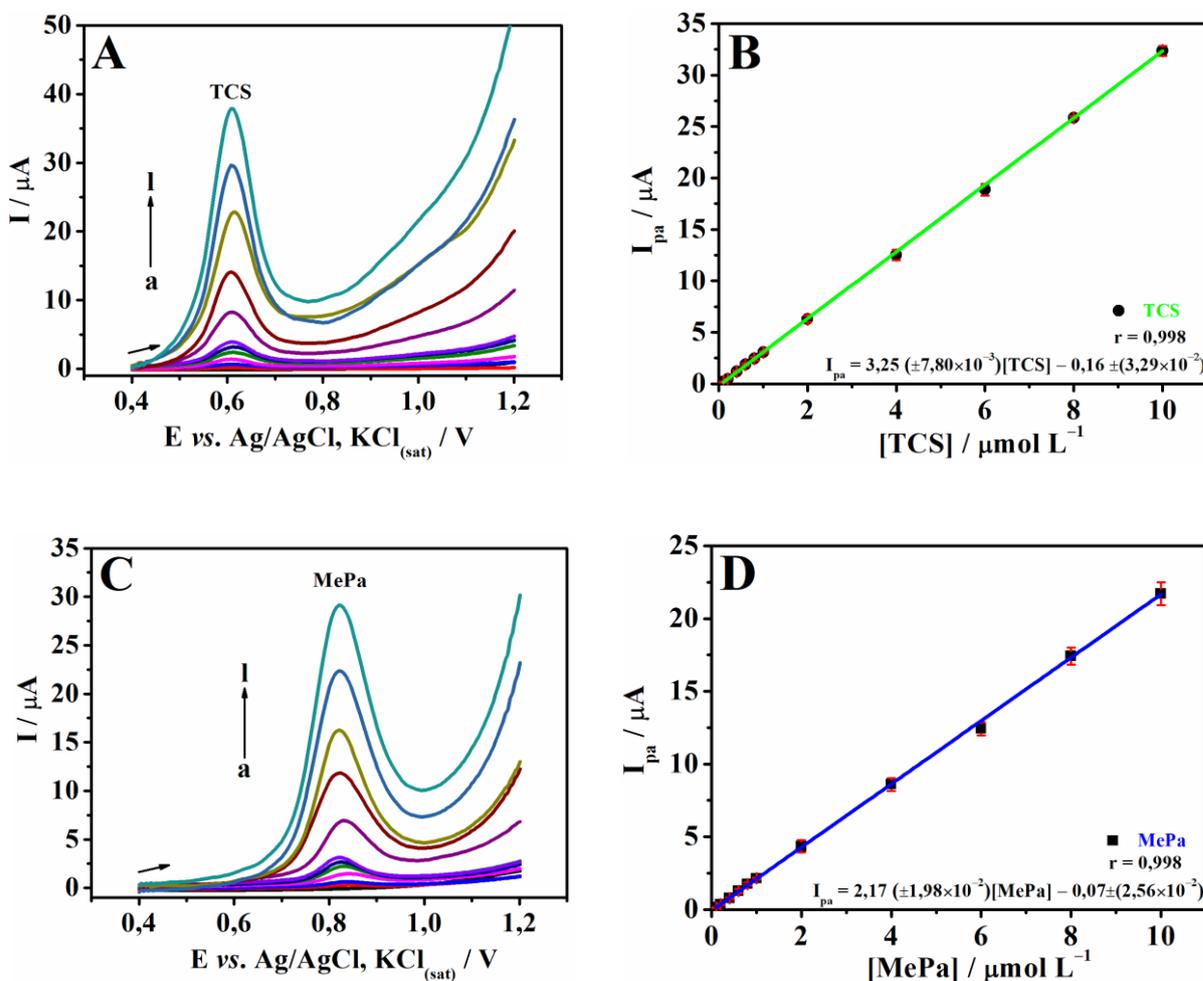
regressão linear pode ser expressa por $I_{pa} = 2,16(\pm 3,00 \times 10^{-4})[\text{MePa}] - 0,13(\pm 2,81 \times 10^{-2})$ ($r = 0,998$) fornecendo valores de LOD e LOQ iguais a 39,0 e 130 nmol L^{-1} , respectivamente.

Figura 20. Voltamogramas de pulso diferencial para (A) TCS e MePa sobre o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE em diferentes concentrações: (a) branco; (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; (l) 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0); $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 7,0 \text{ ms}$. (B) Curvas de calibração para TCS e MePa ($n = 3$).



Para avaliar a influência da presença de um composto frente ao outro, foram construídas curvas de calibração individuais para ambos os analitos. A Figura 21A apresenta os voltamogramas para a análise individual do TCS, em que se registrou um pico de oxidação em +0,61 V. De modo igual, a Figura 21C mostra os voltamogramas para o MePa, com pico de oxidação registrado em +0,82 V. Constatou-se que os potenciais de pico obtidos nestas análises individuais foram bastante semelhantes aos potenciais da análise simultânea (Figura 20A), o que indicou que neste ponto não houve influência de um composto frente ao outro.

Figura 21. Voltamogramas de pulso diferencial para (A) TCS e (C) MePa sobre o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE em diferentes concentrações: (a) branco; (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; (l) 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0); $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 7,0 \text{ ms}$. Curvas de calibração para (B) TCS e (D) MePa ($n = 3$).



A partir a curva de calibração individual para o TCS, a regressão linear pode ser expressa de acordo com a função: $I_{\text{pa}} = 3,25(\pm 7,80 \times 10^{-3})[\text{TCS}] - 0,16(\pm 3,29 \times 10^{-2})$ ($r = 0,998$). Os valores para LOD e LOQ obtidos para o TCS nesta análise foram 30,0 e 101 nmol L^{-1} , respectivamente. Do mesmo modo, para o MePa, a regressão linear pode ser expressa por $I_{\text{pa}} = 2,17(\pm 1,98 \times 10^{-2})[\text{MePa}] - 0,07(\pm 2,56 \times 10^{-2})$ ($r = 0,998$) com valores de LOD e LOQ iguais a 35,0 e 117 nmol L^{-1} , respectivamente.

As características analíticas extraídas das curvas de calibração são mostradas e comparadas na Tabela 2. Pouca diferença foi registrada entre os valores obtidos na curva de calibração simultânea com os valores das curvas de calibração individuais, mostrando que a presença de um composto não interferiu na análise do outro.

Tabela 2. Características analíticas obtidas a partir das curvas de calibração simultânea e individual para TCS e MePa empregando o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE.

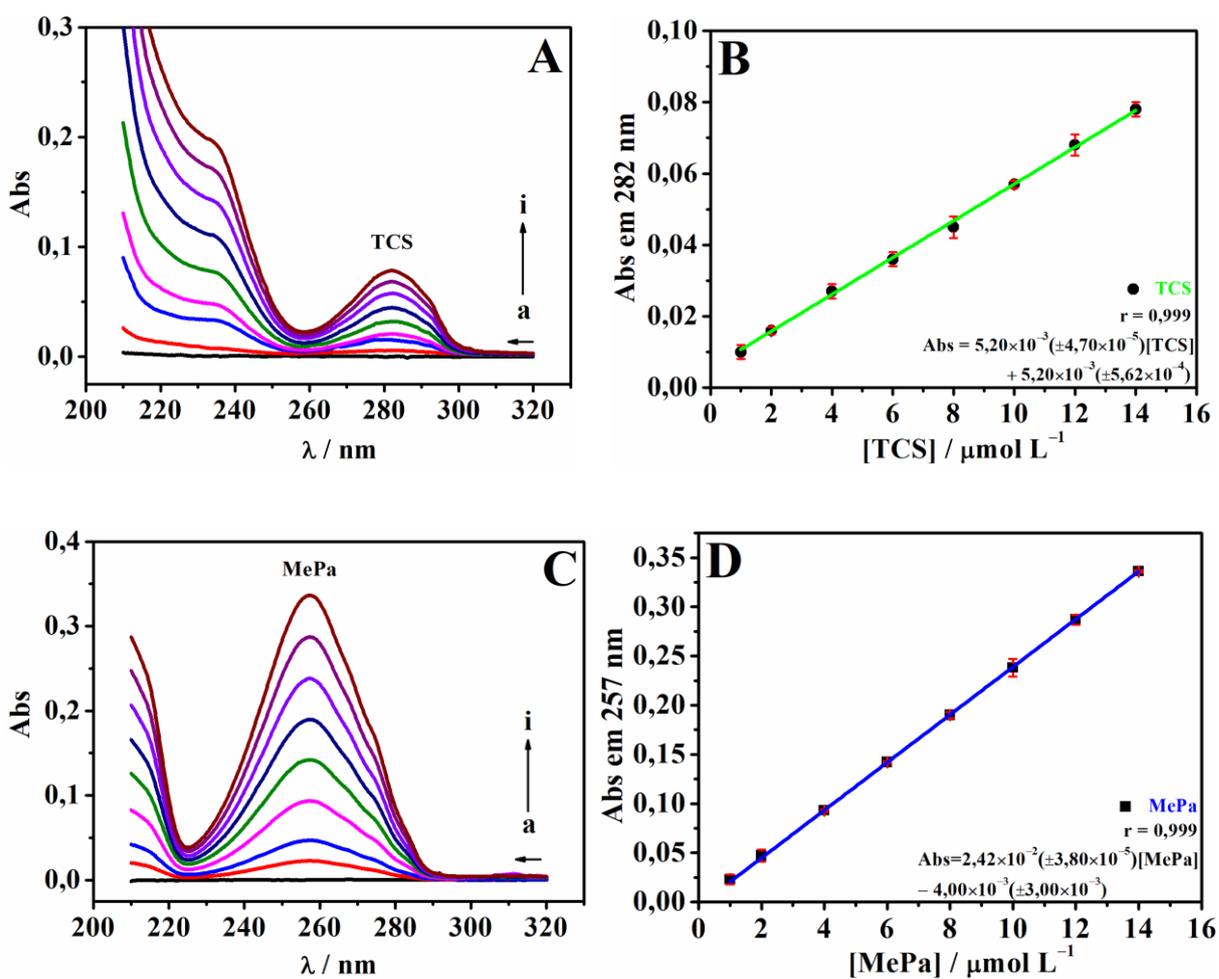
Características Analíticas	TCS e MePa	TCS	MePa
Potencial de pico (V)	0,60 e 0,81	0,60	0,815
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,10 – 10,0	0,10 – 10,0	0,10 – 10,0
Coefficiente de correlação – r	0,997 e 0,998	0,998	0,998
Coefficiente angular ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	3,13 e 2,16	3,25	2,17
Desvio padrão do coeficiente angular ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	$\pm 5,50 \times 10^{-3}$ e $\pm 3,00 \times 10^{-4}$	$\pm 7,80 \times 10^{-3}$	$\pm 1,98 \times 10^{-2}$
Coefficiente linear (μA)	-0,10 e -0,13	-0,16	-0,07
Desvio padrão do coeficiente linear (μA)	$\pm 3,20 \times 10^{-2}$ e $\pm 2,81 \times 10^{-2}$	$\pm 3,29 \times 10^{-2}$	$\pm 2,56 \times 10^{-2}$
LOD (nmol L^{-1})	30,0 e 39,0	30,0	35,0
LOQ (nmol L^{-1})	102 e 130	101	117

Para fins de comparação, foi construída uma curva de calibração para TCS e MePa simultaneamente empregando o GCE não modificado (dados não mostrados). Neste estudo, obteve-se uma faixa linear de 0,5 a 14,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com regressão linear de $I_{\text{pa}} = 0,88 (\pm 3,10 \times 10^{-3})[\text{TCS}] - 0,04 (\pm 4,50 \times 10^{-2})$ ($r = 0,999$) e $I_{\text{pa}} = 0,60 (\pm 6,00 \times 10^{-3})[\text{MePa}] - 0,01 (\pm 4,7 \times 10^{-2})$ ($r = 0,997$). Os LOD e LOQ também foram calculados em, respectivamente, 153 e 510 nmol L^{-1} para o TCS, e 239 e 796 nmol L^{-1} para o MePa. Estes valores foram cerca de cinco vezes maiores que aos limites obtidos pelo eletrodo modificado, que se mostrou mais sensível. Com este comparativo, é possível reafirmar que o eletrodo modificado neste trabalho é mais sensível para análise de TCS e MePa do que o substrato de carbono vítreo.

5.3.2 Curvas de calibração para TCS e MePa usando o método comparativo

Para verificar a exatidão dos dados gerados pelo eletrodo modificado GQDs-CS/GCE, comparou-se os resultados com os obtidos por um segundo método, a espectrometria UV-vis. Inicialmente, construiu-se curvas de calibração individuais para TCS e MePa por meio de adições sucessivas de solução padrão em etanol. Foram monitorados os valores de absorvâncias máximos nos comprimentos de onda 282 e 257 nm para TCS e MePa, respectivamente. Os resultados são apresentados na Figura 22.

Figura 22. Espectros UV-vis para solução padrão de (A) TCS e (C) MePa: (a) branco em etanol; (b) 1,0; (c) 2,0; (d) 4,0; (e) 6,0; (f) 8,0; (g) 10,0; (h) 12,0; (i) 14,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Curvas de calibração para (B) TCS e (D) MePa ($n = 3$).

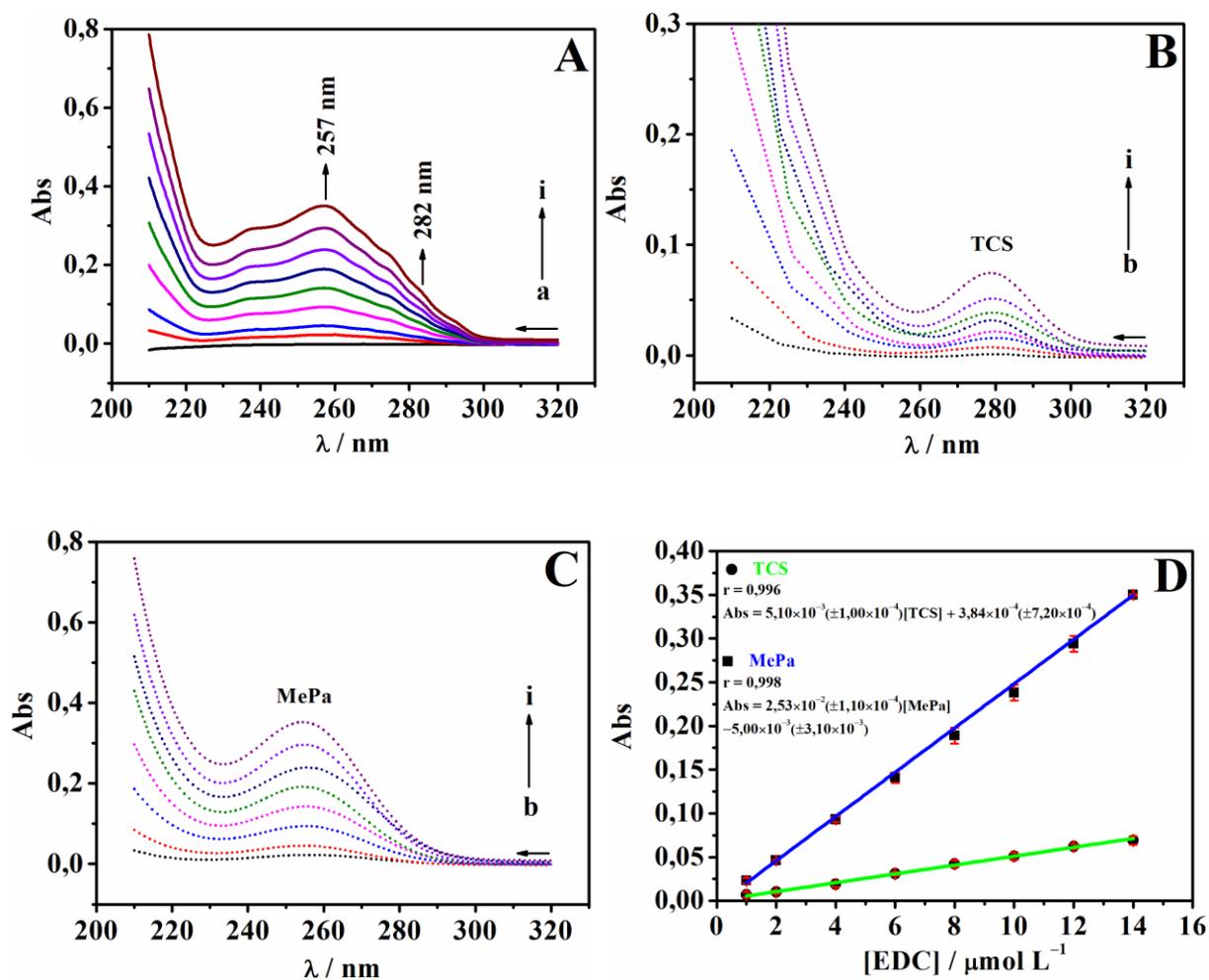


A curva de calibração construída individualmente para o TCS (Figura 22B) abrangeu a faixa linear de concentração de 1,0 a 14,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,999$) com equação da reta igual a $\text{Abs} = 5,20 \times 10^{-3} (\pm 4,70 \times 10^{-5}) [\text{TCS}] + 5,20 \times 10^{-3} (\pm 5,62 \times 10^{-4})$, obtendo valores de LOD e LOQ iguais a 324 e 1081 nmol L^{-1} , respectivamente. Similarmente, para o MePa (Figura 22D), a curva de calibração individual também abrangeu a faixa linear de 1,0 a 14,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,999$) com equação de $\text{Abs} = 2,42 \times 10^{-2} (\pm 3,80 \times 10^{-5}) [\text{MePa}] - 4,00 \times 10^{-3} (\pm 3,00 \times 10^{-3})$, obtendo valores de LOD e LOQ iguais a 372 e 1240 nmol L^{-1} , respectivamente.

No entanto, para uma análise simultânea de TCS e MePa por espectrometria UV-vis ocorreu uma sobreposição de bandas (Figura 23A). Assim, recorreu-se a um procedimento matemático de deconvolução não-linear de picos através do *software* comercial Origin Pro 8.5 (Originlab, Estados Unidos). Os espectros deconvolucionados são apresentados nas Figuras 23B e 23C para TCS e MePa, respectivamente. Por fim, as curvas de calibração são mostradas na Figura 23D.

A partir deste estudo e do procedimento matemático de deconvolução não-linear, a curva de calibração do TCS (Figura 23D) compreendeu a faixa linear de concentração de 1,0 a 14,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,996$) com equação da reta igual a $\text{Abs} = 5,10 \times 10^{-3} (\pm 1,00 \times 10^{-4}) [\text{TCS}] + 3,84 \times 10^{-4} (\pm 7,20 \times 10^{-4})$ obtendo valores de LOD e LOQ iguais a 423 e 1415 nmol L^{-1} , respectivamente. Similarmente, para o MePa (Figura 23D), a curva de calibração abrangeu a faixa linear de 1,0 a 14,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,998$) com equação de $\text{Abs} = 2,53 \times 10^{-2} (\pm 1,10 \times 10^{-4}) [\text{MePa}] - 5,00 \times 10^{-3} (\pm 3,10 \times 10^{-3})$ obtendo valores de LOD e LOQ iguais a 367 e 1125 nmol L^{-1} , respectivamente.

Figura 23. (A) Espectros UV-vis para solução padrão de TCS e MePa: (a) branco em etanol; (b) 1,0; (c) 2,0; (d) 4,0; (e) 6,0; (f) 8,0; (g) 10,0; (h) 12,0; (i) 14,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$; (B) Espectros deconvolucionados para TCS; (C) Espectros deconvolucionados para MePa; (D) Curvas de calibração para TCS e MePa ($n = 3$).



As características analíticas extraídas das curvas de calibração são mostradas e comparadas na Tabela 3. É importante ressaltar que houve pouca diferença nos valores obtidos na curva de calibração simultânea pelo procedimento de deconvolução, quando comparado com as curvas individuais, mostrando que um analito não interferiu na análise do outro, e que o procedimento de deconvolução foi satisfatório.

Tabela 3. Características analíticas obtidas a partir das curvas de calibração simultânea e individual para TCS e MePa empregando a espectrometria UV-vis.

Características Analíticas	TCS e MePa	TCS	MePa
Comprimento de onda (nm)	282 e 257	282	257
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	1,0 – 14,0	1,0 – 14,0	1,0 – 14,0
Coefficiente de correlação – r	0,996 e 0,998	0,999	0,999
Coefficiente angular ($\text{L } \mu\text{mol}^{-1}$)	$5,10 \times 10^{-3}$ e $2,53 \times 10^{-2}$	$5,20 \times 10^{-3}$	$2,42 \times 10^{-2}$
Desvio padrão do coeficiente angular ($\text{L } \mu\text{mol}^{-1}$)	$\pm 1,00 \times 10^{-4}$ e $\pm 1,10 \times 10^{-4}$	$\pm 4,70 \times 10^{-5}$	$\pm 3,80 \times 10^{-5}$
Coefficiente linear	$3,84 \times 10^{-4}$ e $-5,00 \times 10^{-3}$	$5,20 \times 10^{-3}$	$-4,00 \times 10^{-3}$
Desvio padrão do coeficiente linear	$\pm 7,20 \times 10^{-4}$ e $\pm 3,10 \times 10^{-3}$	$\pm 5,62 \times 10^{-4}$	$\pm 3,00 \times 10^{-3}$
LOD (nmol L^{-1})	423 e 367	324	372
LOQ (nmol L^{-1})	1415 e 1125	1081	1240

5.3.3 Avaliação dos limites de detecção obtidos pelos métodos desenvolvidos para a análise de TCS e MePa

Os valores de LOD obtidos para a análise simultânea de TCS e MePa foram, respectivamente, 30,0 e 39,0 nmol L^{-1} aplicando o método eletroquímico usando o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE; e 423 e 367 nmol L^{-1} empregando o método espectrométrico com o procedimento de deconvolução não-linear dos espectros. Comparando os valores, nota-se que o método eletroquímico foi mais sensível, na ordem de quatorze vezes para o TCS e nove vezes para o MePa, em relação aos valores obtidos pelo método espectrométrico. Esses resultados estão diretamente relacionados ao uso do eletrodo modificado com GQDs imobilizados em quitosana, que permitiu o desenvolvimento de uma ferramenta mais sensível para este tipo de análise.

Neste sentido, os valores de LOD obtidos usando o eletrodo modificado aproximam-se, por exemplo, dos resultados obtidos por Wang e colaboradores (2017) usando uma técnica cromatográfica. Estes autores obtiveram LODs de 15,0 e 9,20 nmol L^{-1} para TCS e MePa, respectivamente, usando HPLC com detector no UV-vis (WANG et al., 2017). Em outro trabalho publicado, Avula e coautores (2007) obtiveram valores de LODs de 518 e 328 nmol

L⁻¹ para TCS e MePa, respectivamente, também por HPLC com detector no UV-vis (AVULA; DENTALI; KHAN, 2007). No entanto, também são encontrados valores mais baixos, como os limites obtidos por obtidos por Borrull e coautores (2019) que foram iguais a 1,38 e 2,63 pmol L⁻¹ para TCS e MePa, respectivamente, usando LC/MS/MS (BORRULL et al., 2019).

Além de métodos cromatográficos, métodos eletroquímicos para determinação individual de TCS e MePa são relatados (Tabela 4). Em comparação a esses métodos eletroquímicos, o presente trabalho se destaca por apresentar limites próximos aos encontrados na literatura, com a vantagem de ter sido desenvolvido usando materiais modificadores abundantes e de baixo custo. Além disso, é o primeiro método eletroquímico dedicado à determinação simultânea de TCS e MePa.

Tabela 4. Métodos analíticos relatados para a determinação de TCS e MePa.

Método	Ferramenta	LOD / nmol L ⁻¹		Referência
		TCS	MePa	
Cromatográfico	LC/MS/MS	1,38×10 ⁻³	2,63×10 ⁻³	(BORRULL et al., 2019)
Cromatográfico	HPLC/UV-vis	15,0	9,20	(WANG et al., 2017)
Cromatográfico	HPLC/UV-vis	518	328	(AVULA; DENTALI; KHAN, 2007)
Espectrométrico	Deconvolução não-linear	423	367	Este trabalho
Eletroquímico	PDDA-Gr/Pd NP/GCE ^a	3,50	---	(WU et al., 2017)
Eletroquímico	AuNP-rGO-CS/GCE ^b	----	13,8	(PIOVESAN; SANTANA; SPINELLI, 2018)
Eletroquímico	GQDs-CS/GCE	30,0	39,0	Este trabalho
Eletroquímico	MWCNTs ^c /GCE	57,0	---	(YANG et al., 2009)
Eletroquímico	MWCNTs ^c /GCE	----	400	(WANG et al., 2015a)

^a PDDA-Gr/Pd NP: cloreto de poli(dialildimetilamônio) com grafeno e nanopartículas de paládio;

^b AuNP-rGO-CS: nanocompósito de óxido de grafeno com nanopartículas de ouro estabilizado em quitosana;

^c MWCNTs: nanotubos de carbono de paredes múltiplas.

5.4 REPETIBILIDADE, ESTABILIDADE E ESTUDO DOS INTERFERENTES

A repetibilidade das respostas de corrente obtidas com o GQDs-CS/GCE foi estimada em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo TCS $1,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $4,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ usando as condições otimizadas. Os valores de RSD ($n = 5$) das correntes resultantes para a repetibilidade intra-dia foram 4,5 e 5,0% para TCS e MePa, respectivamente, nas análises simultâneas, e 3,9% para TCS e 4,1% para MePa nas análises individuais. Para repetibilidade inter-dia, os valores de RSD ($n = 5$) na análise simultânea foram 6,6 e 6,9% para TCS e MePa, respectivamente. No teste individual, os valores de RSD foram 5,3% para TCS e 5,9% para MePa. Os valores obtidos indicaram uma boa precisão entre as respostas obtidas com o eletrodo modificado.

A dispersão de GQDs-CS foi mantida sob refrigeração ($4 \text{ } ^\circ\text{C}$) por cerca de quatro semanas para avaliação da estabilidade. Durante esse período, novos filmes foram preparados com a mesma dispersão. O RSD ($n = 5$) da corrente resultante para a TCS e MePa usando a mesma dispersão foi menor que 4,0%, indicando boa repetibilidade da dispersão de GQDs-CS ao longo de um período de quatro semanas. Assim, pode-se afirmar que o eletrodo GQDs-CS/GCE tem grande potencial para ser aplicado na quantificação de TCS e MePa com bons valores de repetibilidade de corrente durante um período de até quatro semanas.

Para avaliar a seletividade fornecida pelo eletrodo GQDs-CS/GCE e a possível interferência de algumas moléculas orgânicas e íons inorgânicos nos ensaios, aplicou-se a DPV em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo TCS $1,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e MePa $4,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. A concentração empregada de compostos orgânicos foi 50 vezes maior que as concentrações de TCS e MePa. O ácido fúlvico não apresentou atividade eletroquímica em potenciais próximos à oxidação de TCS ($+0,60 \text{ V}$) e MePa ($+0,81 \text{ V}$). Ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina, ácido cafeico, rutina, quercetina, catequina e ácido tânico foram oxidados em potenciais menos positivos que $+0,40 \text{ V}$. A diminuição nas intensidades decorrentes de oxidação de TCS e MePa foi menor que 7,0% na presença destes compostos. Por outro lado, o bisfenol A foi oxidado em torno de $+0,60 \text{ V}$ e um aumento de cerca de 10% foi registrado na intensidade de corrente de oxidação do TCS. Interferências como a do bisfenol A podem ocorrer na presença de outras moléculas orgânicas que sofrem oxidação em potencial semelhante ao TCS ou MePa. Nesses casos, os picos de oxidação de interferentes e analitos podem se sobrepor e fornecer um resultado errado, o que pode ser uma potencial desvantagem do método. Por outro lado, íons inorgânicos como Na^+ , Ca^{2+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} ,

Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} e NO_3^- foram testados como interferentes em um nível 100 vezes mais concentrados que os analitos. Nestas análises, não foram registradas alterações significativas nas respostas analíticas do TCS e do MePa. Em resumo, o eletrodo modificado GQDs-CS/GCE foi seletivo para TCS e MePa na presença de algumas moléculas orgânicas e íons inorgânicos. Porém, seu uso pode ser melhor avaliado com base na composição da matriz contendo TCS e MePa.

5.5 DETERMINAÇÃO DE TCS E MEPA EM PRODUTOS DE HIGIENE E CUIDADO PESSOAL

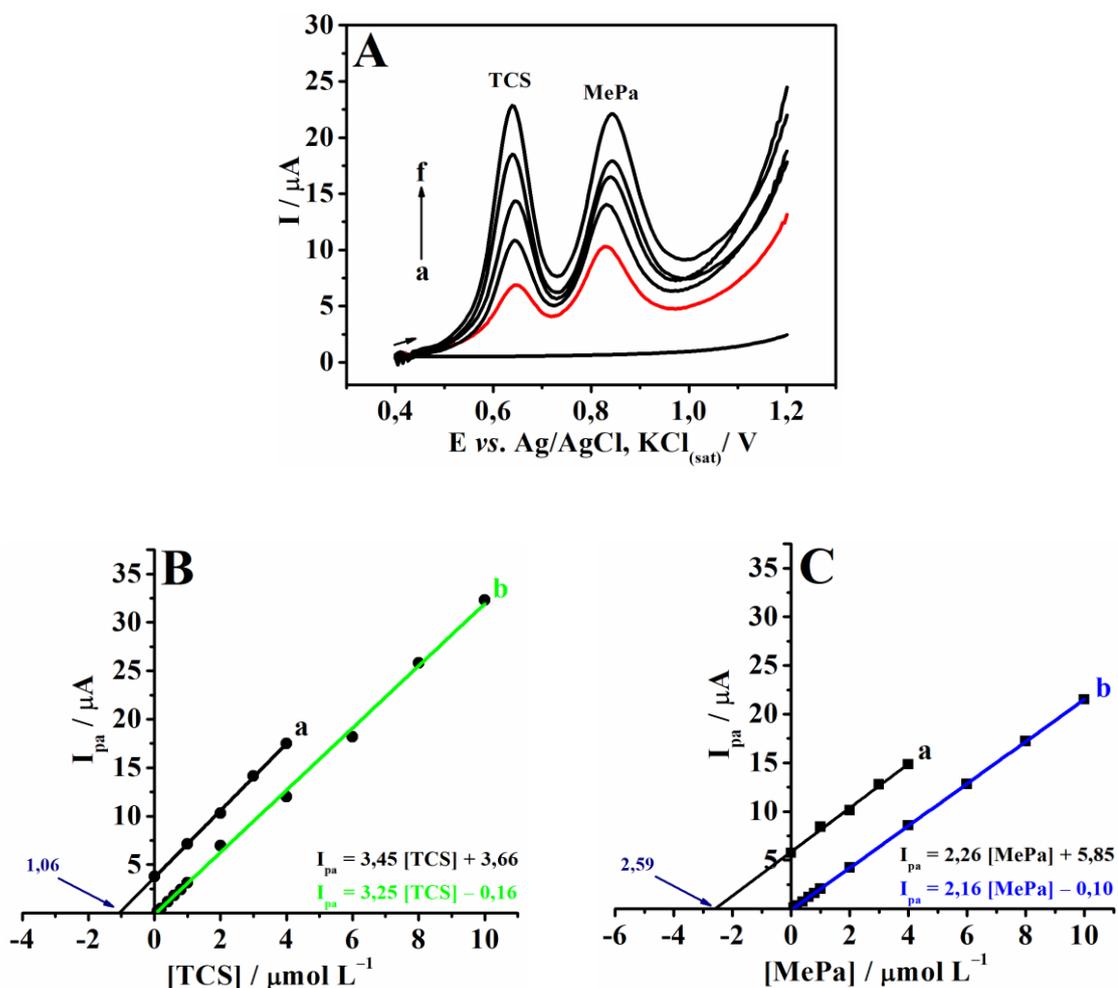
Com o propósito de testar a aplicabilidade do eletrodo modificado, empregou-se o eletrodo GQDs-CS/GCE para a análise de TCS e MePa em amostras de produtos de higiene e cuidado pessoal: creme dental, sabonete antibacteriano, desodorante e xampu. Uma quinta amostra foi produzida através da combinação do sabonete antibacteriano e xampu. O tratamento destas amostras foi descrito no Procedimento Experimental (Seção 3.5). Para a determinação eletroanalítica de TCS e MePa foi utilizado o método de adição de padrão, comumente empregado por minimizar o efeito de matriz.

Os resultados de uma das replicatas da amostra de desodorante são apresentados na Figura 24. Segundo o fabricante, o desodorante continha em sua composição os compostos TCS e MePa. A Figura 24A mostra os voltamogramas de pulso diferencial para: branco (curva a), amostra de desodorante (curva b), e a amostra com adições sucessivas de solução padrão de TCS e MePa (curvas c-f). Para a amostra (curva b), o voltamograma exibiu um pico de oxidação para o TCS em +0,64 V e para o MePa em +0,84 V, com as correntes de pico aumentando linearmente com as adições de solução padrão na célula eletroquímica. Com isto, a curva de adição de padrão para o TCS é mostrada na Figura 24B junto com a curva de calibração construída anteriormente (Seção 5.3.1) para efeito de comparação. Da mesma maneira, são apresentadas as curvas de adição de padrão e de calibração para o MePa (Figura 24C). Nesta replicata, pela extrapolação da curva de adição de padrão, encontrou-se o valor de $1,06 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TCS na célula eletroquímica, correspondente a 0,31% (m/m) na amostra. Do mesmo modo, para o MePa, calculou-se uma concentração de $2,59 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MePa na célula eletroquímica, correspondente a 0,39% (m/m) na amostra. Ambos os valores encontrados foram próximos aos teores permitidos pela legislação brasileira, que estabelece

um máximo permitido de 0,3% (m/m) para TCS e 0,4% (m/m) para um tipo de parabeno no produto final (RDC nº 29/2012) (BRASIL, 2012a).

Pode-se observar também que as inclinações das curvas de adição de padrão e calibração tanto para o TCS quanto para o MePa foram bastante semelhantes, o que significa que o método proposto usando o eletrodo modificado não apresentou interferência dos componentes da matriz na determinação. Com isto, há a possibilidade de se realizar as determinações de ambos os analitos pelo método da calibração externa, o que facilitaria o procedimento, melhorando a frequência analítica das análises.

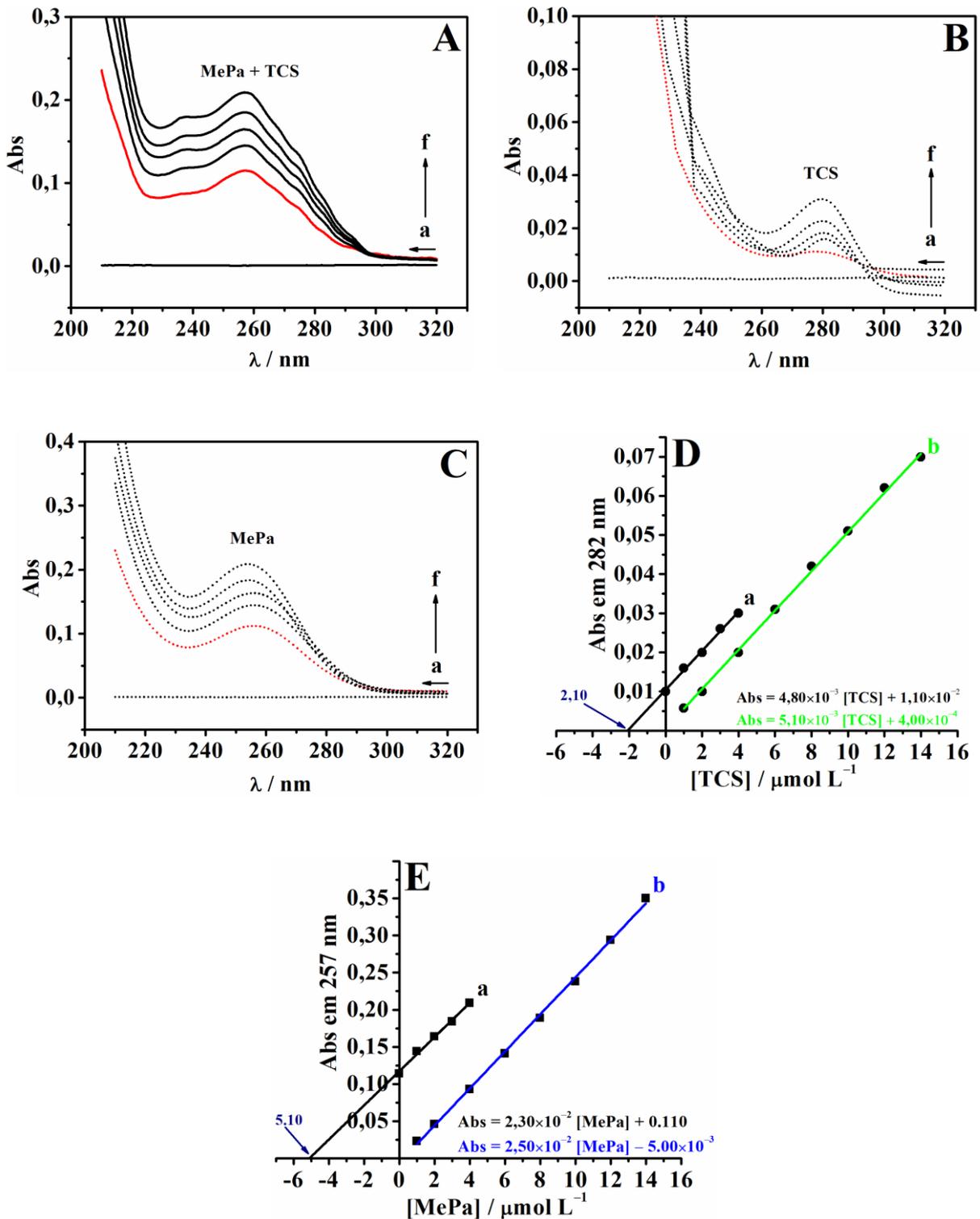
Figura 24. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para: (a) branco, (b) 50,0 μL de amostra de desodorante, e (c-f) adições sucessivas de 100 μL de solução padrão de TCS e MePa 0,1 mmol L^{-1} em solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0), empregando o eletrodo GQDs-CS/GCE. (B) Curvas de adição de padrão (a) e calibração (b) do TCS. (C) Curvas de adição de padrão (a) e calibração (b) do MePa. Condições experimentais: $v = 40,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 80,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 7,0 \text{ ms}$.



Os resultados de uma das replicatas para a quantificação de TCS e MePa na amostra de desodorante pelo método espectrométrico são mostrados na Figura 25. 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 de ambos foram semelhantes.

Do mesmo modo, pela extrapolação da curva de adição de padrão, nesta replicata, encontrou-se o valor de $2,10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TCS na cubeta, correspondente a 0,30% (m/m) na amostra. Pelo mesmo procedimento, para o MePa, calculou-se uma concentração de $5,10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MePa na célula eletroquímica, correspondente a 0,38% (m/m) na amostra. Ambos os teores calculados se encontram dentro do permitido pela legislação brasileira (RDC nº 29/2012).

Figura 25. (A) Espectros UV-vis para: (a) branco, (b) 30,0 μL de amostra de desodorante, e (c-g) adições sucessivas de 30 μL de solução padrão de TCS e MePa 0,1 mmol L^{-1} em etanol; (B) Espectros deconvolucionados para o TCS; (C) Espectros deconvolucionados para o MePa (D) Curvas de adição de padrão (a) e de calibração (b) do TCS. (E) Curvas de adição de padrão (a) e de calibração (b) do MePa.



A Tabela 5 apresenta os resultados das análises nas demais amostras, junto com o ensaio de adição e recuperação. Nas amostras analisadas, todos os valores se encontram dentro do limite estabelecido pela ANVISA (RDC nº 29/2012) de 0,3% (m/m) para TCS e 0,4% (m/m) para um tipo de parabeno (BRASIL, 2012a). Somente a pasta de dente continha declarado pelo fabricante no rótulo o teor de 0,3% (m/m) de TCS. As demais amostras apenas descreviam os componentes sem nenhum dado de concentração. Pelos rótulos, sabia-se que no desodorante haveria TCS e MePa, no sabonete antibacteriano e na pasta de dente, apenas TCS, e no xampu apenas MePa. Em nenhum rótulo era informado a presença de algum análogo do MePa, não ocorrendo assim interferências nas medidas. Em relação aos ensaios de adição e recuperação, os percentuais obtidos em ambos os métodos ficaram entre 90 e 110%. Esta faixa se encontra dentro do permitido (80–110%) para níveis em $\mu\text{mol L}^{-1}$ do analito, atestando assim, a exatidão dos dados obtidos (GONZÁLEZ; HERRADOR, 2007).

Tabela 5. Determinação de TCS e MePa em diferentes amostras pelos métodos eletroquímico e espectrométrico.

Amostras	Determinado ^a / % (m/m)			Determinado ^a / % (m/m)		
	GQDs-CS/GCE		Recuperação %	UV-vis		Recuperação %
	TCS	MePa		TCS	MePa	
Creme dental	0,27 ± 0,03	---	98–105	0,28 ± 0,02	----	99–104
Sabonete	0,25 ± 0,02	---	97–109	0,27 ± 0,02	---	97–104
Xampu	---	0,37 ± 0,03	93–110	---	0,38 ± 0,02	98–103
Desodorante	0,25 ± 0,05	0,36 ± 0,04	93–109	0,24 ± 0,03	0,37 ± 0,01	92–107
Sabonete + Xampu	0,24 ± 0,05	0,38 ± 0,05	92–106	0,26 ± 0,04	0,35 ± 0,03	90–102

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

O teste F foi aplicado para comparar a precisão entre os resultados obtidos pelos métodos eletroquímico e espectrométrico. Os valores de F calculados para as amostras (Tabela 6) foram inferiores ao $F_{\text{teórico}} = 6,38$ ($n - 1$, 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 (MILLER; MILLER, 2010). Todos os valores calculados foram inferiores ao $t_{\text{teórico}} = 2,31$ (para oito graus de liberdade)

(Tabela 6), indicando que não houve diferença significativa entre as médias obtidas pelos dois métodos.

Tabela 6. Testes estatísticos aplicados para a avaliação dos resultados da determinação de TCS e MePa em diferentes amostras pelos métodos eletroquímico e espectrométrico.

	Amostras							
	Desodorante		Sabonete + Xampu		Sabonete	Creme dental	Xampu	
	TCS	MePa	TCS	MePa	TCS	TCS	MePa	
E_r (%) ^a	4,16	2,70	7,70	8,57	-7,40	-3,57	-2,63	
F ^b	2,77	1,77	1,56	1,56	1,00	2,25	2,25	
t ^c	0,35	0,39	0,63	0,79	1,265	0,527	0,45	

^a Erro relativo = [(método eletroquímico – método espectrométrico) / método espectrométrico] × 100.

^b $F_{teórico} = 6,38$;

^c $t_{teórico} = 2,31$.

Assim, verificou-se que o GQDs-CS/GCE forneceu medidas precisas e exatas. Estas conclusões foram obtidas a partir dos estudos de repetibilidade intra-dia e inter-dia e do teste F , o qual atestaram a precisão, e dos estudos de adição e recuperação e do teste t que atestaram a exatidão dos dados gerados pelo método eletroquímico usando o eletrodo GQDs-CS/GCE.

CAPÍTULO 6 – DETERMINAÇÃO DE TRICLOCARBAN USANDO UM ELETRODO MODIFICADO COM PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO DOPADOS COM NITROGÊNIO

Publicado em: **Microchemical Journal**, 167, 106297, 2021

Neste capítulo, serão apresentados e discutidos os resultados do método eletroanalítico desenvolvido para a determinação de TCC em produtos de higiene e cuidado pessoal usando o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE.

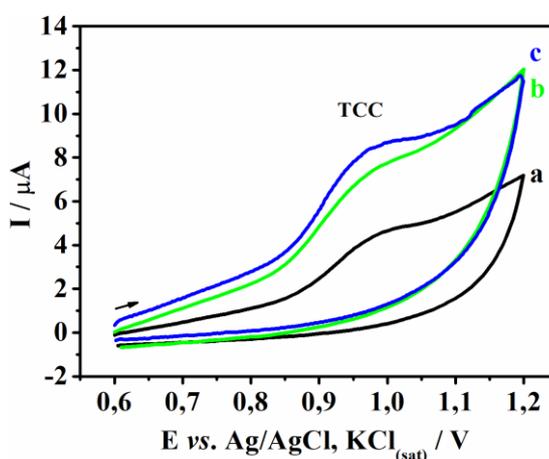
6.1 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO TCC

O comportamento eletroquímico do composto TCC sobre diferentes etapas de modificação de eletrodo foi investigado por voltametria cíclica. Nos estudos eletroquímicos foi utilizado como eletrólito de suporte uma mistura de solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) e etanol na proporção 95:5 (v/v), devido à baixa solubilidade do TCC em meio aquoso. Caso contrário, sem a adição do etanol, a solução na célula eletroquímica se torna turva, como consequência da precipitação do TCC. Isto significa que menos moléculas de TCC permanecem disponíveis na superfície do eletrodo para oxidar, o que resulta em menores intensidades de corrente. Os voltamogramas cíclicos para TCC 10,0 μmol L⁻¹ foram obtidos sobre cada etapa de modificação do eletrodo aplicando uma variação de potencial de +0,6 a +1,2 V, seguido da varredura reversa de +1,2 a +0,6 V, com $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, conforme apresenta a Figura 26.

Analisando o voltamograma obtido com o GCE não modificado (curva a), foi observado um pico de oxidação em +0,97 V com uma baixa intensidade de corrente de 0,56 μA, correspondendo a reação de oxidação do TCC. O pico observado é atribuído à oxidação dos grupos -NH das amidas presentes na estrutura do TCC (LÚCIO et al., 2015). Usando o eletrodo CS/GCE (curva b), registrou-se um aumento nas intensidades de corrente devido a maior adsorção do TCC no filme de quitosana que reveste o eletrodo. Por fim, registrou-se um aumento de quatro vezes nas intensidades de corrente usando o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE (curva c) em comparação com o GCE não modificado. Um eletrodo modificado apenas com N-GQDs não pôde ser desenvolvido, uma vez que este material é solúvel em água, não havendo a formação de um filme estável sobre o substrato. No entanto,

ao avaliar os resultados obtidos com o CS/GCE e N-GQDs-CS/GCE, o ganho de quase duas vezes na resposta de corrente pode ser atribuído ao aumento da área eletroativa do eletrodo modificado e a condutividade do sistema fornecidos pelo uso de N-GQDs. Em relação aos valores de E_{po} , o eletrodo modificado não proporcionou nenhuma alteração significativa, quando comparado ao GCE.

Figura 26. Voltamogramas cíclicos para TCC $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0):etanol (95:5 v/v) sobre diferentes eletrodos: (a) GCE, (b) CS/GCE e (c) N-GQDs-CS/GCE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

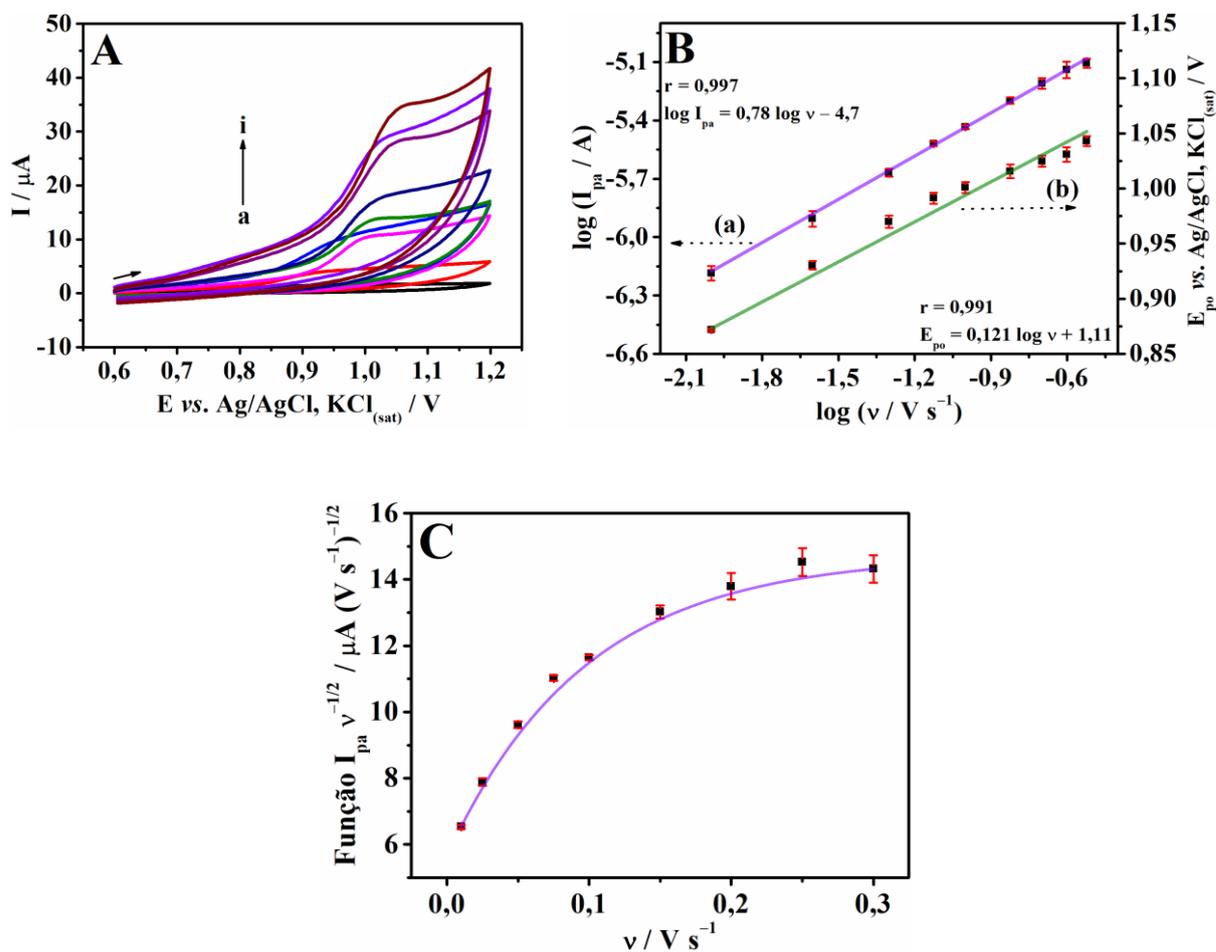


Com a realização de varreduras sucessivas (dados não mostrados), registrou-se uma forte diminuição nas intensidades de corrente para o TCC. Este fenômeno ocorre devido à adsorção dos produtos da oxidação do TCC, o que causa a obstrução e inativação da área eletroativa disponível do eletrodo, impedindo que novas moléculas de TCC se aproximem para serem oxidadas. Este fenômeno corrobora com estudos semelhantes da literatura (LÚCIO et al., 2015). Assim, após cada medida, foi necessário limpar mecanicamente a superfície do eletrodo e preparar um novo filme de N-GQDs-CS.

6.1.1 Estudo da velocidade de varredura

O comportamento eletroquímico do TCC sobre a superfície do eletrodo N-GQDs-CS/GCE foi avaliado em diferentes velocidades de variação de potencial. Os voltamogramas correspondentes são apresentados na Figura 27A, onde pode ser visto que as intensidades de corrente de oxidação aumentaram com o aumento da velocidade na faixa de $10,0$ a 300 mV s^{-1} .

Figura 27. (A) Voltamogramas cíclicos para TCC $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0):etanol (95:5 v/v) 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. $\log v$ (eixo a) e E_{po} vs. $\log v$ (eixo b) ($n = 3$). (C) Relação entre $I_{pa} v^{-1/2}$ vs. v ($n = 3$).



A partir deste estudo, a representação gráfica (Figura 27B, eixo a) do $\log I_{pa}$ versus $\log v$ apresentou um comportamento linear para o TCC, obedecendo a equação $\log I_{pa} = 0,78 \log v - 4,7$ ($r = 0,997$). De acordo com a literatura, um coeficiente angular igual (ou próximo) ao valor de 1,0 indica que o processo redox é controlado por adsorção (SHIH et al., 2004). Assim, com o coeficiente obtido igual a 0,78; concluiu-se que a etapa limitante da velocidade da reação de oxidação do TCC sobre a superfície do eletrodo foi a adsorção.

A relação entre o E_{po} e $\log v$ é apresentada na Figura 27B (eixo b), na qual o E_{po} se deslocou linearmente com $\log v$ obedecendo a regressão linear $E_{po} = 0,121 \log v + 1,11$ ($r = 0,991$). De acordo com a equação de Laviron (6), o coeficiente angular do gráfico E_{po} vs. $\log v$ é equivalente a $2,303RT/(1-\alpha)zF$ (LAVIRON, 1979). Comumente, atribui-se a α o valor de

0,5 para processos irreversíveis (BARD; FAULKNER, 2001). Deste modo, calculou-se o número de elétrons envolvidos na reação de oxidação do TCC próximo a 1. Este resultado corrobora com os dados relatados por Lúcio e coautores (2015) e representam a oxidação de um dos grupos amida da molécula de TCC (LÚCIO et al., 2015).

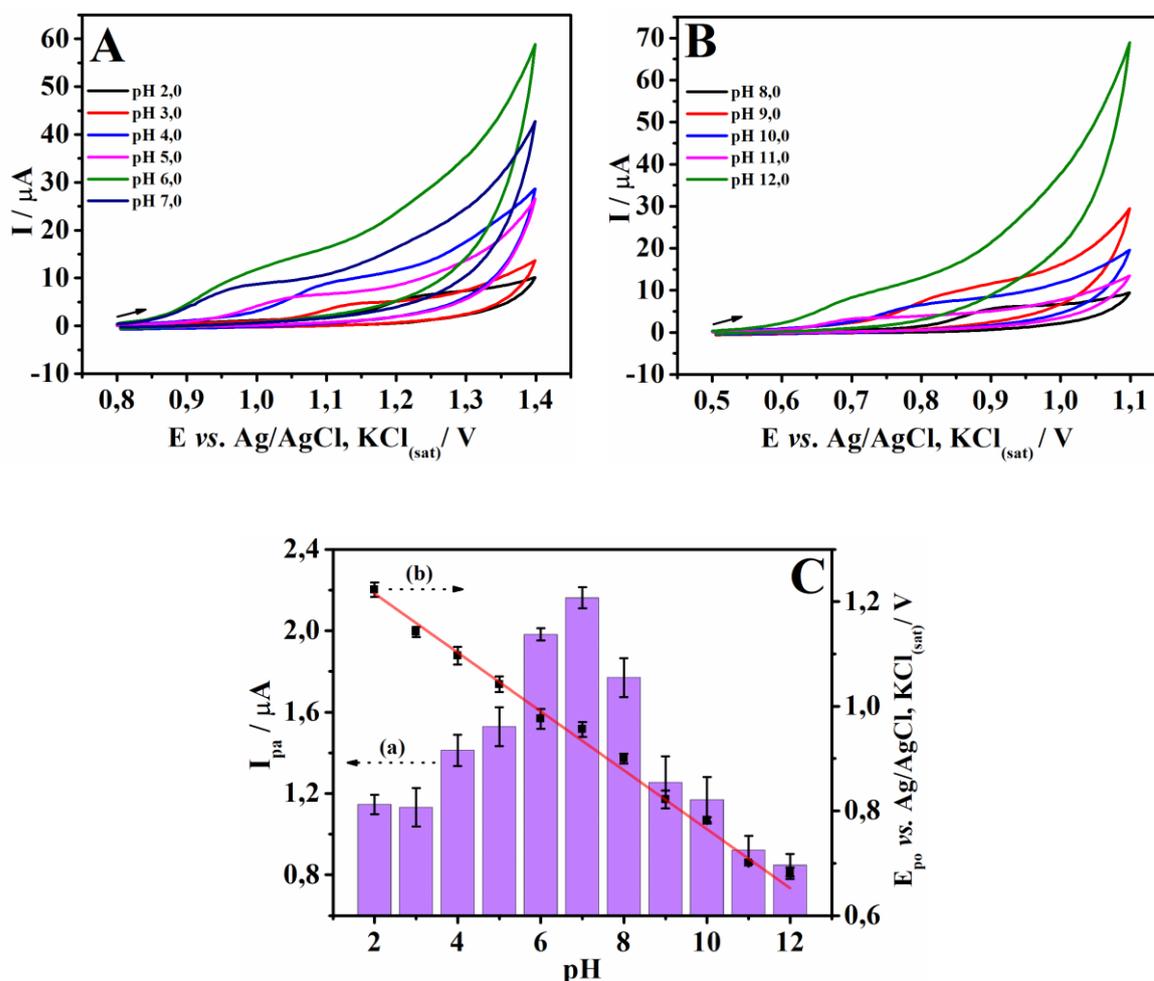
Por último, o comportamento da função corrente ($I_{pa} v^{-1/2}$) aumentando com o aumento da velocidade de varredura (Figura 27C), indicou a ocorrência de reações químicas acopladas após a reação de transferência de elétrons (ZANELLO, 2003). Nesse sentido, Baumann e coautores (2010) observaram a formação de 10 diferentes produtos de oxidação do TCC, o que pode ser uma consequência dessas reações químicas acopladas. Os autores usaram uma célula eletroquímica em linha com um sistema de cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massa com ionização por eletrospray para a identificação dos produtos de oxidação do TCC (BAUMANN et al., 2010). No entanto, a identificação precisa do mecanismo de oxidação para o TCC requer mais estudos além dos estudos voltamétricos, necessitando do uso de técnicas avançadas para a identificação de produtos e intermediários.

6.1.2 Estudo do pH e da natureza do eletrólito de suporte

A influência da composição e do pH do eletrólito de suporte sobre a resposta eletroquímica do TCC foi examinada. As respostas de corrente e potencial de pico foram avaliadas no intervalo de pH de 2,0 a 12,0, utilizando como eletrólito de suporte uma mistura de solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ com etanol (95:5 v/v), com pH ajustado previamente. Os voltamogramas obtidos para TCC 10,0 μmol L⁻¹ sobre o N-GQDs-CS/GCE em cada um dos valores de pH são apresentados nas Figuras 28A e 28B.

O gráfico de barras (Figura 28C, eixo a) destaca como as correntes de oxidação do TCC variaram em função do pH do eletrólito de suporte. Observa-se que os valores de corrente aumentaram do pH 2,0 ao 7,0; e decresceram em seguida. Este comportamento pode ser associado a adsorção do TCC ao filme de quitosana, sendo mais efetivo em pH neutro e assim, proporcionando maiores respostas de correntes. Sendo assim, buscando uma melhor sensibilidade para a determinação do TCC, adotou-se o pH 7,0 para as análises subsequentes.

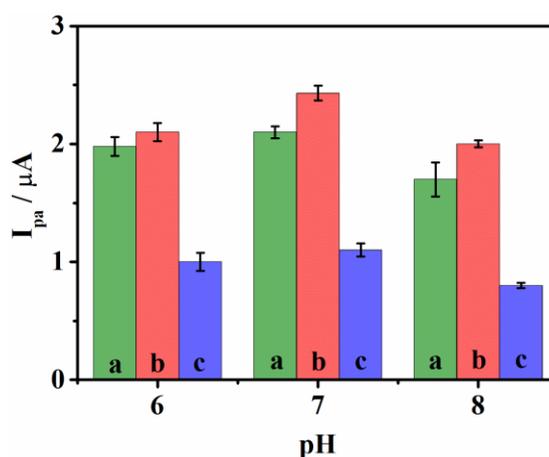
Figura 28. Voltamogramas cíclicos para TCC $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$:etanol (95:5 v/v) em diferentes valores de pH (A) pH 2,0 a 7,0 e (B) pH 8,0 a 12,0; $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$. Em (C) variação de I_{pa} (eixo a) e de E_{po} (eixo b) em função do pH ($n = 3$).



A relação entre o E_{po} e o pH é mostrada na Figura 28C (eixo b). Uma variação linear de E_{po} , com valores que se deslocam no sentido negativo de potencial a medida em que se aumenta o valor do pH do meio, indica o envolvimento direto de prótons na reação de oxidação. Ao se avaliar a inclinação da reta ($-56,4 \text{ mV pH}^{-1}$), constatou-se que o valor se aproximou do valor teórico de $-59,2 \text{ mV pH}^{-1}$ da equação de Nernst, indicando que o mesmo número de mols de elétrons e prótons foram transferidos na reação, corroborando com o trabalho de Lúcio e coautores (LÚCIO et al., 2015). Ainda em relação a inclinação da reta da Figura 28C (eixo b), nota-se que ela abrangeu toda a faixa de pH, indicando que as moléculas de TCC não desprotonaram durante o ensaio. Tal constatação corrobora com o valor de pK_a do TCC igual a 12,7; reportado na literatura (YUN et al., 2020).

Três diferentes soluções tampão foram testadas como eletrólitos de suporte nos valores de pH 6,0; 7,0 e 8,0, conforme apresenta a Figura 29. A escolha de cada eletrólito foi baseada na faixa tamponante de cada uma das soluções tampão. Foram testadas as seguintes soluções na concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$: B-R, fosfato de sódio e McIlvaine em uma mistura com etanol na proporção de 95:5 (v/v). As maiores intensidades de corrente foram obtidas ao se usar a solução tampão fosfato de sódio em pH 7,0; assim esta solução foi selecionada para as análises posteriores, com o propósito de se buscar uma maior sensibilidade para o método.

Figura 29. Respostas de corrente anódica de TCC $10,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em função (A) do pH e da natureza do eletrólito de suporte ($n = 3$), sendo usado o sistema solução tampão:etanol (95:5 v/v) sendo as soluções tampão utilizadas: (a) B-R, (b) fosfato de sódio e (c) McIlvaine.



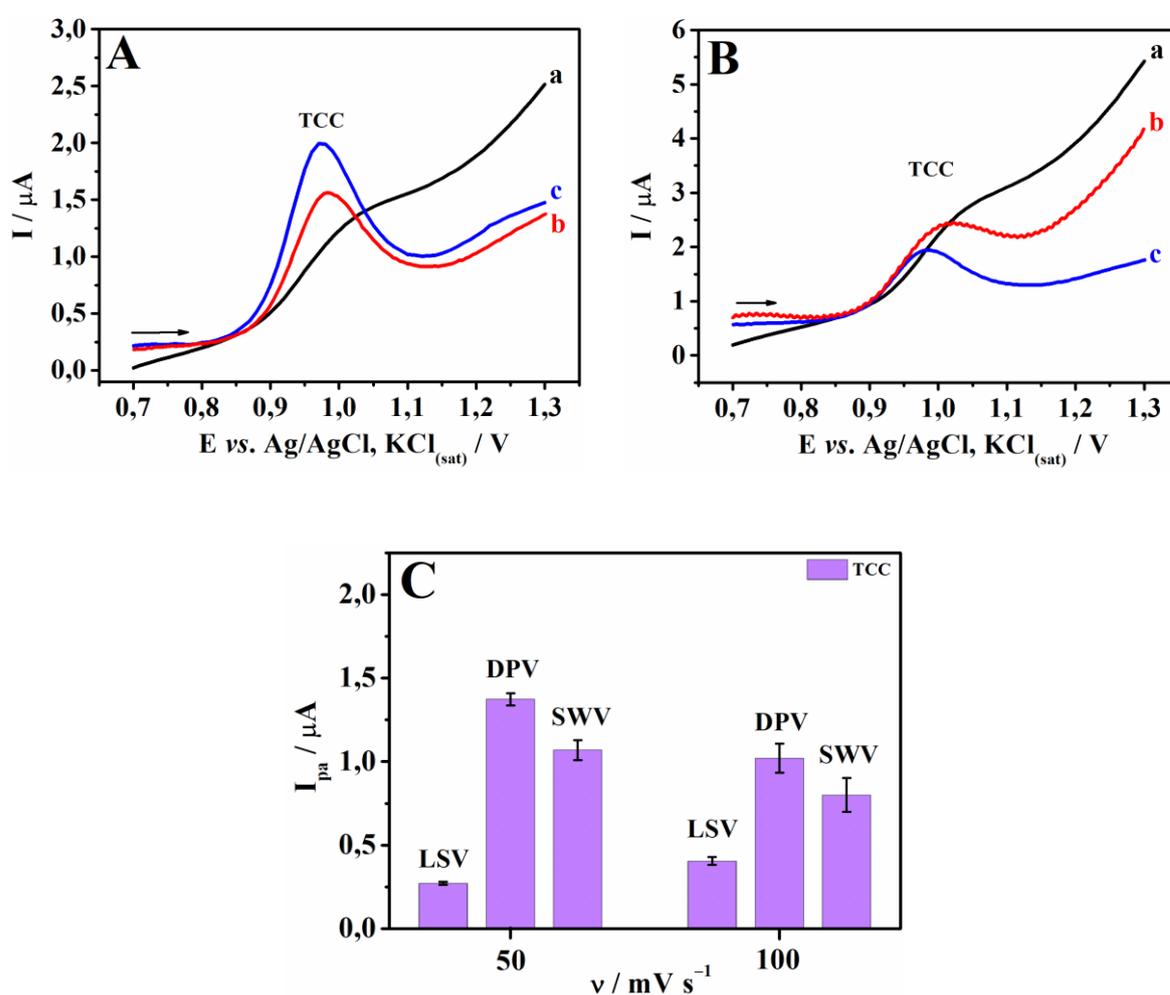
6.2 SELEÇÃO DA TÉCNICA ELETROANALÍTICA

Para o desenvolvimento de um método sensível para a quantificação do TCC; LSV, DPV e SWV foram investigadas como técnicas eletroanalíticas. Os parâmetros de cada técnica foram ajustados de modo a se obter a mesma velocidade de varredura de potencial para as medidas.

Os resultados obtidos utilizando as três técnicas voltamétricas em diferentes velocidades são apresentados na Figura 30. Observa-se que os voltamogramas gerados em velocidade mais baixa ($v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$) (Figura 30A) obtiveram valores de corrente superiores dos que foram obtidos em velocidade mais alta ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$) (Figura 30B). Este comportamento é melhor visualizado no gráfico de barras das médias de correntes (Figura 30C), em que é visto o melhor desempenho da DPV em relação as demais técnicas.

Desta forma, justifica-se o uso de uma velocidade de varredura de potencial mais lenta para melhor acompanhar a reação de oxidação do TCC, como também que este registro por DPV apresenta uma maior sensibilidade.

Figura 30. Voltamogramas para TCC $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0):etanol (95:5 v/v) em diferentes velocidades de variação de potencial: (A) $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$, (B) $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ obtidos com diferentes técnicas eletroanalíticas: (a) LSV, (b) SWV e (c) DPV. (C) Gráfico de barras de I_{pa} vs. v ($n = 3$).

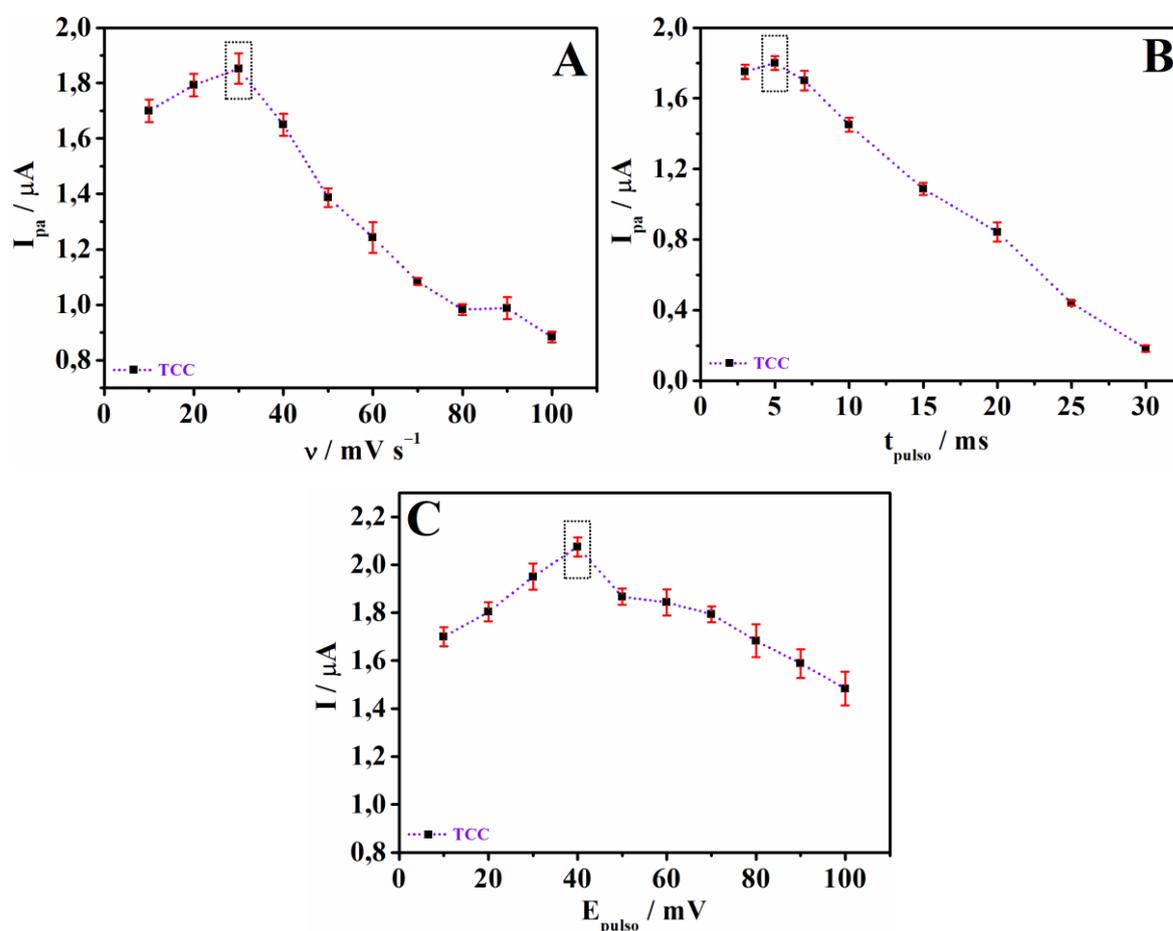


6.2.1 Otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial

Para a otimização da técnica de voltametria de pulso diferencial, os parâmetros experimentais avaliados foram: velocidade de varredura de potencial (v), amplitude de pulso de potencial (E_{pulso}) e tempo de duração do pulso (t_{pulso}) (SCHOLZ, 2015).

A velocidade de varredura de potencial foi variada de 10,0 a 100 mV s^{-1} , mantendo fixos os demais parâmetros em $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 5,0 \text{ ms}$. A maior média de intensidade de corrente foi obtida na velocidade de 30,0 mV s^{-1} (Figura 31A). Isso significa que neste valor, a velocidade de varredura de potencial acompanha a cinética da reação e assim, é possível se fazer um registro sensível de todo o processo. O segundo parâmetro avaliado foi o t_{pulso} , com valores variando na faixa de 3,0 a 30,0 ms, e mantendo fixo $E_{\text{pulso}} = 50,0 \text{ mV}$ e $v = 30,0 \text{ mV s}^{-1}$. Neste estudo, selecionou-se o tempo de 5,0 ms para as análises posteriores por ter apresentado a melhor resposta de corrente (Figura 31B). Por fim, variou-se o E_{pulso} de 10,0 a 100 mV. Um aumento da amplitude promove um aumento das intensidades de corrente, mas também causa um alargamento dos picos. Para atender o compromisso entre intensidade de corrente e perfil voltamétrico, selecionou-se $E_{\text{pulso}} = 40,0 \text{ mV}$ para os estudos posteriores (Figura 31C).

Figura 31. Gráficos referentes a otimização dos parâmetros da voltametria de pulso diferencial para TCC 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0):etanol (95:5 v/v): (A) I_{pa} vs. v ; (B) I_{pa} vs. t_{pulso} e (C) I_{pa} vs. E_{pulso} ($n = 3$).



A Tabela 7 apresenta os parâmetros de pulso diferencial estudados, a faixa analisada e os valores selecionados para a determinação de TCC.

Tabela 7. Otimização dos parâmetros experimentais da voltametria de pulso diferencial para a determinação de TCC.

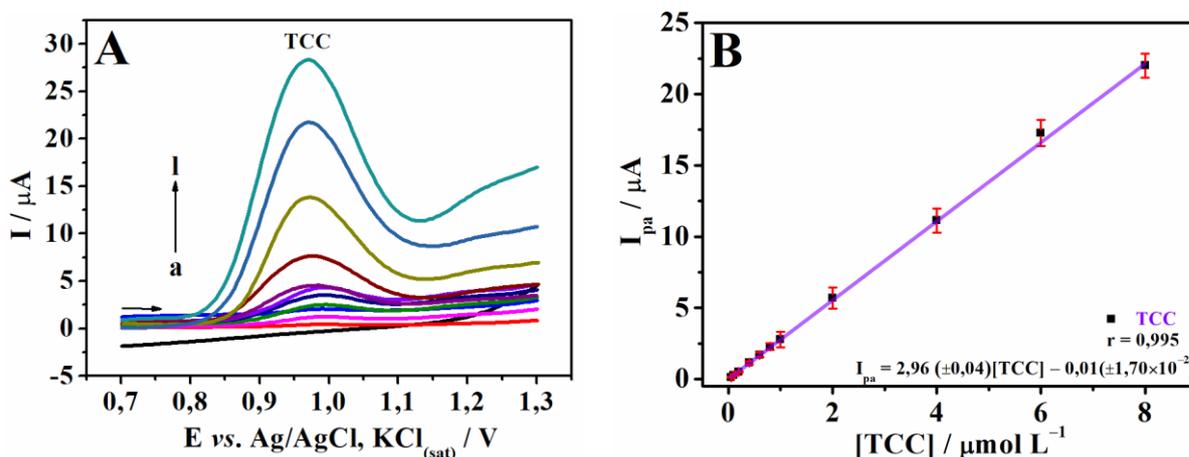
Parâmetro da técnica	Faixa avaliada	Valor selecionado
Velocidade (mV s^{-1})	10,0 – 100	30,0
Tempo de duração do pulso (ms)	3,0 – 30,0	5,0
Amplitude do pulso (mV)	10,0 – 100	40,0

6.3 CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA O TCC

6.3.1 Curva de calibração para TCC usando o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE

Empregando as condições experimentais otimizadas, construiu-se a curva de calibração para o TCC mediante adições de alíquotas de solução padrão ao eletrólito de suporte. A Figura 32A apresenta os voltamogramas de pulso diferencial do TCC. Foi registrado um pico definido em +0,96 V correspondente a oxidação do TCC, cujas intensidades de corrente aumentaram proporcionalmente com o aumento da concentração do analito no intervalo de 0,05 a 8,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,995$). A regressão linear (Figura 32B) pode ser expressa de acordo com: $I_{\text{pa}} = 2,96(\pm 0,04)[\text{TCC}] - 0,01(\pm 1,70 \times 10^{-2})$, onde I_{pa} é a corrente de pico anódico em μA , e $[\text{TCC}]$ é a concentração de triclocarban em $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os valores de LOD e LOQ obtidos para o TCC foram 17,0 e 57,0 nmol L^{-1} , respectivamente.

Figura 32. Voltamogramas de pulso diferencial para (A) TCC sobre o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE em diferentes concentrações: (a) branco; (b) 0,05; (c) 0,1; (d) 0,2; (e) 0,4; (f) 0,6; (g) 0,8; (h) 1,0; (i) 2,0; (j) 4,0; (k) 6,0 e (l) 8,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0); etanol (95:5 v/v). Condições experimentais: $v = 30,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 40,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 5,0 \text{ ms}$. (B) Curva de calibração para TCC ($n = 3$).



As características analíticas extraídas da curva de calibração do TCC usando o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE são mostradas na Tabela 8.

Tabela 8. Características analíticas obtidas a partir da curva de calibração para o TCC empregando o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE.

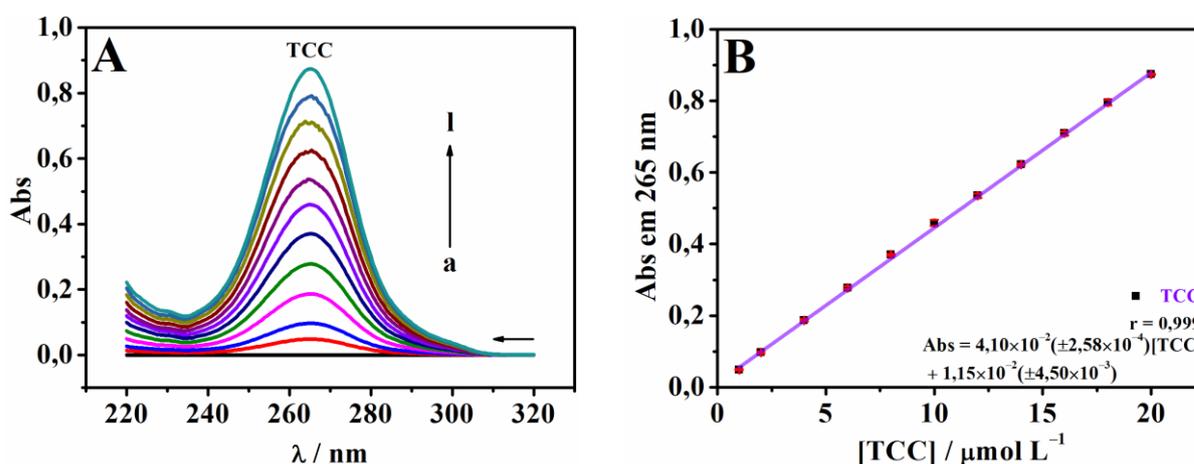
Características Analíticas	TCC
Potencial de pico (V)	0,96
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,05 – 8,0
Coefficiente de correlação – r	0,995
Coefficiente angular ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	2,96
Desvio padrão do coeficiente angular ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	$\pm 0,04$
Coefficiente linear (μA)	-0,01
Desvio padrão do coeficiente linear (μA)	$\pm 1,70 \times 10^{-2}$
LOD (nmol L^{-1})	17,0
LOQ (nmol L^{-1})	57,0

Para fins de comparação, foi construída uma curva de calibração para o TCC empregando o GCE não modificado (dados não mostrados). Neste estudo, obteve-se uma faixa linear de 0,5 a 14,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com regressão linear de $I_{pa} = 0,94(\pm 1,00 \times 10^{-3})[\text{TCC}] + 0,60(\pm 0,50)$ ($r = 0,998$). Os valores de LOD e LOQ foram calculados em 160 e 530 nmol L^{-1} , respectivamente. Estes valores foram cerca de nove vezes superiores aos limites obtidos pelo eletrodo modificado, que se mostrou mais sensível. Com este comparativo, é possível reafirmar que o eletrodo modificado neste trabalho é mais sensível para a análise de TCC do que o substrato de carbono vítreo.

6.3.2 Curva de calibração para TCC usando o método comparativo

A espectrometria UV-vis foi implementada como método comparativo para verificar a exatidão dos resultados fornecidos pelo eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE para a quantificação do TCC. A curva de calibração para o TCC foi construída por meio de adições sucessivas de solução padrão em etanol, sendo monitorados os valores de absorbância máxima no comprimento de onda de 265 nm (Figura 33A). A curva de calibração construída para o TCC é exibida na Figura 33B, abrangendo a faixa linear de concentração de 1,0 a 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,999$) com equação da reta igual a $\text{Abs} = 4,10 \times 10^{-2}(\pm 2,58 \times 10^{-4})[\text{TCC}] + 1,15 \times 10^{-2}(\pm 4,50 \times 10^{-3})$. Os valores de LOD e LOQ foram iguais a 330 e 1100 nmol L^{-1} , respectivamente.

Figura 33. (A) Espectros UV-vis para solução padrão de TCC: (a) branco em etanol; (b) 1,0; (c) 2,0; (d) 4,0; (e) 6,0; (f) 8,0; (g) 10,0; (h) 12,0; (i) 14,0; (j) 16,0; (k) 18,0 e (l) 20,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de calibração para TCC ($n = 3$).



As características analíticas extraídas da curva de calibração do TCC pelo método comparativo são mostradas na Tabela 9.

Tabela 9. Características analíticas obtidas a partir da curva de calibração para o TCC empregando a espectrometria UV-vis.

Características Analíticas	TCC
Comprimento de onda (nm)	265
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	1,0 – 20,0
Coefficiente de correlação – r	0,999
Coefficiente angular ($\text{L } \mu\text{mol}^{-1}$)	$4,10 \times 10^{-2}$
Desvio padrão do coeficiente angular ($\text{L } \mu\text{mol}^{-1}$)	$\pm 2,58 \times 10^{-4}$
Coefficiente linear	$1,15 \times 10^{-2}$
Desvio padrão do coeficiente linear	$\pm 4,50 \times 10^{-3}$
LOD (nmol L^{-1})	330
LOQ (nmol L^{-1})	1100

6.3.3 Avaliação dos limites de detecção obtidos pelos métodos desenvolvidos para a análise de TCC

Os valores de LOD obtidos para a análise de TCC foram, respectivamente, $17,0 \text{ nmol L}^{-1}$ aplicando o método eletroquímico usando o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE; e 330 nmol L^{-1} empregando o método espectrométrico. Analisando os valores, nota-se que o método eletroquímico foi mais sensível. Esses resultados estão diretamente relacionados ao uso do eletrodo modificado com N-GQDs imobilizados em quitosana, que permitiu o desenvolvimento de uma ferramenta mais sensível para este tipo de análise.

Em relação aos trabalhos encontrados na literatura destinados a quantificação do TCC, majoritariamente é relatado o uso dos métodos cromatográficos (Tabela 10). Embora o LOD obtido pelo N-GQDs-CS/GCE seja superior aos limites obtidos pelos métodos cromatográficos, o desenvolvimento e operação do eletrodo proposto são mais simples e o equipamento necessário é mais acessível. Entre uma das vantagens, destaca-se que o eletrodo foi construído usando materiais modificadores a partir de precursores abundantes e de baixo custo, sendo o primeiro eletrodo modificado desenvolvido destinado ao monitoramento do TCC.

Tabela 10. Métodos analíticos relatados para a determinação de TCC.

Método	Ferramenta	Matriz	LOD / nmol L⁻¹	Referência
Cromatográfico	LC-MS/MS	Urina humana	0,03	(SILVEIRA et al., 2020)(SILVEIRA et al., 2020)
Imunoensaio	ELISA	Solução tampão fosfato de sódio (pH 7,5):DMSO	0,095	(AHN et al., 2012)
Cromatográfico	UHPLC-TUV ^a	Água de rio, irrigação e torneira	0,13	(GUO et al., 2009)
Cromatográfico	HPLC-MS/MS	Urina humana e soro	0,32	(ZHOU; YE; CALAFAT, 2012)
Cromatográfico	MSPE ^b -HPLC	Metanol	1,27	(WANG et al., 2018)
Cromatográfico	HPLC-MS/MS	Água de superfície	1,6	(ZHANG et al., 2020)
Eletroquímico	N-GQDs- CS/GCE	Solução tampão fosfato de sódio (pH 7,0):etanol	17,0	Este estudo
Eletroquímico	GCE	Solução tampão acetato de sódio (pH 5,4):metanol	180	(LÚCIO et al., 2015)
Espectrométrico	UV-vis	Etanol	330	Este estudo

^a UHPLC-TUV - Cromatografia líquida de ultra alta pressão com detecção ultravioleta ajustável;

^b MSPE - Extração magnética em fase sólida.

6.4 REPETIBILIDADE, ESTABILIDADE E ESTUDO DOS INTERFERENTES

A repetibilidade de corrente fornecida pelo N-GQDs-CS/GCE foi testada por meio de um ensaio intra-dia, usando cinco soluções padrão de TCC 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ preparadas no mesmo dia, e um ensaio inter-dia, conduzido durante cinco dias usando uma solução de mesma concentração preparada a cada dia. Os valores de RSD para as medições (n = 5) foram

4,1% e 5,3%, respectivamente. Neste sentido, esses valores de RSD obtidos para os ensaios intra e inter-dia indicaram excelente repetibilidade dos dados obtidos com o N-GQDs-CS/GCE para a análise do TCC.

A estabilidade da dispersão de N-GQDs-CS foi investigada ao longo de um período de cinco semanas. A dispersão permaneceu armazenada a 4 °C em um refrigerador, quando não estava em uso, mas era removida para atingir a temperatura ambiente antes do preparo dos eletrodos. As respostas de corrente para TCC 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ fornecidas pelo N-GQDs-CS/GCE preparado com a mesma dispersão diminuíram 3,2% após cinco semanas, quando comparadas com a primeira resposta de corrente. Este resultado indica que a dispersão de N-GQDs-CS permaneceu estável por pelo menos cinco semanas e, portanto, pode ser utilizada para a preparação de eletrodos modificados neste período sem proporcionar perda de sensibilidade ao método.

Para avaliar a seletividade fornecida pelo eletrodo N-GQDs-CS/GCE e a possível interferência de moléculas orgânicas e íons inorgânicos nos dados obtidos, aplicou-se a DPV na presença de potenciais interferentes em solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0):etanol (95:5 v/v) contendo TCC 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (+0,96 V). A concentração de compostos orgânicos foi 50 vezes maior que a do TCC. Ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina, rutina, catequina e ácido tânico foram oxidados em potenciais menos positivos que +0,6 V, enquanto a cumarina não apresentou reação de oxidação. A diminuição das correntes de oxidação para o TCC foi inferior a 8,0% na presença dos potenciais interferentes orgânicos. Além disso, nenhuma interferência significativa (<3,0%) de íons comuns, como Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , NO_3^- e SO_4^{2-} foi observada mesmo com concentrações 100 vezes maior que a do analito. Esses resultados indicaram que o eletrodo modificado proposto apresentou boa seletividade para o TCC nestas condições.

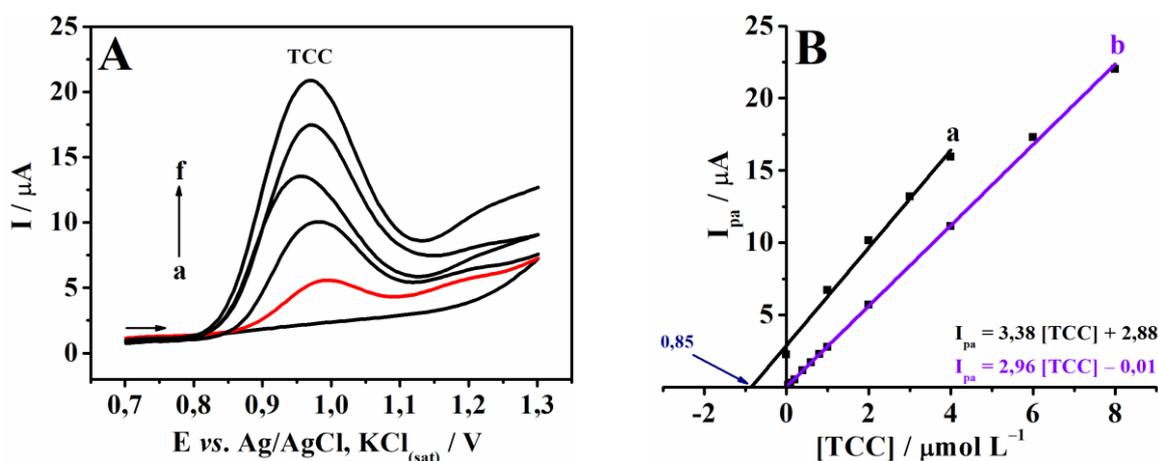
6.5 DETERMINAÇÃO DE TCC EM PRODUTOS DE HIGIENE E CUIDADO PESSOAL

O eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE foi aplicado para a quantificação de TCC em dois tipos de produtos de higiene e cuidado pessoal: sabonete em barra e sabonete líquido, de duas companhias. Para a determinação eletroanalítica foi utilizado o método de adição de padrão, comumente empregado por minimizar o efeito de matriz. Os dados de concentração de TCC nas quatro amostras obtidos por DPV usando o N-GQDs-CS/GCE foram comparados

com os dados obtidos por espectrometria UV-vis, empregado como método comparativo (Tabela 11).

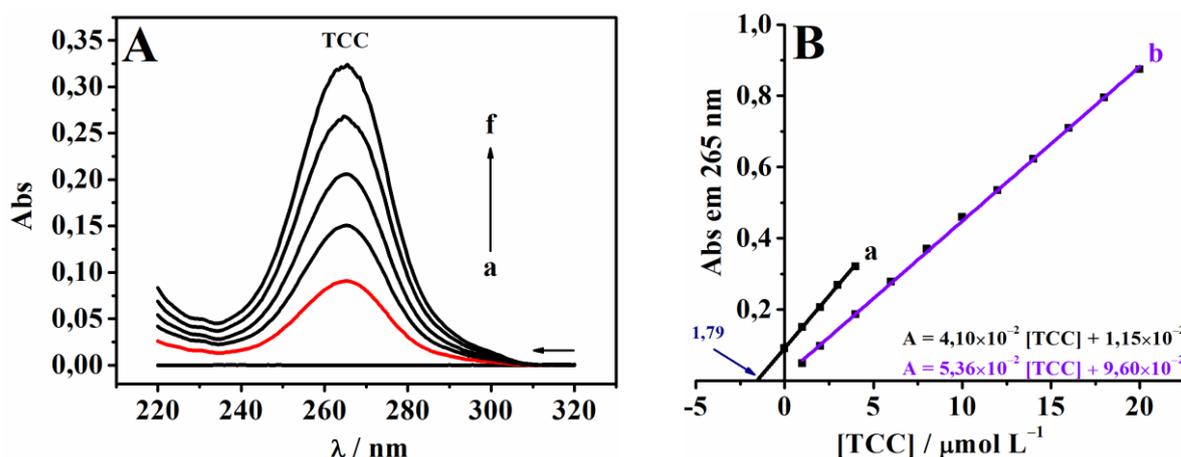
Os resultados de uma das replicatas da amostra de sabonete em barra (companhia A) são apresentados na Figura 34. A Figura 34A mostra os voltamogramas de pulso diferencial para: branco (curva a), amostra (curva b), e a amostra com adições sucessivas de solução padrão de TCC (curvas c-f). Para a amostra (curva b), o voltamograma exibiu um pico de oxidação de TCC em +0,98 V, e as correntes de pico aumentaram linearmente com as adições de solução padrão na célula eletroquímica. Com isto, a curva de adição de padrão para o TCC é apresentada na Figura 34B junto com a curva de calibração construída anteriormente (Seção 6.3.1) para efeito de comparação. Nesta replicata, pela extrapolação da curva de adição de padrão, determinou-se o valor de $0,85 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TCC na célula eletroquímica, correspondente a 0,17% (m/m) na amostra, e estando de acordo com o permitido pela legislação brasileira. Pode-se observar também que as inclinações das curvas de adição de padrão e calibração foram bastante semelhantes, o que significa que o método proposto usando o eletrodo modificado não apresentou interferência dos componentes da matriz na determinação. Assim, as determinações de TCC também podem ser realizadas pelo método da calibração externa, o que facilitaria o procedimento, melhorando a frequência analítica das análises.

Figura 34. (A) Voltamogramas de pulso diferencial para: (a) branco, (b) 80,0 μL de amostra de sabonete em barra A, e (c-f) adições sucessivas de 100 μL de solução padrão de TCC $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0):etanol (95:5 v/v), empregando o eletrodo N-GQDs-CS/GCE. (B) Curvas de adição de padrão (a) e calibração (b) do TCC. Condições experimentais: $v = 30,0 \text{ mV s}^{-1}$; $E_{\text{pulso}} = 40,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 5,0 \text{ ms}$.



Da mesma forma, os resultados de uma das replicatas para quantificação de TCC na amostra de sabonete em barra (companhia A) pelo método espectrométrico são mostrados na Figura 35. Pode-se dizer que também não houve efeito de interferência de matriz, pois as inclinações da curva de adição de padrão (curva a) e da curva de calibração (curva b) foram semelhantes (Figura 35B). Similarmente, pela extrapolação da curva de adição de padrão, nesta replicata, encontrou-se o valor de $1,79 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TCC na cubeta, correspondente a 0,17% (m/m) na amostra, e estando de acordo com o regulamentado pela legislação brasileira.

Figura 35. (A) Espectros UV-vis para: (a) branco, (b) 50,0 μL de amostra de sabonete em barra A, e (c-g) adições sucessivas de 30,0 μL de solução padrão de TCC $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em etanol; (B) Curvas de adição de padrão (a) e calibração (b) do TCC.



Conforme pode ser visto na Tabela 11 (coluna % m/m), os teores de TCC determinados em todos os ensaios estão abaixo dos limites estabelecidos pela legislação brasileira. Neste sentido, a ANVISA regulamenta a adição de TCC em concentrações de até 1,5% (m/m) em produtos destinados ao enxágue (por exemplo, sabonetes) (RDC n° 3/2012) (BRASIL, 2012b), e um limite máximo de 0,2% (m/m), em produtos como cosméticos e perfumes (RDC n° 29/2012) (BRASIL, 2012a). Por fim, os percentuais obtidos nos ensaios de adição e recuperação por ambos os métodos ficaram entre 90 e 110%. Esta faixa se encontra dentro do permitido (80–110%) para níveis em $\mu\text{mol L}^{-1}$ do analito (GONZÁLEZ; HERRADOR, 2007). Assim, confirmou-se a exatidão dos dados fornecidos por ambos os procedimentos analíticos.

Tabela 11. Determinação de TCC em diferentes amostras pelos métodos eletroquímico e espectrométrico.

Amostras	DPV ^a					UV-vis				
	Determinado ^b		Adição / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Encontrado ^b / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Rec / %	Determinado ^b		Adição / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Encontrado ^b / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Rec / %
	% (m/m)	$\mu\text{mol L}^{-1}$				% (m/m)	$\mu\text{mol L}^{-1}$			
Sabonete em barra A	0,165±0,006	0,84±0,03	1,00	1,81±0,04	93-101	0,175±0,007	1,85±0,08	1,00	2,86±0,06	95-109
Sabonete líquido A	0,153±0,005	0,78±0,02	1,00	1,78±0,06	92-108	0,150±0,006	1,59±0,07	1,00	2,58±0,03	96-102
Sabonete em barra B	0,146±0,009	0,74±0,04	1,00	1,77±0,04	98-109	0,149±0,005	1,58±0,06	1,00	2,58±0,06	95-110
Sabonete líquido B	0,152±0,003	0,77±0,02	1,00	1,75±0,06	90-106	0,149±0,001	1,57±0,04	1,00	2,55±0,04	92-102

^a DPV usando o eletrodo modificado N-GQDs-CS/GCE;

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

Além do ensaio de adição e recuperação, testes estatísticos foram aplicados para comparar o conjunto de dados obtidos através dos métodos eletroquímico e espectrométrico (Tabela 12). O teste F foi usado para comparar a precisão dos resultados obtidos com os dois métodos. Os valores de F calculados foram menores que $F_{\text{teórico}}$, indicando que não houve diferença significativa entre a precisão dos dados obtidos com os dois procedimentos. Para a comparação das médias foi aplicado o teste t pareado. Todos os valores de t foram inferiores ao valor $t_{\text{teórico}}$, indicando que não houveram erros sistemáticos nos dados fornecidos pelos dois métodos.

Tabela 12. Testes estatísticos aplicados para a avaliação dos resultados da determinação de TCC em diferentes amostras pelos métodos eletroquímico e espectrométrico.

	Amostras			
	Sabonete em barra A	Sabonete líquido A	Sabonete em barra B	Sabonete líquido B
E_r (%) ^a	-5,7	2,0	-2,0	2,0
F ^b	1,36	1,44	3,24	1,00
t ^c	2,26	0,71	0,53	0,95

^a Erro relativo = [(método eletroquímico – método espectrométrico) / método espectrométrico] \times 100;

^b $F_{\text{teórico}} = 6,38$;

^c $t_{\text{teórico}} = 2,31$.

CONCLUSÕES

No presente trabalho foi apresentado o desenvolvimento de dois eletrodos quimicamente modificados à base de GQDs e quitosana, os quais foram avaliados e aplicados na determinação de desreguladores endócrinos em produtos de higiene e cuidado pessoal. A combinação dos GQDs com a quitosana garantiu sensibilidade suficiente aos eletrodos, atendendo os níveis encontrados destes agentes em amostras comerciais, possibilitando uma quantificação com sucesso. Além disso, a quitosana foi fundamental nesse processo dado o objetivo de formação de um filme estável sobre o substrato de carbono vítreo.

O primeiro eletrodo modificado foi desenvolvido à base de GQDs imobilizados em quitosana para a determinação simultânea de triclosan e metilparabeno. Este é o primeiro trabalho dedicado ao monitoramento simultâneo destes compostos por voltametria. Enquanto que o segundo eletrodo foi construído a partir de N-GQDs imobilizados em quitosana para a quantificação de triclocarban, sendo o primeiro eletrodo modificado dedicado a esta finalidade. Os GQDs e N-GQDs foram obtidos a partir de uma simples reação de pirólise do ácido cítrico com uma fonte de nitrogênio, quando necessário. Sendo assim, foram obtidos a partir de materiais de baixo custo, não sendo necessários equipamentos sofisticados para a síntese.

Os eletrodos modificados apresentaram boa estabilidade, adequada repetibilidade e sensibilidade para os ensaios. A quantificação em ambos os estudos foi realizada com sucesso em amostras reais, obtendo valores de precisão e exatidão satisfatórios em acordo com dados de espectrometria UV-vis, empregada como técnica comparativa. Além disso, foi mostrado que não houve interferência dos componentes da matriz na determinação dos três compostos. Assim, em ensaios futuros, pode ser usado o método de calibração externa para as determinações, melhorando a frequência analítica dos ensaios. É importante ressaltar isso, pois a cada medida realizada nestes trabalhos foi necessária uma limpeza do eletrodo e o preparo de novos filmes, visto que os produtos de oxidação dos analitos bloquearam a superfície do eletrodo.

Por fim, os dois eletrodos modificados com GQDs e N-GQDs mostraram ser ferramentas analíticas com sensibilidade suficiente para atender os níveis de triclosan, metilparabeno e triclocarban exigidos pela legislação em produtos de higiene, podendo ser uma alternativa ao uso de métodos cromatográficos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHN, K.C.; KASAGAMI, T.; TSAI, H.J.; SCHEBB, N.H.; OGUNYOKU, T.; GEE, S.J.; YOUNG, T.M.; HAMMOCK, B.D. An immunoassay to evaluate human/environmental exposure to the antimicrobial triclocarban. **Environmental Science and Technology**, 46, 374–381, 2012.

AL-NAHAIN, A.; LEE, J.E.; IN, I.; LEE, H.; LEE, K.D.; JEONG, J.H.; PARK, S.Y. Target delivery and cell imaging using hyaluronic acid-functionalized graphene quantum dots. **Molecular Pharmaceutics**, 10, 3736–3744, 2013.

ANNU; RAJA, A.N. Recent development in chitosan-based electrochemical sensors and its sensing application. **International Journal of Biological Macromolecules**, 164, 4231–4244, 2020.

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**, 238, 346–356, 2017.

AVULA, B.; DENTALI, S.; KHAN, I.A. Simultaneous identification and quantification by liquid chromatography of benzethonium chloride, methyl paraben and triclosan in commercial products labeled as grapefruit seed extract. **Pharmazie**, 62, 593–596, 2007.

AZZOUZ, A.; KAILASA, S.K.; KUMAR, P.; BALLESTEROS, E.; KIM, K.H. Advances in functional nanomaterial-based electrochemical techniques for screening of endocrine disrupting chemicals in various sample matrices. **Trends in Analytical Chemistry**, 113, 256–279, 2019.

BACON, M.; BRADLEY, S.J.; NANN, T. Graphene quantum dots. **Particle & Particle Systems Characterization**, 31, 415–428, 2014.

BAIG, N.; SAJID, M.; SALEH, T.A. Recent trends in nanomaterial-modified electrodes for electroanalytical applications. **Trends in Analytical Chemistry**, 111, 47–61, 2019.

BAKER, B.H.; WU, H.; LAUE, H.E.; BOIVIN, A.; GILLET, V.; LANGLOIS, M.F.; BELLENGER, J.P.; BACCARELLI, A.A.; TAKSER, L. Methylparaben in meconium and risk of maternal thyroid dysfunction, adverse birth outcomes, and Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD). **Environment International**, 139, 105716, 2020.

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

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

BARR, L.; METAXAS, G.; HARBACH, C.A.J.; SAVOY, L.A.; DARBRE, P.D. Measurement of paraben concentrations in human breast tissue at serial locations across the breast from axilla to sternum. **Journal of Applied Toxicology**, 32, 219–232, 2012.

BAUMANN, A.; LOHMANN, W.; ROSE, T.; AHN, K.C.; HAMMOCK, B.D.; KARST, U.; SCHEBB, N.H. Electrochemistry-mass spectrometry unveils the formation of reactive triclocarban metabolites. **Drug Metabolism and Disposition**, 38, 2130–2138, 2010.

BENÍTEZ-MARTÍNEZ, S.; VALCÁRCEL, M. Graphene quantum dots in analytical science. **Trends in Analytical Chemistry**, 72, 93–113, 2015.

BERGER, K.P.; KOGUT, K.R.; BRADMAN, A.; SHE, J.; GAVIN, Q.; ZAHEDI, R.; PARRA, K.L.; HARLEY, K.G. Personal care product use as a predictor of urinary concentrations of certain phthalates, parabens, and phenols in the HERMOSA study. **Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology**, 29, 21–32, 2019.

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

BILAL, M.; BARCELÓ, D.; IQBAL, H.M.N. Persistence, ecological risks, and oxidoreductases-assisted biocatalytic removal of triclosan from the aquatic environment. **Science of the Total Environment**, 735, 139194, 2020.

BORRULL, J.; COLOM, A.; FABREGAS, J.; POCURULL, E.; BORRULL, F. A simple, fast method for the analysis of 20 contaminants of emerging concern in river water using large-volume direct injection liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 411, 1601–1610, 2019.

BRASIL. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 29, de 1º de junho de 2012**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2012a.

BRASIL. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 3, de 18 de janeiro de 2012**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2012b.

BROSE, D.A.; KUMAR, K.; LIAO, A.; HUNDAL, L.S.; TIAN, G.; COX, A.; ZHANG, H.; PODCZERWINSKI, E.W. A reduction in triclosan and triclocarban in water resource recovery facilities' influent, effluent, and biosolids following the U.S. Food and Drug Administration's 2013 proposed rulemaking on antibacterial products. **Water Environment Research**, 91, 715–721, 2019.

CAMPUZANO, S.; YÁÑEZ-SEDEÑO, P.; PINGARRÓN, J.M. Carbon dots and graphene quantum dots in electrochemical biosensing. **Nanomaterials**, 9, 634, 2019.

CANOSA, P.; RODRÍGUEZ, I.; RUBÍ, E.; CELA, R. Determination of parabens and triclosan in indoor dust using matrix solid-phase dispersion and gas chromatography with tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, 79, 1675–1681, 2007.

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

CHEN, H.W.; CHIOU, C.S.; CHANG, S.H. Comparison of methylparaben, ethylparaben and propylparaben adsorption onto magnetic nanoparticles with phenyl group. **Powder Technology**, 311, 426–431, 2017.

CHEN, J.; KI, C.A.; GEE, N.A.; AHMED, M.I.; DULEBA, A.J.; ZHAO, L.; GEE, S.J.; HAMMOCK, B.D.; LASLEY, B.L. Triclocarban enhances testosterone action: a new type of endocrine disruptor? **Endocrinology**, 149, 1173–1179, 2008.

CHEN, L.; GUO, C.X.; ZHANG, Q.; LEI, Y.; XIE, J.; EE, Shujing; GUAI, Guanhong; SONG, Q.; LI, C.M. Graphene quantum-dot-doped polypyrrole counter electrode for high-performance dye-sensitized solar cells. **ACS Applied Materials and Interfaces**, 5, 2047–2052, 2013.

CHEN, S.; SONG, Y.; SHI, F.; LIU, Y.; MA, Q. Sensitive detection of picric acid based on creatinine-capped solid film assembled by nitrogen-doped graphene quantum dots and chitosan. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, 231, 634–640, 2016.

CHEN, Y.; LEI, X.; DOU, R.; CHEN, Y.; HU, Y.; ZHANG, Z. Selective removal and preconcentration of triclosan using a water-compatible imprinted nano-magnetic chitosan particles. **Environmental Science and Pollution Research**, 24, 18640–18650, 2017.

DARBRE, P.D.; ALJARRAH, A.; MILLER, W.R.; COLDHAM, N.G.; SAUER, M.J.; POPE, G.S. Concentrations of parabens in human breast tumours. **Journal of Applied Toxicology**, 24, 5–13, 2004.

DAS, R.; PARVEEN, S.; BORA, A.; GIRI, P.K. Origin of high photoluminescence yield and high SERS sensitivity of nitrogen-doped graphene quantum dots. **Carbon**, 160, 273–286, 2020.

DONG, X.; XU, H.; WU, X.; YANG, L. Multiple bioanalytical method to reveal developmental biological responses in zebrafish embryos exposed to triclocarban. **Chemosphere**, 193, 251–258, 2018.

DONG, Y.; SHAO, J.; CHEN, C.; LI, H.; WANG, R.; CHI, Y.; LIN, X.; CHEN, G. Blue luminescent graphene quantum dots and graphene oxide prepared by tuning the carbonization degree of citric acid. **Carbon**, 50, 4738–4743, 2012.

DU, Y.; GUO, S. Chemically doped fluorescent carbon and graphene quantum dots for bioimaging, sensor, catalytic and photoelectronic applications. **Nanoscale**, 8, 2532–2543, 2016.

FARIDBOD, F.; SANATI, A.L. Graphene quantum dots in electrochemical sensors/biosensors. **Current Analytical Chemistry**, 15, 103–123, 2018.

GEER, L.A.; PYCKE, B.F.G.; WAXENBAUM, J.; SHERER, D.M.; ABULAFIA, O.; HALDEN, R.U. Association of birth outcomes with fetal exposure to parabens, triclosan and triclocarban in an immigrant population in Brooklyn, New York. **Journal of Hazardous Materials**, 323, 177–183, 2017.

GEVAERD, A.; BANKS, C.E.; BERGAMINI, M.F.; MARCOLINO JUNIOR, L.H. Graphene quantum dots modified screen-printed electrodes as electroanalytical sensing platform for diethylstilbestrol. **Electroanalysis**, 31, 838–843, 2019.

GHANEM, M.A.; COMPTON, R.G.; COLES, B.A.; PSILLAKIS, E.; KULANDAINATHAN, M.A.; MARKEN, F. Microwave activation of electrochemical processes: High temperature phenol and triclosan electro-oxidation at carbon and diamond electrodes. **Electrochimica Acta**, 53, 1092–1099, 2007.

GIULIVO, M.; ALDA, M.L.; CAPRI, E.; BARCELÓ, D. Human exposure to endocrine disrupting compounds: their role in reproductive systems, metabolic syndrome and breast cancer. A review. **Environmental Research**, 151, 251–264, 2016.

GONDIM, C.S.; DURÁN, G.M.; CONTENTO, A.M.; RÍOS, Á. Development and validation of an electrochemical screening methodology for sulfonamide residue control in milk samples using a graphene quantum dots@Nafion modified glassy carbon electrode. **Food Analytical Methods**, 11, 1711–1721, 2018.

GONZÁLEZ, A.G.; HERRADOR, M.Á. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. **Trends in Analytical Chemistry**, 26, 227–238, 2007.

GUERRERO, P.; MUXIKA, A.; ZARANDONA, I.; DE LA CABA, K. Crosslinking of chitosan films processed by compression molding. **Carbohydrate Polymers**, 206, 820–826, 2019.

GUMUSTAS, M.; OZKAN, S.A. The role of and the place of method validation in drug analysis using electroanalytical techniques. **The Open Analytical Chemistry Journal**, 5, 1–21, 2011.

GUO, J.H.; LI, X.H.; CAO, X.L.; LI, Y.; WANG, X.Z.; XU, X.B. Determination of triclosan, triclocarban and methyl-triclosan in aqueous samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined with rapid liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, 1216, 3038–3043, 2009.

HAQUE, E.; KIM, J.; MALGRAS, V.; REDDY, K.R.; WARD, A.C.; YOU, J.; BANDO, Y.; HOSSAIN, S.A.; YAMAUCHI, Y. Recent advances in graphene quantum dots: synthesis, properties, and applications. **Small Methods**, 2, 1800050, 2018.

IACOPETTA, D.; CATALANO, A.; CERAMELLA, J.; SATURNINO, C.; SALVAGNO, L.; IELO, I.; DROMMI, D.; SCALI, E.; PLUTINO, M.R.; ROSACE, G.; SINICROPI, M.S. The different facets of triclocarban: a review. **Molecules**, 26, 2811, 2021.

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

JAGINI, S.; KONDA, S.; BHAGAWAN, D.; HIMABINDU, V. Emerging contaminant (triclosan) identification and its treatment: a review. **SN Applied Sciences**, 1, 640, 2019.

JAKOPIN, Ž. Assessment of the endocrine-disrupting potential of halogenated parabens: an in silico approach. **Chemosphere**, 264, 128447, 2021.

JAVAID, S.; LEE, J.; SOFIANOS, M.V.; DOUGLAS-MOORE, Z.; ARRIGAN, D.W.M.; SILVESTER, D.S. Zinc oxide nanoparticles as antifouling materials for the electrochemical detection of methylparaben. **ChemElectroChem**, 8, 187–194, 2021.

JIN, L.; WANG, Y.; YAN, F.; ZHANG, J.; ZHONG, F. The synthesis and application of nitrogen-doped graphene quantum dots on brilliant blue detection. **Journal of Nanomaterials**, 2019, 1471728, 2019.

JUSTIN, R.; ROMÁN, S.; CHEN, D.; TAO, K.; GENG, X.; GRANT, R.T.; MACNEIL, S.; SUN, K.; CHEN, B. Biodegradable and conductive chitosan-graphene quantum dot nanocomposite microneedles for delivery of both small and large molecular weight therapeutics. **RSC Advances**, 5, 51934–51946, 2015.

KABIR, E.R.; RAHMAN, M.S.; RAHMAN, I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 40, 241–258, 2015.

KADIAN, S.; SETHI, S.K.; MANIK, G. Recent advancements in synthesis and property control of graphene quantum dots for biomedical and optoelectronic applications. **Materials Chemistry Frontiers**, 5, 627–658, 2021.

KARIMI-MALEH, H.; AYATI, A.; DAVOODI, R.; TANHAEI, B.; KARIMI, F.; MALEKMOHAMMADI, S.; OROOJI, Y.; FU, L.; SILLANPÄÄ, M. Recent advances in using of chitosan-based adsorbents for removal of pharmaceutical contaminants: a review. **Journal of Cleaner Production**, 291, 125880, 2021.

KARIMI-MALEH, H.; KARIMI, F.; REZAPOUR, M.; BIJAD, M.; FARSI, M.; BEHESHTI, A.; SHAHIDI, S.A. Carbon paste modified electrode as powerful sensor approach determination of food contaminants, drug ingredients, and environmental pollutants: a review. **Current Analytical Chemistry**, 15, 410–422, 2019.

KARIMZADEH, A.; HASANZADEH, M.; SHADJOU, N.; GUARDIA, M.L. Optical bio(sensing) using nitrogen doped graphene quantum dots: recent advances and future challenges. **Trends in Analytical Chemistry**, 108, 110–121, 2018a.

KARIMZADEH, A.; HASANZADEH, M.; SHADJOU, N.; GUARDIA, M.L. Electrochemical biosensing using N-GQDs: recent advances in analytical approach. **Trends in Analytical Chemistry**, 105, 484–491, 2018b.

KASHANI, H.M.; MADRAKIAN, T.; AFKHAMI, A. Highly fluorescent nitrogen-doped graphene quantum dots as a green, economical and facile sensor for the determination of sunitinib in real samples. **New Journal of Chemistry**, 41, 6875–6882, 2017.

KAUR, M.; KAUR, M.; SHARMA, V.K. Nitrogen-doped graphene and graphene quantum dots: a review on synthesis and applications in energy, sensors and environment. **Advances in Colloid and Interface Science**, 259, 44–64, 2018.

KAYA, S.I.; CETINKAYA, A.; BAKIRHAN, N.K.; OZKAN, S.A. Trends in sensitive electrochemical sensors for endocrine disruptive compounds. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, 28, e00106, 2020a.

KAYA, S.I.; KARABULUT, T.C.; KURBANOGLU, S.; OZKAN, S.A. Chemically modified electrodes in electrochemical drug analysis. **Current Pharmaceutical Analysis**, 16, 641–660, 2020b.

KHALID, W.E.F.; ARIP, M.N.M.; JASMANI, L.; LEE, Y.H. A new sensor for methyl paraben using an electrode made of a cellulose nanocrystal–reduced graphene oxide nanocomposite. **Sensors**, 19, 2726, 2019.

KOU, S.G.; PETERS, L.M.; MUCALO, M.R. Chitosan: a review of sources and preparation methods. **International Journal of Biological Macromolecules**, 169, 85–94, 2021.

LAVIRON, E. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, 101, 19–28, 1979.

LI, A.; ZHUANG, T.; ZHU, Q.; SONG, M.; LIAO, C.; JIANG, G. Concentration and distribution of parabens, triclosan, and triclocarban in pregnant woman serum in China. **Science of the Total Environment**, 710, 136390, 2020.

LI, L.; WU, G.; YANG, G.; PENG, J.; ZHAO, J.; ZHU, J.J. Focusing on luminescent graphene quantum dots: current status and future perspectives. **Nanoscale**, 5, 4015–4039, 2013.

LI, Q.; CHEN, B.; XING, B. Aggregation kinetics and self-assembly mechanisms of graphene quantum dots in aqueous solutions: cooperative effects of pH and electrolytes. **Environmental Science and Technology**, 51, 1364–1376, 2017.

LI, Y.; ZHAO, Y.; CHENG, H.; HU, Y.; SHI, G.; DAI, L.; QU, L. Nitrogen-doped graphene quantum dots with oxygen-rich functional groups. **Journal of the American Chemical Society**, 134, 15–18, 2012.

LI, Y.; HUANG, H.; MA, Y.; TONG, J. Highly sensitive fluorescent detection of dihydroxybenzene based on graphene quantum dots. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, 205, 227–233, 2014.

LIMA, L.F.; DAIKUZONO, C.M.; MIYAZAKI, C.M.; PEREIRA, E.A.; FERREIRA, M. Layer-by-layer nanostructured films of magnetite nanoparticles and polypyrrole towards synergistic effect on methylparaben electrochemical detection. **Applied Surface Science**, 505, 144278, 2020.

LIN, L.; RONG, M.; LU, S.; SONG, X.; ZHONG, Y.; YAN, J.; WANG, Y.; CHEN, X. A facile synthesis of highly luminescent nitrogen-doped graphene quantum dots for the detection of 2,4,6-trinitrophenol in aqueous solution. **Nanoscale**, 7, 1872–1878, 2015.

LINCHO, J.; MARTINS, R.C; GOMES, J. Paraben compounds – part I: an overview of their characteristics, detection, and impacts. **Applied Sciences**, 11, 2307, 2021.

LIU, X.; HAN, J.; HOU, X.; ALTINCICEK, F.; ONCEL, N.; PIERCE, D.; WU, X.; ZHAO, J.X. One-pot synthesis of graphene quantum dots using humic acid and its application for copper (II) ion detection. **Journal of Materials Science**, 56, 4991–5005, 2021.

LU, S.; WANG, N.; MA, S.; HU, X.; KANG, L.; YU, Y. Parabens and triclosan in shellfish from Shenzhen coastal waters: bioindication of pollution and human health risks. **Environmental Pollution**, 246, 257–263, 2019.

LÚCIO, M.M.L.M.; SEVERO, F.J.R.; COSTA, D.J.E.; LOURENÇO, A.S.; RIBEIRO, W.F.; BICHINHO, K.M.; ARAÚJO, M.C.U. Determination of triclocarban by direct and adsorptive stripping voltammetric methods on a glassy carbon electrode. **Analytical Methods**, 7, 3268–3276, 2015.

LUO, Z.; QI, G.; CHEN, K.; ZOU, M.; YUWEN, L.; ZHANG, X.; HUANG, W.; WANG, L. Microwave-assisted preparation of white fluorescent graphene quantum dots as a novel phosphor for enhanced white-light-emitting diodes. **Advanced Functional Materials**, 26, 2739–2744, 2016.

MAJEWSKA, N.; ZAREBA, I.; SURĄŻYŃSKI, A.; GALICKA, A. Methylparaben-induced decrease in collagen production and viability of cultured human dermal fibroblasts. **Journal of Applied Toxicology**, 37, 1117–1124, 2017.

MARQUES, I.; MAGALHÃES-MOTA, G.; PIRES, F.; SÉRIO, S.; RIBEIRO, P.A.; RAPOSO, M. Detection of traces of triclosan in water. **Applied Surface Science**, 421, 142–147, 2017.

MARSON, B.M.; CONCENTINO, V.; JUNKERT, A.M.; FACHI, M.M.; VILHENA, R. O.; PONTAROLO, R. Validation of analytical methods in a pharmaceutical quality system: an overview focused on HPLC methods. **Química Nova**, 43, 1190–1203, 2020.

MILLER, J.N.; MILLER, J.C. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. 6^a edição. Nova York: Pearson Education, 2010.

MITTAL, H.; RAY, S.S.; KAITH, B.S.; BHATIA, J.K.; SUKRITI; SHARMA, J.; ALHASSAN, S.M. Recent progress in the structural modification of chitosan for applications in diversified biomedical fields. **European Polymer Journal**, 109, 402–434, 2018.

MOLLARASOULI, F.; ASADPOUR-ZEYNALI, K.; CAMPUZANO, S.; YÁÑEZ-SEDEÑO, P.; PINGARRÓN, J.M. Non-enzymatic hydrogen peroxide sensor based on graphene quantum dots-chitosan/methylene blue hybrid nanostructures. **Electrochimica Acta**, 246, 303–314, 2017.

MONNERET, C. What is an endocrine disruptor? **Comptes Rendus - Biologies**, 340, 403–405, 2017.

MONTASERI, H.; FORBES, P.B.C. A review of monitoring methods for triclosan and its occurrence in aquatic environments. **Trends in Analytical Chemistry**, 85, 221–231, 2016.

MUJTABA, M.; MORSI, R.E.; KERCH, G.; ELSABEE, M.Z.; KAYA, M.; LABIDI, J.; KHAWAR, K.M. Current advancements in chitosan-based film production for food technology; a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, 121, 889–904, 2019.

MUÑOZ, J.; MONTES, R.; BAEZA, M. Trends in electrochemical impedance spectroscopy involving nanocomposite transducers: characterization, architecture surface and bio-sensing. **Trends in Analytical Chemistry**, 97, 201–215, 2017.

MURPHY, C.J. Peer reviewed: optical sensing with quantum dots. **Analytical Chemistry**, 74, 520–526, 2002.

NGUYEN, V.; THI, L.P.; CHANDANA, P.S.; DO, H. The degradation of paraben preservatives: recent progress and sustainable approaches toward photocatalysis. **Chemosphere**, 276, 130163, 2021.

NOWAK, K.; JABŁOŃSKA, E.; RATAJCZAK-WRONA, W. Controversy around parabens: alternative strategies for preservative use in cosmetics and personal care products. **Environmental Research**, 198, 110488, 2021.

NOWAK, K.; RATAJCZAK-WRONA, W.; GÓRSKA, M.; JABŁOŃSKA, E. Parabens and their effects on the endocrine system. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 474, 238–251, 2018.

OU, J.; TAO, Y.; XUE, J.; KONG, Y.; DAI, J.; DENG, L. Electrochemical enantio-recognition of tryptophan enantiomers based on graphene quantum dots-chitosan composite film. **Electrochemistry Communications**, 57, 5–9, 2015.

PENG, J.; GAO, W.; GUPTA, B.K.; LIU, Z.; ROMERO-ABURTO, R.; GE, L.; SONG, L.; ALEMANY, L.B.; ZHAN, X.; GAO, G.; VITHAYATHIL, S.A.; KAIPPARETTU, B.A.; MARTI, A.A.; HAYASHI, T.; ZHU, J.J.; AJAYAN, P.M. Graphene quantum dots derived from carbon fibers. **Nano Letters**, 12, 844–849, 2012.

PERIS-VICENTE, J.; ESTEVE-ROMERO, J.; CARDA-BROCH, S. Validation of analytical methods based on chromatographic techniques: an overview. In: **Analytical Separation Science**, v. 5, cap. 13. Weinheim: Wiley-VCH, 2015.

PILLAI, C.K.S.; PAUL, W.; SHARMA, C.P. Chitin and chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science**, 34, 641–678, 2009.

PIOVESAN, J.V.; SANTANA, E.R.; SPINELLI, A. Reduced graphene oxide/gold nanoparticles nanocomposite-modified glassy carbon electrode for determination of endocrine disruptor methylparaben. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 813, 163–170, 2018.

PRADHAN, R.; HEJMADY, S.; TALIYAN, R.; SINGHVI, G.; KHADGAWAT, R.; KACHHAWA, G.; DUBEY, S.K. Bioanalytical methodologies for clinical investigation of endocrine-disrupting chemicals: a comprehensive update. **Bioanalysis**, 13, 29–44, 2021.

QI, P.; ZHANG, T.; SHAO, J.; YANG, B.; FEI, T.; WANG, R. A QCM humidity sensor constructed by graphene quantum dots and chitosan composites. **Sensors and Actuators, A: Physical**, 287, 93–101, 2019.

QU, Z.; NA, W.; LIU, X.; LIU, H.; SU, X. A novel fluorescence biosensor for sensitivity detection of tyrosinase and acid phosphatase based on nitrogen-doped graphene quantum dots. **Analytica Chimica Acta**, 997, 52–59, 2018.

REGIART, M.; MAGALLANES, J.L.; BARRERA, D.; VILLARROEL-ROCHA, J.; SAPAG, K.; RABA, J.; BERTOLINO, F.A. An ordered mesoporous carbon modified electrochemical sensor for solid-phase microextraction and determination of triclosan in environmental samples. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, 232, 765–772, 2016.

REN, H.; SHEN, X.; DAI, J.; PENG, G.; LIANG, L.; SHEN, J.W.; ZHANG, L. On the mechanism of graphene quantum dot encapsulation by chitosan: a molecular dynamics study. **Journal of Molecular Liquids**, 320, 113453, 2020.

ROCHESTER, J.R.; BOLDEN, A.L.; PELCH, K.E.; KWIATKOWSKI, C.F. Potential developmental and reproductive impacts of triclocarban: a scoping review. **Journal of Toxicology**, 2017, 9679738, 2017.

SAISREE, S.; ASWATHI, R.; ARYA NAIR, J.S.; SANDHYA, K.Y. Radical sensitivity and selectivity in the electrochemical sensing of cadmium ions in water by polyaniline-derived nitrogen-doped graphene quantum dots. **New Journal of Chemistry**, 45, 110–122, 2021.

SAJID, M. Bentonite-modified electrochemical sensors: a brief overview of features and applications. **Ionics**, 24, 19–32, 2018.

SAJID, M.; NAZAL, M.K.; MANSHA, M.; ALSHARAA, A.; JILLANI, S.M.S.; BASHEER, C. Chemically modified electrodes for electrochemical detection of dopamine in the presence of uric acid and ascorbic acid: a review. **Trends in Analytical Chemistry**, 76, 15–29, 2016.

SALJOOQI, A.; SHAMSPUR, T.; MOSTAFAVI, A. A sensitive electrochemical sensor based on graphene oxide nanosheets decorated by Fe₃O₄@Au nanostructure stabilized on polypyrrole for efficient triclosan sensing. **Electroanalysis**, 32, 1297–1303, 2020.

SCHOLZ, F. Voltammetric techniques of analysis: the essentials. **ChemTexts**, 1, 17, 2015.

SCOGNAMIGLIO, V.; ANTONACCI, A.; PATROLECCO, L.; LAMBREVA, M.D.; LITESCU, S.C.; GHUGE, S.A.; REA, G. Analytical tools monitoring endocrine disrupting chemicals. **Trends in Analytical Chemistry**, 80, 555–567, 2016.

SHADJOU, N.; HASANZADEH, M.; MARANDI, M.; HASANZADEH, A. Graphene quantum dot functionalized by chitosan as an electrically conductive nano-material toward low potential detection: a new platform for interface science. **Journal of Materials Science: Materials in Electronics**, 27, 11834–11843, 2016.

SHARMA, S.; SINGH, N.; TOMAR, V.; CHANDRA, R. A review on electrochemical detection of serotonin based on surface modified electrodes. **Biosensors and Bioelectronics**, 107, 76–93, 2018.

SHEN, C.; GE, S.; PANG, Y.; XI, F.; LIU, J.; DONG, X.; CHEN, P. Facile and scalable preparation of highly luminescent N,S co-doped graphene quantum dots and their application for parallel detection of multiple metal ions. **Journal of Materials Chemistry B**, 5, 6593–6600, 2017.

SHEN, J.; CHEN, W.; YANG, Z.; LV, G.; CAO, J.; LI, D.; LIU, X. A critical review of graphene quantum dots: synthesis and application in biosensors. **Nano**, 16, 2130001, 2021.

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

SILVEIRA, R.S.; ROCHA, B.A.; RODRIGUES, J.L.; BARBOSA JR., F. Rapid, sensitive and simultaneous determination of 16 endocrine-disrupting chemicals (parabens, benzophenones, bisphenols, and triclocarban) in human urine based on microextraction by packed sorbent combined with liquid chromatography tandem mass spectrometry (MEPS-LC-MS/MS). **Chemosphere**, 240, 124951, 2020.

SRIVASTAVA, A.K.; UPADHYAY, S.S.; RAWOOL, C.R.; PUNDE, N.S.; RAJPUROHIT, A.S. Voltammetric techniques for the analysis of drugs using nanomaterials based chemically modified electrodes. **Current Analytical Chemistry**, 15, 249–276, 2019.

SUGINTA, W.; KHUNKAEWLA, P.; SCHULTE, A. Electrochemical biosensor applications of polysaccharides chitin and chitosan. **Chemical Reviews**, 113, 5458–5479, 2013.

SUN, B.; WANG, Y.; LI, D.; LI, W.; GOU, X.; GOU, Y.; HU, F. Development of a sensitive electrochemical immunosensor using polyaniline functionalized graphene quantum dots for detecting a depression marker. **Materials Science and Engineering C**, 111, 110797, 2020.

SUN, H.; GAO, N.; WU, L.; REN, J.; WEI, W.; QU, X. Highly photoluminescent amino-functionalized graphene quantum dots used for sensing copper ions. **Chemistry - A European Journal**, 19, 13362–13368, 2013.

SWEETMAN, M.J.; HICKEY, S.M.; BROOKS, D.A.; HAYBALL, J.D.; PLUSH, S.E. A practical guide to prepare and synthetically modify graphene quantum dots. **Advanced Functional Materials**, 14, 1808740, 2019.

TAM, T.V.; TRUNG, N.B.; KIM, H.R.; CHUNG, J.S.; CHOI, W.M. One-pot synthesis of N-doped graphene quantum dots as a fluorescent sensing platform for Fe³⁺ ions detection. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, 202, 568–573, 2014.

TANG, L.; JI, R.; CAO, X.; LIN, J.; JIANG, H.; LI, X.; TENG, K.S.; LUK, C.M.; ZENG, S.; HAO, J.; LAU, S.P. Deep ultraviolet photoluminescence of water-soluble self-passivated graphene quantum dots. **ACS Nano**, 6, 5102–5110, 2012.

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

TEIXEIRA, P.R.; MACHADO, T.R.; MACHADO, F.; SODRÉ, F.F.; SILVA, J.G.; NETO, B.A.D.; PATERNO, L.G. Au nanoparticle-poly(ionic liquid) nanocomposite electrode for the voltammetric detection of triclosan in lake water and toothpaste samples. **Microchemical Journal**, 152, 104421, 2020.

THOMAS, F.G.; HENZE, G. **Introduction to Voltammetric Analysis: Theory and Practice**. Collingwood: CSIRO Publishing, 2001.

TIAN, P.; TANG, L.; TENG, K.S.; LAU, S.P. Graphene quantum dots from chemistry to applications. **Materials Today Chemistry**, 10, 221–258, 2018.

VIEIRA, W.T.; FARIAS, M.B.; SPAOLONZI, M.P.; SILVA, M.G.C.; VIEIRA, M.G.A. Endocrine-disrupting compounds: occurrence, detection methods, effects and promising treatment pathways - a critical review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 9, 104558, 2021.

VIMALKUMAR, K.; SEETHAPPAN, S.; PUGAZHENDHI, A. Fate of triclocarban (TCC) in aquatic and terrestrial systems and human exposure. **Chemosphere**, 230, 201–209, 2019.

WALTHER, B.K.; DINU, C.Z.; GULDI, D.M.; SERGEYEV, V.G.; CREAGER, S.E.; COOKE, J.P.; GUISEPPI-ELIE, A. Nanobiosensing with graphene and carbon quantum dots: recent advances. **Materials Today**, 39, 23–46, 2020.

WANG, D.; TAO, L.; YANG, J.; XU, Z.; YANG, Q.; ZHANG, Y.; LIU, X.; LIU, Q.; HUANG, J. Understanding the interaction between triclocarban and denitrifiers. **Journal of Hazardous Materials**, 401, 123343, 2021.

WANG, H.; MAIYALAGAN, T.; WANG, X. Review on recent progress in nitrogen-doped graphene: synthesis, characterization, and its potential applications. **ACS Catalysis**, 2, 781–794, 2012.

WANG, H.; COCOVI-SOLBERG, D.J.; HU, B.; MIRÓ, M. 3D-printed microflow injection analysis platform for online magnetic nanoparticle sorptive extraction of antimicrobials in biological specimens as a front end to liquid chromatographic assays. **Analytical Chemistry**, 89, 12541–12549, 2017.

WANG, L.; LI, Y.; LI, G.; YE, B. A new strategy for enhancing electrochemical sensing from MWCNTs modified electrode with Langmuir-Blodgett film and used in determination of methylparaben. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, 211, 332–338, 2015a.

WANG, S.; CHEN, Z.G.; COLE, I.; LI, Q. Structural evolution of graphene quantum dots during thermal decomposition of citric acid and the corresponding photoluminescence. **Carbon**, 82, 304–313, 2015b.

WANG, X.; HUANG, P.; MA, X.; DU, X.; LU, X. Magnetic mesoporous molecularly imprinted polymers based on surface precipitation polymerization for selective enrichment of triclosan and triclocarban. **Journal of Chromatography A**, 1537, 35–42, 2018.

WANG, X.; SUN, G.; ROUTH, P.; KIM, D.H.; HUANG, W.; CHEN, P. Heteroatom-doped graphene materials: syntheses, properties and applications. **Chemical Society Reviews**, 43, 7067–7098, 2014.

WANG, Y.; LIANG, W. Occurrence, toxicity, and removal methods of triclosan: a timely review. **Current Pollution Reports**, 7, 31–39, 2021.

WEI, D.; QIAN, W. Facile synthesis of Ag and Au nanoparticles utilizing chitosan as a mediator agent. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 62, 136–142, 2008.

WEI, F.; MORTIMER, M.; CHENG, H.; SANG, N.; GUO, L. Parabens as chemicals of emerging concern in the environment and humans: a review. **Science of the Total Environment**, 778, 146150, 2021.

WEI, L.; CAI, J.; LI, X.; WANG, X. Fabrication of graphene quantum dots/chitosan composite film and its catalytic reduction for 4-nitrophenol. **Ferroelectrics**, 548, 124–132, 2019.

WEI, L.; QIAO, P.; SHI, Y.; RUAN, Y.; YIN, J.; WU, Q.; SHAO, B. Triclosan/triclocarban levels in maternal and umbilical blood samples and their association with fetal malformation. **Clinica Chimica Acta**, 466, 133–137, 2017.

WU, T.; LI, T.; LIU, Z.; GUO, Y.; DONG, C. Electrochemical sensor for sensitive detection of triclosan based on graphene/palladium nanoparticles hybrids. **Talanta**, 164, 556–562, 2017.

WYLLIE, G.R.A. Spectroscopic determination of triclosan concentration in a series of antibacterial soaps: a first-year undergraduate laboratory experiment. **Journal of Chemical Education**, 92, 153–156, 2015.

YANG, J.; WANG, P.; ZHANG, X.; WU, K. Electrochemical sensor for rapid detection of triclosan using a multiwall carbon nanotube film. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57, 9403–9407, 2009.

YOUNIS, M.R.; HE, G.; LIN, J.; HUANG, P. Recent advances on graphene quantum dots for bioimaging applications. **Frontiers in Chemistry**, 8, 424, 2020.

YUN, H.; LIANG, B.; KONG, D.; LI, X.; WANG, A. Fate, risk and removal of triclocarban: a critical review. **Journal of Hazardous Materials**, 387, 121944, 2020.

ZANELLO, P. **Inorganic Electrochemistry: Theory, Practice and Application**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2003.

ZHANG, M.; LIAN, K.; AI, L.; KANG, W.; ZHAO, T. Simultaneous determination of 11 antiseptic ingredients in surface water based on polypyrrole decorated magnetic nanoparticles. **RSC Advances**, 10, 37473–37481, 2020.

ZHENG, J.; ZHANG, M.; LING, Y.; XU, J.; HU, S.; HAYAT, T.; ALHARBI, N.S.; YANG, F. Fabrication of one dimensional CNTs/Fe₃O₄@PPy/Pd magnetic composites for the accumulation and electrochemical detection of triclosan. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 818, 97–105, 2018.

ZHOU, X.; YE, X.; CALAFAT, A.M. Automated on-line column-switching HPLC-MS/MS method for the quantification of triclocarban and its oxidative metabolites in human urine and serum. **Journal of Chromatography B**, 881–882, 27–33, 2012.

ZOUAOU, F.; BOUROUINA-BACHA, S.; BOUROUINA, M.; JAFFREZIC-RENAULT, N.; ZINE, N.; ERRACHID, A. Electrochemical sensors based on molecularly imprinted chitosan: a review. **Trends in Analytical Chemistry**, 130, 115982, 2020.